(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년01월30일
(11) 등록번호 10-2630499
(24) 등록일자 2024년01월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61P 21/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2881 (2013.01)
A61K 47/6807 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2021-7022940
(22) 출원일자(국제) 2019년12월20일
심사청구일자 2022년12월20일
(85) 번역문제출일자 2021년07월20일
(65) 공개번호 10-2021-0108982
(43) 공개일자 2021년09월03일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/068078
(87) 국제공개번호 WO 2020/132584
국제공개일자 2020년06월25일
(30) 우선권주장
62/784,181 2018년12월21일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2016081643 A1
WO2012125850 A1

(73) 특허권자
어비디티 바이오사이언시스 인크.
미국, 캘리포니아 92037, 라 졸라, 노스 토리 파인스 로드 10975, 스위트 150
(72) 발명자
다리몬트 베아트리스 다이애나
미국 92037 캘리포니아주 라졸라 노쓰 토리 파인즈 로드 10975 스위트 150
도팔라푸디 벤카타 라마나
미국 92037 캘리포니아주 라졸라 노쓰 토리 파인즈 로드 10975 스위트 150
죤스 레이첼
미국 92037 캘리포니아주 라졸라 노쓰 토리 파인즈 로드 10975 스위트 150
(74) 대리인
김진희, 김태홍

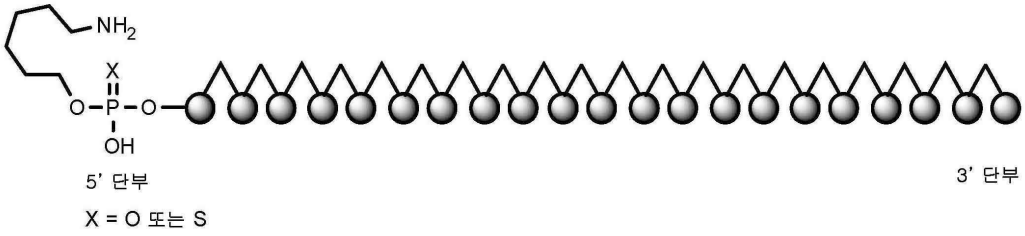
전체 청구항 수 : 총 33 항 심사관 : 한정선

(54) 발명의 명칭 **항트랜스페린 수용체 항체 및 이의 용도**

(57) 요 약

특정 실시양태에서 본 출원에 항트랜스페린 수용체 항체, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트, 및 항트랜스페린 수용체 항체 또는 컨쥬게이트를 포함하는 약학 조성물이 개시된다. 또한, 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체를 이용하는 페이로드를 전달하는 방법 및 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체를 이용하는 치료 방법이 개시된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 47/6849 (2017.08)
A61P 21/00 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C12N 15/113 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/71 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

가변 중쇄(VH) 영역 및 가변 경쇄(VL) 영역을 포함하는 항트랜스페린 수용체 항체로서,

(i) 상기 VH 영역은 서열 번호 1로 이루어진 HCDR1 서열, 서열번호 4로 이루어진 HCDR2 서열, 및 서열번호 3으로 이루어진 HCDR3 서열을 포함하고;

상기 VL 영역은 서열 번호 6으로 이루어진 LCDR1 서열, 서열 번호 7로 이루어진 LCDR2 서열, 및 서열 번호 8로 이루어진 LCDR3 서열을 포함하거나;

(ii) 상기 VH 영역은 서열 번호 1로 이루어진 HCDR1 서열, 서열 번호 2로 이루어진 HCDR2 서열, 및 서열 번호 3으로 이루어진 HCDR3 서열을 포함하고;

상기 VL 영역은 서열 번호 6으로 이루어진 LCDR1 서열, 서열 번호 9로 이루어진 LCDR2 서열, 및 서열 번호 10으로 이루어진 LCDR3 서열을 포함하거나; 또는

(iii) 상기 VH 영역은 서열 번호 1로 이루어진 HCDR1 서열, 서열 번호 5로 이루어진 HCDR2 서열, 및 서열 번호 3으로 이루어진 HCDR3 서열을 포함하고;

상기 VL 영역은 서열 번호 11로 이루어진 LCDR1 서열, 서열 번호 12로 이루어진 LCDR2 서열, 및 서열 번호 10으로 이루어진 LCDR3 서열을 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 VH 영역은 서열 번호 13-16으로부터 선택된 서열을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 18-21로부터 선택된 서열을 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 6

제5항에 있어서,

(i) 상기 VH 영역은 서열 번호 14의 서열을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 18의 서열을 포함하거나;

(ii) 상기 VH 영역은 서열 번호 13의 서열을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 20의 서열을 포함하거나; 또는

(iii) 상기 VH 영역은 서열 번호 15의 서열을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 21의 서열을 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 7

삭제

청구항 8

가변 중쇄(VH) 영역 및 가변 경쇄(VL) 영역을 포함하는 트랜스페린 수용체에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

(i) 상기 VH 영역은 서열 번호 14를 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 18를 포함하거나;

(ii) 상기 VH 영역은 서열 번호 13을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 20을 포함하거나;

(iii) 상기 VH 영역은 서열 번호 15를 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 21을 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 9

제1항에 있어서, 항트랜스페린 수용체 항체는 인간화 항체 또는 이의 결합 단편 또는 키메라 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 10

제8항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간화 항체 또는 이의 결합 단편 또는 키메라 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 11

제1항에 있어서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG-scFv, 나노바디, BiTE, 디아바디, DART, TandAb, scDiabody, scDiabody-CH3, 트리플 바디, 미니 항체, 미니바디, TriBi 미니바디, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv-Fc KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, Fab', F(ab')2, F(ab')3, F(ab')2-scFv2, scFv, scFv-KIH, Fab-scFv-Fc, 4가 HCAb, scDiabody-Fc, 디아바디-Fc, 탠덤 scFv-Fc, 또는 인트라바디를 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 12

제8항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG-scFv, 나노바디, BiTE, 디아바디, DART, TandAb, scDiabody, scDiabody-CH3, 트리플 바디, 미니 항체, 미니바디, TriBi 미니바디, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv-Fc KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, Fab', F(ab')2, F(ab')3, F(ab')2-scFv2, scFv, scFv-KIH, Fab-scFv-Fc, 4가 HCAb, scDiabody-Fc, 디아바디-Fc, 탠덤 scFv-Fc, 또는 인트라바디를 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 13

제12항에 있어서, 항원 결합 단편은 나노바디, BiTE, 디아바디, DART, TandAb, scDiabody, scDiabody-CH3, 트리플 바디, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv-Fc KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, Fab', F(ab')2, F(ab')3, F(ab')2-scFv2, scFv, 및 scFv-KIH로부터 선택되는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 14

제1항에 있어서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG1 프레임워크, IgG2 프레임워크, IgG2b 프레임워크, 또는 IgG4 프레임워크 중 적어도 하나를 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 15

제1항에 있어서, 항트랜스페린 수용체 항체는 Fc 영역 내에 적어도 하나의 돌연변이를 추가로 포함하고, 상기 돌연변이는 L234A, L235A, D265A, N297G, K322G, L328R, 또는 P329G 를 포함하며, 적어도 하나의 돌연변이는 이펙터 기능을 조절하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 16

제15항에 있어서, 이펙터 기능은 Fc-γ 수용체 결합의 약화 또는 제거를 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 17

제15항에 있어서, 적어도 하나의 돌연변이는 D265A, N297G, K322G, L328R, 또는 P329G를 포함하고, 상기 돌연변이 잔기 위치는 IgG1을 기준으로 하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 18

제15항에 있어서, Fc 영역은 돌연변이 L234A를 포함하고, 여기서 잔기는 서열 번호 23의 위치 234에 상응하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 19

제15항에 있어서, Fc 영역은 돌연변이 D265A 및 N297G를 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 20

제1항에 있어서, 항트랜스페린 수용체 항체는 서열 번호 23-46으로부터 선택된 중쇄(HC) 서열 및 서열 번호 47-50으로부터 선택된 경쇄(LC) 서열을 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 21

제8항에 있어서, 항체는 서열 번호 23-46으로부터 선택된 중쇄(HC) 서열 및 서열 번호 47-50으로부터 선택된 경쇄(LC) 서열을 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 22

제1항에 있어서, 항트랜스페린 수용체 항체는 인간 트랜스페린 수용체(TfR)에 결합하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체.

청구항 23

제8항에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 트랜스페린 수용체(TfR)에 결합하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 24

제1항의 항트랜스페린 수용체 항체 또는 제8항의 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 암, 근위축 또는 근긴장성 이영양증 치료용 약학 조성물.

청구항 25

하기 식 (I)을 포함하는 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트:

$A-(X^1-B)_n$ 식 (I)

상기 식에서,

A는 항트랜스페린 수용체 항체를 포함하고, 항트랜스페린 수용체 항체는 가변 중쇄(VH) 영역 및 가변 경쇄(VL) 영역을 포함하며,

(i) 상기 VH 영역은 서열 번호 1로 이루어진 HCDR1 서열, 서열번호 4로 이루어진 HCDR2 서열, 및 서열번호 3으로 이루어진 HCDR3 서열을 포함하고;

상기 VL 영역은 서열 번호 6으로 이루어진 LCDR1 서열, 서열 번호 7로 이루어진 LCDR2 서열, 및 서열 번호 8로 이루어진 LCDR3 서열을 포함하거나;

(ii) 상기 VH 영역은 서열 번호 1로 이루어진 HCDR1 서열, 서열 번호 2로 이루어진 HCDR2 서열, 및 서열 번호 3으로 이루어진 HCDR3 서열을 포함하고;

상기 VL 영역은 서열 번호 6으로 이루어진 LCDR1 서열, 서열 번호 9로 이루어진 LCDR2 서열, 및 서열 번호 10으로 이루어진 LCDR3 서열을 포함하거나; 또는

(iii) 상기 VH 영역은 서열 번호 1로 이루어진 HCDR1 서열, 서열 번호 5로 이루어진 HCDR2 서열, 및 서열 번

호 3으로 이루어진 HCDR3 서열을 포함하고;

상기 VL 영역은 서열 번호 11로 이루어진 LCDR1 서열, 서열 번호 12로 이루어진 LCDR2 서열, 및 서열 번호 10으로 이루어진 LCDR3 서열을 포함하며,

B는 폴리핵산 분자를 포함하고, 상기 폴리핵산 분자는 유전자의 mRNA의 타겟 서열에 하이브리드화하며, 유전자에 대한 RNA 간섭을 매개할 수 있고;

X^1은 결합 또는 링커로 구성되고;

n은 1-12로부터 선택된 정수이며,

상기 유전자는 IGF1-Akt-FoxO 경로, 글루코코르티코이드-GR 경로, PGC1α-FoxO 경로, TNFα-NFκB 경로, 또는 미오스타틴-ActRIIb-Smad2/3 경로 내에서 상향조절된 유전자, E3 리가아제, 포크헤드(Forkhead) 박스 전사 인자, 아트로긴(atrogin)-1 유전자(FBXO32), MuRF1 유전자(TRIM63), FOXO1, FOXO3, MSTN, DMD, 또는 DMPK를 포함한다.

청구항 26

하기 식 (I)을 포함하는 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트:

$A-(X^1-B)_n$ 식 (I)

상기 식에서,

A는 항트랜스페린 수용체 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하고, 항트랜스페린 수용체 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 가변 중쇄 영역(VH)와 가변 경쇄 영역(VL)을 포함하고,

(i) 상기 VH 영역은 서열 번호 14를 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 18를 포함하거나;

(ii) 상기 VH 영역은 서열 번호 13을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 20을 포함하거나;

(iii) 상기 VH 영역은 서열 번호 15를 포함하고, 상기 VL 영역은 서열 번호 21을 포함하고;

B는 폴리핵산 분자를 포함하고, 상기 폴리핵산 분자는 유전자의 mRNA의 타겟 서열에 하이브리드화하며, 유전자에 대한 RNA 간섭을 매개하는 것이고;

X^1은 결합 또는 링커로 구성되고;

n은 1-12로부터 선택된 정수이며,

상기 유전자는 IGF1-Akt-FoxO 경로, 글루코코르티코이드-GR 경로, PGC1α-FoxO 경로, TNFα-NFκB 경로, 또는 미오스타틴-ActRIIb-Smad2/3 경로 내에서 상향조절된 유전자, E3 리가아제, 포크헤드(Forkhead) 박스 전사 인자, 아트로긴(atrogin)-1 유전자(FBXO32), MuRF1 유전자(TRIM63), FOXO1, FOXO3, MSTN, DMD, 또는 DMPK를 포함한다.

청구항 27

제26항에 있어서, 항원 결합 단편은 IgG-scFv, 나노바디, BiTE, 디아바디, DART, TandAb, scDiabody, scDiabody-CH3, 트리플 바디, 미니 항체, 미니바디, TriBi 미니바디, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv-Fc KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, Fab', F(ab')2, F(ab')3, F(ab')2-scFv2, scFv, scFv-KIH, Fab-scFv-Fc, 4가 HCAb, scDiabody-Fc, 디아바디-Fc, 탠덤 scFv-Fc, 및 인트라바디로부터 선택되는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 28

제25항 또는 제26항에 있어서, 폴리핵산 분자는 짧은 간섭 핵산(siNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 이중 스트랜드 RNA(dsRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고(PMO), 및 mRNA로부터 선택되는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 29

제25항 또는 제26항에 있어서, 폴리핵산 분자는 이중 스트랜드 RNA(dsRNA)인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 30

제25항 또는 제26항에 있어서, 폴리핵산 분자는 단일 스트랜드 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 31

제25항 또는 제26항에 있어서, 폴리핵산 분자는 패신저 스트랜드 및 가이드 스트랜드를 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 32

제31항에 있어서, 가이드 스트랜드는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드간 연결, 적어도 하나의 역전된 탈염기성 모이어티, 적어도 하나의 5'-비닐포스포네이트 변형된 비천연 뉴클레오타이드, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 33

제25항 또는 제26항에 있어서, 폴리핵산 분자는 2' 위치에 당 모이어티의 변형을 추가로 포함하고, 2' 위치에서의 변형은 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-데옥시, 2'-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 34

제31항에 있어서, 패신저 스트랜드는 적어도 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 35

제31항에 있어서, $A\text{-}X^1$은 패신저 스트랜드의 5' 말단 또는 패신저 스트랜드의 3' 말단에 컨쥬게이션되는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 36

제25항 또는 제26항에 있어서, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트가 대상체에 투여될 때 RNA 간섭은 근육에서 우선적으로 매개되는 것인 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트.

청구항 37

제25항 또는 제26항의 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 암, 근위축 또는 근긴장성 이영양증 치료용 약학 조성물.

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

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

배 경 기 술

[0001] **상호 참조**

[0002] 본 출원은 2018년 12월 21일에 출원된 미국 특허 가출원 62/784,181의 이익을 주장하며, 그 전체 내용은 본 출원에 참조로 인용된다.

[0003] **개시내용의 배경**

[0004] 본 발명은 의약품 분야이며, 구체적으로 항체에 관한 것이다. 본 발명은 항트랜스페린 수용체 항체 및 항트랜스페린 수용체 항체의 제조 방법 및 사용 방법을 제공한다.

[0005] 진단에서의 공지된 용도 이외에, 항체는 치료제로서 유용한 것으로 확인되었다. 예를 들어, 최근 면역요법, 또는 치료 목적을 위한 항체는 암 및 다른 질환을 치료하기 위해 사용되었다. 트랜스페린 수용체는 타겟팅된 암 진단제 및 치료제의 개발을 위해 가장 널리 타겟팅된 수용체 중 하나이다. 이 타입 II 경막 당단백질은 세포성 철 수송을 담당하고, 다수의 정상 세포 타입의 표면 상에서 낮은 레벨로 확인된다. 약학적 용도를 위해 개선된 항트랜스페린 수용체 항체를 개발하기 위한 요구가 존재한다.

발명의 내용

[0006] 특정 실시양태에서, 본 출원에 항트랜스페린 수용체 항체, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트, 및 항트랜스페린 수용체 항체 또는 컨쥬게이트를 포함하는 약학 조성물이 개시된다. 몇몇 실시양태에서, 또한 본 출원에 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체를 이용하여 페이로드(payload)를 전달하는 방법, 및 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체를 사용하는 치료 방법이 개시된다.

[0007] 특정 실시양태에서, 본 출원에 가변 중쇄(VH) 영역 및 가변 경쇄(VL) 영역을 포함하는 항트랜스페린 수용체 항체가 개시되는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 EINPIX$_1$GRSNYAX$_2$KFQG로서, 이때 X$_1$은 N 또는 Q로부터 선택되고, X$_2$는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VL 영역은 LCDR1 서열 RTSENIYX$_3$NLA, LCDR2 서열 AX$_4$TNLAX$_5$, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$로서, 이때 X$_3$는 N 또는 S로부터 선택되고, X$_4$는 A 또는 G로부터 선택되고, X$_5$는 D 또는 E로부터 선택되고, X$_6$는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F인 LCDR3를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AATNLAX$_5$, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$로서, 이때 X$_5$는 D 또는 E로부터 선택되고, X$_6$는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F인 LCDR3를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 9를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VL 영역은 서열 번호: 11을 포함하는 LCDR1 서열,

서열 번호: 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고, VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 9를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 13-16으로부터 선택된 서열에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, VL 영역은 서열 번호: 18-21로부터 선택된 서열에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 인간화 항체 또는 이의 결합 단편 또는 키메라 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 다중특이성 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 이중특이성 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG-scFv, 나노바디, BiTE, 디아바디, DART, TandAb, scDiabody, scDiabody-CH3, 트리플 바디, 미니 항체, 미니바디, TriBi 미니바디, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv-Fc KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, F(ab')2, F(ab')2-scFv2. scFv-KIH, Fab-scFv-Fc, 4가 HCAb, scDiabody-Fc, 디아바디-Fc, 탠덤 scFv-Fc, 또는 인트라바디를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG1 프레임워크를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG2 프레임워크를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, IgG2 프레임워크는 IgG2b 프레임워크이다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG4 프레임워크를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 Fc 영역 내에 적어도 하나의 돌연변이를 추가로 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 적어도 하나의 돌연변이는 이펙터 기능을 조절한다. 몇몇 실시양태에서, 적어도 하나의 돌연변이는 Fc-γ 수용체 결합을 약화 또는 제거한다. 몇몇 실시양태에서, 적어도 하나의 돌연변이는 잔기 위치 D265, N297, K322, L328, 또는 P329에 있고, 이때 잔기 위치는 IgG1을 기준으로 한다. 몇몇 실시양태에서, Fc 영역은 2개 이상, 3개 이상, 또는 4개 이상의 돌연변이를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, Fc 영역은 L233 및 L234에 돌연변이를 포함하는데, 이때 잔기는 서열 번호: 23의 위치 233 및 234에 대응된다. 몇몇 실시양태에서, Fc 영역은 D265 및 N297에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 서열 번호: 23-46으로부터 선택되는 중쇄(HC) 서열 및 서열 번호: 47-50으로부터 선택되는 경쇄(LC) 서열을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 인간 트랜스페린 수용체(TfR)에 특이적으로 결합한다.

[0008] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 및 페이로드를 포함하는 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트가 본 출원에 개시된다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 소분자, 펩타이드, 단백질, 또는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 폴리뉴클레오타이드 분자를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드 분자는 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 이중 스트랜드 RNA(dsRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), PMO, 또는 mRNA를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 dsRNA를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 소분자, 펩타이드, 또는 단백질을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 미세소관 붕괴제, DNA 변형제, 또는 Akt 억제제를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 아우리스타틴 또는 이의 유도체, 돌라스타틴 또는 이의 유도체 또는 유사체, 마이탄시노이드, 또는 피롤로벤조디아제핀 또는 이의 유도체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 아우리스타틴 또는 이의 유도체는 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE) 또는 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF)이다. 몇몇 실시양태에서, 마이탄시노이드는 DM1 또는 DM4이다. 몇몇 실시양태에서, 피롤로벤조디아제핀은 피롤로벤조디아제핀 이량체이다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 면역조절성 제제 또는 면역 조절제를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 면역 조절제는 사이토카인을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 단백질 또는 펩타이드 독소 또는 이의 단편을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 링커를 통해 항트랜스페린 수용체 항체에 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 2개 이상의 페이로드에 추가로 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드 대 항트랜스페린 수용체 항체의 비율은 약 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 11:1, 또는 12:1이다. 몇몇 실시양태에서, 항

트랜스페린 컨쥬게이트는 $A-(X^1-B)_n$ (식 (I))을 포함하는데, 이때 A는 항전이 항체를 포함하고; B는 페이로드를 포함하고; X^1은 결합 또는 링커로 구성되고; n은 1-12로부터 선택된 평균값이다. 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 폴리핵산 분자이다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 패신저 스트랜드 및 가이드 스트랜드를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 가이드 스트랜드는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드간 연결, 적어도 하나의 역전된 탈염기성 모이어티, 적어도 하나의 5'-비닐포스포네이트 변형된 비천연 뉴클레오타이드, 또는 이들의 조합을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 적어도 하나의 5'- 비닐포스포네이트 변형된 비천연 뉴클레오타이드는 가이드 스트랜드의 5' 말단으로부터 약 1, 2, 3, 4, 또는 5개 염기 이격하여 위치된다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 2'-위치에 당 모이어티의 변형을 추가로 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 2'-위치에서 변형은 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택된다. 몇몇 실시양태에서, 패신저 스트랜드는 적어도 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 패신저 스트랜드는 가이드 스트랜드보다 길이가 더 짧아 5' 오버행, 3' 오버행, 한 말단에서 평활 단부, 또는 이들의 조합을 생성한다. 몇몇 실시양태에서, 패신저 스트랜드는 가이드 스트랜드와 길이가 동일하여 폴리핵산 분자의 각 말단에 평활 단부를 생성한다. 몇몇 실시양태에서, 패신저 스트랜드는 $A-X^1$에 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, $A-X^1$는 패신저 스트랜드의 5' 단부에 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, $A-X^1$는 패신저 스트랜드의 3' 단부에 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 컨쥬게이트는 $A-X^1-(B-X^2-C)_n$ (식 (II))을 포함하는데, 이때 A는 항트랜스페린 수용체 항체를 포함하고; B는 폴리핵산 분자를 포함하고; C는 폴리머로 구성되고; X^1은 결합 또는 제1 링커로 구성되고; X^2는 결합 또는 제2 링커로 구성되고; n은 1-12로부터 선택된 평균값이다. 몇몇 실시양태에서, C는 폴리에틸렌 글리콜이다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 패신저 스트랜드 및 가이드 스트랜드를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 패신저 스트랜드는 $A-X^1$ 및 X^2-C에 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, $A-X^1$은 패신저 스트랜드의 5' 단부에 컨쥬게이션되고, X^2-C는 패신저 스트랜드의 3' 단부에 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, X^2-C는 패신저 스트랜드의 5' 단부에 컨쥬게이션되고, $A-X^1$은 패신저 스트랜드의 3' 단부에 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, X^1 및 X^2는 각각 독립적으로 비폴리머 링커이다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트는 D를 추가로 포함한다. 몇몇 실시양태에서, D는 엔도솜 분해성 모이어티이다.

[0009] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체를 코딩하는 핵산 폴리머가 본 출원에 개시된다.

[0010] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체를 코딩하는 핵산 폴리머를 포함하는 벡터가 본 출원에 개시된다.

[0011] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 또는 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트; 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물이 본 출원에 개시된다. 몇몇 실시양태에서, 약학 조성물은 전신 투여를 위해 제제화된다. 몇몇 실시양태에서, 약학 조성물은 비경구 투여를 위해 제제화된다.

[0012] 특정 실시양태에서, 본 출원에 대상체 내의 관심 타겟 부위에 페이로드를 전달하는 방법이 개시되는데, 상기 방법은 관심 타겟 부위에 페이로드를 전달하기 위해 대상체에게 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트 또는 본 출원에 기재된 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 관심 타겟 부위는 과발현된 원인 단백질을 포함하는 세포이다. 몇몇 실시양태에서, 관심 타겟 부위는 종양 부위이다. 몇몇 실시양태에서, 관심 타겟 부위는 뇌에 위치된 부위이다.

[0013] 특정 실시양태에서, 본 출원에 치료가 필요한 대상체에서 암을 치료하는 방법이 개시되는데, 상기 방법은 대상체에서 암을 치료하기 위해 대상체에게 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트 또는 본 출원에 기재된 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 암은 고형암이다. 몇몇 실시양태에서, 암은 혈액암이다. 몇몇 실시양태에서, 암은 방광암, 폐암, 뇌암, 흑색종, 유방암, 비호지킨 림프종, 자궁경부암, 난소암, 결장직장암, 췌장암, 식도암, 전립선암, 신장암, 피부암, 백혈병, 갑상선암, 간암, 또는 자궁암이다.

몇몇 실시양태에서, 암은 전이성 암이다. 몇몇 실시양태에서, 암은 재발성 암 또는 난치성 암이다.

[0014] 특정 실시양태에서, 본 출원에 치료가 필요한 대상체에서 근위축 또는 근긴장성 이영양증을 치료하는 방법이 개시되는데, 상기 방법은 대상체에게 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트 또는 본 출원에 기재된 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는데, 이때 폴리핵산 분자는 아트로진(atrogene)의 타겟 서열에 하이브리드화하고, 폴리핵산 분자는 아트로진에 대한 RNA 간섭을 매개함으로써 대상체에서 근위축을 치료한다. 몇몇 실시양태에서, 근위축은 당뇨병 관련 근위축 또는 암 악액질 관련 근위축이다. 몇몇 실시양태에서, 근위축은 인슐린 결핍, 만성 신부전, 울혈성 심부전, 만성 호흡기 질환, 만성 감염, 단식, 탈신경, 사코페니아, 또는 근긴장성 이영양증 1형(DM1)과 관련된다. 몇몇 실시양태에서, 대상체에서 망상적혈구 레벨은 항트랜스페린 수용체 항체의 투여 후 감소되지 않는다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트의 투여는 대상체에서 SSB siRNA 또는 SSB mRNA 레벨을 하향조절한다. 몇몇 실시양태에서, SSB siRNA 또는 SSB mRNA의 하향조절은 근육에 있다. 몇몇 실시양태에서, 근육은 골격근이다. 몇몇 실시양태에서, 근육은 심근이다.

[0015] 몇몇 실시양태에서, 근긴장성 이영양증은 DM1이다. 몇몇 실시양태에서, 아트로진은 IGF1-Akt-FoxO 경로, 글루코코르티코이드-GR 경로, PGC1α-FoxO 경로, TNFα-NFκB 경로, 또는 미오스타틴-ActRIIb-Smad2/3 경로 내에 상향조절된 유전자를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 아트로진은 E3 리가아제를 코딩한다. 몇몇 실시양태에서, 아트로진은 포크헤드(Forkhead) 박스 전사 인자를 코딩한다. 몇몇 실시양태에서, 아트로진은 atrogin-1 유전자(*FBXO32*), MuRF1 유전자(*TRIM63*), *FOXO1*, *FOXO3*, 또는 *MSTN*을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 아트로진은 *DMPK*를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0016] 특정 실시양태에서, 본 출원에 치료가 필요한 대상체에서 근이영양증을 치료하는 방법이 개시되는데, 상기 방법은 대상체에게 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트 또는 본 출원에 기재된 약학 조성물을 투여함으로써 대상체에서 근이영양증을 치료하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 근이영양증은 뒤시엔느 근이영양증, 베커 근이영양증, 안면견갑상완 근이영양증, 선천성 근이영양증, 또는 근긴장성 근이영양증이다. 몇몇 실시양태에서, 근이영양증은 뒤시엔느 근이영양증이다. 몇몇 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0017] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트, 본 출원에 기재된 핵산 폴리머, 본 출원에 기재된 벡터, 또는 본 출원에 기재된 약학 조성물을 포함하는 키트가 본 출원에 개시된다.

도면의 간단한 설명

[0018] 본 개시내용의 다양한 관점은 첨부된 청구범위에서 상세히 제시되어 있다. 본 개시내용의 특징 및 이점은 본 개시내용의 원리가 이용되는 예시적인 실시양태를 제시하는 하기 상세한 설명, 및 하기 첨부된 도면을 참조하여 더 잘 이해될 것이다. 특허출원 파일은 컬러로 작성된 적어도 하나의 도면을 포함한다. 이 특허 출원 공보의 사본은 컬러 도면(들)과 함께 청구 및 청구료의 납부 시 특허청에 의해 제공될 것이다.

도 1은 예시적인 SSB 패신저 스트랜드의 구조를 도시한다.

도 2는 19개 염기의 상보성 및 하나의 3' 디뉴클레오타이드 오버행을 보유하는 예시적인 평활 말단화된 이중체의 구조를 도시한다. 정제된 단일 스트랜드는 이중 스트랜드 siRNA를 얻기 위해 이중화되었다.

도 3a는 재조합 인간 TfR1에 대한 TfR1.IgG2 mAb 및 TfR1.IgG2 mAb-SSB의 시험관 내 결합을 도시한다.

도 3b는 재조합 시노 TfR1에 대한 TfR1.IgG2 mAb 및 TfR1.IgG2 mAb-SSB의 시험관 내 결합을 도시한다.

도 4a는 hTfR1.IgG2 mAb SSB 또는 hTfR1.IgG2 mAb MSTN(음성 대조군) 컨쥬게이트로 처리된 Hel92.1.7 세포에서 siRNA 전달의 SSB mRNA 레벨을 도시한다.

도 4b는 hTfR1.IgG2 mAb SSB 또는 hTfR1.IgG2 mAb MSTN(음성 대조군) 컨쥬게이트로 처리된 불멸화된 인간 골격근 세포에서 siRNA 전달의 SSB mRNA 레벨을 도시한다.

도 5a는 30 및 60 mg/kg(n=3)로 hTfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트의 투여 후 시노몰구스 원숭이의 비복근에서 SSB mRNA 및 SSB siRNA 레벨을 도시한다.

도 5b는 30 및 60 mg/kg(n=3)로 hTfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트의 투여 후 시노몰구스 원숭이의 대퇴사두근에서 SSB mRNA 및 SSB siRNA 레벨을 도시한다.

도 6은 30 및 60 mg/kg(n=3)로 hTfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트의 투여 이전 및 이후 시노몰구스 원숭이의 상대

적인 망상적혈구 레벨을 도시한다.

도 7은 시노 CD71에 대한 예시적인 항TfR 항체의 결합 상수를 도시한다.

도 8은 인간 CD71에 대한 예시적인 항TfR 항체의 결합 상수를 도시한다.

도 9a는 경쟁 조건 하에서 TfR에 대한 예시적인 항TfR 항체의 결합 상수를 도시한다.

도 9b는 도 9a의 테스트된 항TfR 항체의 결합 상수를 나타낸다.

도 10a는 TfR에 대한 예시적인 항TfR 항체의 결합이 유지됨을 나타낸다.

도 10b는 도 10a의 테스트된 항TfR 항체의 결합 상수를 나타낸다.

도 11은 예시적인 항TfR 항체의 ADCC 활성을 나타낸다.

도 12는 항TfR 항체가 TfR2에 결합하지 않음을 나타낸다.

도 13a는 HEL92 세포에서 SSB mRNA 녹다운 %를 나타낸다.

도 13b는 도 13a의 테스트된 항TfR 항체의 EC50을 나타낸다.

도 14는 예시적인 항TfR 항체의 ADCC 활성을 나타낸다.

도 15는 예시적인 항TfR 항체의 CDC 활성을 나타낸다.

도 16은 일차 인간 골격근 세포(근관)에서 TfR1.mAb 컨쥬게이트의 흡수를 나타낸다.

도 17은 TfR1.hIgG2 mAb 또는 TfR1.hIgG1 mAb 변이체의 SSB 또는 스크램블 siRNA 컨쥬게이트로 처리된 일차 인간 골격근 세포에서 SSB mRNA 레벨을 나타낸다.

도 18은 TfR1 타겟팅 AOC의 투여(1일째에 단일 투여) 전/후 시노몰구스 원숭이의 절대 망상적혈구 레벨을 나타낸다.

도 19는 TfR1 mAb SSB 컨쥬게이트(n=3)의 단일 투여 21일 후 시노몰구스 원숭이 근육의 SSB mRNA 레벨을 나타낸다.

도 20a는 hIgG1 TfR-Var2ii-SSB 컨쥬게이트(n=2)의 단일 6 mg/kg 투여 21일 후 시노몰구스 원숭이 조직의 SSB siRNA 레벨을 나타낸다.

도 20b는 hIgG1 TfR-Var2ii-SSB 컨쥬게이트(n=2)의 단일 6 mg/kg 투여 21일 후 시노몰구스 원숭이 조직의 SSB mRNA 레벨을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 트랜스페린 수용체(TfR)는 막 당단백질의 패밀리를 포함하고, 유전자 *TFRC*에 의해 코딩된다. TfR은 세포 내로 철을 수송하기 위해 철-트랜스페린 복합체와 상호작용함으로써 철 대사에 관여한다. 2종류의 TfR 서브타입, 즉 트랜스페린 수용체 1(TfR1 또는 CD71) 및 트랜스페린 수용체 2(TfR2)가 존재한다. TfR1은 상이한 세포 타입에 보편적으로 발현되는 반면, TfR2는 간 세포에서 특이적으로 발현된다.

[0020] 몇몇 경우에서, TfR1의 비정상적인 발현은 다양한 암에서 주목된다. 실제로, 한 연구는 TfR1의 발현 레벨이 유방암 세포에서 상승되는 것을 확인하였다(Pizzamiglio, et al., Expression of iron-related protein differentiate non-cancerous and cancerous breast tumors," *Int J Mol Sci.* 2017;18). 별도의 연구에서, TfR1은 또한, 뇌암에서 과발현되는 것으로 확인되었다(Rosager, et al., "Transferin receptor-1 and ferritin heavy and light chains in astrocytic brain tumors: Expression and prognostic value," *PLoS One* 12:e0182954 (2017)). 추가의 연구는 철 흡수가 종양 개시 세포에서 상승되는 것에 주목하였다(Rychtarcikova, *et al.*, "Tumorinitiating cells of breast and prostate origin show alterations in the expression of genes related to iron metabolism," *Oncotarget*. 8:6376-6398 (2017)).

[0021] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 항트랜스페린 수용체 항체, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트, 및 동일물을 포함하는 약학 조성물이 개시된다. 추가 실시양태에서, 본 출원에 페이로드의 전달을 위해 항트랜스페린 수용체 항체를 이용하는 방법, 타겟팅된 전달을 위해 트랜스페린 수용체의 존재를 이용함으로써 질병 또는 병태를 치료하는 방법이 개시된다.

[0022] **항트랜스페린 수용체 항체**

[0023] 특정 실시양태에서, 본 출원에 항트랜스페린 수용체 항체가 개시된다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 트랜스페린 수용체(TfR)에 특이적으로 결합한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 인간 트랜스페린 수용체(TfR)에 특이적으로 결합한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 트랜스페린 수용체 1(TfR1)(또는 CD71)에 특이적으로 결합한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 인간 트랜스페린 수용체 1(TfR1)(또는 인간 CD71)에 특이적으로 결합한다.

[0024] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 가변 중쇄(VH) 영역 및 가변 경쇄(VL) 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 EINPIX$_1$GRSNYAX$_2$KFQG로서, 이때 X$_1$은 N 또는 Q로부터 선택되고, X$_2$는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다.

[0025] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 항체의 VH 영역은 표 1로부터 선택된 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열을 포함한다.

표 1

[0026]

명칭	HCDR1	서열 번호:	HCDR2	서열 번호:	HCDR3	서열 번호:
13E4_VH1	YTFTNYWMH	1	EINPINGRSNYAQKFQG	2	GTRAMHY	3
13E4_VH2*	YTFTNYWMH	1	EINPINGRSNYAEKFQG	4	GTRAMHY	3
13E4_VH3	YTFTNYWMH	1	EINPIQGRSNYAEKFQG	5	GTRAMHY	3

[0027] *13E4_VH2는 항트랜스페린 수용체 항체 13E4_VH4와 동일한 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열을 공유한다.

[0028] 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; 서열 번호: 2, 4, 또는 5를 포함하는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 경우에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 경우에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다. 몇몇 경우에서, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함한다.

[0029] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체의 VL 영역은 LCDR1 서열 RTSENIYX$_3$NLA, LCDR2 서열 AX$_4$TNLAX$_5$, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$를 포함하는데, 이때 X$_3$는 N 또는 S로부터 선택되고, X$_4$는 A 또는 G로부터 선택되고, X$_5$는 D 또는 E로부터 선택되고, X$_6$는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0030] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체의 VL 영역은 표 2로부터 선택된 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.

표 2

[0031]

명칭	LCDR1	서열 번호:	LCDR2	서열 번호:	LCDR3	서열 번호:
13E4_VL1*	RTSENIYNNLA	6	AATNLAD	7	QHFWGTPLT	8
13E4_VL3	RTSENIYNNLA	6	AATNLAE	9	QHFWGTPLTF	10
13E4_VL4	RTSENIYSNLA	11	AGTNLAD	12	QHFWGTPLTF	10

[0032] *13E4_VL1은 항트랜스페린 수용체 항체 13E4_VL2와 동일한 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 공유한다.

[0033] 몇몇 경우에서, VL 영역은 LCDR1 서열 RTSENIYX$_3$NLA, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서

열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하는데, 이때 X_3는 N 또는 S로부터 선택된다.

[0034] 몇몇 경우에서, VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AX_4TNLAX_5, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하는데, 이때 X_4는 A 또는 G로부터 선택되고, X_5는 D 또는 E로부터 선택된다.

[0035] 몇몇 경우에서, VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 LCDR3 서열 $QHFWGTPLTX_6$를 포함하는데, 이때 X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0036] 몇몇 경우에서, VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 $AATNLAX_5$, 및 LCDR3 서열 $QHFWGTPLTX_6$를 포함하는데, 이때 X_5는 D 또는 E로부터 선택되고, X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0037] 몇몇 경우에서, VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0038] 몇몇 경우에서, VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 9를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0039] 몇몇 경우에서, VL 영역은 서열 번호: 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0040] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 $EINPIX_1GRSNYAX_2KFQG$로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 LCDR1 서열 $RTSENIYX_3NLA$, LCDR2 서열 AX_4TNLAX_5, 및 LCDR3 서열 $QHFWGTPLTX_6$를 포함하고, 이때 X_3는 N 또는 S로부터 선택되고, X_4는 A 또는 G로부터 선택되고, X_5는 D 또는 E로부터 선택되고, X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0041] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 $EINPIX_1GRSNYAX_2KFQG$로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 LCDR1 서열 $RTSENIYX_3NLA$, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하고, 이때 X_3는 N 또는 S로부터 선택된다.

[0042] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 $EINPIX_1GRSNYAX_2KFQG$로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AX_4TNLAX_5, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하고, 이때 X_4는 A 또는 G로부터 선택되고, X_5는 D 또는 E로부터 선택된다.

[0043] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 $EINPIX_1GRSNYAX_2KFQG$로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 LCDR3 서열 $QHFWGTPLTX_6$를 포함하고, 이때 X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0044] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 $EINPIX_1GRSNYAX_2KFQG$로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AATNLAX5, 및 LCDR3 서열 $QHFWGTPLTX_6$를 포함하고, 이때 X_5는 D 또는 E로부터

선택되고 X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0045] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 EINPIX$_1$GRSNYAX$_2$KFQG로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0046] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 EINPIX$_1$GRSNYAX$_2$KFQG로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 9를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0047] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열; HCDR2 서열 EINPIX$_1$GRSNYAX$_2$KFQG로서, 이때 X_1은 N 또는 Q로부터 선택되고 X_2는 Q 또는 E로부터 선택되는 HCDR2 서열; 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0048] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 LCDR1 서열 RTSENIYX$_3$NLA, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하는데, 이때 X_3는 N 또는 S로부터 선택된다.

[0049] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AX$_4$TNLAX$_5$, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하고, 이때 X_4는 A 또는 G로부터 선택되고, X_5는 D 또는 E로부터 선택된다.

[0050] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$를 포함하고, 이때 X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0051] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AATNLAX$_5$, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$를 포함하고, 이때 X_5는 D 또는 E로부터 선택되고, X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0052] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0053] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 9를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0054] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 2를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10

을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0055] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 LCDR1 서열 RTSENIYX$_3$NLA, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하고, 이때 X_3는 N 또는 S로부터 선택된다.

[0056] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AX$_4$TNLAX$_5$, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하고, 이때 X_4는 A 또는 G로부터 선택되고, X_5는 D 또는 E로부터 선택된다.

[0057] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$를 포함하고, 이때 X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0058] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AATNLAX$_5$, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$를 포함하고, 이때 X_5는 D 또는 E로부터 선택되고, X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0059] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함, VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0060] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 9를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0061] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 4를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0062] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 LCDR1 서열 RTSENIYX$_3$NLA, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하고, 이때 X_3는 N 또는 S로부터 선택된다.

[0063] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AX$_4$TNLAX$_5$, 및 서열 번호: 8 또는 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함하고, 이때 X_4는 A 또는 G로부터 선택되고, X_5는 D 또는 E로부터 선택된다.

[0064] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6 또는 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7, 9, 또는 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$를 포함하고, 이때 X_6는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0065] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하

고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, LCDR2 서열 AATNLAX5, 및 LCDR3 서열 QHFWGTPLTX$_6$를 포함하고, 이때 X$_5$는 D 또는 E로부터 선택되고, X$_6$는 존재하거나 또는 부재하고, 존재하는 경우 F이다.

[0066] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 7을 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 8을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0067] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 6을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 9를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0068] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역은 서열 번호: 1을 포함하는 HCDR1 서열, 서열 번호: 5를 포함하는 HCDR2 서열, 및 서열 번호: 3을 포함하는 HCDR3 서열을 포함하고; VL 영역은 서열 번호: 11을 포함하는 LCDR1 서열, 서열 번호: 12를 포함하는 LCDR2 서열, 및 서열 번호: 10을 포함하는 LCDR3 서열을 포함한다.

[0069] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는데, 이때 VH 영역의 서열은 서열 번호: 13-16과 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96% 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 포함하고, VL 영역의 서열은 서열 번호: 18-21과 약 80%, 85%, 90%, 95%, 96% 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 포함한다.

[0070] 몇몇 실시양태에서, VH 영역은 서열 번호: 13-16(표 3)으로부터 선택된 서열을 포함하고, VL 영역은 서열 번호: 18-21(표 4)로부터 선택된 서열을 포함한다. 표 3 및 표 4에서 밑줄친 부분은 각각 CDR1, CDR2, 또는 CDR3 서열을 의미한다.

표 3

[0071]

명칭	VH 서열	서열 번호:
13E4_VH1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPINGRSNYAQKFQGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTRAMHYWGQGTLVTVSS	13
13E4_VH2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWIGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTRAMHYWGQGTLVTVSS	14
13E4_VH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPIQGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYYCARGTRAMHYWGQGTLVTVSS	15
13E4_VH4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYYCARGTRAMHYWGQGTLVTVSS	16
13E4_VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMHWVKQRPGQGLEWIGEINPINGRSNYGERFKTKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAMHYWGQGTSVTVSS	17

표 4

[0072]

명칭	VL 서열	서열 번호:
13E4_VL1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYNNLAWYQQKPGKSPKLLIYAATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFGGGTKVEIK	18
13E4_VL2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYNNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFGGGTKVEIK	19
13E4_VL3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYNNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATNLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFGGGTKVEIK	20
13E4_VL4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAGTNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFANYYCQHFWGTPLTFGGGTKVEIK	21
13E4_VL	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRTSENIYNNLAWYQQKQGKSPQLLVYAATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGNYYCQHFWGTPLTFGAGTKLELK	22

[0073] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 표 5에 기재된 바와 같은 VH 영역 및 VL 영역을 포함한다.

표 5

[0074]

	13E4_VH1 (서열 번호: 13)	13E4_VH2 (서열 번호: 14)	13E4_VH3 (서열 번호: 15)	13E4_VH4 (서열 번호: 16)
13E4_VL1 (서열 번호: 18)	서열 번호: 13 + 서열 번호: 18	서열 번호: 14 + 서열 번호: 18	서열 번호: 15 + 서열 번호: 18	서열 번호: 16 + 서열 번호: 18
13E4_VL2 (서열 번호: 19)	서열 번호: 13 + 서열 번호: 19	서열 번호: 14 + 서열 번호: 19	서열 번호: 15 + 서열 번호: 19	서열 번호: 16 + 서열 번호: 19
13E4_VL3 (서열 번호: 20)	서열 번호: 13 + 서열 번호: 20	서열 번호: 14 + 서열 번호: 20	서열 번호: 15 + 서열 번호: 20	서열 번호: 16 + 서열 번호: 20
13E4_VL4 (서열 번호: 21)	서열 번호: 13 + 서열 번호: 21	서열 번호: 14 + 서열 번호: 21	서열 번호: 15 + 서열 번호: 21	서열 번호: 16 + 서열 번호: 21

[0075] 몇몇 실시양태에서, 상기 기재된 항트랜스페린 수용체 항체는 전장 항체이다. 다른 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 이의 결합 단편이다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 인간화 항체 또는 이의 결합 단편, 키메라 항체 또는 이의 결합 단편, 모노클로날 항체 또는 이의 결합 단편, 다중특이성 항체 또는 이의 결합 단편, 또는 이중특이성 항체 또는 이의 결합 단편이다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 1가 Fab', 2가 Fab_2, $F(ab)'_3$ 단편, 단일 사슬 가변 단편 (scFv), bis-scFv, $(scFv)_2$, 디아바디, 미니바디, 나노바디, 트라이바디, 테트라바디, 다이설파이드 안정화된 Fv 단백질("dsFv"), 단일 도메인 항체(sdAb), Ig NAR, 카멜리드 항체 또는 이의 결합 단편, 또는 화학적으로 변형된 이의 유도체이다.

[0076] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 다중특이성 항체이다. 몇몇 경우에서, 다중 특이성 항체는 2개 이상의 타겟 결합 모이어티를 포함하는데, 2개 이상의 타겟 결합 모이어티는 항원에 특이적으로 결합하고, 2개 이상의 항원은 상이하다. 몇몇 경우에서, 다중 특이성 항체는 3개 이상의 상이한 항원, 4개 이상의 상이한 항원, 또는 5개 이상의 상이한 항원에 특이적으로 결합하는 타겟 결합 모이어티를 포함한다.

[0077] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 이중특이성 항체이다. 몇몇 경우에서, 이중 특이성 항체 또는 결합 단편은 놉스-인투-홀(Knobs-into-Holes, KiH), 비대칭 리엔지니어링 테크놀로지-면역글로불린(Asymmetric Re-engineering Technology-immunoglobulin, ART-Ig), Triomab 쿼드로마(quadroma), 이중특이성 모노클로날 항체(BiMAb, BsmAb, BsAb, bsMab, BS-Mab, 또는 Bi-MAb), FcAdp, XmAb, Azymetric, T-세포 수용체에 기초한 항체에 의한 이중특이성 인게이지먼트(BEAT), 이중 특이성 T-세포 인게이저(BiTE), 바이크로닉스(Biclonics), Fab-scFv-Fc, 투-인-원(Two-in-one)/이중 작용 Fab(DAF), FinomAb, scFv-Fc-(Fab)-융합, 도크-aNd-로크(Dock-aNd-

Lock)(DNL), Adaptir(이전 명칭 SCORPION), 탠덤 디아바디(TandAb), 이중-친화성-ReTargeting(DART), 또는 나노바디를 포함한다.

[0078] 몇몇 경우에서, 이중특이성 항체는 3작용성 항체 또는 이중특이성 미니 항체이다. 몇몇 경우에서, 이중특이성 항체는 3작용성 항체이다. 몇몇 경우에서, 3작용성 항체는 2개의 상이한 항원에 대한 결합 부위를 포함하는 전장 모노클로날 항체이다.

[0079] 몇몇 경우에서, 이중특이성 항체는 이중특이성 미니 항체이다. 몇몇 경우에서, 이중특이성 미니 항체는 2가 Fab_2, $F(ab)'_3$ 단편, bis-scFv,$(scFv)_2$, 디아바디, 미니바디, 트리아바디, 테트라바디 또는 이중특이성 T-세포 인게이저(BiTE)를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 이중특이성 T-세포 인게이저는 2개의 단일 사슬 가변 단편(scFv)이 2개의 상이한 항원의 에피토프를 타겟팅하는 2개의 scFv를 함유하는 융합 단백질이다.

[0080] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 삼중특이성 항체이다. 몇몇 경우에서, 삼중특이성 항체는 $F(ab)'_3$ 단편 또는 트리아바디를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 Dimas, *et al.*, "Development of a trispecific antibody designed to simultaneously and efficiently target three different antigens on tumor cells," *Mol. Pharmaceutics*, **12**(9): 3490-3501 (2015)에 기재된 바와 같은 삼중특이성 항체이다.

[0081] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 Brinkmann and Kontermann, "making of bispecific antibody," *MABS* **9**(2): 182-212 (2017)의 도 2에 도시된 항체 포맷을 포함한다.

[0082] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG 프레임워크, IgA 프레임워크, IgE 프레임워크, 또는 IgM 프레임워크를 포함한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG 프레임워크(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4)를 포함한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG1 프레임워크를 포함한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG2(예를 들어, IgG2a 또는 IgG2b) 프레임워크를 포함한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG2a 프레임워크를 포함한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG2b 프레임워크를 포함한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG3 프레임워크를 포함한다. 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 IgG4 프레임워크를 포함한다.

[0083] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체는 프레임워크 영역 내에, 예를 들어 CH1 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, 힌지 영역, 또는 이들의 조합 내에 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 돌연변이는 항체를 안정화시키고/시키거나, 반감기를 증가시킨다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 돌연변이는 Fc 수용체 상호작용을 조절하거나, FcyR, 항체 의존성 세포 매개된 세포독성(ADCC), 또는 보체 의존성 세포독성(CDC)과 같은 Fc 이펙터 기능을 감소시키거나 제거한다. 추가적인 예에서, 하나 이상의 돌연변이는 글리코실화를 조절한다.

[0084] 몇몇 실시양태에서, 하나 이상의 돌연변이는 Fc 영역에 위치된다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 잔기 위치 L234, L235, 또는 이들의 조합에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, 돌연변이는 L234 및 L235를 포함한다. 몇몇 경우에서, 돌연변이는 L234A 및 L235A를 포함한다. 몇몇 경우에서, 잔기 위치는 IgG1을 기준으로 한다.

[0085] 몇몇 경우에서, Fc 영역은 잔기 위치 L234, L235, D265, N297, K322, L328, 또는 P329, 또는 이들의 조합에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, 돌연변이는 잔기 위치 K322, L328, 또는 P329에서의 돌연변이와 함께 L234 및 L235를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L234, L235, 및 K322에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L234, L235, 및 L328에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L234, L235, 및 P329에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 D265 및 N297에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, 잔기 위치는 IgG1을 기준으로 한다.

[0086] 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L234A, L235A, D265A, N297G, K322G, L328R, 또는 P329G, 또는 이들의 조합을 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 K322G, L328R, 또는 P329G와 함께 L234A 및 L235A를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L234A, L235A, 및 K322G를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L234A, L235A, 및 L328R을 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L234A, L235A, 및 P329G를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 D265A 및 N297G를 포함한다. 몇몇 경우에서, 잔기 위치는 IgG1을 기준으로 한다.

[0087] 몇몇 경우에서, Fc 영역은 잔기 위치 L235, L236, D265, N297, K322, L328, 또는 P329에서 돌연변이, 또는 돌연변이들의 조합을 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235 및 L236에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 잔기 위치 K322, L328, 또는 P329에서 돌연변이와 함께 L235 및 L236에서 돌연변이를 포함

한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235, L236, 및 K322에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235, L236, 및 L328에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235, L236, 및 P329에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 D265 및 N297에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, 잔기 위치는 IgG2b를 기준으로 한다.

[0088] 몇몇 실시양태에서, Fc 영역은 L235A, L236A, D265A, N297G, K322G, L328R, 또는 P329G, 또는 이들의 조합을 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235A 및 L236A를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 K322G, L328R, 또는 P329G와 함께 L235A 및 L236A를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235A, L236A, 및 K322G를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235A, L236A, 및 L328R을 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L235A, L236A, 및 P329G를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 D265A 및 N297G를 포함한다. 몇몇 경우에서, 잔기 위치는 IgG2b를 포함한다.

[0089] 몇몇 실시양태에서, Fc 영역은 잔기 위치 L233, L234, D264, N296, K321, L327, 또는 P328에서 돌연변이를 포함하는데, 이때 잔기는 서열 번호: 23의 위치 233, 234, 264, 296, 321, 327, 및 328에 대응된다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233 및 L234에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 잔기 위치 K321, L327, 또는 P328에서의 돌연변이와 함께 L233 및 L234에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233, L234, 및 K321에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233, L234, 및 L327에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233, L234, 및 K321에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233, L234, 및 P328에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 D264 및 N296에서 돌연변이를 포함한다. 몇몇 경우에서, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 프레임워크 내의 잔기 L233, L234, D264, N296, K321, L327 또는 P328과 동등한 위치가 고려된다. 몇몇 경우에서, 또한 IgG1, IgG2, 또는 IgG4 프레임워크 내의 서열 번호: 23의 잔기 L233, L234, D264, N296, K321, L327, 또는 P328에 대응되는 잔기에 대한 돌연변이도 고려된다.

[0090] 몇몇 실시양태에서, Fc 영역은 L233A, L234A, D264A, N296G, K321G, L327R, 또는 P328G를 포함하는데, 이때 잔기는 서열 번호: 23의 위치 233, 234, 264, 296, 321, 327, 및 328에 대응된다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233A 및 L234A를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 K321G, L327R, 또는 P328G와 함께 L233A 및 L234A를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233A, L234A, 및 K321G를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233A, L234A, 및 L327R을 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233A, L234A, 및 K321G를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 L233A, L234A, 및 P328G를 포함한다. 몇몇 경우에서, Fc 영역은 D264A 및 N296G를 포함한다.

[0091] 몇몇 실시양태에서, 인간 IgG 불변부는 예를 들어 Natsume *et al.*, 2008 *Cancer Res*, **68**(10): 3863-72; Idusogie *et al.*, 2001 *J Immunol*, **166**(4): 2571-5; Moore *et al.*, 2010 *mAbs*, **2**(2): 181- 189; Lazar *et al.*, 2006 *PNAS*, **103**(11): 4005-4010, Shields *et al.*, 2001 *JBC*, **276**(9): 6591- 6604; Stavenhagen *et al.*, 2007 *Cancer Res*, **67**(18): 8882-8890; Stavenhagen *et al.*, 2008 *Advan. Enzyme Regul.*, **48**: 152-164; Alegre et al., 1992 *J Immunol*, **148**: 3461-3468; Reviewed in Kaneko and Niwa, 2011 Biodrugs, 25(1): 1-11에 기재된 아미노산 변경을 이용하여 항체 의존성 세포독성(ADCC) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC)을 변경하기 위해 변형된다.

[0092] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체는 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)를 포함하는 전장 항체이다. 몇몇 경우에서, 중쇄(HC)는 표 6으로부터 선택된 서열을 포함한다. 몇몇 경우에서, 경쇄(LC)는 표 7로부터 선택된 서열을 포함한다. 밑줄친 영역은 각각의 CDR을 의미한다.

표 6

명칭	HC 서열	서열 번호:
13E4_VH1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAQKFQGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	23
13E4_VH1_a	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAQKFQGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	24
13E4_VH1_b	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAQKFQGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG	25

[0093]

	CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**G**VSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	
13E4_VH1_c	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAQKFQGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA**R**PAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	26
13E4_VH1_d	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAQKFQGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**G**APIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	27
13E4_VH1_e	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAQKFQGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQY**G**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	28
13E4_VH2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WIGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSRLRSDDTAVYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	29
13E4_VH2_a	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WIGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSRLRSDDTAVYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	30

[0094]

13E4_VH2_b	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WIGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSRLRSDDTAVYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**G**VSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	31
13E4_VH2_c	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WIGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSRLRSDDTAVYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA**R**PAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	32
13E4_VH2_d	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WIGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSRLRSDDTAVYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**G**APIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	33
13E4_VH2_e	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WIGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSRLRSDDTAVYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQY**G**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	34
13E4_VH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPIQGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	35
13E4_VH3_a	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPIQGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK	36

[0095]

	AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	
13E4_VH3_b	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPIQGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCGVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	37
13E4_VH3_c	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPIQGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKARPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	38
13E4_VH3_d	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPIQGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	39
13E4_VH3_e	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPIQGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	40
13E4_VH4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	41
13E4_VH4_a	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL	42

[0096]

	GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	
13E4_VH4_b	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**G**VSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	43
13E4_VH4_c	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA**R**PAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	44
13E4_VH4_d	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**G**APIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	45
13E4_VH4_e	QVQLVQSGAEVKKPGA**S**VKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLE WMGEINPINGRSNYAEKFQGRVTLTVDTSSSTAYMELSSLRSEDTATYY CARGTRAMHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQY**G**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	46

[0097]

표 7

명칭	LC 서열	서열 번호:
13E4_VL1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYNNLAWYQQKPGKSPKLLIYA ATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC	47
13E4_VL2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYNNLAWYQQKPGKAPKLLIY AATNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTF GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC	48
13E4_VL3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYNNLAWYQQKPGKAPKLLIY AATNLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPLTF GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC	49
13E4_VL4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYA GTNLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFANYYCQHFWGTPLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC	50

[0098]

[0099] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체는 기준 항트랜스페린 수용체 항체와 비교하여 개선된 혈청 반감기를 보유한다. 몇몇 경우에서, 개선된 혈청 반감기는 기준 항트랜스페린 수용체 항체보다 적어도 30분, 1시간, 1.5 시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 12시간, 18시간, 24시간, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 14일, 30일, 또는 더 길다.

[0100] *항체 또는 이의 결합 단편의 생성*

[0101] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 폴리펩타이드(예를 들어, 항체 및 이의 결합 단편)는, 특히 화학적 합성 또는 재조합 발현에 의한, 폴리펩타이드(예를 들어, 항체)의 합성에 유용하다고 당해 기술분야에 알려진 임의의 방법을 사용하여 생성되며, 바람직하게는 재조합 발현 기술에 의해 생성된다.

[0102] 몇몇 경우에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 재조합적으로 발현되고, 항체 또는 이의 결합 단편을 코딩하는 핵산은 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드로부터 조립되며(예를 들어, Kutmeier et al., 1994, BioTechniques 17:242에 기재된 바와 같이), 이는 항체를 코딩하는 서열의 일부를 함유하는 중첩 올리고뉴클레오타이드 함유 부분의 합성, 이들 올리고뉴클레오타이드의 어닐링 및 라이게이션, 이어서 PCR에 의해 라이게이션된 올리고뉴클레오타이드의 증폭을 포함한다.

[0103] 대안적으로, 항체를 코딩하는 핵산 분자는 경우에 따라 서열의 3' 단부와 5' 단부에 하이브리드화 가능한 합성 프라이머를 사용하는 PCR 증폭에 의해 또는 특정 유전자 서열에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하는 클로닝에 의해 적합한 공급원(예를 들어, 면역글로불린을 발현하는 임의의 조직 또는 세포로부터 생성된 cDNA 라이브러리 또는 항체 cDNA 라이브러리)으로부터 생성된다.

[0104] 몇몇 경우에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 경우에 따라 예를 들어 Kohler 및 Milstein 1975, Nature 256:495-497에 기재된 바와 같이, 또는 Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72 또는 Cole et al., 1985 in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R Liss, Inc, pp 77-96에 기재된 바와 같이, 토끼와 같은 동물을 면역화하여 폴리클로날 항체를 생성하거나, 더 바람직하게는 모노클로날 항체를 생성함으로써 생성된다. 대안적으로, 항체의 적어도 Fab 부분을 코딩하는 클론은 경우에 따라 특정 항원에 결합하는 Fab 단편의 클론을 위한 Fab 발현 라이브러리(예를 들어, Huse et al., 1989, Science 246:1275-1281에 기재된 바와 같이)를 스크리닝함으로써, 또는 항체 라이브러리(예를 들어, Clackson et al., 1991, Nature 352:624; Hane et al., 1997 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:4937 참조)를 스크리닝함으로써 수득한다.

[0105] 몇몇 실시양태에서, 적절한 생물학적 활성의 인간 항체 분자 유래의 유전자와 함께 적절한 항원 특이성의 마우스 항체 분자 유래의 유전자를 스플라이싱함으로써 "키메라 항체"의 생성을 위해 개발된 기술(Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:851-855; Neuberger et al., 1984, Nature 312:604-608; Takeda et al., 1985, Nature 314:452-454)이 이용된다. 키메라 항체는 상이한 부분이 상이한 동물 종으로부터 유래한 분자, 예를 들어 설치류 모노클로날 항체로부터 유래된 가변부 및 인간 면역글로불린 불변부를 갖는 것들, 예를 들어 인간화 항체이다.

[0106] 몇몇 실시양태에서, 단일 사슬 항체의 생성에 대해 기재된 기술(미국 특허 4,694,778; Bird, 1988, Science 242:423-42; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; 및 Ward et al., 1989, Nature 334:544-54)는 단일 사슬 항체를 생성하는데 적용된다. 단일 사슬 항체는 아미노산 브리지를 통해 Fv 영역의 중쇄 및 경쇄 단편을 연결하여 단일 사슬 폴리펩타이드를 생성함으로써 형성된다. 이. 콜라이(*E. coli*)에서의 작용성 Fv 단편의 조립을 위한 기술도 경우에 따라 사용된다(Skerra et al., 1988, Science 242:1038-1041).

[0107] 몇몇 실시양태에서, 항체의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터 또는 항체의 뉴클레오타이드 서열은 통상적인 기술(예를 들어, 전기 천공, 리포좀 형질감염 및 칼슘 포스페이트 침전)에 의해 숙주 세포로 전달되고, 이어서 형질감염된 세포는 통상적인 기술에 의해 배양되어 항체를 생성한다. 특정 실시양태에서, 항체의 발현은 구성적, 유도성 또는 조직, 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

[0108] 몇몇 실시양태에서, 다양한 숙주 발현 벡터 시스템이 본 출원에 기재된 항체 또는 이의 결합 단편을 발현시키기 위해 이용된다. 이러한 숙주 발현 시스템은 항체의 코딩 서열이 생성되고 후속적으로 정제되는 비히클을 나타내지만, 또한 적절한 뉴클레오타이드 코딩 서열로 형질전환 또는 형질감염되는 경우 항체 또는 이의 결합 단편을 인 시츄 발현하는 세포를 나타낸다. 이들은 항체 또는 이의 결합 단편 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 박테리아(예를 들어, 이. 콜라이 및 비. 섭

틸리스(*B. subtilis*))와 같은 미생물; 항체 또는 이의 결합 단편 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예를 들어, 사카로마이세스 피키아(*Saccharomyces Pichia*)); 항체 또는 이의 결합 단편 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 배큘로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 항체 또는 이의 결합 단편 코딩 서열을 함유하는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들어, Ti 플라스미드)로 형질전환되거나 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 콜리플라워 모자이크 바이러스(CaMV) 및 담배 모자이크 바이러스(TMV)로 감염된 식물 세포 시스템; 또는 포유동물 세포의 게놈(예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스(예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 75K 프로모터)로부터 유래한 프로모터를 함유하는 재조합 발현 구축물을 포함하는 포유동물 세포 시스템(예를 들어, COS, CHO, BH, 293, 293T, 3T3 세포)을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0109] 재조합 단백질의 장기간 고수율 생성을 위해서는 안정한 발현이 바람직하다. 몇몇 경우에서, 항체를 안정적으로 발현하는 세포주는 경우에 따라 조작된다. 바이러스 복제 기점을 함유하는 발현 벡터를 사용하기보다는, 숙주 세포는 적절한 발현 제어 요소(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결 인자, 폴리아데닐화 부위 등) 및 선택 가능한 마커에 의해 제어되는 DNA로 형질전환된다. 외래 DNA의 도입 후, 조작된 세포를 농축 배지에서 1-2일 동안 성장하도록 한 후, 선택적 배지로 교체해 준다. 재조합 플라스미드에서 선별 가능한 마커는 선별에 대한 내성을 부여하고, 세포가 플라스미드를 염색체에 안정적으로 통합하고 성장하여 포사이를 형성하고 결국 복제되어 세포주로 확장되도록 한다. 이 방법은 유리하게는 항체 또는 이의 결합 단편을 발현하는 세포주를 조작하는 데 사용될 수 있다.

[0110] 몇몇 경우에서, 각각 tk-, hgprt-, 또는 aprt-세포에서 사용되는 헤르페스 심플렉스 바이러스 티미딘 키나아제(Wigler et al., 1977, Cell 11:223), 하이포잔틴-구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라아제(Szybalska & Szybalski, 192, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202) 유전자를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아닌 많은 선별 시스템이 사용된다. 또한, 대사길항물질 내성이 다음 유전자에 대한 선별의 기초로서 사용된다: 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여하는 dhfr(Wigler et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:357; O'Hare et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527); 미코페놀산에 대한 내성을 부여하는 gpt(Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072); 아미노글리코사이드 G-418에 대한 내성을 부여하는 neo(Clinical Pharmacy 12:488-505; Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann Rev Pharmacol Toxicol 32:573-596; Mulligan, 1993, Science 260:926-932; 및 Morgan and Anderson, 1993, Ann Rev Biochem 62:191-217; May, 1993, TIB TECH 11(5):155-215) 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro(Santerre et al., 1984, Gene 30:147). 사용될 수 있는 재조합 DNA 기술 분야에 통상적으로 공지된 방법은 Ausubel et al.(eds, 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; and in Chapters 12 and 13, Dracopoli et al.(eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY; Colberre-Garapin et al., 1981, J Mol Biol 150:1)에 기재되어 있다.

[0111] 몇몇 경우에서, 항체의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가된다(검토를 위해, Bebbington 및 Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol 3(Academic Press, New York, 1987) 참조). 항체를 발현하는 벡터 시스템에서 마커가 증폭 가능한 경우, 숙주 세포 배양물에 존재하는 억제제 수준의 증가는 마커 유전자의 카피 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역은 항체의 뉴클레오타이드 서열과 관련되기 때문에, 항체의 생성 또한 증가할 것이다(Crouse et al., 1983, Mol Cell Biol 3:257).

[0112] 몇몇 경우에서, 항체 또는 항체 컨쥬게이트의 정제 또는 분석을 위해 당해 기술분야에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화성, 특히 단백질 A 후 특정 항원에 대한 친화성, 및 사이징 컬럼 크로마토그래피), 원심 분리, 차등 용해성, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기술에 의해 수행된다. 예시적인 크로마토그래피 방법은 강한 음이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호 작용 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 및 고속 단백질 액체 크로마토그래피를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0113] **항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트**

[0114] 몇몇 실시양태에서, 상기 기재된 항트랜스페린 수용체 항체는 페이로드에 추가로 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 페이로드는 소분자를 포함한다. 다른 예에서, 페이로드는 단백질 또는 펩타이드를 포함한다. 추가 예에서, 페이로드는 폴리핵산 분자를 포함한다.

[0115] 몇몇 경우에서, 페이로드 대 항트랜스페린 수용체 항체의 비율(약물 대 항체 비율 또는 DAR 비율)은 약 1:1,

2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 11:1, 12:1, 13:1, 14:1, 15:1, 또는 16:1이다.

[0116] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트는 하기 식 (I)을 포함한다:

[0117] $A-(X^1-B)_n$

[0118] 식 (I)

[0119] 상기 식에서,

[0120] A는 항트랜스페린 수용체 항체를 포함하고;

[0121] B는 페이로드를 포함하고;

[0122] X^1은 결합 또는 링커로 구성되고;

[0123] N은 1-12로부터 선택된 평균값이다.

[0124] 몇몇 경우에서, B 대 A (항트랜스페린 수용체 항체)의 DAR 비율은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 1이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 2이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 3이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 4이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 6이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 8이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 10이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 12이다. 몇몇 경우에서, B 대 A의 DAR 비율은 약 16이다.

[0125] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 1이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 2이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 3이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 4이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 5이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 6이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 7이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 8이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 9이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 10이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 11이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 12이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 13이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 14이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 15이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자(B) 대 항트랜스페린 수용체 항체 A의 DAR 비율은 약 16이다.

[0126] 몇몇 실시양태에서, B는 소분자, 펩타이드, 또는 단백질을 포함한다.

[0127] 몇몇 실시양태에서, B는 폴리핵산 분자를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 패신저 스트랜드 및 가이드 스트랜드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 패신저 스트랜드는 $A-X^1$에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, $A-X^1$은 패신저 스트랜드의 5' 단부에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, $A-X^1$은 패신저 스트랜드의 3' 단부에 컨쥬게이션된다.

[0128] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트는 하기 식 (II)를 포함한다:

[0129] $A-X^1-(B-X^2-C)_n$

[0130] 식 (II)

[0131] 상기 식에서,

[0132] A는 항트랜스페린 수용체 항체를 포함하고;

[0133] B는 페이로드를 포함하고;

[0134] C는 폴리머로 구성되고;

[0135] X^1은 결합 또는 제1 링커로 구성되고;

[0136] X^2는 결합 또는 제2 링커로 구성되고;

[0137] n은 1-12로부터 선택된 평균값이다.

[0138] 몇몇 경우에서, C는 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0139] 몇몇 경우에서, B는 폴리핵산 분자이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 패신저 스트랜드 및 가이드 스트랜드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 패신저 스트랜드는 A-X^1 및 X^2-C에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, A-X^1은 패신저 스트랜드의 5' 단부에 컨쥬게이션되고, X^2-C는 패신저 스트랜드의 3' 단부에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, X^2-C는 패신저 스트랜드의 5' 단부에 컨쥬게이션되고, A-X^1은 패신저 스트랜드의 3' 단부에 컨쥬게이션된다.

[0140] 몇몇 경우에서, X^1 및 X^2는 각각 독립적으로 비폴리머 링커이다.

[0141] 몇몇 경우에서, 식 (II) A-X^1-(B-X^2-C)$_n$의 컨쥬게이트는 엔도솜 분해성 모이어티인 D를 추가로 포함한다.

[0142] *컨쥬게이션 화학*

[0143] 몇몇 실시양태에서, B는 화학적 라이게이션 과정에 의해 A에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, B는 천연 라이게이션에 의해 A에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 컨쥬게이션은 Dawson, et al. "Synthesis of protein by native chemical ligation," *Science* **1994**, *266*, 776-779; Dawson, et al., "Modulation of Reactivity in Native Chemical Ligation through the Use of Thiol Additives," *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 4325-4329; Hackeng, et al. "Protein synthesis by native chemical ligation: Expanded scope by using straightforward methodology.," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 10068-10073; 또는 Wu, et al. "Building complex glycopeptides: Development of a cysteine-free native chemical ligation protocol," *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4116-4125에 기재된 바와 같다. 몇몇 경우에서, 컨쥬게이션은 미국 특허 8,936,910에 기재된 바와 같다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 천연 라이게이션 화학을 통해 부위 특이적으로 또는 비특이적으로 결합 모이어티에 컨쥬게이션된다.

[0144] 몇몇 경우에서, B는 "트레이슬리스(traceless)" 커플링 기술(Philochem)을 사용하는 부위 지정 방법에 의해 결합 모이어티에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, "트레이슬리스" 커플링 기술은 알데히드기를 함유하는 폴리핵산 분자와 추후 컨쥬게이션되는 결합 모이어티 상의 N-말단 1,2-아미노티올기를 이용한다(Casi et al., "Site-specific traceless coupling of potent cytotoxic drugs to recombinant antibodies for pharmacodelivery," JACS **134** (13): 5887-5892 (2012) 참조).

[0145] 몇몇 경우에서, B는 결합 모이어티 내에 혼입된 비천연 아미노산을 사용하는 부위 지정 방법에 의해 A에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 비천연 아미노산은 p-아세틸페닐알라닌(pAcPhe)을 포함한다. 몇몇 경우에서, pAcPhe의 케토기는 알콕시-아민 유도체 컨쥬게이션 모이어티에 선택적으로 커플링되어 옥심 결합을 형성한다(Axup et al., "Synthesis of site-specific antibody-drug conjugates using unnatural amino acids," PNAS **109** (40): 16101-16106 (2012) 참조).

[0146] 몇몇 경우에서, B는 효소 촉매 과정을 사용하는 부위 지정 방법에 의해 A에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 부위 지정 방법은 SMARTag™ 기술(Redwood)을 사용한다. 몇몇 경우에서, SMARTag™ 기술은 알데히드 태그의 존재하에서의 산화 과정을 통해 포르밀글리신 생성 효소(FGE)에 의해 시스테인으로부터 포르밀글리신(FGly) 잔기를 생성한 후, 히드라지노-픽텟-스펭글러(Hydrazino-Pictet-Spengler)(HIPS) 라이게이션을 통해 FGly을 알킬히드라진 작용화된 폴리핵산 분자에 컨쥬게이션시키는 것을 포함한다(Wu et al., "Site-specific chemical modification of recombinant proteins produced in mammalian cells by using the genetically encoded aldehyde tag," PNAS **106**(9): 3000-3005 (2009); Agarwal, et al., "A Pictet-Spengler ligation for protein chemical modification, "PNAS **110**(1): 46-51 (2013) 참조).

[0147] 몇몇 경우에서, 효소 촉매 과정은 미생물 트랜스글루타미나아제(mTG)를 포함한다. 몇몇 경우에서, B는 미생물 트랜스글루타미나아제 촉매 과정을 이용하여 A에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, mTG는 인식 서열 내의 글루타

민의 아미드 측쇄와 작용화된 폴리핵산 분자의 1차 아민 사이의 공유 결합의 형성을 촉매한다. 몇몇 경우에서, mTG는 스트렙토마이세스 모바렌시스(*Streptomyces mobarensis*)로부터 생성된다(Strop et al., "Location matters: site of conjugation modulates stability and pharmacokinetics of antibody drug conjugates," Chemistry and Biology **20**(2) 161-167 (2013) 참조).

[0148] 몇몇 경우에서, B는 서열 특이적 트랜스펩티다아제를 이용하는, PCT 공개 번호 WO2014/140317에 기재된 바와 같은 방법에 의해 A에 컨쥬게이션된다.

[0149] 몇몇 경우에서, B는 미국 특허 출원 공개 번호 2015/0105539 및 2015/0105540에 기재된 방법에 의해 A에 컨쥬게이션된다.

[0150] **페이로드**

[0151] *폴리핵산 분자*

[0152] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 폴리핵산 분자이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 유전자 요법, 예를 들어 RNA 간섭(RNAi) 또는 유전자 침묵(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드) 요법에 관련된다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 mRNA의 스플라이싱을 조절함으로써 코딩된 단백질의 생성을 후속적으로 조절한다.

[0153] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 짧은 간섭 핵산(siNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 이중 스트랜드 RNA(dsRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 또는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)를 포함한다.

[0154] 다른 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.

[0155] 다른 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 PMO를 포함한다.

[0156] 추가 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 mRNA를 포함한다.

[0157] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 위축 관련 유전자(아트로진으로 언급하는 경우도 있음)의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 아트로진, 또는 위축 관련 유전자는 위축 근육에서 상향조절된 또는 하향조절된 유전자이다. 몇몇 경우에서, 상향조절된 아트로진은 유비퀴틴 리가아제, 포크헤드 박스 전사 인자, 성장 인자, 탈유비퀴틴화 효소, 또는 글루코코르티코이드 유도된 위축과 관련된 단백질을 코딩하는 유전자를 포함한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 유비퀴틴 리가아제(예를 들어, E3 유비퀴틴 리가아제 또는 미토콘드리아 유비퀴틴 리가아제)이다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 포크헤드 박스 전사 인자이다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 성장 인자이다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 탈유비퀴틴화 효소이다.

[0158] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *FBXO32*, *TRIM63*, *TRAF6*, *FBXO30*, *FBXO40*, *NEDD4*, *TRIM32*, *MUL1*, *STUB1*, *FOXO1*, *FOXO3*, *MSTN*, *USP14*, *USP19*, *DDIT4*, *CTSL2*, *TGIF*, *MYOG*, *HDAC2*, *HDAC3*, *MT1L*, *MT1B*, 또는 *DMPK*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *FBXO32*, *TRIM63*, *FOXO1*, *FOXO3*, 또는 *MSTN*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *FBXO32*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *TRIM63*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *TRAF6*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *FBXO30*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *FBXO40*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *NEDD4*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *TRIM32*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *MUL1*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *STUB1*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *FOXO1*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *FOXO3*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *MSTN*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *USP14*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *USP19*. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *DDIT4*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *CTSL2*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *TGIF*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *MYOG*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *HDAC2*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *HDAC3*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우

에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *MT1L*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *MT1B*의 타겟 서열에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 *DMPK*의 타겟 서열에 하이브리드화한다.

[0159] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 신경근육성 질병, 유전병, 암, 유전 질병, 또는 심혈관 질환으로 제한되지 않는 질병 또는 질환을 초래하는 부적절하게 스플라이싱된 mRNA의 타겟 영역에 하이브리드화한다. 몇몇 경우에서, 신경근육성 질병 또는 질환은 뒤시엔느 근이영양증, 베커 근이영양증, 안면견갑상완 근이영양증, 원위성 근이영양증, 또는 근긴장성 이영양증을 포함한다.

[0160] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 뒤시엔느 근이영양증을 유발하는 *DMD* 유전자 내에서 돌연변이된 엑손을 타겟팅한다. 뒤시엔느 근이영양증을 유발하는 *DMD* 유전자 내에서 돌연변이된 예시적인 엑손은 엑손 2, 3, 4, 5, 6, 7, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 및 78을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0161] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 종양 유전자의 타겟 영역에 하이브리드화한다. 예시적인 종양 유전자는 *Ab1, AKT-2, ALK, AML1*(또는 *RUNX1*), *AR, AXL, BCL-2, 3, 6, BRAF, c-MYC, EGFR, ErbB-2*(*Her2, Neu*), *Fms, FOS, GLI1, HPRT1, IL-3, INTS2, JUN, KIT, KS3, K-sam, LBC*(*AKAP13*), *LCK, LMO1, LMO2, LYL1, MAS1, MDM2, MET, MLL*(*KMT2A*), *MOS, MYB, MYH11/CBFB, NOTCH1*(*TAN1*), *NTRK1*(*TRK*), *OST*(*SLC51B*), *PAX5, PIM1, PRAD-1, RAF, RAR/PML, HRAS, KRAS, NRAS, REL/NRG, RET, ROS, SK1, SRC, TIAM1,* 또는 *TSC2*를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 *KRAS*, *EGFR*, *AR*, *HPRT1*, *CNNTB1*(β-카테닌), 또는 β-카테닌 관련 유전자의 타겟 영역에 하이브리드화된다.

[0162] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 mRNA를 포함한다. 몇몇 경우에서, mRNA는 세포독성 단백질 또는 펩타이드를 코딩한다. 예시적인 세포독성 단백질 또는 펩타이드는 박테리아 세포독소, 예를 들어 알파-포어 형성 독소(예를 들어, 이. 콜라이 유래의 사이토라이신 A), 베타-포어 형성 독소(예를 들어, α-헤모라이신, PVL-판톤 발렌타인 루코시딘, 에어로라이신, 클로스트리디얼 엡실론 독소, 클로스트리디움 페르프린젠스(*clostridium perfringens*) 내독소), 이중 독소(탄저병 독소, 부종 독소, 씨. 보툴리눔(*C. botulinum*) C2 독소, 씨. 스피로폼(*C. spirofome*) 독소, 씨. 페르프린젠스 아이오타 독소, 씨. 디피실(*C. difficile*) 세포 치사 독소 (A 및 B)), 프리온, 파라스포린, 콜레스테롤 의존성 사이토라이신(예를 들어, 뉴모라이신), 작은 포어 형성 독소(예를 들어, 그라미시딘 A), 시아노독소(예를 들어, 마이크로시스틴, 노둘라린스), 혈액독소, 신경독소(예를 들어, 보툴리늄 신경독소), 세포독소, 콜레라 독소, 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소 A, 파상풍 독소, 또는 면역독소(이다루비신, 리신 A, CRM9, 포크위드 항바이러스 단백질, DT)를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0163] 몇몇 경우에서, mRNA는 세포독성 펩타이드 또는 면역 시스템과 관련된 펩타이드, 예를 들어 세포독성 T 세포 또는 B 세포 에피토프를 코딩하여 특정 면역 반응을 자극하는데, 이는 MHC I 복합체, 보체 시스템의 막 공역 복합체 단백질(MAC), 페르포린, 그랜자임 및 그래뉼리신을 이용하는 그러한 에피토프의 제시를 통해 이루어진다.

[0164] 몇몇 경우에서, mRNA는 아폽토시스 촉발 단백질 또는 펩타이드, 예를 들어 아폽토시스성 프로테아제 활성화 인자-1(Apaf-1), 사이토크롬-c, 카스파아제 억제제 단백질(CASP2, CASP8, CASP9, CASP10), 아폽토시스 유도 인자(AIF), p53, p73, p63, Bcl-2, Bax, 그랜자임 B, 폴리-ADP 리보오스 폴리머라아제(PARP), 및 P 21-활성화된 키나아제 2(PAK2)를 코딩한다.

[0165] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 핵산 디코이이다. 몇몇 경우에서, 핵산 디코이는 단백질 결합 핵산의 모방체, 예를 들어 RNA 기반 단백질 결합 모방체이다. 예시적인 핵산 디코이는 전사 활성화 영역(TAR) 디코이 및 Rev 반응 요소(RRE) 디코이를 포함한다.

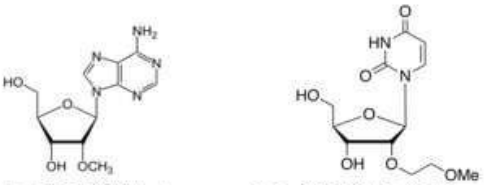
[0166] 몇몇 경우에서, 페이로드는 압타머이다. 압타머는 특정 타겟 분자에 결합하는 작은 올리고뉴클레오타이드 또는 펩타이드 분자이다. 예시적인 핵산 압타머는 DNA 압타머, RNA 압타머, 또는 XNA 압타머를 포함하는데, XMA 압타머는 하나 이상의 비천연 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA 및/또는 DNA 압타머이다. 예시적인 핵산 압타머는 ARC19499(Archemix Corp.), REG1(Regado Biosciences), 및 ARC1905(Ophthotech)를 포함한다.

[0167] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 천연 또는 합성 또는 인공 뉴클레오타이드 유사체 또는 염기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 DNA, RNA 및/또는 뉴클레오타이드 유사체의 조합을 포함한다. 몇몇 경우에서, 합성 또는 인공 뉴클레오타이드 유사체 또는 염기는 리보오스 모이어티, 포스페이트 모이어티, 뉴클레오사이드

모이어티, 또는 이들의 조합에서 변형을 포함한다.

[0168] 몇몇 실시양태에서, 뉴클레오타이드 유사체 또는 인공 뉴클레오타이드 염기는 리보오스 모이어티의 2' 하이드록실기에서 변형을 갖는 핵산을 포함한다. 몇몇 경우에서, 변형은 H, OR, R, 할로, SH, SR, NH2, NHR, NR2 또는 CN을 포함하며, 여기서 R은 알킬 모이어티이다. 예시적인 알킬 모이어티는 할로겐, 황, 티올, 티오에테르, 티오에스테르, 아민(1차, 2차, 또는 3차), 아미드, 에테르, 에스테르, 알코올 및 산소를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 알킬 모이어티는 변형을 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 변형은 아조기, 케토기, 알데히드기, 카르복실기, 니트로기, 니트로소기, 니트릴기, 헤테로사이클기(예를 들어, 이미다졸, 히드라지노 또는 히드록실아미노), 이소시아네이트기 또는 시아네이트기, 또는 황 함유 기(예를 들어, 설폭시드, 설폰, 설피드 및 다이설파이드)를 포함한다. 몇몇 경우에서, 알킬 모이어티는 헤테로 치환을 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 헤테로사이클릭기의 탄소는 질소, 산소 또는 황으로 치환된다. 몇몇 경우에서, 헤테로사이클릭 치환은 모르폴리노, 이미다졸, 및 피롤리디노를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

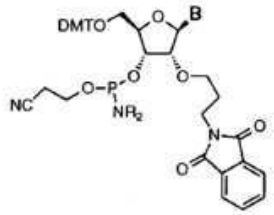
[0169] 몇몇 경우에서, 2'하이드록실기에서의 변형은 2'-O-메틸 변형 또는 2'-O-메톡시 에틸(2'-O-MOE) 변형이다. 몇몇 경우에서, 2'-O-메틸 변형은 리보오스 모이어티의 2'하이드록실기에 메틸기를 추가하는 반면, 2'O-메톡시에틸 변형은 리보오스 모이어티의 2' 하이드록실기에 메톡시에틸기를 추가한다. 아데노신 분자의 2'-O-메틸 변형 및 우리딘의 2'O-메톡시에틸 변형의 예시적인 화학 구조는 하기에 도시한다.



2'-O-메틸-아데노신 2'-O-메톡시에틸 우리딘

[0170]

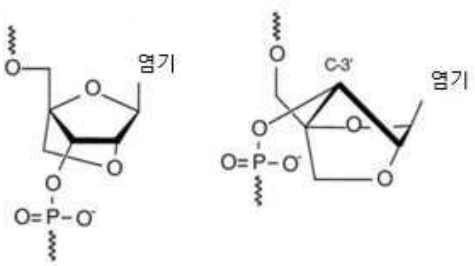
[0171] 몇몇 경우에서, 2' 하이드록실기에서의 변형은 프로필 링커를 포함하는 연장된 아민기가 아민기를 2' 산소에 결합시키는 2'-O-아미노프로필 변형이다. 몇몇 경우에서, 이 변형은 당마다 아민기로부터 하나의 양전하를 도입함으로써 올리고뉴클레오타이드 분자의 포스페이트 유래의 전체 음전하를 중화시켜 그의 양쪽이온성 특성으로 인해 세포 흡수 특성을 개선시킨다. 2'-O-아미노프로필 뉴클레오시드 포스포르아미다이트의 예시적인 화학 구조는 하기에 도시한다.



2'-O-아미노프로필 뉴클레오사이드 포스포르아미다이트

[0172]

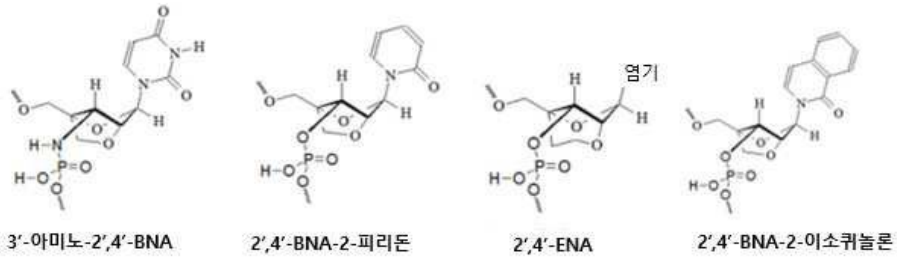
[0173] 몇몇 경우에서, 2' 하이드록실기에서의 변형은 2' 탄소에 결합된 산소 분자가 메틸렌기에 의해 4' 탄소에 연결된 잠금 또는 브리지된 리보오스 변형(예를 들어, 잠금 핵산 또는 LNA)이며, 이에 따라 2'-C, 4'-C-옥시-메틸렌-연결된 비시클릭 리보뉴클레오타이드 단량체를 형성한다. LNA의 화학 구조의 예시적인 표현은 아래에 도시한다. 왼쪽에 나타낸 표현은 LNA 단량체의 화학적 연결성을 강조한다. 우측에 나타낸 표현은 LNA 단량체의 푸라노오스 고리의 잠금된 3'-엔도(^{3}E) 입체 구조를 강조한다.



LNA(잠김 핵산)

[0174]

[0175] 몇몇 경우에서, 2' 하이드록실기에서의 변형은, 예를 들어 2'-4'-에틸렌-브리지된 핵산과 같은 에틸렌 핵산(ENA)을 포함하며, 이는 당 입체 구조를 C3'-엔도 당 주름 입체 구조로 잠근다. ENA는 LNA를 또한 포함하는 변형된 핵산의 브리지된 핵산 부류의 일부이다. ENA 및 브리지된 핵산의 예시적인 화학 구조는 하기에 도시한다.



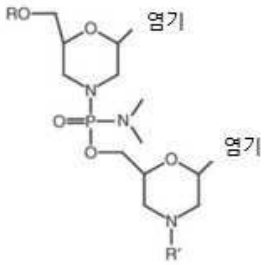
3'-아미노-2',4'-BNA　2',4'-BNA-2-피리돈　2',4'-ENA　2',4'-BNA-2-이소퀴놀론

[0176]

[0177] 몇몇 실시양태에서, 2' 하이드록실기에서의 추가 변형은 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA)를 포함한다.

[0178] 몇몇 실시양태에서, 뉴클레오타이드 유사체는 변형된 염기, 예를 들어 5-프로피닐우리딘, 5-프로피닐시티딘, 6-메틸아데닌, 6-메틸구아닌, N,N,-디메틸아데닌, 2-프로필아데닌, 2-프로필구아닌, 2-아미노아데닌, 1-메틸이노신, 3-메틸우리딘, 5-메틸시티딘, 5-메틸우리딘 및 5번 위치에 변형을 갖는 다른 뉴클레오타이드, 5-(2-아미노)프로필 우리딘, 5-할로시티딘, 5-할로우리딘, 4-아세틸시티딘, 1-메틸아데노신, 2-메틸아데노신, 3-메틸시티딘, 6-메틸우리딘, 2-메틸구아노신, 7-메틸구아노신, 2,2-디메틸구아노신, 5-메틸아미노에틸우리딘, 5-메틸옥시우리딘, 데아자뉴클레오타이드 예를 들어 7-데아자-아데노신, 6-아조우리딘, 6-아조시티딘, 6-아조티미딘, 5-메틸-2-티오우리딘, 다른 티오 염기 예를 들어 2-티오우리딘 및 4-티오우리딘 및 2-티오시티딘, 디히드로우리딘, 슈도우리딘, 큐오신, 아케오신, 나프틸 및 치환된 나프틸기, 임의의 O- 및 N-알킬화 퓨린 및 피리미딘 예를 들어 N6-메틸아데노신, 5-메틸카르보닐메틸우리딘, 우리딘 5-옥시아세트산, 피리딘-4-온, 피리딘-2-온, 페닐 및 변형된 페닐기 예를 들어 아미노페놀 또는 2,4,6-트리메톡시 벤젠, G-클램프 뉴클레오타이드로서 작용하는 변형된 시토신, 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-치환된 우라실 및 티민, 아자피리미딘, 카르복시히드록시알킬 뉴클레오타이드, 카르복시알킬아미노알킬 뉴클레오타이드, 및 알킬카르보닐알킬화 뉴클레오타이드를 포함한다. 변형된 뉴클레오타이드는 또한 당 모이어티와 관련하여 변형된 뉴클레오타이드뿐만 아니라 리보실이 아닌 당 또는 이의 유사체를 갖는 뉴클레오타이드를 포함한다. 예를 들어, 당 모이어티는 몇몇 경우에서, 만노오스, 아라비노오스, 글루코피라노오스, 갈락토피라노오스, 4'-티오리보오스, 및 다른 당, 헤테로사이클 또는 카르보사이클이거나 이들을 기반으로 한다. 용어 뉴클레오타이드는 또한 당해 기술분야에 유니버셜 염기로 알려진 것을 포함한다. 예로서, 유니버셜 염기는 3-니트로피롤, 5-니트로인돌, 또는 네불라린을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

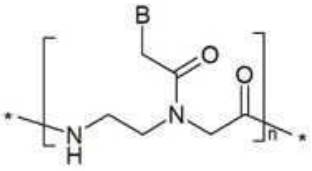
[0179] 몇몇 실시양태에서, 뉴클레오타이드 유사체는 모르폴리노, 펩타이드 핵산(PNA), 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트, 1',5'-언하이드로헥시톨 핵산(HNA), 또는 이들의 조합을 추가로 포함한다. 모르폴리노 또는 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고(PMO)는 그의 구조가 일반 당 및 포스페이트 구조에서 벗어나 천연 핵산 구조를 모방하는 합성 분자를 포함한다. 몇몇 경우에서, 5원 리보오스 고리는 4개의 탄소, 1개의 질소 및 1개의 산소를 함유하는 6원 모르폴리노 고리로 치환된다. 몇몇 경우에서, 리보오스 단량체는 포스페이트기 대신에 포르포르디아미데이트기에 의해 연결된다. 이러한 경우에서, 백본 변경은 모든 양전하 및 음전하를 제거하여, 모르폴리노를 하전된 올리고뉴클레오타이드에 의해 사용되는 것과 같이 세포 전달제의 도움없이 세포막을 통과할 수 있는 중성 분자로 만든다.



모르폴리노

[0180]

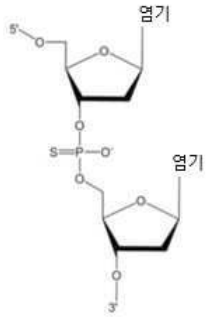
[0181] 몇몇 실시양태에서, 펩타이드 핵산(PNA)은 당 고리 또는 포스페이트 연결을 함유하지 않으며, 염기는 올리고글리신 유사 분자에 의해 부착되고 적절히 이격되어, 백본 전하를 제거한다.



PNA

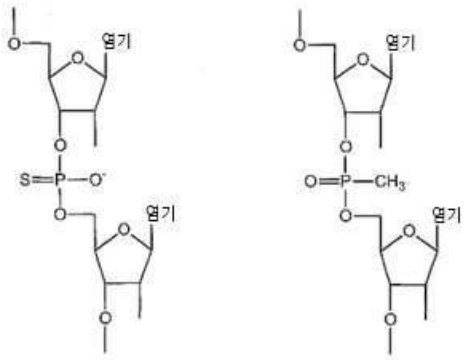
[0182]

[0183] 몇몇 실시양태에서, 하나 이상의 변형은 경우에 따라 뉴클레오타이드간 연결에서 발생한다. 몇몇 경우에서, 변형된 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 메틸포스포네이트, 5'-알킬렌포스포네이트, 5'-메틸포스포네이트, 3'-알킬렌 포스포네이트, 보론트리플루오리데이트, 3'-5'연결 또는 2'-5'연결의 보라노포스페이트 에스테르 및 셀레노포스페이트, 포스포트리에스테르, 티오노알킬포스포트리에스테르, 하이드로젠 포스페이트 연결, 알킬 포스포네이트, 알킬포스포노티오에이트, 아릴포스포노티오에이트, 포스포로셀레노에이트, 포스포로디셀레노에이트, 포스피네이트, 포스포르아미데이트, 3'-알킬포스포르아미데이트, 아미노알킬포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 포스포로피페라지데이트, 포스포로아닐로티오에이트, 포스포로아닐리데이트, 케톤, 설폰, 설폰아미드, 카르보네이트, 카르바메이트, 메틸렌히드라조, 메틸렌디메틸히드라조, 포름아세탈, 티오포름아세탈, 옥심, 메틸렌이미노, 메틸렌메틸이미노, 티오아미데이트, 리보아세틸기에 의한 연결, 아미노에틸 글리신, 실릴 또는 실록산 연결; 예를 들어, 포화되거나 불포화되고/되거나 치환되고/되거나 헤테로원자를 함유하는 1 내지 10개의 탄소의 헤테로원자를 갖거나 갖지 않는 알킬 또는 시클로알킬 연결; 염기가 백본의 아자 질소에 직접적으로 또는 간접적으로 부착된 모르폴리노 구조, 아미드, 또는 폴리아미드를 갖는 연결; 및 이들의 조합을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 포스포로티오에이트 안티센스 올리고뉴클레오타이드(PS ASO)는 포스포로티오에이트 연결을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다. 예시적인 PS ASO는 하기에 도시한다.



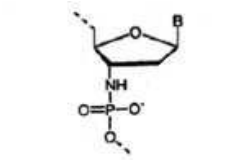
[0184]

[0185] 몇몇 경우에서, 변형은 메틸포스포네이트 또는 티올포스포네이트 변형과 같은 메틸 또는 티올 변형이다. 예시적인 티올포스포네이트 뉴클레오타이드(좌측) 및 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드(우측)는 아래에 도시한다.



[0186]

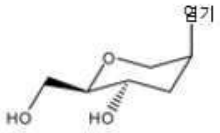
[0187] 몇몇 경우에서, 변형된 뉴클레오타이드는 다음과 같이 도시되는 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다:



N3'-P5' 포스포로아미데이트

[0188]

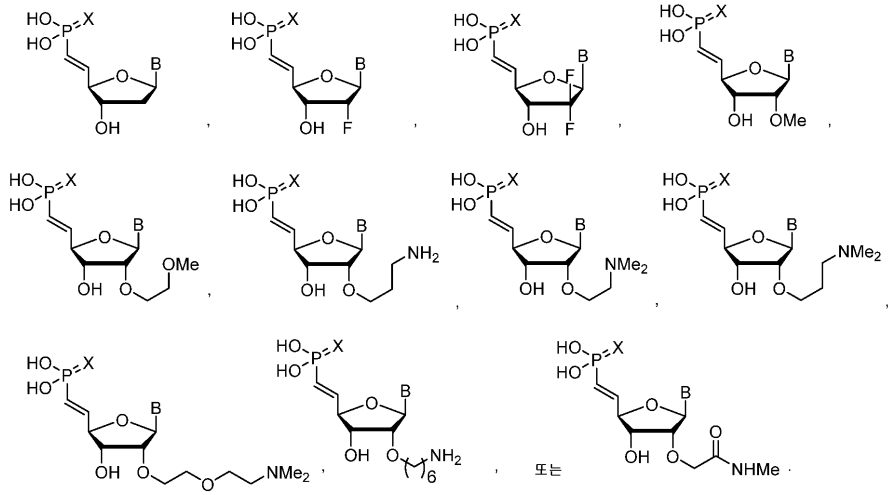
[0189] 몇몇 경우에서, 변형된 뉴클레오타이드는 다음과 같이 도시되는 헥시톨 핵산(또는 1',5'-언하이드로헥시톨 핵산(HNA))을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다:



HNA

[0190]

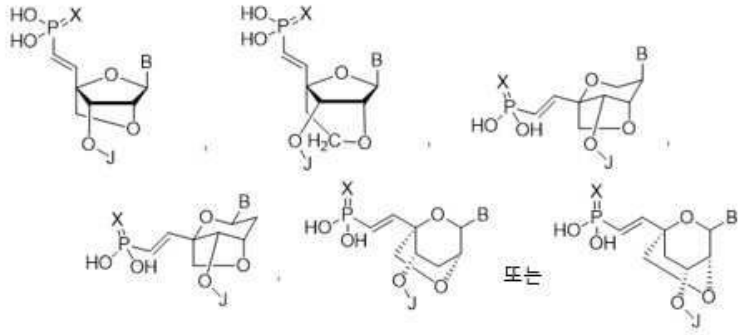
[0191] 몇몇 실시양태에서, 상기 기재된 뉴클레오타이드 유사체 또는 인공 뉴클레오타이드 염기는 리보오스 모이어티의 5' 하이드록실기에 변형을 보유하는 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드 핵산을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드는 하기 제공된 뉴클레오타이드로부터 선택되는데, 이때 X는 O 또는 S이고; B는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이다.



[0192]

[0193] 몇몇 경우에서, 2' 하이드록실기에서의 변형은 2'-O-아미노프로필 변형인데, 이때 프로필 링커를 포함하는 연장된 이민 기는 2' 산소에 아민기를 결합한다. 몇몇 경우에서, 이 변형은 아민기/당으로부터 하나의 양전하를 도입함으로써 올리고뉴클레오타이드의 전체 음전하를 중화함으로써 그의 양쪽이온 특성에 기인하여 세포성 흡수 특성을 개선한다.

[0194] 몇몇 경우에서, 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드는 잠긴 또는 브리지된 리보오스 변형(예를 들어, 잠긴 핵산 또는 LNA) 내의 2' 하이드록실기에서 추가로 변형되는데, 이때 2' 탄소에 결합된 산소 분자는 메틸기에 의해 4' 탄소에 연결됨으로써 2'-C, 4'-C-옥시-메틸렌-연결된 바이시클릭 리보뉴클레오타이드 모노머를 형성한다. 5'-비닐포스포네이트 변형된 LNA의 화학구조의 예시적인 예는 다음에 도시되는데, 이때 X는 O 또는 S이고; B는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고; J는 폴리뉴클레오타이드의 인접한 뉴클레오타이드에 연결하는 뉴클레오타이드간 연결기이다.



LNA(잠김 핵산)

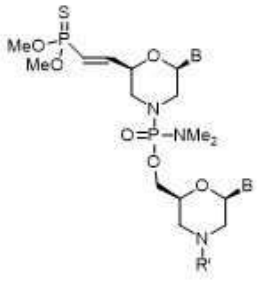
[0195]

[0196] 몇몇 실시양태에서, 2' 하이드록실기에서의 추가적인 변형은 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O- 디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA)를 포함한다.

[0197] 몇몇 실시양태에서, 뉴클레오타이드 유사체는 변형된 염기, 예를 들어 5-프로피닐우리딘, 5-프로피닐시티틴, 6-메틸아데닌, 6-메틸구아닌, N, N, -디메틸아데닌, 2-프로필아데닌, 2-프로필구아닌, 2-아미노아데닌, 1-메틸이노신, 3-메틸우리딘, 5-메틸시티틴, 5-메틸우리딘 및 5 위치에 변형을 보유하는 다른 뉴클레오타이드, 5-(2-아미노) 프로필 우리딘, 5-할로시티틴, 5-할로우리딘, 4-아세틸시티틴, 1-메틸아데노신, 2-메틸아데노신, 3-메틸시티틴, 6-메틸우리딘, 2- 메틸구아노신, 7-메틸구아노신, 2,2-디메틸구아노신, 5-메틸아미노에틸우리딘, 5-메틸옥시우리딘, 데아자뉴클레오타이드(예를 들어, 7-데아자-아데노신, 6-아조우리딘, 6-아조시티틴, 또는 6-아조티미딘), 5-메틸-2-티오우리딘, 다른 티오 염기(예를 들어, 2-티오우리딘, 4-티오우리딘, 및 2-티오시티틴), 디하이드로우리딘, 슈도우리딘, 퀴노신, 아케오신, 나프틸 및 치환된 나프틸기, 임의의 O- 및 N-알킬화된 퓨린 및 피리미딘(예를 들어, N6-메틸아데노신, 5-메틸카루보닐메틸우리딘, 우리딘 5-옥시아세트산, 피리딘-4-온, 또는 피리딘-2-온), 페닐 및 변형된 페닐기, 예를 들어 아미노페놀 또는 2,4, 6-트리메톡시 벤젠, G-클램프 뉴클레오타이드로서 작용하는 변형된 시토신, 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-치환된 우라실 및 티민, 아자피리미딘, 카르복시하이드록시알킬 뉴클레오타이드, 카르복시알킬아미노알킬 뉴클레오타이드, 및 알킬카르보닐알킬화 뉴클레오타이드를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 또한, 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드는 당 모이어티와 관련하여 변형된 뉴클레오타이드뿐만 아니라 리보실이 아닌 당 또는 이의 유사체를 보유하는 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 예를 들어, 몇몇 경우에서, 당 모이어티는 만노오스, 아라비노오스, 글루코피라노오스, 갈라토피라노오스, 4'-티오리보오스, 및 다른 당, 헤테로사이클, 또는 카르보사이클이거나, 또는 이에 기초한다. 또한, 용어 뉴클레오타이드는 유니버셜 염기로서 당해 기술분야에 공지된 것을 포함한다. 예를 들어, 유니버셜 염기는 3-니크로피롤, 5-니트로인돌, 또는 네불라린을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아닌다.

[0198] 몇몇 실시양태에서, 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드 유사체는 모르폴리노, 펩타이드 핵산(PNA), 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트, 또는 1', 5'- 안하이드로헥시톨 핵산(HNA)을 추가로 포함한다. 모르폴리노 또는 포스포르디아미다이트 모르폴리노 올리고(PMO)는 구조가 천연 핵산 구조를 모방하지만 정상적인 당 및 포스페이트 구조로부터 벗어나는 합성 분자를 포함한다. 몇몇 경우에서, 5원 리보오스 고리는 4개의 탄소, 하나의 질소, 및 하나의 산소를 함유하는 6원 모르폴리노 고리로 치환된다. 몇몇 경우에서, 리보오스 단량체는 포스페이트기 대신에 포스포로디아미다이트기에 의해 연결된다. 그러한 경우에서, 백본 변경은 모든 양전하 및 음전하를 제거하여 모르폴리노를 하전된 올리고뉴클레오타이드에 의해 사용된 것과 타이 세포성 전달제의 도움없이 세포막을 가로지를 수 있도록 중성 분자로 만든다. 5'-비닐포스포네이트 변형된 모르폴리노 올리고뉴클레오타이드의 비제한적인 예는 다음에 예시되

는데, 이때 X는 O 또는 S이고; B는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이다.



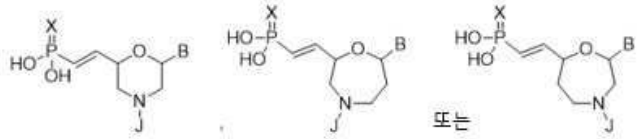
[0199]

[0200] 몇몇 실시양태에서, 상기 기재된 5'-비닐포스포네이트 변형된 모르폴리노 또는 PMO는 양전하 또는 음전하를 포함하는 PMO를 포함하다. 몇몇 경우에서, PMO는 PMO*plus*(Sarepta)이다. PMO*plus*는 임의 수의 (1-피페라지노)포스피닐리덴옥시, (1-(4-(오메가-구아니디노-알카노일))-피페라지노)포스피닐리덴옥시 연결을 함유하는 포스포로디아미다이트 모르폴리노 올리고머(예를 들어, PCT 공보 WO2008/036127에 기재된 것과 같음)를 의미한다. 몇몇 경우에서, PMO는 미국 특허 7943762에 기재되어 있다.

[0201] 몇몇 실시양태에서, 상기 기재된 모르폴리노 또는 PMO는 PMO-X(Sarepta)이다. 몇몇 경우에서, PMO-X는 PCT 공보 WO2011/150408 및 미국 공개 공보 2012/0065169에 개시된 것과 같은 개시된 단부 변형 중 적어도 하나 또는 적어도 하나의 연결을 포함하는 포스포로디아미다이트 모르폴리노 올리고머를 의미한다.

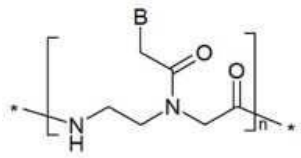
[0202] 몇몇 실시양태에서, 상기 기재된 모르폴리노 또는 PMO는 미국 공개 공보 2014/0296321의 표 5에 기재된 바와 같은 PMO이다.

[0203] 5'-비닐포스포네이트 변형된 핵산의 화학 구조의 예시적인 예는 다음에 예시되는데, 이때 X는 O 또는 S이고; B는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고; J는 뉴클레오타이드간 연결이다.



[0204]

[0205] 몇몇 실시양태에서, 펩타이드 핵산(PNA)은 당 고리 또는 포스페이트 연결을 함유하지 않고, 염기는 올리고글리신 유사 분자에 의해 부착되고 적절히 이격되어 백본 전하를 제거한다.



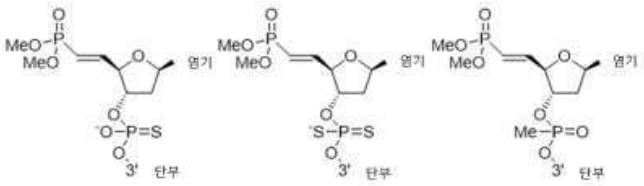
PNA

[0206]

[0207] 몇몇 실시양태에서, 5'-비닐포스포네이트 변형된 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 변형은 경우에 따라 뉴클레오타이드간 연결에서 발생한다. 몇몇 경우에서, 변형된 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트; 포스포로디티오에이트; 메틸포스포네이트; 5'-알킬렌포스포네이트; 5'-메틸포스포네이트; 3'-알킬렌포스포네이트; 보론트리풀루오리데이트; 보라노 포스페이트 에스테르 및 3'-5' 연결 또는 2'-5' 연결의 셀레노포스페이트; 포스포트리에스테르; 티오노알킬포스포트리에스테르; 수소 포스포네이트연결; 알킬 포스포네이트; 알킬포스포노티오에이트; 아릴포스포노티오에이트; 포스포로셀로노에이트; 포스포로디셀레노에이트; 포스피네이트; 포스포르아미데이트; 3'-알킬포스포로아미데이트; 아미노알킬포스포로아미데이트; 티오노포스포로아미데이트; 포스포로피페라지데이트; 포스포로아닐로티오에이트; 포스포로아닐리데이트; 케톤; 설폰; 설폰아미드; 카르보네이트; 카르바메이트; 메틸렌하이드라조; 메틸렌 디메틸하이드라조; 포름아세탈; 티오포름아세탈; 옥심; 메틸렌이미노; 메틸렌 메틸이미노; 티오아미데이트; 리보아세틸기와의 연결; 아미노에틸 글리신; 실릴 또는 실록산 연결; 이종원자의 존재 또는 부재 하에서 포화 또는 불포화 및/또는 치환 및/또는 이종원자를 함유하는 예를 들어 1 내지 10개의 탄소의 알킬 또는 시클로알킬 연결; 염기가 백본의 아자 질소에 직접적으로 또는 간접적으로 부착된 모르폴

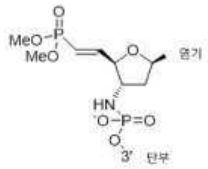
리노 구조, 아미드, 또는 폴리아미드와의 연결; 및 이들의 조합을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0208] 몇몇 경우에서, 변형은 메틸 또는 티올 변형, 예를 들어 메틸포스포네이트 또는 티올포스포네이트 변형이다. 예시적인 티올포스포네이트 뉴클레오타이드(좌측), 포스포로디티오에이트(중앙) 및 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드(우측)가 다음에 예시된다.



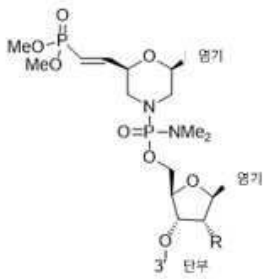
[0209]

[0210] 몇몇 경우에서, 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드는 다음에 예시된 포스포르아미다이트를 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다:



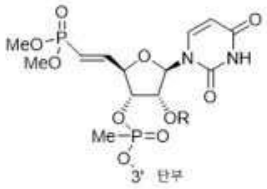
[0211] .

[0212] 몇몇 경우에서, 변형된 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로디아미데이트 연결이다. 모르폴리노 시스템과 포스포로디아미데이트 연결의 비제한적인 예는 다음에 나타낸다.



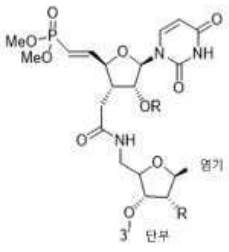
[0213]

[0214] 몇몇 경우에서, 변형된 뉴클레오타이드간 연결은 메틸포스포네이트 연결이다. 메틸포스포네이트 연결의 비제한적인 예는 다음에 나타낸다.



[0215]

[0216] 몇몇 경우에서, 변형된 뉴클레오타이드간 연결은 아미드 연결이다. 아미드 연결의 비제한적인 예는 다음에 나타낸다.



[0217]

[0218] 몇몇 경우에서, 5'-비닐포스포네이트 변형된 뉴클레오타이드는 다음에 나타낸 변형된 핵산을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0219] 몇몇 실시양태에서, 하나 이상의 변형은 변형된 포스페이트 백본을 포함하는데, 이때 변형은 중성 또는 하전되지 않은 백본을 생성한다. 몇몇 경우에서, 포스페이트 백본은 알킬화에 의해 변형되어 하전되지 않거나 중성인 포스페이트 백본을 생성한다. 본 출원에서 사용된 바와 같이, 알킬화는 메틸화, 에틸화, 및 프로필화를 포함한다. 몇몇 경우에서, 알킬화의 맥락에서 본 출원에 사용된 바와 같이, 알킬기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 선형 또는 분지형 포화 탄화수소기를 의미한다. 몇몇 경우에서, 예시적인 알킬기는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, 헥실, 이소헥실, 1,1 -디메틸부틸, 2,2-디메틸부틸, 3,3- 디메틸부틸, 및 2-에틸부틸기를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 변형된 포스페이트는 미국 특허 9481905에 기재된 바와 같은 포스페이트기이다.

[0220] 몇몇 실시양태에서, 추가적인 변형된 포스페이트 백본은 메틸포스포네이트, 에틸 포스포네이트, 메틸티오포스포네이트, 또는 메톡시포스포네이트를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 변형된 포스페이트는 메틸포스포네이트이다. 몇몇 경우에서, 변형된 포스페이트는 에틸포스포네이트이다. 몇몇 경우에서, 변형된 포스페이트는 메틸티오포스포네이트이다. 몇몇 경우에서, 변형된 포스페이트는 메톡시포스포네이트이다.

[0221] 몇몇 실시양태에서, 하나 이상의 변형은 경우에 따라 리보오스 모이어티, 포스페이트 백본 및 뉴클레오사이드의 변형, 또는 3' 또는 5' 말단에서 뉴클레오사이드 유사체의 변형을 추가로 포함한다. 예를 들어, 3' 말단은 경우에 따라 3' 양이온기를 포함하거나, 또는 3' 말단에서 뉴클레오사이드를 3'-3' 연결로 전도시킴으로써 포함한다. 다른 대안에서, 3' 말단은 경우에 따라 아미노알킬기, 예를 들어 3' C5-아미노알킬 dT와 컨쥬게이션된다. 추가적인 대안에서, 3' 말단은 경우에 따라 탈염기성 부위, 예를 들어 탈퓨린(apurinic) 또는 탈피리미딘(apyrimidinic) 부위와 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 5' 말단은 아미노알킬기, 예를 들어 5'-O-아미노알킬 치환체와 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 5' 말단은 탈염기성 부위, 예를 들어 탈퓨린 또는 탈피리미딘 부위와 컨쥬게이션된다.

[0222] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 하나 이상의 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 25개, 또는 그 초과의 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 인공 뉴클레오타이드 유사체는 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필, 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O- 디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된, LNA, ENA, PNA, HNA, 모르폴리노, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트, 또는 이들의 조합을 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필, 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된, LNA, ENA, PNA, HNA, 모르폴리노, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트, 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 25개, 또는 그 초과의 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 25개, 또는 그 초과의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 25개, 또는 그 초과의 2'-O- 메톡시에틸(2'-O-MOE) 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 25개, 또는 그 초과의 티올포스포네이트 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0223] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 복수의 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머 또는 복수의 펩타이드 핵산-변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함하고, 경우에 따라 적어도 하나의 역전된 탈염기성 모이어티를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 적어도 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머-변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 100% 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머-변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0224] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 적어도 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그

초과의 펩타이드 핵산-변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 100% 펩타이드 핵산-변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0225] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 하나 이상의 뉴클레오타이드 유사체를 포함하는데, 이때 각각의 뉴클레오타이드 유사체는 입체화학적으로 이성질 형태이다. 그러한 경우에서, 폴리핵산 분자는 키랄 분자이다. 몇몇 경우에서, 뉴클레오타이드 유사체는 백본 입체화학을 포함한다. 추가적인 경우에서, 뉴클레오타이드 유사체는 미국 특허 9,982,257, 9,695,211, 또는 9,605,019에 기재된 바와 같은 키랄 유사체를 포함한다.

[0226] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 5% 내지 약 100% 변형, 약 10% 내지 약 100% 변형, 약 20% 내지 약 100% 변형, 약 30% 내지 약 100% 변형, 약 40% 내지 약 100% 변형, 약 50% 내지 약 100% 변형, 약 60% 내지 약 100% 변형, 약 70% 내지 약 100% 변형, 약 80% 내지 약 100% 변형, 및 약 90% 내지 약 100% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0227] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 90% 변형, 약 20% 내지 약 90% 변형, 약 30% 내지 약 90% 변형, 약 40% 내지 약 90% 변형, 약 50% 내지 약 90% 변형, 약 60% 내지 약 90% 변형, 약 70% 내지 약 90% 변형, 및 약 80% 내지 약 100% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0228] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 80% 변형, 약 20% 내지 약 80% 변형, 약 30% 내지 약 80% 변형, 약 40% 내지 약 80% 변형, 약 50% 내지 약 80% 변형, 약 60% 내지 약 80% 변형, 및 약 70% 내지 약 80% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0229] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 70% 변형, 약 20% 내지 약 70% 변형, 약 30% 내지 약 70% 변형, 약 40% 내지 약 70% 변형, 약 50% 내지 약 70% 변형, 및 약 60% 내지 약 70% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0230] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 60% 변형, 약 20% 내지 약 60% 변형, 약 30% 내지 약 60% 변형, 약 40% 내지 약 60% 변형, 및 약 50% 내지 약 60% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0231] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 50% 변형, 약 20% 내지 약 50% 변형, 약 30% 내지 약 50% 변형, 및 약 40% 내지 약 50% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0232] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 40% 변형, 약 20% 내지 약 40% 변형, 및 약 30% 내지 약 40% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0233] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 30% 변형, 및 약 20% 내지 약 30% 변형 중 적어도 하나를 포함한다.

[0234] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 10% 내지 약 20% 변형을 포함한다.

[0235] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 약 15% 내지 약 90%, 약 20% 내지 약 80%, 약 30% 내지 약 70%, 또는 약 40% 내지 약 60% 변형을 포함한다.

[0236] 추가적인 경우에서, 폴리핵산 분자는 적어도 약 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 99% 변형을 포함한다.

[0237] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 적어도 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22개 또는 그 초과의 변형을 포함한다.

[0238] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 적어도 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22개 또는 그 초과의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0239] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 5 내지 약 100%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 5%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 10%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 15%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의

약 20%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 25%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 30%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 35%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 약 폴리핵산 분자의 40%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 약 폴리핵산 분자의 45%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 50%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 55%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 약 폴리핵산 분자의 60%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 65%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 70%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 75%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 80%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 85%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 90%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 95%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 96%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 97%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 98%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 99%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자의 약 100%는 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 인공 뉴클레오타이드 유사체는 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필, 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O- 디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된, LNA, ENA, PNA, HNA, 모르폴리노, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0240] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 1 내지 약 25개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 1개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 2개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 3개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 4개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 5개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 6개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 7개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 8개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 9개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 10개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 11개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 12개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 13개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 14개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 15개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 16개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 17개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 18개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 19개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출

원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 20개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 21개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 22개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 23개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 24개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 약 25개의 변형을 포함하는데, 상기 변형은 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다.

[0241] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 2개의 별도의 폴리뉴클레오타이드로부터 어셈블리되는데, 하나의 폴리뉴클레오타이드는 폴리핵산 분자의 센스 스트랜드이고, 두 번째 폴리뉴클레오타이드는 폴리핵산 분자의 안티센스 스트랜드이다. 다른 실시양태에서, 센스 스트랜드는 링커 분자에 의해 안티센스 스트랜드에 연결되는데, 이는 몇몇 경우에서 폴리뉴클레오타이드 링커 또는 비뉴클레오타이드 링커이다.

[0242] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 센스 스트랜드 내의 피리미딘 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸피리미딘 뉴클레오타이드를 포함하고, 센스 스트랜드 내의 퓨린 뉴클레오타이드는 2'-데옥시 퓨린 뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 센스 스트랜드 내에 존재하는 피리미딘 뉴클레오타이드는 2'-데옥시-2'-플루오로 피리미딘 뉴클레오타이드를 포함하고, 센스 스트랜드 내에 존재하는 퓨린 뉴클레오타이드는 2'-데옥시 퓨린 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0243] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 상기 안티센스 스트랜드 내에 존재하는 경우 피리미딘 뉴클레오타이드는 2'-데옥시-2'-플루오로 피리미딘 뉴클레오타이드이고, 상기 안티센스 스트랜드 내에 존재하는 경우 퓨린 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 퓨린 뉴클레오타이드이다.

[0244] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 상기 안티센스 스트랜드 내에 존재하는 경우 피리미딘 뉴클레오타이드는 2'-데옥시-2'-플루오로 피리미딘 뉴클레오타이드이고, 상기 안티센스 스트랜드 내에 존재하는 경우 퓨린 뉴클레오타이드는 2'-데옥시-퓨린 뉴클레오타이드이다.

[0245] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 센스 스트랜드는 센스 스트랜드의 5' 단부, 3' 단부, 또는 5' 및 3' 단부 둘 다에 말단 캡 모이어티를 포함한다. 다른 실시양태에서, 말단 캡 모이어티는 역전된 데옥시 비염기 모이어티이다.

[0246] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 안티센스 스트랜드는 안티센스 스트랜드의 3' 단부에 포스페이트 백본 변형을 포함한다. 몇몇 경우에서, 포스페이트 백본 변형은 포스포로티오에이트이다. 몇몇 경우에서, 패신저 스트랜드는 가이드 스트랜드보다 더 많은 포스포로티오에이트 변형을 포함한다. 다른 경우에서, 가이드 스트랜드는 패신저 스트랜드보다 더 많은 포스포로티오에이트 변형을 포함한다. 추가적인 경우에서, 패신저 스트랜드는 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 변형을 포함한다. 추가적인 경우에서, 가이드 스트랜드는 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 변형을 포함한다.

[0247] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 안티센스 스트랜드는 안티센스 스트랜드의 3' 단부에 글리세릴 변형을 포함한다.

[0248] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 센스 스트랜드는 하나 이상, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 약 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타이드, 및 경우에 따라 센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다에 말단 캡 분자를 포함하고; 안티센스 스트랜드는 약 1 내지 약 10개 또는 그 초과, 구체적으로 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타

이드, 및 경우에 따라 안티센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다에 말단 캡 분자를 포함한다. 다른 실시양태에서, 센스 및/또는 안티센스 스트랜드의 하나 이상, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과의 피리미딘 뉴클레오타이드는 동일하거나 또는 상이한 스트랜드 내에 존재하는 하나 이상, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및/또는 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자의 존재 또는 부재 하에서 2'-데옥시, 2'-O-메틸 및/또는 2'-데옥시-2'-플루오로 뉴클레오타이드로 화학적으로 변형된다.

[0249] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 센스 스트랜드는 약 1 내지 약 25개, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타이드, 및 경우에 따라 센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자를 포함하고; 안티센스 스트랜드는 약 1 내지 약 25개 또는 그 초과, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타이드, 및 경우에 따라 안티센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자를 포함한다. 다른 실시양태에서, 하나 이상, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과의 센스 및/또는 안티센스 스트랜드의 피리미딘 뉴클레오타이드는 동일하거나 또는 상이한 스트랜드 내에 존재하는 하나 이상, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및/또는 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자의 존재 또는 부재 하에서 2'-데옥시, 2'-O-메틸 및/또는 2'-데옥시-2'-플루오로 뉴클레오타이드로 화학적으로 변형된다.

[0250] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 안티센스 스트랜드는 하나 이상, 예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 약 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타이드, 및 경우에 따라 센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자를 포함하고; 안티센스 스트랜드는 약 1 내지 약 10개 또는 그 초과, 구체적으로 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타이드, 및 경우에 따라 안티센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자를 포함한다. 다른 실시양태에서, 센스 및/또는 안티센스 스트랜드의 하나 이상, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 피리미딘 뉴클레오타이드는 동일하거나 또는 상이한 스트랜드 내에 존재하는 하나 이상, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및/또는 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자의 존재 또는 부재 하에서 2'-데옥시, 2'-O-메틸 및/또는 2'-데옥시-2'-플루오로 뉴클레오타이드로 화학적으로 변형된다.

[0251] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 센스 스트랜드 및 안티센스 스트랜드를 포함하는데, 이때 안티센스 스트랜드는 약 1 내지 약 25개 또는 그 초과, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타이드, 및 경우에 따라 센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자를 포함하고; 안티센스 스트랜드는 약 1 내지 약 25개 또는 그 초과, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 2'-데옥시, 2'-O-메틸, 2'-데옥시-2'-플루오로, 및/또는 하나 이상(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과)의 유니버셜 염기 변형된 뉴클레오타이드, 및 경우에 따라 안티센스 스트랜드의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단

부 둘 다의 말단 캡 분자를 포함한다. 다른 실시양태에서, 센스 및/또는 안티센스 스트랜드의 1 내지 5개, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 및/또는 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다의 말단 캡 분자의 존재 또는 부재 하에서 2'-데옥시, 2'-O-메틸 및/또는 2'-데옥시-2'-플루오로 뉴클레오타이드로 화학적으로 변형된다.

[0252] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 하기 특성 중 하나 이상을 보유하는 이중체 폴리핵산 분자이다: 더 큰 간 세포 안정성, 감소된 전체 전하, 감소된 간 흡수, 또는 연장된 약물동태학. 몇몇 실시양태에서, 이중체 폴리핵산 분자는 복수의 변형을 포함하는 패신저 스트랜드(예를 들어, 센스 스트랜드) 및 가이드 스트랜드(예를 들어, 안티센스 스트랜드)를 포함한다.

[0253] 몇몇 실시양태에서, 이중체 폴리핵산 분자는 상기 기재된 변형 중 하나 이상을 보유하는 가이드 스트랜드(예를 들어, 안티센스 스트랜드), 및 복수의 포스포로디아미데이트 모노폴리노 올리고머 또는 복수의 펩타이드 핵산 변형된 비천연 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0254] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 폴리핵산 분자의 각 스트랜스 내에 약 1 내지 약 25개, 예를 들어 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 보유하는 화학적으로 변형된 짧은 간섭 핵산 분자이다.

[0255] 다른 실시양태에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 2'-5' 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 몇몇 경우에서, 2'-5' 뉴클레오타이드간 연결(들)은 스트랜드의 하나 또는 둘 다의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다에 존재한다. 추가 예에서, 2'-5' 뉴클레오타이드간 연결(들)은 서열 스트랜드의 하나 또는 둘 다 내의 다양한 다른 위치에 존재하는데, 예를 들어 폴리핵산 분자의 하나 또는 둘 다의 스트랜드 내의 피리미딘 뉴클레오타이드의 모든 뉴클레오타이드간 연결을 포함하는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과는 2'-5' 뉴클레오타이드간 연결을 포함하거나, 또는 폴리핵산 분자의 하나 또는 둘 다의 스트랜드 내의 퓨린 뉴클레오타이드의 모든 뉴클레오타이드간 연결을 포함하는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 초과는 2'-5' 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다.

[0256] 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 자기 상보적 센스 및 안티센스 영역을 보유하는 이중체, 비대칭 이중체, 헤어핀 또는 비대칭 헤어핀 2차 구조를 보유하는 폴리뉴클레오타이드인데, 이때 안티센스 영역은 별도의 타겟 핵산 분자 또는 이의 일부 내의 뉴클레오타이드 서열 및 타겟 핵산 서열 또는 이의 일부에 대응하는 뉴클레오타이드 서열을 보유하는 센스 영역에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다른 경우에서, 폴리핵산 분자는 2개 이상의 루프 구조 및 자기 상보적인 센스 및 안티센스 영역을 포함하는 스템을 보유하는 환형 단일 스트랜드 폴리뉴클레오타이드인데, 이때 안티센스 영역은 별도의 타겟 핵산 분자 또는 이의 일부 내의 뉴클레오타이드 서열 및 타겟 핵산 서열 또는 이의 일부에 대응하는 뉴클레오타이드 서열을 보유하는 센스 영역에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 환형 폴리뉴클레오타이드는 생체 내 또는 시험관 내에서 처리되어 RNAi를 매개할 수 있는 활성 폴리핵산 분자를 생성한다. 추가적인 경우에서, 폴리핵산 분자는 또한 타겟 핵산 분자 또는 이의 일부 내의 뉴클레오타이드 서열에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하는데(예를 들어, 그러한 폴리핵산 분자가 타겟 핵산 서열 또는 이의 일부에 대응하는 뉴클레오타이드 서열의 폴리핵산 분자 내에 존재할 필요가 없는 경우), 이때 단일 스트랜드 폴리뉴클레오타이드는 5'-포스페이트와 같은 단부 포스페이트기(예를 들어, Martinez et al., 2002, *Cell.,* 110, 563-574 및 Schwarz et al., 2002, *Molecular Cell,* 10, 537-568 참조), 또는 5',3'-디포스페이트를 추가로 포함한다.

[0257] 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 세포 또는 재구성된 시험관 내 시스템에서 RNAi 활성을 매개하는 단일 스트랜드 폴리핵산 분자인데, 이때 폴리핵산 분자는 타겟 핵산 서열에 대한 상보성을 보유하는 단일 스트랜드 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 폴리핵산 내에 존재하는 하나 이상의 피리미딘 뉴클레오타이드는 2'-데옥시-2'-플루오로 피리미딘 뉴클레오타이드(예를 들어, 이때 모든 피리미딘 뉴클레오타이드는 2'-데옥시-2'-플루오로 피리미딘 뉴클레오타이드이거나 또는 대안적으로 복수의 피리미딘 뉴클레오타이드는 2'-데옥시-2'-플루오로 피리미딘 뉴클레오타이드임)이고, 폴리핵산 내에 존재하는 임의의 퓨린 뉴클레오타이드는 2'-데옥시 퓨린 뉴클레오타이드(예를 들어, 이때 모든 퓨린 뉴클레오타이드는 2'-데옥시 퓨린 뉴클레오타이드이거나 또는 대안적으로 복수의 퓨린 뉴클레오타이드는 2'-데옥시 퓨린 뉴클레오타이드임)이고, 경우에 따라 안티센스 서열의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 다에 존재하는 말단 캡 변형이고, 폴리핵산 분자는 경우에 따라 약 1 내지 약 4개(예를 들어, 약 1, 2, 3, 또는 4개)의 폴리핵산 분자의 3' 단부에 말단 2'-데옥시뉴클레오타이드를 추가로 포함하는데, 이때 말단 뉴클레오타이드는 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 또는 4개)의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결을 추가로 포함하고, 폴리핵산 분자는 경우에 따라 5' 말단 포스페이트기와 같은 말단 포스페

이트기를 추가로 포함한다.

[0258] 몇몇 경우에서, 비대칭 이중체는 안티센스 영역, 뉴클레오타이드 또는 비뉴클레오타이드를 포함하는 루프 부분, 및 센스 영역이 안티센스 영역과 염기 쌍에 대한 충분히 상보적인 뉴클레오타이드를 보유하고 루프와 이중체를 형성하는 정도로 안티센스 영역에 비해 더 적은 뉴클레오타이드를 포함하는 센스 영역을 포함하는 선형 폴리핵산 분자이다. 예를 들어, 비대칭 헤어핀 폴리핵산 분자는 세포 또는 시험관 내 시스템 내에서 RNAi를 매개하기에 충분한 길이(예를 들어, 약 19 내지 약 22개의 뉴클레오타이드)를 보유하는 안티센스 영역 및 약 4 내지 약 8개의 뉴클레오타이드를 포함하는 루프 영역, 및 안티센스 영역에 상보적인 약 3 내지 약 18개의 뉴클레오타이드를 보유하는 센스 영역을 포함한다. 몇몇 경우에서, 비대칭 헤어핀 폴리핵산 분자는 또한 화학적으로 변형된 5' 말단 포스페이트기를 포함한다. 추가적인 경우에서, 비대칭 헤어핀 폴리핵산 분자의 루프 부분은 뉴클레오타이드, 비뉴클레오타이드, 링커 분자, 또는 컨쥬게이트 분자를 포함한다.

[0259] 몇몇 실시양태에서, 비대칭 이중체는 센스 영역 및 안티센스 영역을 포함하는 2개의 개별적인 스트랜드를 보유하는 폴리핵산 분자인데, 이때 센스 영역은 센스 영역이 안티센스 영역과 염기 쌍에 대한 충분히 상보적인 뉴클레오타이드를 보유하고 이중체를 형성하는 정도로 안티센스 영역에 비해 더 적은 뉴클레오타이드를 포함한다. 예를 들어, 비대칭 이중체 폴리핵산 분자는 세포 또는 시험관 내 시스템 내에서 RNAi를 매개하기에 충분한 길이(예를 들어, 약 19 내지 약 22개의 뉴클레오타이드)를 보유하는 안티센스 영역 및 안티센스 영역에 상보적인 약 3 내지 약 18개의 뉴클레오타이드를 보유하는 센스 영역을 포함한다.

[0260] 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 인공 뉴클레오타이드 유사체의 하나 이상은 뉴클레아제, 예를 들어 리보뉴클레아제, 예를 들어 RNase H, 데옥시리보뉴클레아제, 예를 들어 DNase, 또는 엑소뉴클레아제, 예를 들어 5'-3' 엑소뉴클레아제 및 3'-5' 엑소뉴클레아제와 같은 뉴클레아제에 대해 천연 폴리핵산 분자에 비해 내성을 보유한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필, 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O- 디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된, LNA, ENA, PNA, HNA, 모르폴리노, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트, 또는 이들의 조합을 포함하는 인공 뉴클레오타이드 유사체는 뉴클레아제, 예를 들어 리보뉴클레아제 RNase H, 데옥시리보뉴클레아제, 예를 들어 DNase, 또는 엑소뉴클레아제, 예를 들어 5'-3' 엑소뉴클레아제 및 3'-5' 엑소뉴클레아제와 같은 뉴클레아제에 대해 내성을 보유한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-메틸 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'O-메톡시에틸(2'-O-MOE) 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'-O-아미노프로필 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'-데옥시 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, T-데옥시-2'-플루오로 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP) 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE) 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP) 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, T-O- 디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE) 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, LNA 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, ENA 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, HNA 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 모르폴리노는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, PNA 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)에 대해 내성이다. 몇몇 경우에서, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5'

엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드 변형된 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트를 포함하는 폴리핵산 분자는 뉴클레아제 내성(예를 들어, RNase H, DNase, 5'-3' 엑소뉴클레아제 또는 3'-5' 엑소뉴클레아제 내성)이다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 5' 컨쥬게이트는 5'-3' 엑소뉴클레오분해성 절단을 억제한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 3' 컨쥬게이트는 3'-5' 엑소뉴클레오분해성 절단을 억제한다.

[0261] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 하나 이상의 인공 뉴클레오타이드 유사체는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필, 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된, LNA, ENA, PNA, HNA, 모르폴리노, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 또는 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트를 포함하는 하나 이상의 인공 뉴클레오타이드 유사체는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-메틸 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE) 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-아미노프로필 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-데옥시 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, T-데옥시-2'-플루오로 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP) 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE) 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP) 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, T-O-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE) 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-ON-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, LNA 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, ENA 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, PNA 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, HNA 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 모르폴리노 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드 변형된 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트를 포함하는 폴리핵산 분자는 그의 mRNA 타겟에 대한 결합 친화도가 동등한 천연 폴리핵산 분자에 비해 증가한다. 몇몇 경우에서, 증가된 친화도는 더 낮은 Kd, 더 높은 용융 온도(Tm), 또는 이들의 조합으로 예시된다.

[0262] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 키랄 순수(또는 입체 순수) 폴리핵산 분자, 또는 단일 거울상 이성질체를 포함하는 폴리핵산 분자이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 L-뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 D-뉴클레오타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자 조성은 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하보다 적은 거울상 이성질체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자 조성은 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하보다 적은 라세미 혼합물을 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 미국 특허 공개 2014/194610 및 2015/211006; 및 PCT 공개 WO2015107425에 기재된 폴리핵산 분자이다.

[0263] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 앱타머 컨쥬게이션 모이어티를 포함하도록 추가로 변형된다. 몇몇 경우에서, 앱타머 컨쥬게이션 모이어티는 DNA 앱타머 컨쥬게이션 모이어티이다. 몇몇 경우에서, 앱타머 컨쥬게이션 모이어티는 Alphamer(Centauri Therapeutics)이며, 이는 특정 세포 표면 타겟을 인식하는 앱타머 부분 및 순환 항체에 부착하기 위한 특정 에피토프를 나타내는 부분을 포함한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 미국 특허 8,604,184, 8,591,910, 및 7,850,975에 기재된 바와 같이 앱타머 컨쥬게이션

모이어티를 포함하도록 추가로 변형된다.

[0264] 추가의 실시양태에서, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자는 그의 안정성을 증가시키도록 변형된다. 몇몇 실시양태에서, 폴리핵산 분자는 RNA(예를 들어, siRNA)이다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 그의 안정성을 증가시키기 위해 상기 기재된 하나 이상의 변형에 의해 변형된다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 2' 히드록실 위치에서, 예를 들어 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸(2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필, 2'-데옥시, T-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-아미노프로필(2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸(2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필(2'-O-DMAP), T-O-디메틸아미노에틸옥시에틸(2'-O-DMAEOE), 또는 2'-O-N-메틸아세트아미도(2'-O-NMA) 변형에 의해 또는 잠금 또는 브리지된 리보오스 입체 구조(예를 들어, LNA 또는 ENA)에 의해 변형된다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 2'-O-메틸 및/또는 2'-O-메톡시에틸 리보오스에 의해 변형된다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 또한 그의 안정성을 증가시키기 위해 모르폴리노, PNA, HNA, 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드, 티올포스포네이트 뉴클레오타이드, 및/또는 2'-플루오로 N3-P5'-포스포르아미다이트를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리핵산 분자는 키랄 순수(또는 입체 순수) 폴리핵산 분자이다. 몇몇 경우에서, 키랄 순수(또는 입체 순수) 폴리핵산 분자는 그의 안정성을 증가시키기 위해 변형된다. 전달 안정성을 증가시키기 위해 RNA에 대한 적합한 변형은 당업자에게 명백할 것이다.

[0265] 몇몇 경우에서, 유니버셜 염기는 각각의 천연 DNA/RNA 염기와 염기쌍을 형성하는 뉴클레오타이드 염기 유사체를 지칭하는데, 이들 사이의 구별은 거의 없다. 유니버셜 염기의 비제한적인 예는 당해 기술분야에 공지된 바와 같이(예를 들어, Loakes, 2001, Nucleic Acids Research, 29, 2437-2447 참조) C-페닐, C-나프틸 및 다른 방향족 유도체, 이노신, 아졸 카르복사미드, 및 니트로아졸 유도체, 예를 들어 3-니트로피롤, 4-니트로인돌, 5-니트로인돌 및 6-니트로인돌을 포함한다.

[0266] *소분자, 단백질, 및 펩타이드*

[0267] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 소분자이다. 몇몇 경우에서, 소분자는 세포독성 페이로드이다. 예시적인 세포독성 페이로드는 미세소관 붕괴제, DNA 변형제, 또는 Akt 억제제를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0268] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 미세소관 붕괴제를 포함한다. 예시적인 미세소관 붕괴제는 2-메톡시에스트라디올, 아우리스타틴, 칼콜, 콜히친, 콤브레타스타틴, 크립토피신, 딕티오스타틴, 디스코데르몰라이드, 돌라스타틴, 엘레우테로빈, 에포틸론, 할리콘드린, 라우리말라이드, 마이탄신, 노스카피노이드, 파클리탁셀, 펠로루시드, 포몹신, 포도필로톡신, 리족신, 스폰지스타틴, 탁산, 튜불리신, 빈카 알카로이드, 비노렐빈, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0269] 몇몇 실시양태에서, 튜불리신은 튜불리신 유사체 또는 유도체, 예를 들어 미국 특허 8580820 및 8980833 및 미국 공개 공보 20130217638, 20130224228, 및 201400363454에 기재된 바와 같다.

[0270] 몇몇 실시양태에서, 마이탄신은 마이탄시노이드이다. 몇몇 실시양태에서, 마이탄시노이드는 DM1, DM4, 또는 안사미토신이다. 몇몇 실시양태에서, 마이탄시노이드는 DM1이다. 몇몇 실시양태에서, 마이탄시노이드는 DM4이다. 몇몇 실시양태에서, 마이탄시노이드는 안사미토신이다. 몇몇 실시양태에서, 마이탄시노이드는 미국 특허 5208020, 5416064, 7276497, 및 6716821 또는 미국 공개 공보 2013029900 및 US20130323268에 기재된 것과 같은 마이탄시노이드 유도체 또는 유사체이다.

[0271] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 돌라스타틴, 또는 이의 유도체 또는 유사체이다. 몇몇 실시양태에서, 돌라스타틴은 돌라스타틴 10 또는 돌라스타틴 15, 또는 이의 유도체 또는 유사체이다. 몇몇 실시양태에서, 돌라스타틴 10 유사체는 아우리스타틴, 소블리도틴, 심플로스타틴 1, 또는 심플로스타틴 3이다. 몇몇 실시양태에서, 돌라스타틴 15 유사체는 세마도틴 또는 타시도틴이다.

[0272] 몇몇 실시양태에서, 돌라스타틴 10 유사체는 아우리스타틴 또는 아우리스타틴 유도체이다. 몇몇 실시양태에서, 아우리스타틴 또는 아우리스타틴 유도체는 아우리스타틴 E(AE), 아우리스타틴 F(AF), 아우리스타틴 E5-벤조일발레르산 에스테르(AEVB), 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF), 또는 모노메틸 아우리스타틴 D(MMAD), 아우리스타틴 PE, 또는 아우리스타틴 PYE이다. 몇몇 실시양태에서, 아우리스타틴 유도체는 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)이다. 몇몇 실시양태에서, 아우리스타틴 유도체는 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF)이다. 몇몇 실시양태에서, 아우리스타틴은 미국 특허 6884869, 7659241, 7498298, 7964566, 7750116, 8288352, 8703714 및 8871720에 기재된 바와 같은 아우리스타틴 유도체 또는 유사체이다.

[0273] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 DNA 변형제를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, DNA 변형제는 DNA 클리버(cleaver), DNA 인터칼레이터(intercalator), DNA 전사 억제제, 또는 DNA 가교제를 포함한다. 몇몇 경우에서,

DNA 클리버는 블레오마이신 A2, 칼리케아마이신, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, DNA 인터칼레이터는 독소루비신, 에피루비신, PNU-159682, 튜오카르마이신, 피롤로벤조디아제핀, 올리고마이신 C, 다우노루비신, 발루비신, 토포테칸, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함한다. 몇몇 경우에서, DNA 전사 억제제는 탁티노마이신을 포함한다. 몇몇 경우에서, DNA 가교제는 미토마이신 C를 포함한다.

[0274] 몇몇 실시양태에서, DNA 변형제는 암사크린, 안크라사이클린, 캄포테신, 독소루비신, 듀오마이신, 에네디인, 에토포사이드, 인돌리노벤조디아제핀, 네트롭신, 테니포사이드, 또는 이의 유도체 또는 유사체를 포함한다.

[0275] 몇몇 실시양태에서, 안트라사이클린은 독소루비신, 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 미토파이신-C, 닥티노마이신, 미트라마이신, 네모루비신, 픽산트론, 사바루비신, 또는 발루비신이다.

[0276] 몇몇 실시양태에서, 캄토테신의 유사체는 토포테칸, 이리노테칸, 실라테칸, 코시테칸, 엑사테칸, 루르토테칸, 지마테칸, 벨로테칸, 루비테칸, 또는 SN-38이다.

[0277] 몇몇 실시양태에서, 듀오카르마이신은 듀오카르마이신 A, 듀오카르마이신 B1, 듀오카르마이신 B2, 듀오카르마이신 C1, 듀오카르마이신 C2, 듀오카르마이신 D, 듀오카르마이신 SA, 또는 CC-1065이다. 몇몇 실시양태에서, 에네디인은 칼리케아마이신, 에스페라마이신, 또는 다이네마이신 A이다.

[0278] 몇몇 실시양태에서, 피롤로벤조디아제핀은 안트라마이신, 아베마이신, 치카마이신, DC-81, 마제트라마이신, 네오트라마이신 A, 네오트라마이신 B, 포로트라마이신, 프로트라카르신, 시바노마이신(DC-102), 시비로마이신, 또는 토마이마이신이다. 몇몇 실시양태에서, 피롤로벤조디아제핀은 미국 특허 8404678 및 8163736에 기재된 바와 같은 토마이마이신 유도체이다. 몇몇 실시양태에서, 피롤로벤조디아제핀은 미국 특허 8426402, 8802667, 8809320, 6562806, 6608192, 7704924, 7067511, US7612062, 7244724, 7528126, 7049311, 8633185, 8501934, 및 8697688 및 미국 공개 공보 US20140294868에 기재된 바와 같은 것이다.

[0279] 몇몇 실시양태에서, 피롤로벤조디아제핀은 피롤로벤조디아제핀 이량체이다. 몇몇 실시양태에서, PBD 이량체는 대칭 이량체이다. 대칭 PBD 이량체의 예는 SJG-136(SG-2000), ZC-423(SG2285), SJG-720, SJG-738, ZC-207(SG2202), 및 DSB-120(표 2)를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 실시양태에서, PBD 이량체는 비대칭 이량체이다. 비대칭 이량체의 예는 미국 특허 8697688 및 9242013 및 미국 공개 공보 20140286970에 기재된 바와 같은 SJG-136을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.

[0280] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 Akt 억제제를 포함한다. 몇몇 경우에서, Akt 억제제는 이파타레르팁(GDC-0068) 또는 이의 유도체를 포함한다.

[0281] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 a-아미니틴과 같은 폴리머라아제 II 억제제, 및 폴리(ADP-리보오스) 폴리머라아제 (PARP) 억제제를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아닌 폴리머라아제 억제제를 포함한다. 예시적인 PARP 억제제는 이니파립(BSI 201), 탈라조파립(BMN-673), 올라파립(AZD-2281), 올라파립, 루카파립(AG014699, PF-01367338), 벨리파립(ABT-888), CEP 9722, MK 4827, BGB-290, 또는 3-아미노벤즈아미드를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0282] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 영상화제이다. 몇몇 경우에서, 페이로드는 "방사선 비투과성" 라벨, 예를 들어 x선을 이용하여 가시화된 라벨을 포함한다. 방사선 비투과성 재료는 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다. 예시적인 방사선 비투과성 재료는 요오다이드, 브로마이드 또는 바륨 염을 포함한다. 추가적인 방사선 비투과성 재료는 유기 비스무트 유도체(예를 들어, 미국 특허 5,939,045 참조), 방사선 비투과성 폴리우레탄(예를 들어, 미국 특허 5,346,981 참조), 유기비스무트 복합체(예를 들어, 미국 특허 5,256,334 참조), 방사선 비투과성 바륨 폴리머 복합체(예를 들어, 미국 특허 4,866,132 참조) 등을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0283] 몇몇 경우에서, 페이로드는 예를 들어 면역컨쥬게이트에서 사용하기 위해 분광학적 수단, 광화학적 수단, 생화학적 수단, 면역화학적 수단, 전기적 수단, 광학적 수단 또는 화학적 수단에 의해 검출 가능한 임의의 조성물을 포함하는 검출 가능한 라벨을 포함한다. 유용한 라벨은 자기 비드(예를 들어, DYNABEADS™ 형광 염료(예를 들어, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 텍사스 레드, 로다민, 녹색 형광 단백질 등), 방사성 라벨(예를 들어, ^{3}H, ^{125}I, ^{35}S, ^{14}C, 또는 ^{32}P), 효소(예를 들어, 로스 래디쉬 퍼옥시다아제, 알칼리성 포스파타아제 및 ELISA에서 통상적으로 사용되는 다른 효소), 및 비색 라벨, 예를 들어 콜로이드성 금 또는 착색 유리 또는 플라스틱(예를 들어, 폴리스트린, 폴리프로필렌, 라텍스 등) 비드, 나노입자, 퀀텀 닷 등을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0284] 몇몇 실시양태에서, 적합한 방사성 라벨은 ^{99}Tc, ^{203}Pb, ^{67}Ga, ^{68}Ga, ^{72}As, ^{111}In, ^{113m}In, ^{97}Ru, ^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{52}Fe, ^{52m}Mn, ^{51}Cr, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{77}As, ^{90}Y, ^{67}Cu, ^{169}Er, ^{121}Sn, ^{127}Te, ^{142}Pr, ^{143}Pr, ^{198}Au, ^{199}Au, ^{161}Tb, ^{109}Pd, ^{165}Dy, ^{149}Pm, ^{151}Pm, ^{153}Sm, ^{157}Gd, ^{159}Gd, ^{166}Ho, ^{172}Tm, ^{169}Yb, ^{175}Yb, ^{177}Lu, ^{105}Rh, 및 ^{111}Ag을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0285] 몇몇 경우에서, 페이로드는 세포 상에 이온화 조사(예를 들어, ^{60}Co 또는 x선 공급원에 의해 생성될 수 있는 것과 같음)의 세포독성 효과를 증강시키는 방사선 감작제를 포함한다. 다수의 방사선 감작제는 공지되어 있고, 벤조포르피린 유도체 화합물(예를 들어, 미국 특허 5,945,439 참조), 1,2,4-벤조트리아진 옥사이드(예를 들어, 미국 특허 5,849,738 참조), 특정 디아민을 함유하는 화합물(예를 들어, 미국 특허 5,700,825 참조), BCNT(예를 들어, 미국 특허 5,872,107 참조), 방사선 감작성 니트로벤조산 아미드 유도체(예를 들어, 미국 특허 4,474,814 참조), 다양한 헤테로사이클릭 유도체(예를 들어, 미국 특허 5,064,849 참조), 백금 착물(예를 들어, 미국 특허 4,921,963 참조) 등을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0286] 몇몇 경우에서, 페이로드는 알파 방출제, 즉 알파 입자를 방출하는 방사성 동위원소를 포함한다. 알파 방출제는 최근 암의 치료에 효과적인 것으로 확인되었다(예를 들어, McDevitt *et al.* (2001) Science 294: 1537-1540; Ballangrud *et al.* (2001) Cancer Res. 61: 2008-2014; Borchardt *et al.*(2003) Cancer Res. 63: 5084-50 참조). 적합한 알파 방출제는 ^{213}Bi, ^{211}At 등을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0287] 몇몇 경우에서, 페이로드는 면역조절성 제제를 포함한다. 유용한 면역조절성 제제는 종양에 대한 호르몬 작용을 차단하는 항호르몬 및 사이토카인 생성을 억제하거나, 자가항원 발현을 하향조절하거나, 또는 MHC 항원을 마스킹하는 면역억제성 제제를 포함한다. 대표적인 항호르몬은 예를 들어 타목시펜, 랄록시펜, 아로마타아제 억제성 4(5)-이미다졸, 4-하이드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY 117018, 오나프스톤, 및 토레미펜을 포함하는 항에스트로겐; 및 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 레우프롤라이드, 및 고세렐린과 같은 항안드로겐; 및 항부신 제제를 포함한다. 예시적인 면역억제성 제제는 2-아미노-6-아닐-5-치환된 피리미딘, 아자티오프린, 사이클로포스파미드, 브로모크립틴, 다나졸, 답손, 글루타르알데히드, MHC 항원 및 MHC 단편에 대한 항이디오타입 항체, 시클로스포린 A, 스테로이드, 예를 들어 글루코코르티코스테로이드, 스트렙토키나아제, 또는 라파마이신을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0288] 몇몇 실시양태에서, 페이로드는 단백질 또는 펩타이드 독소 또는 이의 단편을 포함한다. 예시적인 효소적으로 활성인 독소 및 이의 단편은 디프테리아 독소 A 단편, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A(슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 유래), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데킨 A 사슬, a-사크린, 특정 알레우리테스 포르디(*aleurites fordii*) 단백질, 특정 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나(*Phytolacca americana*) 단백질(PAP, PAPII 및 PAP-S), 모로디카 카란티아(*Morodica charantia*) 억제제, 쿠르친, 크로틴, 사포나리아 오피시날리스(*Saponaria officinalis*) 억제제, 겔로닌, 미토길린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트리코테센을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0289] 몇몇 경우에서, 페이로드는 면역 조절제이다. 예시적인 면역 조절제는 간시클로비르, 에타네르셉트, 타크롤리무스, 시롤리무스, 보클로스포린, 시클로스포린, 라파마이신, 시클로포스파미드, 아자티오프린, 미코페놀게이트 모페틸, 메토트렉세이트, 글루코코르티코이드 및 이의 유사체, 잔틴, 줄기 세포 성장 인자, 림포톡신, 조혈 인자, 종양 괴사 인자(TNF)(예를 들어, TNFα), 인터루킨(예를 들어, 인터루킨-1(IL-1), IL-2, IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, 및 IL-21), 콜로니 자극 인자(예를 들어, 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF) 및 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF)), 인터페론(예를 들어, 인터페론-알파, 인터페론-베타, 인터페론-감마), "S1 인자"로 지정된 줄기 세포 성장 인자, 에리스로포이에틴 및 트롬보포이에틴, 또는 이들의 조합을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0290] 몇몇 경우에서, 페이로드는 사이토카인을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 사이토카인은 IL-2, IL-2, IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, IL-21, 인터페론(예를 들어, IFNα, IFNβ), 또는 TNFα를 포함한다.

[0291] **폴리머**

[0292] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체는 폴리머(폴리머 모이어티 C)를 추가로 포함한다. 몇몇 예에서, 폴리머는 2차원 또는 3차원으로 분지되거나 비분지된 단량체의 긴 사슬, 및/또는 단량체의 가교결합된 네트워크로 이루어진 천연 또는 합성 폴리머이다. 몇몇 경우에서, 폴리머 모이어티 C는 다당류, 리그

닌, 고무, 또는 폴리알킬렌 옥사이드(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜)를 포함한다. 몇몇 경우에서, 적어도 하나의 폴리머 모이어티 C는 비제한적으로, 알파-, 오메가-디히드록실폴리에틸렌글리콜, 생분해성 락톤계 폴리머, 예를 들어 폴리아크릴산, 폴리락티드산(PLA), 폴리(글리콜산)(PGA), 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리올레핀, 폴리아미드, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리이미드, 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET, PETG), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(PETE), 폴리테트라메틸렌 글리콜(PTG), 또는 폴리우레탄뿐만 아니라, 이들의 혼합물을 포함한다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 혼합물은 동일한 화합물 내에서뿐만 아니라 블록 코폴리머와 관련하여 상이한 폴리머의 사용을 의미한다. 몇몇 경우에서, 블록 코폴리머는 폴리머의 적어도 하나의 부분이 또 다른 폴리머의 단량체로부터 형성되는 폴리머이다. 몇몇 경우에서, 폴리머 모이어티 C는 폴리알킬렌 옥사이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리머 모이어티 C는 PEG를 포함한다. 몇몇 경우에서, 폴리머 모이어티 C는 폴리에틸렌 이미드(PEI) 또는 히드록시 에틸 전분(HES)을 포함한다.

[0293] 몇몇 경우에서, C는 PEG 모이어티이다. 몇몇 경우에서, PEG 모이어티는 폴리핵산 분자의 5' 말단에서 컨쥬게이션되는 반면, 결합 모이어티는 폴리핵산 분자의 3' 말단에서 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, PEG 모이어티는 폴리핵산 분자의 3' 말단에서 컨쥬게이션되는 반면, 결합 모이어티는 폴리핵산 분자의 5' 말단에서 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, PEG 모이어티는 폴리핵산 분자의 내부 부위에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, PEG 모이어티, 결합 모이어티, 또는 이들의 조합은 폴리핵산 분자의 내부 부위에 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 컨쥬게이션은 직접 컨쥬게이션이다. 몇몇 경우에서, 컨쥬게이션은 천연 라이게이션을 통해서 이루어진다.

[0294] 몇몇 실시양태에서, 폴리알킬렌 옥사이드(예를 들어, PEG)는 다분산계 또는 단분산계 화합물이다. 몇몇 경우에서, 다분산계 물질은 평균 중량(중량 평균) 크기 및 분산성을 특징으로 하는, 상이한 분자량의 물질의 분산 분포를 포함한다. 몇몇 경우에서, 단분산계 PEG는 하나의 크기의 분자를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, C는 다분산 또는 단분산된 폴리알킬렌 옥사이드(예를 들어, PEG)이며, 표시된 분자량은 폴리알킬렌 옥사이드, 예를 들어, PEG 분자의 분자량의 평균을 나타낸다.

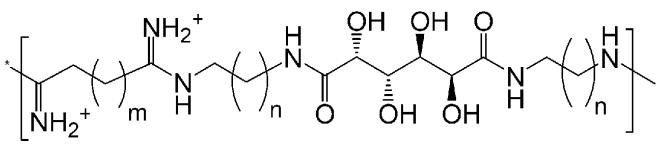
[0295] 몇몇 실시양태에서, 폴리알킬렌 옥사이드(예를 들어, PEG)의 분자량은 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3250, 3350, 3500, 3750, 4000, 4250, 4500, 4600, 4750, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 10,000, 12,000, 20,000, 35,000, 40,000, 50,000, 60,000, 또는 100,000 Da이다.

[0296] 몇몇 실시양태에서, C는 폴리알킬렌 옥사이드(예를 들어, PEG)이며, 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3250, 3350, 3500, 3750, 4000, 4250, 4500, 4600, 4750, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 10,000, 12,000, 20,000, 35,000, 40,000, 50,000, 60,000, 또는 100,000 Da의 분자량을 갖는다. 몇몇 실시양태에서, C는 PEG이며, 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1450, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3250, 3350, 3500, 3750, 4000, 4250, 4500, 4600, 4750, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 10,000, 12,000, 20,000, 35,000, 40,000, 50,000, 60,000, 또는 100,000 Da의 분자량을 갖는다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 200 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 300 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 400 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 600 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 700 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 800 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 900 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1100 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1200 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1300 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1400 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1450 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1600 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1700 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1800 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 1900 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2100 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2200 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2300 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2400 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2600 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2700 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2800 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 2900 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 3000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 3250 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 3350 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 3500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 3750 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 4000 Da이다. 몇몇 경우에서, C

의 분자량은 약 4250 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 4500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 4600 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 4750 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 5000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 5500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 6000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 6500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 7000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 7500 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 8000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 10,000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 12,000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 20,000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 35,000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 40,000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 50,000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 60,000 Da이다. 몇몇 경우에서, C의 분자량은 약 100,000 Da이다.

[0297] 몇몇 실시양태에서, 폴리알킬렌 옥사이드(예를 들어, PEG)는 별개의 PEG이며, 별개의 PEG는 1개를 초과하는 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함하는 폴리머 PEG이다. 몇몇 경우에서, 별개의 PEG(dPEG)는 2 내지 60, 2 내지 50, 또는 2 내지 48개의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 35, 40, 42, 48, 50개 또는 그 초과의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 2개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 3개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 4개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 5개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 6개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 7개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 8 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 9개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 10개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 11개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 12개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 13개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 14개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 15개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 16개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 17개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 18개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 19개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 20개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 22개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 24개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 26개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 28개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 30개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 35개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 40개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 42개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 48개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 약 50개 이상의 반복 에틸렌 옥사이드 단위를 포함한다. 몇몇 경우에서, dPEG는 단계적인 방식으로 순수한(예를 들어, 약 95%, 98%, 99%, 또는 995%) 출발 물질로부터 단일 분자량 화합물로서 합성된다. 몇몇 경우에서, dPEG는 평균 분자량보다는 특정 분자량을 갖는다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 dPEG는 콴타 바이오디자인(Quanta Biodesign, LMD)의 dPEG이다.

[0298] 몇몇 실시양태에서, 폴리머 모이어티 C는 양이온성 뮤신산 기반 폴리머(cMAP)를 포함한다. 몇몇 경우에서, cMPA는 적어도 하나의 반복 서브유닛의 하나 이상의 서브유닛을 포함하며, 상기 서브유닛 구조는 하기 식 III으로 표시된다:



식 III

[0299]

[0300] 상기 식에서, m은 각각 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10, 바람직하게는 4-6 또는 5이고; n은 각

각 독립적으로 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 몇몇 실시양태에서, m 및 n은 예를 들어 약 10이다.

[0301] 몇몇 경우에서, cMAP는 PEG 모이어티에 추가로 컨쥬게이션되어, cMAP-PEG 코폴리머, mPEG-cMAP-PEGm 삼블록 폴리머, 또는 cMAP-PEG-cMAP 삼블록 폴리머를 생성한다. 몇몇 경우에서, PEG 모이어티의 분자량은 약 500 Da 내지 약 50,000 Da의 범위이다. 몇몇 경우에서, PEG 모이어티의 분자량은 약 500 Da 내지 약 1000 Da, 1000 Da 초과 내지 약 5000 Da, 5000 Da 초과 내지 약 10,000 Da, 10,000 Da 초과 내지 약 25,000 Da, 25,000 Da 초과 내지 약 50,000 Da, 또는 이들 범위 중 둘 이상의 임의의 조합이다.

[0302] 몇몇 경우에서, C는 cMAP-PEG 코폴리머, mPEG-cMAP-PEGm 삼블록 폴리머, 또는 cMAP-PEG-cMAP 삼블록 폴리머이다. 몇몇 경우에서, C는 cMAP-PEG 코폴리머이다. 다른 경우에서, C는 mPEG-cMAP-PEGm 삼블록 폴리머이다. 추가의 경우에서, C는 cMAP-PEG-cMAP 삼블록 폴리머이다.

[0303] **엔도솜 분해성 모이어티**

[0304] 몇몇 경우에서, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트는 추가의 컨쥬게이션 모이어티를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 추가의 컨쥬게이션 모이어티는 엔도솜 분해성 모이어티이다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 세포 구획 방출 성분, 예를 들어 관련 기술 분야에 알려진 임의의 세포 구획, 예를 들어 엔도솜, 리소솜, 소포체(ER), 골지체, 미세소관, 퍼옥시좀, 또는 세포를 갖는 다른 소포체(vesicular body)로부터 방출될 수 있는 화합물이다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 엔도솜 분해성 폴리펩타이드, 엔도솜 분해성 폴리머, 엔도솜 분해성 지질, 또는 엔도솜 분해성 소분자를 포함한다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 엔도솜 분해성 폴리펩타이드를 포함한다. 다른 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 엔도솜 분해성 폴리머를 포함한다.

[0305] *엔도솜 분해성 폴리펩타이드*

[0306] 몇몇 실시양태에서, 항트랜스페린 수용체 항체 컨쥬게이트는 엔도솜 분해성 폴리펩타이드와 추가로 컨쥬게이션된다. 몇몇 실시양태에서, 식 (I): $A-(X^1-B)_n$의 컨쥬게이트 또는 식 (II): $A-X^1-(B-X^2-C)_n$의 컨쥬게이트는 엔도솜 분해성 폴리펩타이드와 추가로 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 pH 의존성 막 활성 펩타이드이다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 양친매성 폴리펩타이드이다. 추가의 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 펩타이드 모방체(peptidomimetic)이다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 INF, 멜리틴, 메우신(meucin), 또는 이들의 각각의 유도체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 INF 또는 그의 유도체를 포함한다. 다른 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 멜리틴 또는 그의 유도체를 포함한다. 추가의 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 메우신 또는 그의 유도체를 포함한다.

[0307] 몇몇 경우에서, INF7은 그 서열이 CGIFGEIEELIEEGLENLIDWGNA(서열 번호: 51), 또는 GLFEAIEGFIENGWEGMIDGWYGC(서열 번호: 52)를 포함하는 24개 잔기의 폴리펩타이드이다. 몇몇 경우에서, INF7 또는 그의 유도체는 GLFEAIEGFIENGWEGMIWDYGSGSCG(서열 번호: 53), GLFEAIEGFIENGWEGMIDG WYG-$(PEG)_6$-NH_2(서열 번호: 54), 또는 GLFEAIEGFIENGWEGMIWDYG-SGSC-K(GalNAc)2(서열 번호: 55)의 서열을 포함한다.

[0308] 몇몇 경우에서, 멜리틴은 그 서열이 CLIGAILKVLATGLPTLISWIKNKRKQ(서열 번호: 56), 또는 GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ(서열 번호: 57)를 포함하는 26개 잔기의 폴리펩타이드이다. 몇몇 경우에서, 멜리틴은 미국 특허 8,501,930에 기재된 폴리펩타이드 서열을 포함한다.

[0309] 몇몇 경우에서, 메우신은 전갈 메소부투스 에우페우스(*Mesobuthus eupeus*)의 독샘으로부터 유래된 항균 펩타이드(AMP)이다. 몇몇 경우에서, 메우신은 그 서열이 IFGAIAGLLKNIF-NH_2(서열 번호: 58)를 포함하는 메우신-13 및 그 서열이 FFGHLFKLATKIIPSLFQ(서열 번호: 59)를 포함하는 메우신-18을 포함한다.

[0310] 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리펩타이드는 그의 서열이 INF7 또는 그의 유도체, 멜리틴 또는 그의 유도체, 또는 메우신 또는 그의 유도체에 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 99% 서열 동일성인 폴리펩타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 INF7 또는 그의 유도체, 멜리틴 또는 그의 유도체, 또는 메우신 또는 그의 유도체를 포함한다.

[0311] 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 표 8에 기재된 바와 같은 서열을 포함한다.

표 8

명칭	기원	아미노산 서열	서열 번호:	타입
Pep-1	시미안 바이러스 40 거대 항원 유래의 NLS 및 HIV의 역전사효소	KETWWETWWTEWSQPKKKR KV	60	1 차 양친매성
pVEC	VE-카드헤린	LLIILRRRRIRKQAHAHSK	61	1 차 양친매성
VT5	합성 펩타이드	DPKGDPKGVTVTVTVTVTGK GDPKPD	62	β-시트 양친매성
C105Y	1-항트립신	CSIPPEVKFNKPFVYLI	63	-
트랜스포르탄	갈라닌 및 마스토파란	GWTLNSAGYLLGKINLKALA ALAKKIL	64	1 차 양친매성
TP10	갈라닌 및 마스토파란	AGYLLGKINLKALAALAKKIL	65	1 차 양친매성
MPG	HIV gp41의 융합 서열 유래의 소수성 도메인 및 SV40 T 항원의 NLS	GALFLGFLGAAGSTMGA	66	β-시트 양친매성
gH625	HSV 타입 I 의 당단백질 gH	HGLASTLTRWAHYNALIRAF	67	2 차 양친매성 α-나선
CADY	PPTG1 펩타이드	GLWRALWRLLRSLWRLLWRA	68	2 차 양친매성 α-나선
GALA	합성 펩타이드	WEAALAEALAEALAEHLAEA LAEALEALAA	69	2 차 양친매성 α-나선
INF	인플루엔자 HA2 융합 펩타이드	GLFEAIEGFIENGWEGMIDGW YGC	70	2 차 양친매성 α-나선/ pH 의존성 막 활성펩타이드
HA2E5-TAT	인플루엔자 바이러스 X31 균주 융합 펩타이드의 인플루엔자 HA2 서브유닛	GLFGAIAGFIENGWEGMIDGW YG	71	2 차 양친매성 α-나선/ pH 의존성 막 활성펩타이드
HA2-페네트라틴	인플루엔자 바이러스 X31 균주 융합 펩타이드의 인플루엔자 HA2 서브유닛	GLFGAIAGFIENGWEGMIDGR QIKIWFQNRRMKW KK-amide	72	pH 의존성 막 활성펩타이드

[0312]

HA-K4	인플루엔자 바이러스 X31 균주 융합 펩타이드의 인플루엔자 HA2 서브유닛	GLFGAIAGFIENGWEGMIDG-SSKKKK	73	pH 의존성 막 활성펩타이드
HA2E4	인플루엔자 바이러스 X31 균주 융합 펩타이드의 인플루엔자 HA2 서브유닛	GLFEAIAGFIENGWEGMIDGG GYC	74	pH 의존성 막 활성펩타이드
H5WYG	HA2 유사체	GLFHAIAHFIHGGWH GLIHGWYG	75	pH 의존성 막 활성펩타이드
GALA-INF3-(PEG)6-NH	INF3 융합 펩타이드	GLFEAIEGFIENGWEGLAEALA EALEALAA-(PEG)6-NH2	76	pH 의존성 막 활성펩타이드
CM18-TAT11	세크로핀-A-멜리틴 $_{2-12}$(CM_{18}) 융합 펩타이드	KWKLFKKIGAVLKVLTTG-YGRKKRRQRRR	77	pH 의존성 막 활성펩타이드

[0313]

[0314] 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 Bcl-2 및/또는 Bcl-x_L과 같은 억제인자 타겟의 길항작용을 통해 아폽토시스를 유도하는 Bak BH3 폴리펩타이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 Albarran, et al., "Efficient intracellular delivery of a pro-apoptotic peptide with a pH-responsive carrier," Reactive & Functional Polymers 71: 261-265 (2011)에 기재된 Bak BH3 폴리펩타이드를 포함한다.

[0315] 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 PCT 공개 WO2013/166155 또는 WO2015/069587에 기재된 바와 같은 폴리펩타이드(예를 들어, 세포 투과 폴리펩타이드)를 포함한다.

[0316] *엔도솜 분해성 폴리머*

[0317] 몇몇 실시양태에서, 식 (I): $A-(X^1-B)_n$의 컨쥬게이트 또는 식 (II): $A-X^1-(B-X^2-C)_n$의 컨쥬게이트는 엔도솜 분해성 폴리머와 추가로 컨쥬게이션된다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 엔도솜 분해성 폴리머는 선형, 분지형 네트워크, 별, 빗, 또는 사다리 유형의 폴리머를 포함한다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리머는 2개 이상의 상이한 유형의 단량체를 포함하는 호모폴리머 또는 코폴리머이다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리머는 다가양이온 폴리머이다. 다른 경우에서, 엔도솜 분해성 폴리머는 다가음이온 폴리머이다.

[0318] 몇몇 경우에서, 다가 양이온 폴리머는 전하 양성, 전하 중성, 또는 전하 음성인 단량체 단위를 포함하며, 그의 순전하는 양성이다. 다른 경우에서, 다가 양이온 폴리머는 2 이상의 양전하를 함유하는 비폴리머 분자를 포함한다. 예시적인 양이온 폴리머는 폴리(L-라이신)(PLL), 폴리(L-아르기닌)(PLA), 폴리에틸렌이민(PEI), 폴리[α-(4-아미노부틸)-L-글리콜산](PAGA), 2-(디메틸아미노)에틸 메타크릴레이트(DMAEMA), 또는 N,N-디에틸아미노에틸 메타크릴레이트(DEAEMA)를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0319] 몇몇 경우에서, 다가 음이온 폴리머는 전하 양성, 전하 중성, 또는 전하 음성인 단량체 단위를 포함하며, 그의 순전하는 음성이다. 다른 경우에서, 다가 음이온 폴리머는 2 이상의 음전하를 함유하는 비폴리머 분자를 포함한다. 예시적인 음이온 폴리머는 p(알킬아크릴레이트)(예를 들어, 폴리(프로필 아크릴산)(PPAA)) 또는 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)(NIPAM)를 포함한다. 추가의 예는 Khormaee, et al., "Edosomolytic anionic polymer for the cytoplasmic delivery of siRNAs in localized in vivo applications," Advanced Functional Materials 23: 565-574 (2013)에 기재된 L-페닐알라닌-폴리(L-라이신 이소프탈아미드) 폴리머인 PP75를 포함한다.

[0320] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 엔도솜 분해성 폴리머는 pH 반응성 엔도솜 분해성 폴리머이다. pH 반응성 폴리머는 환경의 pH에 따라 크기가 증가(팽윤)하거나 붕괴하는 폴리머를 포함한다. 폴리아크릴산 및 키토산은 pH 반응성 폴리머의 예이다.

[0321] 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 엔도솜 분해성 모이어티는 막 붕괴성 폴리머이다. 몇몇 경우에서, 막 붕괴성 폴리머는 양이온 폴리머, 중성 또는 소수성 폴리머, 또는 음이온 폴리머를 포함한다. 몇몇 경우에서, 막 붕괴성

폴리머는 친수성 폴리머이다.

[0322] 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 엔도솜 분해성 모이어티는 pH 반응성 막 붕괴성 폴리머이다. 예시적인 pH 반응성 막 붕괴성 폴리머는 p(알킬아크릴산), 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)(NIPAM) 코폴리머, 석시닐화된 p(글리시돌), 및 p(β-말산) 폴리머를 포함한다.

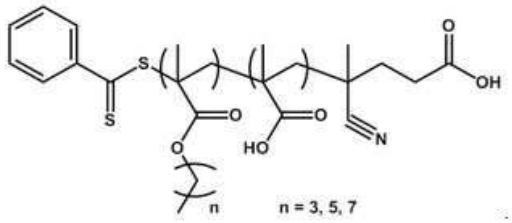
[0323] 몇몇 경우에서, p(알킬아크릴산)은 폴리(프로필아크릴산)(폴리PAA), 폴리(메타크릴산)(PMAA), 폴리(에틸아크릴산)(PEAA), 및 폴리(프로필 아크릴산)(PPAA)을 포함한다. 몇몇 경우에서, p(알킬아크릴산)은 Jones, et al., Biochemistry Journal 372: 65-75 (2003)에 기재된 p(알킬아크릴산)을 포함한다.

[0324] 몇몇 실시양태에서, pH 반응성 막 붕괴성 폴리머는 p(부틸 아크릴레이트-코-메타크릴산)을 포함한다(Bulmus, et al., Journal of Controlled Release 93: 105-120 (2003); 및 Yessine, et al., Biochimica et Biophysica Acta 1613: 28-38 (2003) 참조).

[0325] 몇몇 실시양태에서, pH 반응성 막 붕괴성 폴리머는 p(스티렌-alt-말레산 무수물)을 포함한다(Henry, et al., Biomacromolecules 7: 2407-2414 (2006) 참조).

[0326] 몇몇 실시양태에서, pH 반응성 막 붕괴성 폴리머는 피리딜디설파이드 아크릴레이트(PDSA) 폴리머, 예를 들어 폴리(MAA-코-PDSA), 폴리(EAA-코-PDSA), 폴리(PAA-코-PDSA), 폴리(MAA-코-BA-코-PDSA), 폴리(EAA-코-BA-코-PDSA), 또는 폴리(PAA-코-BA-코-PDSA) 폴리머를 포함한다(El-Sayed, et al., "Rational design of composition and activity correlations for pH-responsive and glutathione-reactive polymer therapeutics," Journal of Controlled Release 104: 417-427 (2005); 또는 Flanary et al., "Antigen delivery with poly(propylacrylic acid) conjugation enhanced MHC-1 presentation and T-cell activation," Bioconjugate Chem. 20: 241-248 (2009) 참조).

[0327] 몇몇 실시양태에서, pH 반응성 막 붕괴성 폴리머는 하기 염기 구조를 포함하는 용해성 폴리머를 포함한다:

[0328] 

[0329] 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 엔도솜 분해성 모이어티는 추가의 컨쥬게이트, 예를 들어 폴리머(예를 들어, PEG), 또는 변형된 폴리머(예를 들어, 콜레스테롤 변형된 폴리머)에 추가로 컨쥬게이션된다.

[0330] 몇몇 경우에서, 추가의 컨쥬게이트는 세제(예를 들어, 트리톤 X-100)를 포함한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 엔도솜 분해성 모이어티는 세제(예를 들어, 트리톤 X-100)와 컨쥬게이션된 폴리머(예를 들어, 폴리(아미도아민))를 포함한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 엔도솜 분해성 모이어티는 폴리(아미도아민)-트리톤 X-100 컨쥬게이트를 포함한다(Duncan, et al., "A polymer-Triton X-100 conjugate capable of pH-dependent red blood cell lysis: a model system illustrating the possibility of drug delivery within acidic intracellular compartments," Journal of Drug Targeting 2: 341-347 (1994)).

[0331] *엔도솜 분해성 지질*

[0332] 몇몇 실시양태에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 지질(예를 들어, 융합성(fusogenic) 지질)이다. 몇몇 실시양태에서, 식 (I): A-$(X^1$-B$)_n$의 컨쥬게이트 또는 식 (II): A-X^1-(B-X^2-C$)_n$의 컨쥬게이트는 엔도솜 분해성 지질(예를 들어, 융합성 지질)과 추가로 컨쥬게이션된다. 예시적인 융합성 지질은 1,2-딜레오일-sn-3-포스포에탄올아민(DOPE), 포스파티딜에탄올아민(POPE), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린(POPC), (6Z,9Z,28Z,31Z)-헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-올(Di-Lin), N-메틸(2,2-디((9Z,12Z)-옥타데카-9,12-디에닐)-1,3-디옥솔란-4-일)메탄아민(DLin-k-DMA) 및 N-메틸-2-(2,2-디((9Z,12Z)-옥타데카-9,12-디에닐)-1,3-디옥솔란-4-일)에탄아민(XTC)을 포함한다.

[0333] 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 PCT 공개 WO09/126,933에 기재된 지질(예를 들어, 융합성 지질)이다.

[0334] *엔도솜 분해성 소분자*

[0335] 몇몇 실시양태에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 소분자이다. 몇몇 실시양태에서, 식 (I): $A-(X^1-B)_n$의 컨쥬게이트 또는 식 (II): $A-X^1-(B-X^2-C)_n$의 컨쥬게이트는 엔도솜 분해성 소분자와 추가로 컨쥬게이션된다. 엔도솜 분해성 모이어티로서 적합한 예시적인 소분자는 퀴닌, 클로로퀴닌, 히드록시클로로퀴닌, 아모디아퀸(카르노퀸), 아모피로퀸, 프리마퀸, 메플로퀸, 니바퀸, 할로판트린, 퀴논 이민, 또는 이들의 조합을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 퀴놀린 엔도솜 분해성 모이어티는 다음을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다: 7-클로로-4-(4-디에틸아미노-1-메틸부틸-아미노)퀴놀린(클로로퀴닌); 7-클로로-4-(4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-메틸부틸-아미노)퀴놀린(히드록시클로로퀴닌); 7-플루오로-4-(4-디에틸아미노-1-메틸부틸-아미노)퀴놀린; 4-(4-디에틸아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 7-히드록시-4-(4-디에틸-아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 7-클로로-4-(4-디에틸아미노-1-부틸아미노)퀴놀린(데스메틸클로로퀴닌); 7-플루오로-4-(4-디에틸아미노-1-부틸아미노)퀴놀린); 4-(4-디에틸-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-히드록시-4-(4-디에틸아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-클로로-4-(1-카르복시-4-디에틸아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-플루오로-4-(1-카르복시-4-디에틸-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 4-(1-카르복시-4-디에틸아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-히드록시-4-(1-카르복시-4-디에틸아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-클로로-4-(1-카르복시-4-디에틸아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 7-플루오로-4-(1-카르복시-4-디에틸-아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 4-(1-카르복시-4-디에틸아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 7-히드록시-4-(1-카르복시-4-디에틸아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 7-플루오로-4-(4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 4-(4-에틸-(2-히드록시-에틸)-아미노-1-메틸부틸아미노-)퀴놀린; 7-히드록시-4-(4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 히드록시클로로퀴닌 포스페이트; 7-클로로-4-(4-에틸-(2-히드록시에틸-1)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린(데스메틸히드록시클로로퀴닌); 7-플루오로-4-(4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 4-(4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-히드록시-4-(4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-클로로-4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-플루오로-4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-히드록시-4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 7-클로로-4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 7-플루오로-4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-메틸부틸아미노)퀴놀린; 7-히드록시-4-(1-카르복시-4-에틸-(2-히드록시에틸)-아미노-1-부틸아미노)퀴놀린; 8-[(4-아미노펜틸)아미노-6-메톡시디히드로클로라이드 퀴놀린; 1-아세틸-1,2,3,4-테트라히드로퀴놀린; 8-[(4-아미노펜틸)아미노]-6-메톡시퀴놀린 디히드로클로라이드; 1-부티릴-1,2,3,4-테트라히드로퀴놀린; 3-클로로-4-(4-히드록시-알파,알파'-비스(2-메틸-1-피롤리디닐)-2,5-자일리디노퀴놀린, 4-[(4-디에틸-아미노)-1-메틸부틸-아미노]-6-메톡시퀴놀린; 3-플루오로-4-(4-히드록시-알파,알파'-비스(2-메틸-1-피롤리디닐)-2,5-자일리디노퀴놀린, 4-[(4-디에틸아미노)-1-메틸부틸-아미노]-6-메톡시퀴놀린; 4-(4-히드록시-알파,알파'-비스(2-메틸-1-피롤리디닐)-2,5-자일리디노퀴놀린; 4-[(4-디에틸아미노)-1-메틸부틸-아미노]-6-메톡시퀴놀린; 3,4-디히드로-1-(2H)-퀴놀린카르복시알데히드; 1,1'-펜타메틸렌 디퀴놀레이늄 디요오다이드; 8-퀴놀리놀 설페이트 및 아미노, 알데히드, 카르복실, 히드록실, 할로겐, 케토, 설프히드릴 및 비닐 유도체 또는 이의 유사체. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 Naisbitt et al., 1997, J. Pharmacol. Exp. Therapy 280:884-893 및 미국 특허 5,736,557에 기재된 소분자이다.

[0336] 몇몇 실시양태에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 니게리신 또는 이의 컨쥬게이트, 예를 들어 폴레이트-니게리신 컨쥬게이트, 폴레이트-니게르신 아미드 컨쥬게이트, 또는 폴레이트-니게리신 카르바메이트 컨쥬게이트와 같은 컨쥬게이트이다. 몇몇 경우에서, 엔도솜 분해성 모이어티는 Rangasamy, *et. al.*, "New mechanism for release of endosomal contents: osmotic lysis via nigericin-mediated K+/H+ exchange," *Bioconjugate Chem.* **29**:1047-1059 (2018)에 기재된 니게리신이다.

[0337] **링커**

[0338] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 링커는 절단 가능한 링커 또는 절단 불가능한 링커이다. 몇몇 경우에서, 링커는 절단 가능한 링커이다. 다른 경우에서, 링커는 절단 불가능한 링커이다.

[0339] 몇몇 경우에서, 링커는 비폴리머 링커이다. 비폴리머 링커는 중합 과정에 의해 생성된 단량체의 반복 단위를 함유하지 않는 링커를 의미한다. 예시적인 비폴리머 링커는 C_1-C_6 알킬기(예를 들어, C_5, C_4, C_3, C_2, 또는 C_1 알킬기), 동종이작용성 크로스 링커, 이종이작용성 크로스 링커, 펩타이드 링커, 트레이슬리스 링커, 자가 희생

(self-immolative) 링커, 말레이미드계 링커, 또는 이들의 조합을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 비폴리머 링커는 C_1-C_6 알킬기(예를 들어, C_5, C_4, C_3, C_2, 또는 C_1 알킬기), 동종이작용성 크로스 링커, 이종이작용성 크로스 링커, 펩타이드 링커, 트레이슬리스 링커, 자가 희생 링커, 말레이미드계 링커, 또는 이들의 조합을 포함한다. 추가적인 경우, 비폴리머 링커는 2개 초과의 동일한 타입의 링커, 예를 들어 2개 초과의 동종이작용성 크로스 링커, 또는 2개 초과의 펩타이드 링커를 포함하지 않는다. 추가의 경우에서, 비폴리머 링커는 하나 이상의 반응성 작용기를 포함한다.

[0340] 몇몇 경우에서, 비폴리머 링커는 상기 기재된 폴리머를 포함하지 않는다. 몇몇 경우에서, 비폴리머 링커는 폴리머 모이어티 C에 의해 둘러싸인 폴리머를 포함하지 않는다. 몇몇 경우에서, 비폴리머 링커는 폴리알킬렌 옥사이드(예를 들어, PEG)를 포함하지 않는다. 몇몇 경우에서, 비폴리머 링커는 PEG를 포함하지 않는다.

[0341] 몇몇 경우에서, 링커는 동종이작용성 링커를 포함한다. 예시적인 동종이작용성 링커는 로만트(Lomant) 시약 디티오비스(석신이미딜프로피오네이트) DSP, 3'3'-디티오비스(설포석신이미딜 프로피오네이트(DTSSP), 디석신이미딜 수베레이트(DSS), 비스(설포석신이미딜)수베레이트(BS), 디석신이미딜 타르트레이트(DST), 디설포석신이미딜 타르트레이트(설포 DST), 에틸렌 글리코비스(석신이미딜숙시네이트)(EGS), 디석신이미딜 글루타레이트(DSG), N,N'-디석신이미딜 카르보네이트(DSC), 디메틸 아디피미데이트(DMA), 디메틸 피멜리미데이트(DMP), 디메틸 수베르이미데이트(DMS), 디메틸-3,3'-디티오비스프로피온이미데이트(DTBP), 1,4-디-3'-(2'-피리딜디티오)프로피온아미도)부탄(DPDPB), 비스말레이미도헥산(BMH), 아릴 할라이드 함유 화합물(DFDNB), 예를 들어 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠 또는 1,3-디플루오로-4,6-디니트로벤젠, 4,4'-디플루오로-3,3'-디니트로페닐술폰(DFDNPS), 비스-[β-(4-아지도살리실아미도)에틸]디설파이드(BASED), 포름알데히드, 글루타르알데히드, 1,4-부탄디올 디글리시딜 에테르, 아디프산 디히드라지드, 카르보히드라지드, o-톨루이딘, 3,3'-디메틸벤지딘, 벤지딘, α,α'-p-디아미노디페닐, 디요오도-p-자일렌 술폰산, N,N'-에틸렌-비스(요오도아세트아미드), 또는 N,N'-헥사메틸렌-비스(요오도아세트아미드)를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0342] 몇몇 실시양태에서, 링커는 이종이작용성 링커를 포함한다. 예시적인 이종이작용성 링커는 아민-반응성 및 설프히드릴 크로스 링커, 예를 들어 N-석신이미딜 3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트(sPDP), 장쇄 N-석신이미딜 3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트(LC-sPDP), 수용성 장쇄 N-석신이미딜 3-(2-피리딜디티오) 프로피오네이트(설포-LCsPDP), 석신이미딜옥시카르보닐-α-메틸-α-(2-피리딜디티오)톨루엔(sMPT), 설포석신이미딜-6-[α-메틸-α-(2-피리딜디티오)톨루아미도]헥사노에이트(설포-LC-sMPT), 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카르복실레이트(sMCC), 설포석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카르복실레이트(설포-sMCC), m-말레이미도벤조일-N-히드록시석신이미드 에스테르(MB), m-말레이미도벤조일-N-히드록시설포석신이미드 에스테르(설포-MB), N-석신이미딜(4-요오도아세틸)아미노벤조에이트(sIAB), 설포석신이미딜(4-요오도아세틸)아미노벤조에이트(설포-sIAB), 석신이미딜-4-(p-말레이미도페닐)부티레이트(sMPB), 설포석신이미딜-4-(p-말레이미도페닐)부티레이트(설포-sMPB), N-(γ-말레이미도부티릴옥시)석신이미드 에스테르(GMB), N-(γ-말레이미도부티릴옥시)설포석신이미드 에스테르(설포-GMB), 석신이미딜 6-((요오도아세틸)아미노)헥사노에이트(sIAX), 석신이미딜 6-[6-(((요오도아세틸)아미노)헥사노일)아미노]헥사노에이트(sIAXX), 석신이미딜 4-(((요오도아세틸)아미노)메틸)사이클로헥산-1-카르복실레이트(sIAC), 석신이미딜 6-((((4-요오도아세틸)아미노)메틸)사이클로헥산-1-카르보닐)아미노) 헥사노에이트(sIACX), p-니트로페닐 요오도아세테이트(NPIA), 카르보닐 반응성 및 설프히드릴 반응성 크로스 링커, 예를 들어 4-(4-N-말레이미도페닐)부티르산 히드라지드(MPBH), 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카르복실-히드라지드-8(M2C2H), 3-(2-피리딜디티오)프로피오닐 히드라지드(PDPH), 아민-반응성 및 광반응성 크로스 링커, 예를 들어 N-히드록시석신이미딜-4-아지도살리실산(NHs-AsA), N-히드록시설포석신이미딜-4-아지도살리실산(설포-NHs-AsA), 설포석신이미딜-(4-아지도살리실아미도)헥사노에이트(설포-NHs-LC-AsA), 설포석신이미딜-2-(ρ-아지도살리실아미도)에틸-1,3'-디티오프로피오네이트(sAsD), N-히드록시석신이미딜-4-아지도벤조에이트(HsAB), N-히드록시설포석신이미딜-4-아지도벤조에이트(설포-HsAB), N-석신이미딜-6-(4'-아지도-2'-니트로페닐아미노)헥사노에이트(sANPAH), 설포석신이미딜-6-(4'-아지도-2'-니트로페닐아미노)헥사노에이트(설포-sANPAH), N-5-아지도-2-니트로벤조일옥시석신이미드(ANB-NO), 설포석신이미딜-2-(m-아지도-o-니트로벤즈아미도)-에틸-1,3'-디티오프로피오네이트(sAND), N-석신이미딜-4(4-아지도페닐)1,3'-디티오프로피오네이트(sADP), N-설포석신이미딜(4-아지도페닐)-1,3'-디티오프로피오네이트(설포-sADP), 설포석신이미딜 4-(ρ-아지도페닐)부티레이트(설포-sAPB), 설포석신이미딜 2-(7-아지도-4-메틸쿠마린-3-아세트아미드)에틸-1,3'-디티오프로피오네이트(sAED), 설포석신이미딜 7-아지도-4-메틸쿠마린-3-아세테이트(설포-sAMCA), ρ-니트로페닐 디아조피루베이트(ρNPDP), ρ-니트로페닐-2-디아조-3,3,3-트리플루오로프로피오네이트(PNP-DTP), 설프히드릴 반응성 및 광반응성 교차링커, 예를 들어 1-(ρ-아지도살리실아미도)-4-(요오도아세트아미도)부탄(AsIB), N-[4-(ρ-아지도살리실

아미도)부틸]-3'-(2'-피리딜디티오)프로피온아미드(APDP), 벤조페논-4-요오도아세트아미드, 벤조페논-4-말레이미드 카르보닐 반응성 및 광반응성 크로스 링커, 예를 들어 ρ-아지도벤조일 히드라지드(ABH), 카르복실레이트 반응성 및 광반응성 크로스 링커, 예를 들어 4-(ρ-아지도살리실아미도)부틸아민(AsBA), 및 아르기닌 반응성 및 광반응성 크로스 링커, 예를 들어 ρ-아지도페닐 글리옥살(APG)을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0343] 몇몇 경우에서, 링커는 반응성 작용기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 반응성 작용기는 결합 모이어티에 존재하는 친전자성 기에 반응성인 친핵성 기를 포함한다. 예시적인 친전자성 기는 카르보닐기, 예를 들어 알데히드, 케톤, 카르복실산, 에스테르, 아미드, 에논, 아실 할라이드 또는 산 무수물을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 반응성 작용기는 알데히드이다. 예시적인 친핵성 기는 히드라지드, 옥심, 아미노, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실레이트, 및 아릴히드라지드를 포함한다.

[0344] 몇몇 실시양태에서, 링커는 말레이미드기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 말레이미드기는 말레이미드 스페이서로도 지칭된다. 몇몇 경우에서, 말레이미드기는 말레이미도카프로일(mc)을 형성하는 카프로산을 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 링커는 말레이미도카프로일(mc)을 포함한다. 몇몇 경우에서, 링커는 말레이미도카프로일(mc)이다. 다른 경우에서, 말레이미드기는 말레이미도메틸 기, 예를 들어 상기 설명된 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트(sMCC) 또는 설포석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트(설포-sMCC)를 포함한다.

[0345] 몇몇 실시양태에서, 말레이미드기는 자가 안정화 말레이미드이다. 몇몇 경우에서, 자가 안정화 말레이미드는 디아미노프로피온산(DPR)을 사용하여 말레이미드에 인접한 염기성 아미노기를 도입하여 티오석신이미드 고리 가수분해의 분자내 촉매작용을 제공하고, 이에 의해 레트로-마이클(retro-Michael) 반응을 통한 제거 반응을 거침으로써 말레이미드를 제거한다. 몇몇 경우에서, 자가 안정화 말레이미드는 Lyon, et al., "Selfhydrolyzing maleimides improve the stability and pharmacological properties of antibody-drug conjugates," Nat Biotechnol. 32(10):1059-1062 (2014)에 기재된 말레이미드기이다. 몇몇 경우에서, 링커는 자가 안정화 말레이미드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 링커는 자가 안정화 말레이미드이다.

[0346] 몇몇 실시양태에서, 링커는 펩타이드 모이어티를 포함한다. 몇몇 경우에서, 펩타이드 모이어티는 적어도 2, 3, 4, 5, 또는 6개 초과의 아미노산 잔기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 펩타이드 모이어티는 최대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개의 아미노산 잔기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 펩타이드 모이어티는 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 또는 약 6개의 아미노산 잔기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 펩타이드 모이어티는 절단 가능한 펩타이드 모이어티(예를 들어, 효소적으로 또는 화학적으로)이다. 몇몇 경우에서, 펩타이드 모이어티는 절단 불가능한 펩타이드 모이어티이다. 몇몇 경우에서, 펩타이드 모이어티는 Val-Cit(발린-시트룰린), Gly-Gly-Phe-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Gly-Phe-Lys, Phe-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Arg, Phe-Cit, Phe-Arg, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Leu-Ala-Leu, 또는 Gly-Phe-Leu-Gly을 포함한다. 몇몇 경우에서, 링커는 펩타이드 모이어티, 예를 들어 Val-Cit(발린-시트룰린), Gly-Gly-Phe-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Gly-Phe-Lys, Phe-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Arg, Phe-Cit, Phe-Arg, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Leu-Ala-Leu, 또는 Gly-Phe-Leu-Gly을 포함한다. 몇몇 경우에서, 링커는 Val-Cit를 포함한다. 몇몇 경우에서, 링커는 Val-Cit이다.

[0347] 몇몇 실시양태에서, 링커는 벤조산기, 또는 그의 유도체를 포함한다. 몇몇 경우에서, 벤조산기 또는 그의 유도체는 파라아미노벤조산(PABA)을 포함한다. 몇몇 경우에서, 벤조산기 또는 그의 유도체는 감마-아미노부티르산(GABA)을 포함한다.

[0348] 몇몇 실시양태에서, 링커는 말레이미드기, 펩타이드 모이어티, 및/또는 벤조산기 중 하나 이상을 임의의 조합으로 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 링커는 말레이미드기, 펩타이드 모이어티, 및/또는 벤조산기의 조합을 포함한다. 몇몇 경우에서, 말레이미드기는 말레이미도카프로일(mc)이다. 몇몇 경우에서, 펩타이드 기는 val-cit이다. 몇몇 경우에서, 벤조산기는 PABA이다. 몇몇 경우에서, 링커는 mc-val-cit 기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 링커는 val-cit-PABA 기를 포함한다. 추가의 경우에서, 링커는 mc-val-cit-PABA 기를 포함한다.

[0349] 몇몇 실시양태에서, 링커는 자가 희생 링커 또는 자가 제거 링커이다. 몇몇 경우에서, 링커는 자가 희생 링커이다. 다른 경우에서, 링커는 자가 제거 링커(예를 들어, 고리화 자가 제거 링커)이다. 몇몇 경우에서, 링커는 미국 특허 9,089,614 또는 PCT 공개 WO2015038426에 기재된 링커를 포함한다.

[0350] 몇몇 실시양태에서, 링커는 수지 유형(dendritic type) 링커이다. 몇몇 경우에서, 수지 유형 링커는 분지형 다작용성 링커 모이어티를 포함한다. 몇몇 경우에서, 수지 유형 링커는 폴리뉴클레오타이드 B 대 결합 모이어티 A의 몰비를 증가시키기 위해 사용된다. 몇몇 경우에서, 수지 유형 링커는 PAMAM 덴드리머를 포함한다.

[0351] 몇몇 실시양태에서, 링커는 트레이슬리스 링커 또는 절단 후 결합 모이어티 A, 폴리뉴클레오타이드 B, 폴리머 C, 또는 엔도솜 분해성 모이어티 D에 링커 모이어티(예를 들어, 원자 또는 링커기)를 남기지 않는 링커이다. 예시적인 트레이슬리스 링커는 게르마늄 링커, 규소 링커, 황 링커, 셀레늄 링커, 질소 링커, 인 링커, 붕소 링커, 크롬 링커, 또는 페닐히드라지드 링커를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 링커는 Hejesen, et al., "A traceless aryl-triazene linker for DNA-directed chemistry," Org Biomol Chem 11(15): 2493-2497 (2013)에 기재된 바와 같은 트레이슬리스 아릴-트리아젠 링커이다. 몇몇 경우에서, 링커는 Blaney, et al., "Braceless solid-phase organic synthesis," Chem Rev. 102: 2607-2024 (2002)에 기재된 트레이슬리스 링커이다. 몇몇 경우에서, 링커는 미국 특허 6,821,783에 기재된 바와 같은 트레이슬리스 링커이다.

[0352] 몇몇 경우에서, 링커는 미국 특허 6,884,869; 7,498,298; 8,288,352; 8,609,105; 또는 8,697,688; 미국 특허 출원 공개 2014/0127239; 2013/028919; 2014/286970; 2013/0309256; 2015/037360; 또는 2014/0294851; 또는 PCT 공개 WO2015057699; WO2014080251; WO2014197854; WO2014145090; 또는 WO2014177042에 기재된 링커이다.

[0353] 몇몇 실시양태에서, X^1 및 X^2는 각각 독립적으로 결합 또는 링커이다. 몇몇 경우에서, X^1 및 X^2는 각각 독립적으로 결합이다. 몇몇 경우에서, X^1 및 X^2는 각각 독립적으로 비폴리머 링커이다.

[0354] 몇몇 경우에서, X^1은 결합 또는 비폴리머 링커이다. 몇몇 경우에서, X^1은 결합이다. 몇몇 경우에서, X^1은 비폴리머 링커이다. 몇몇 경우에서, 링커는 C_1-C_6 알킬기이다. 몇몇 경우에서, X^1은 C_1-C_6 알킬기, 예를 들어, C_5, C_4, C_3, C_2, 또는 C_1 알킬기이다. 몇몇 경우에서, C_1-C_6 알킬기는 비치환된 C_1-C_6 알킬기이다. 링커의 맥락에서, 및 특히 X^1의 맥락에서 사용되는 바와 같이, 알킬은 최대 6개의 탄소 원자를 함유하는 포화된 직선형 또는 분지형 탄화수소 라디칼을 의미한다. 몇몇 경우에서, X^1은 상기 기재된 동종이작용성 링커 또는 이종이작용성 링커를 포함한다. 몇몇 경우에서, X^1은 이종이작용성 링커를 포함한다. 몇몇 경우에서, X^1은 sMCC를 포함한다. 다른 경우에서, X^1은 C_1-C_6 알킬기에 선택적으로 컨쥬게이션된 이종이작용성 링커를 포함한다. 다른 경우에서, X^1은 C_1-C_6 알킬기에 선택적으로 컨쥬게이션된 sMCC를 포함한다. 추가의 경우에서, X^1은 상기 기재된 동종이작용성 링커 또는 이종이작용성 링커를 포함하지 않는다.

[0355] 몇몇 경우에서, X^2는 결합 또는 링커이다. 몇몇 경우에서, X^2는 결합이다. 다른 경우에서, X^2는 링커이다. 추가적인 경우에서, X^2는 비폴리머 링커이다. 몇몇 실시양태에서, X^2는 C_1-C_6 알킬기이다. 몇몇 경우에서, X^2는 상기 기재된 동종이작용성 링커 또는 이종이작용성 링커이다. 몇몇 경우에서, X^2는 상기 기재된 동종이작용성 링커이다. 몇몇 경우에서, X^2는 상기 기재된 이종이작용성 링커이다. 몇몇 경우에서, X^2는 말레이미드기, 예를 들어 상기 기재된 말레이미도카프로일(mc) 또는 자가 안정화 말레이미드기를 포함한다. 몇몇 경우에서, X^2는 펩타이드 모이어티, 예를 들어 Val-Cit를 포함한다. 몇몇 경우에서, X^2는 벤조산기, 예를 들어 PABA를 포함한다. 추가의 경우에서, X^2는 말레이미드기, 펩타이드 모이어티, 및/또는 벤조산기의 조합을 포함한다. 추가의 경우에서, X^2는 mc 기를 포함한다. 추가의 경우에서, X^2는 mc-val-cit 기를 포함한다. 추가의 경우에서, X^2는 val-cit-PABA 기를 포함한다. 추가의 경우에서, X^2는 mc-val-cit-PABA 기를 포함한다.

[0356] **사용 방법**

[0357] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체를 사용하여 관심 타겟 부위에 페이로드를 전달하는 방법이 본 출원에 기재된다. 몇몇 경우에서, 관심 타겟 부위는 질병 또는 병태와 관련된 원인 단백질을 과발현하는 세포이다. 몇몇 경우에서, 관심 타겟 부위는 올바르지 않게 프로세싱된 mRNA를 포함하는 세포인데, 이는 질병 또는 병태를 유발하는 단백질의 감소된 발현 또는 비작용성 단백질을 코딩한다. 몇몇 경우에서, 관심 타겟 부위는 종양 부위이다. 추가 예에서, 관심 타겟 부위는 뇌에 위치된 부위이다.

[0358] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 과발현된 단백질을 특징으로 하는 질병 또는 질환을 치료하는 방법이 기재된다. 몇몇 경우에서, 질병 또는 질환은 근위축이다. 몇몇 경우에서, 질병 또는 질환은 근긴장성 이영양증이다.

[0359] 한 실시양태에서, 근위축은 근력의 현저한 손실을 의미한다. 근력의 현저한 손실은 대조군 대상체에서 동일한

근육 조직에 비해 대상체에서 질환, 부상 또는 미사용 근육 조직에서의 힘의 감소를 의미한다. 한 실시양태에서, 근력의 현저한 손실은 대조군 대상체에서 동일한 근육 조직에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50% 이상의 힘의 감소이다. 다른 실시양태에서, 근력의 현저한 손실은 미사용 기간 이전에 동일한 대상체에서 동일한 근육 조직의 근력에 비해 미사용 근육 조직에서의 힘의 감소를 의미한다. 한 실시양태에서, 근력의 현저한 손실은 미사용 기간 전에 동일한 대상체에서 동일한 근육 조직의 근력에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50% 이상의 감소이다.

[0360] 다른 실시양태에서, 근위축은 근육 질량의 현저한 손실을 의미한다. 근육 질량의 현저한 손실은 대조군 대상체에서 동일한 근육 조직에 비해 대상체에서 질환, 부상 또는 미사용 근육 조직에서의 근육 부피의 감소를 의미한다. 한 실시양태에서, 근육 부피의 현저한 손실은 대조군 대상체에서 동일한 근육 조직에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50% 이상이다. 다른 실시 형태에서, 근육 질량의 현저한 손실은 미사용 기간 이전에 동일한 대상체에서 동일한 근육 조직의 근육 부피에 비해 미사용 근육 조직에서의 근육 부피의 감소를 의미한다. 한 실시양태에서, 근육 조직의 현저한 손실은 미사용 기간 이전에 동일한 대상체에서 동일한 근육 조직의 근육 부피에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50% 이상이다. 근육 부피는 경우에 따라, 자기 공명 영상화(예를 들어, 근육 부피/단면적(CSA: cross-section area) MRI 방법)에 의해서와 같이 근육의 단면적을 평가함으로써 측정된다.

[0361] 몇몇 실시양태에서, 근위축은 악액질, 탈신경, 근육병증, 운동 뉴런 질환, 당뇨병, 만성 폐쇄성 폐질환, 간 질환, 울혈성 심부전, 만성 신부전, 만성 감염, 패혈증, 단식, 사코페니아, 글루코코르티코이드 관련 근위축, 또는 불용 관련 근위축을 포함하거나, 또는 이와 관련된다.

[0362] 악액질은 기저 질환으로 인한 후천성으로 가속화되는 근육 손실이다. 몇몇 경우에서, 악액질은 영양적으로 되돌릴 수 없고 일반적으로 암, COPD, AIDS, 심부전 등과 같은 기저 질환과 연관된 체질량 손실을 의미한다. 말기 암 환자에서 악액질이 발견될 경우, 이를 "암 악액질"이라고 한다. 암 악액질은 진행된 암 환자의 대부분에 영향을 미치며 치료 허용, 치료에 대한 반응, 삶의 질 및 생존 기간의 감소와 관련이 있다. 몇몇 경우에서, 암 악액질은 체지방량 손실의 유무에 관계없이 골격근 질량의 지속적인 손실을 특징으로 하는 다인자 증후군으로 정의되며, 이는 종래의 영양학적 지원에 의해 완전히 역전될 수 없고 점진적인 기능 장애를 초래한다. 몇몇 경우에서, 골격근 손실은 암 악액질에서 가장 중요한 사건으로 보인다. 또한, 암 악액질의 분류는 진단 기준이 체중 감소가 악액질 과정의 신호 사건이라는 것을 고려해야 할 뿐만 아니라 낮은 BMI 또는 낮은 수준의 근육질과 같이 환자의 초기 비축량도 고려해야 한다는 것을 시사한다.

[0363] 탈신경은 기관과 중추 신경계 사이에 신경 섬유가 부분적으로 또는 완전히 중단되어 말초 운동뉴런에 손상을 입히고, 신경전도 및 운동 뉴런 발화가 중단되어 차례로 골격근의 수축성을 방해한다. 이러한 신경 기능 상실은 국소화되거나 전체 운동 뉴런 단위의 상실로 인해 전신화된다. 그 결과 골격근이 수축할 수 없게 되면 근위축이 생긴다. 몇몇 경우에서, 탈신경은 퇴행성, 대사성, 또는 염증성 신경 병증(예를 들어, 길랭-바레 증후군, 말초 신경 병증, 또는 환경 독소 또는 약물에 대한 노출)과 관련되거나 그로 인한 결과이다. 추가의 경우에서, 탈신경은 신체적 상해, 예를 들어 수술 절차와 관련된다.

[0364] 근육병증은 근육 질환을 나타내는 포괄적인 용어이다. 몇몇 경우에서, 근육병증은 근긴장증; 선천성 근육병증, 예를 들어 네말린 근육병증, 다핵/미세핵 근육병증 및 근관(중심핵) 근육병증; 미토콘드리아 근육병증; 가족성 주기적 근육마비; 염증성 근육병증; 예를 들어, 글리코겐 또는 지질 저장 질환으로 인한 대사 근육병증; 피부근육염; 다발성 근육염; 포함체 근육염; 골화 근육염; 횡문근 융해증; 및 미오글로빈 뇨를 포함한다. 몇몇 경우에서, 근육병증은 근위축 증후군, 예를 들어 뒤시엔느, 베커, 근긴장성, 안면-견갑-상완형, 에머리-드레이푸스, 안구인두근, 견갑상완골, 하지대, 후쿠야마, 선천성 근이영양증, 또는 유전성 원위 근육병증에 의해 야기된다. 몇몇 경우에서, 근육병증은 근긴장성 이영양증(예를 들어, 근긴장성 이영양증 1형 또는 DM1)에 의해 야기된다. 몇몇 경우에서, 근육병증은 DM1에 의해 야기된다.

[0365] 운동 뉴런 질환(MND)은 신체의 수의근을 제어하는 세포인 운동 뉴런에 영향을 미치는 신경계 장애를 포함한다. 예시적인 운동 뉴런 질환은 성인 운동 뉴런 질환, 유아 척수 근위축, 근위축성 측삭 경화증, 청소년 척수 근위축, 다초점 전도 차단을 동반한 자가 면역 운동 신경 병증, 뇌졸중 또는 척수 손상으로 인한 마비, 또는 외상으로 인한 골격 고정을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0366] 당뇨병(진성 당뇨, DM(diabetes mellitus))은 1형 당뇨병, 2형 당뇨병, 3형 당뇨병, 4형 당뇨병, 이중 당뇨병,

잠복 자가 면역 당뇨병(LAD: latent autoimmune diabetes), 임신성 당뇨병, 신생아 당뇨병(NDM: neonatal diabetes mellitus), 저연령대 성인발병 당뇨병(MODY: maturity onset diabetes of the young), 볼프람 증후군, 알스트룀 증후군, 당뇨병 전증, 또는 요붕증을 포함한다. 비-인슐린 의존성 당뇨병이라고도 하는 2형 당뇨병은 모든 당뇨병 사례의 95%를 차지하는 가장 일반적인 유형의 당뇨병이다. 몇몇 경우에서, 2형 당뇨병은 췌장 베타 세포 기능 장애로 인한 인슐린 저항성을 비롯한 여러 요인의 조합에 의해 야기되며, 이는 결국 고혈당 수준으로 이어진다. 몇몇 경우, 증가한 글루카곤 수준은 간을 자극하여 불필요한 양의 불필요한 포도당을 생성하여 고혈당 수준에 기여한다. 인슐린 의존성 당뇨병으로도 불리는 1형 당뇨병은 모든 당뇨병 사례의 약 5% 내지 10%를 구성한다. 1형 당뇨병은 T 세포가 췌장에서 인슐린 생성 베타 세포를 공격하고 파괴하는 자가 면역 질환이다. 몇몇 실시양태에서, 1형 당뇨병은 유전적 및 환경적 요인에 의해 야기된다. 4형 당뇨병은 65세 이상의 당뇨병 환자의 약 20%에 영향을 미치는 최근에 발견된 당뇨병 유형이다. 몇몇 실시양태에서, 4형 당뇨병은 노화 관련 인슐린 저항성을 특징으로 한다. 몇몇 실시양태에서, 3형 당뇨병은 뇌에서 인슐린 저항성을 유발하는 알츠하이머병에 대한 용어로 사용된다.

[0367] 만성 폐쇄성 폐질환(COPD: Chronic obstructive pulmonary disease)은 장기간 호흡 문제 및 불량한 공기 흐름을 특징으로 하는 폐쇄성 폐질환의 한 유형이다. 만성 기관지염과 폐기종은 두 가지 다른 유형의 COPD이다.

[0368] 간 질환 또는 간장병은 섬유증, 간경변, 간염, 알코올성 간 질환, 지방간, 유전성 질환, 또는 원발성 간암을 포함한다.

[0369] 울혈성 심부전은 심장이 신체 조직에 충분한 혈액과 산소를 펌핑할 수 없는 병태이다.

[0370] 만성 신부전 또는 만성 신장 질환은 시간이 지남에 따라 점차 신장 기능이 상실되는 병태이다.

[0371] 몇몇 실시양태에서, AIDS와 같은 만성 감염이 또한 근위축을 초래한다.

[0372] 패혈증은 조직 손상, 기관 부전, 및/또는 사망을 초래하는 감염에 대한 면역 반응이다.

[0373] 단식은 일정 기간 동안 일부 또는 모든 음식, 음료 또는 둘 다의 자발적 금욕 또는 감소이다.

[0374] 사코페니아는 보통의 노화 과정에서 근위축의 지속적인 과정으로 수개월 및 수년에 걸친 근육 질량과 근력의 점진적 손실을 특징으로 한다. 보통의 노화 과정은 본 출원에서 골격근 신경변성을 촉진하는 장애 및 질병의 존재에 의해 영향을 받거나 가속되지 않는 노화 과정을 의미한다.

[0375] 몇몇 실시양태에서, 글루코코르티코이드에 의한 치료로 근위축이 또한 발생한다. 예시적인 글루코코르티코이드는 코티솔, 덱사메타손, 베타메타손, 프레드니손, 메틸프레드니솔론, 및 프레드니솔론을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0376] 사지가 고정화될 때(예를 들어, 사지 또는 관절 골절 또는 정형외과 수술, 예를 들어 고관절 또는 무릎 대체 수술로 인해), 불용 관련 근위축이 발생한다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, "고정화" 또는 "고정화된"은 사지, 근육, 뼈, 힘줄, 관절, 또는 임의의 다른 신체 부위의 움직임을 연장된 기간 동안(예를 들어, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 일주일, 2주, 또는 그 이상 동안) 부분적으로 또는 완전히 제한하는 것을 의미한다. 몇몇 경우에서, 고정화 기간은 짧은 기간, 또는 목욕, 외부 장치 교체, 또는 외부 장치 조정과 같은 제한되지 않은 움직임의 경우를 포함한다. 사지 고정화는 경우에 따라 버팀대, 슬링, 캐스트, 붕대, 및 부목(이들 중 임의의 것은 경우에 따라 천, 거즈, 섬유 유리, 플라스틱, 플라스터, 또는 금속을 포함하지만 이에 제한되지 않는 경질 또는 연질 재료로 구성됨)을 포함하는 임의의 다양한 외부 장치뿐 아니라, 섬유 유리, 플라스틱, 플라스터 또는 금속)뿐만 아니라 외과적으로 이식된 부목, 플레이트, 버팀대 등을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아닌 다양한 내부 장치에 의해 수행된다. 사지 고정화와 관련하여, 움직임의 제한은 단일 관절 또는 다중 관절(예를 들어, 어깨 관절 또는 고관절과 같은 단순 관절, 요수근 관절과 같은 복잡 관절, 및 무릎 관절과 같은 복합 관절, 이들은 다음 중 하나 이상을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아님: 손 관절, 어깨 관절, 팔꿈치 관절, 손목 관절, 보조 관절, 흉쇄 관절, 척추 관절, 악관절, 천장 관절, 고관절, 무릎 관절, 및 발 관절), 단일 힘줄 또는 인대 또는 다중 힘줄 또는 인대(예를 들어, 다음 중 하나 이상을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아님: 전방 십자 인대, 후방 십자 인대, 회전근개건, 팔꿈치 및 무릎의 내측 측부 인대, 손의 굴곡건, 발목의 측부 인대, 턱관절 또는 악관절의 힘줄 및 인대), 단일 뼈 또는 복합 뼈(예를 들어, 다음 중 하나 이상을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아님: 두개골, 하악골, 쇄골, 갈비뼈, 요골, 척골, 상완골, 골반, 천골, 대퇴골, 슬개골, 지골, 손목뼈, 중수골, 발목뼈, 중족골, 비골, 경골, 견갑골, 및 척추), 단일 근육 또는 다중 근육(예를 들어, 다음 중 하나 이상을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아님: 광배근, 승모근, 삼각근, 흉근, 이두근, 삼두근, 외복사근, 복근, 대둔근, 햄스트링, 대퇴사두근, 비복근, 및 가로막); 하나의 팔다리 또는 여러 팔다리(하나 이

상의 팔 다리); 또는 전체 골격근계 또는 그 일부(예를 들어, 전신 캐스트 또는 스파이커 캐스트의 경우)를 포함한다.

[0377] 근긴장성 이영양증은 근긴장성 이영양증 1형(DM1) 및 근긴장성 이영양증 2형(DM2)의 2가지 주요 유형을 포함하는 다중 전신 신경근 질환이다. DM1은 유전자 DM 단백질 키나아제(DMPK)에서 우세하게 유전된 "CTG" 반복 팽창에 의해 유발되는데, 이 단백질은 mRNA로 전사될 때 MBNL(Muscleblind-like) 패밀리의 단백질에 높은 친화도로 결합하는 헤어핀을 형성한다. MBNL 단백질은 전사 후 스플라이싱 및 폴리아데닐화 부위 조절에 관여하고, MBNL 단백질 기능의 상실은 핵 병소의 하류 축적 및 스플라이싱 오류 사건의 증가로 이어지고, 이어서 근긴장증 및 다른 임상 증상으로 이어진다.

[0378] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 올바르지 않게 스플라이싱된 mRNA를 특징으로 하는 질병 또는 질환을 치료하는 방법이 기재된다. 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체는 엑손 스키핑 또는 엑손 봉입을 유도하는 올바르지 않게 스플라이싱된 mRNA 전사체의 부위에 폴리핵산 분자를 전달한다.

[0379] 몇몇 경우에서, 부적절하게 스플라이싱된 또는 부분적으로 스플라이싱된 mRNA에 기인하는 질병 또는 질환은 신경근육 질환, 유전 질병, 암, 유전병, 또는 심혈관 질환을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0380] 몇몇 경우에서, 유전 질병 또는 질환은 상염색체 우성 유전 질환, 상염색체 열성 유전 질환, X연관 우성 질환, X 연관 열성 질환, Y 연관 질환, 미토콘드리아 질병, 또는 다인자성 또는 다원유전자성 질환을 포함한다.

[0381] 몇몇 경우에서, 심혈관질환, 예를 들어 고콜레스테롤혈증은 부적절하게 스플라이싱된 또는 부분적으로 스플라이싱된 mRNA에 기인한다. 고콜레스테롤혈증에서, 저밀도 지단백질 수용체(LDLR)의 엑손 12 내의 단일 뉴클레오타이드 다형성이 엑손 스키핑을 촉진하는 것으로 확인되었다.

[0382] 몇몇 경우에서, 부적절하게 스플라이싱된 또는 부분적으로 스플라이싱된 mRNA는 암을 일으킨다. 예를 들어, 부적절하게 스플라이싱된 또는 부분적으로 스플라이싱된 mRNA는 증식, 이동, 및 약물 반응을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아닌 암과 연루된 세포 과정에 영향을 미친다. 몇몇 경우에서 암은 고형암 또는 혈액암이다. 몇몇 경우에서, 암은 방광암, 폐암, 뇌암, 흑색종, 유방암, 비호지킨 림프종, 자궁경부암, 난소암, 결장직장암, 췌장암, 식도암, 전립선암, 신장암, 피부암, 백혈병, 갑상선암, 간암, 또는 자궁암이다.

[0383] 몇몇 경우에서 부적절하게 스플라이싱된 또는 부분적으로 스플라이싱된 mRNA는 신경근육질병 또는 질환을 유발한다. 예시적인 신경근육 질병은 근이영양증, 예를 들어 뒤시엔느 근이영양증, 베커 근이영양증, 안면견갑상완 근이영양증, 원위성 근이영양증, 또는 근긴장성 이영양증을 포함한다. 몇몇 경우에서, 근이영양증은 유전성이다. 몇몇 경우에서, 근이영양증은 자연 돌연변이에 의해 유발된다. 베커 근이영양증 및 뒤시엔느 근이영양증은 단백질 디스트로핀을 코딩하는 *DMD* 유전자 내의 돌연변이와 관련되어 있는 것으로 확인되었다. 안면견갑상완 근이영양증은 이중 호메오박스인 4(*DUX4*) 유전자 내의 돌연변이와 관련되어 있는 것으로 확인되었다.

[0384] 몇몇 경우에서, 부적절하게 스플라이싱된 또는 부분적으로 스플라이싱된 mRNA는 뒤시엔느 근이영양증을 유발한다. 뒤시엔느 근이영양증은 고도의 근육 약화를 초래하고, 기능적인 디스트로핀의 생성을 폐기하는 *DMD* 유전자 내의 돌연변이에 의해 유발된다. 몇몇 경우에서, 뒤시엔느 근이영양증은 *DMD* 유전자 내의 엑손 내의 돌연변이의 결과이다. 몇몇 경우에서, 뒤시엔느 근이영양증은 *DMD* 유전자 내의 엑손 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78 및 79의 적어도 하나 내의 돌연변이의 결과이다. 몇몇 경우에서, 뒤시엔느 근이영양증은 *DMD* 유전자 내의 엑손 3, 4, 5, 6, 7, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 및 63의 적어도 하나 내의 돌연변이의 결과이다. 몇몇 경우에서, 뒤시엔느 근이영양증은 *DMD* 유전자 내의 엑손 8, 23, 35, 43, 44, 45, 50, 51, 52, 53, 및 55의 적어도 하나 내의 돌연변이의 결과이다. 몇몇 경우에서, 다수의 엑손은 돌연변이된다. 예를 들어, 엑손 48-50의 돌연변이는 뒤시엔느 근이영양증 환자에서 통상적이다. 몇몇 경우에서, 뒤시엔느 근이영양증은 엑손 51의 돌연변이의 결과이다. 몇몇 경우에서, 뒤시엔느 근이영양증은 엑손 23의 돌연변이의 결과이다. 몇몇 경우에서, 돌연변이는 하나 또는 다수의 엑손의 결실을 포함한다. 몇몇 경우에서, 돌연변이는 하나 또는 다수의 엑손의 중복을 포함한다. 몇몇 경우에서, 돌연변이는 엑손 내의 점 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 몇몇 환자는 *DMD* 유전자의 엑속 51 내의 난센스 점 돌연변이를 보유하는 것으로 확인되었다.

[0385] **약학 제제**

[0386] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 약학 제제는 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 근육내), 경구, 비강내, 협측, 직장, 또는 경피 투여 경로를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아닌 다수의 투여 경로에 의해 대상에게 투여된다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 약학 조성물은 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 근육내) 투여용으로 제제화된다. 다른 경우에서, 본 출원에 기재된 약학 조성물은 경구 투여용으로 제제화된다. 또 다른 경우에서, 본 출원에 기재된 약학 조성물은 비강내 투여용으로 제제화된다.

[0387] 몇몇 실시양태에서, 약학 제제는 수성 액체 분산액, 자가 유화 분산액, 고체 용액, 리포좀 분산액, 에어로졸, 고체 투여 형태, 분말, 즉시 방출 제제, 제어 방출 제제, 신속 용융 제제, 정제, 캡슐, 환제, 지연 방출 제제, 연장 방출 제제, 맥동성(pulsatile) 방출 제제, 다입자 제제(예를 들어, 나노입자 제제), 및 혼합된 즉시 및 제어 방출 제제를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0388] 몇몇 경우에서, 약학 제제는 다입자 제제를 포함한다. 몇몇 경우에서, 약학 제제는 나노입자 제제를 포함한다. 몇몇 경우에서, 나노입자는 cMAP, 시클로덱스트린, 또는 지질을 포함한다. 몇몇 경우에서, 나노입자는 고체 지질 나노입자, 폴리머 나노입자, 자가 유화 나노입자, 리포좀, 마이크로에멀젼, 또는 마이셀 용액을 포함한다. 추가의 예시적인 나노입자는 상자성 나노입자, 초상자성 나노입자, 금속 나노입자, 풀러린(fullerene) 유사 물질, 무기 나노튜브, 덴드리머(예를 들어, 공유 결합된 금속 킬레이트를 갖는 덴드리머), 나노섬유, 나노혼(nanohorn), 나노오니온(nano-onion), 나노로드(nanorod), 나노로프(nanorope) 및 퀀텀 닷을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 나노입자는 금속 나노입자, 예를 들어 스칸듐, 티타늄, 바나듐, 크롬, 망간, 철, 코발트, 니켈, 구리, 아연, 이트륨, 지르코늄, 니오븀, 몰리브덴, 루테늄, 로듐, 팔라듐, 은, 카드뮴, 하프늄, 탄탈륨, 텅스텐, 레늄, 오스뮴, 이리듐, 백금, 금, 가돌리늄, 알루미늄, 갈륨, 인듐, 주석, 탈륨, 납, 비스무트, 마그네슘, 칼슘, 스트론튬, 바륨, 리튬, 나트륨, 칼륨, 붕소, 규소, 인, 게르마늄, 비소, 안티몬의 나노입자, 및 이들의 조합, 합금 또는 산화물이다.

[0389] 몇몇 경우에서, 나노입자는 코어-쉘 나노입자에서와 같이 코어 또는 코어 및 쉘을 포함한다.

[0390] 몇몇 경우에서, 나노입자는 작용성 요소의 부착을 위한 분자(예를 들어, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자 또는 결합 모이어티 중 하나 이상)로 추가로 코팅된다. 몇몇 경우에서, 코팅은 콘드로이틴 설페이트, 덱스트란 설페이트, 카르복시메틸 덱스트란, 알긴산, 펙틴, 카라기난, 푸코이단, 아가로펙틴, 포르피란, 카라야 검, 젤란 검, 잔탄 검, 히알루론산, 글루코사민, 갈락토사민, 키틴(또는 키토산), 폴리글루탐산, 폴리아스파르트산, 리소자임, 시토크롬 C, 리보뉴클레아제, 트립시노겐, 키모트립시노겐, α-키모트립신, 폴리라이신, 폴리아르기닌, 히스톤, 프로타민, 난백 알부민, 덱스트린, 또는 시클로덱스트린을 포함한다. 몇몇 경우에서, 나노입자는 그래핀 코팅된 나노입자를 포함한다.

[0391] 몇몇 경우에서, 나노입자는 약 500 nm, 400 nm, 300 nm, 200 nm, 또는 100 nm 미만 중 적어도 하나의 치수를 갖는다.

[0392] 몇몇 경우에, 나노입자 제제는 상자성 나노입자, 초상자성 나노입자, 금속 나노입자, 풀러렌 유사 물질, 무기 나노튜브, 덴드리머(예를 들어, 공유결합된 금속 킬레이트를 가짐), 나노섬유, 나노혼, 나노-오니온, 나노로드, 나노로프 또는 퀀텀 닷을 포함한다. 일부 경우에, 본 출원에 기재된 폴리핵산 분자 또는 결합 모이어티는 나노입자에 직접적으로 또는 간접적으로 컨쥬게이션된다. 몇몇 경우에, 본 출원에 기재된 적어도 1, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100개 또는 그 초과의 폴리핵산 분자 또는 결합 모이어티는 나노입자에 직접적으로 또는 간접적으로 접합된다.

[0393] 몇몇 실시양태에서, 약학 제제는 전달 벡터, 예를 들어 재조합 벡터, 세포 내로의 폴리핵산 분자의 전달을 포함한다. 몇몇 예에서, 재조합 벡터는 DNA 플라스미드이다. 다른 예에서, 재조합 벡터는 바이러스 벡터이다. 예시적인 바이러스 벡터는 아데노 연관 바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 또는 알파바이러스로부터 유도된 벡터를 포함한다. 몇몇 예에서, 폴리핵산 분자를 발현할 수 있는 재조합 벡터는 타겟 세포에서 안정한 발현을 제공한다. 추가적인 예에서, 폴리핵산 분자의 일시적인 발현을 위해 제공되는 바이러스 벡터가 사용된다.

[0394] 몇몇 실시양태에서, 약학 제제는 본 출원에 개시된 조성물과의 상용성, 및 원하는 투여 형태의 방출 프로파일 특성에 기초하여 선택된 담체 또는 담체 물질을 포함한다. 예시적인 담체 물질은 예를 들어 결합제, 현탁화제, 붕해제, 충전제, 계면활성제, 가용화제, 안정화제, 윤활제, 습윤제, 희석제 등을 포함한다. 약학으로 상용성인 담체 물질은 아카시아, 젤라틴, 콜로이드성 이산화규소, 칼슘 글리세로포스페이트, 젖산칼슘, 말토덱스트린, 글리세린, 규산마그네슘, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르, 카제인산나트륨, 대두 레시틴, 타우로콜린산, 포스포티딜콜린, 염화나트륨, 인산삼칼슘, 인산이칼륨, 셀룰로오스 및 셀룰로오스 컨쥬게이

트, 당 나트륨 스테아로일 락틸레이트, 카라기난, 모노글리세라이드, 디글리세라이드, 전호화 전분 등을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, HA and Lachman, L, Eds, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, NY, 1980; 및 Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed.(Lippincott Williams & Wilkins 1999)을 참고한다.

[0395] 몇몇 경우에서, 약학 제제는 아세트산, 붕산, 시트르산, 젖산, 인산 및 염산과 같은 산; 수산화나트륨, 인산나트륨, 붕산나트륨, 시트르산나트륨, 아세트산나트륨, 젖산나트륨 및 트리스-히드록시메틸아미노메탄과 같은 염기; 및 시트레이트/덱스트로스, 중탄산나트륨 및 염화암모늄과 같은 버퍼를 포함하는, pH 조절제 또는 완충제를 추가로 포함한다. 이러한 산, 염기 및 버퍼는 조성물의 pH를 허용되는 범위로 유지하는데 필요한 양으로 포함된다.

[0396] 몇몇 경우에서, 약학 제제는 조성물의 삼투압몰농도(osmolality)를 허용되는 범위로 조절하는데 필요한 양으로 하나 이상의 염을 포함한다. 이러한 염은 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 양이온 및 클로라이드, 시트레이트, 아스코르베이트, 보레이트, 포스페이트, 바이카르보네이트, 설페이트, 티오설페이트 또는 바이설파이트 음이온을 갖는 것을 포함하며; 적합한 염은 염화나트륨, 염화칼륨, 티오황산나트륨, 아황산수소나트륨 및 황산암모늄을 포함한다.

[0397] **치료 레지먼**

[0398] 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 약학 조성물은 치료 적용을 위해 투여된다. 몇몇 실시양태에서, 약학 조성물은 1일 1회, 1일 2회, 1일 3회 또는 그 초과로 투여된다. 약학 조성물은 매일, 격일, 매주 5일, 매주 1회, 격주, 매월 2주, 매월 3주, 매월 1회, 매월 2회, 매월 3회 또는 그 초과로 투여된다. 약학 조성물은 적어도 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 18개월, 2년, 3년 또는 그 초과의 기간 동안 투여된다.

[0399] 몇몇 실시양태에서, 하나 이상의 약학 조성물은 동시에, 순차적으로, 또는 일정 시간 간격으로 투여된다. 몇몇 실시양태에서, 하나 이상의 약학 조성물은 동시에 투여된다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 약학 조성물은 순차적으로 투여된다. 추가의 경우에서, 하나 이상의 약학 조성물은 일정 시간 간격으로 투여된다(예를 들어, 제1 약학 조성물의 첫 번째 투여는 제1 일이며, 그 후 적어도 1, 2, 3, 4, 5일 또는 그 초과의 간격으로 적어도 제2 약학 조성물이 투여된다).

[0400] 몇몇 실시양태에서, 2개 이상의 상이한 약학 조성물이 공동투여된다. 몇몇 경우에서, 2개 이상의 상이한 약학 조성물은 동시에 공동투여된다. 몇몇 경우에서, 2개 이상의 상이한 약학 조성물은 투여 사이에 시간 간격 없이 순차적으로 공동투여된다. 다른 경우에서, 2개 이상의 상이한 약학 조성물은 투여 사이에 약 0.5시간, 1시간, 2시간, 3시간, 12시간, 1일, 2일 또는 그 초과의 시간 간격으로 순차적으로 공동투여된다.

[0401] 환자의 상태가 개선된 경우, 조성물의 투여는 의사의 판단에 따라 지속적으로 제공되고; 대안적으로, 투여되는 조성물의 용량은 일시적으로 감소되거나 또는 특정 시간 동안 일시적으로 중단된다(즉, "약물 휴지기(drug holiday)"). 몇몇 경우에서, 약물 휴지기의 길이는 2일 내지 1년으로 다양하며, 단지 예로서, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 10일, 12일, 15일, 20일, 28일, 35일, 50일, 70일, 100일, 120일, 150일, 180일, 200일, 250일, 280일, 300일, 320일, 350일, 또는 365일을 포함한다. 약물 휴지기 동안의 용량 감소는 10%-100%이며, 단지 예로서, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%를 포함한다.

[0402] 환자의 병태가 개선되면, 필요한 경우 유지 용량이 투여된다. 이후, 투여량 또는 투여 빈도, 또는 둘 모두는, 증상의 함수로서, 개선된 질환, 장애 또는 병태가 유지되는 수준으로 선택적으로 감소된다.

[0403] 몇몇 실시양태에서, 상기 양에 상응하는 주어진 제제의 양은 특정 화합물, 질환의 중증도, 치료를 필요로 하는 대상체 또는 숙주의 특성(예를 들어, 체중)과 같은 인자에 따라 달라지지만, 그럼에도 불구하고, 예를 들어 투여되는 특정 작용제, 투여 경로, 및 치료되는 대상체 또는 숙주를 비롯하여 환자를 둘러싼 특정 환경에 따라 관련 기술 분야에 알려진 방식으로 일상적으로 결정된다. 몇몇 경우에서, 원하는 용량은 단일 용량으로서 간편하게 제공되거나 또는 분할된 용량으로서 동시에(또는 짧은 시간에 걸쳐) 또는 적절한 간격으로, 예를 들어 1일당 2, 3, 4개 또는 그 초과의 하위용량으로 간편하게 제공된다.

[0404] 상기 범위는 단지 제시하는 것에 불과한데, 이것은 개별 치료 레지먼에 대한 변수가 많고 이들 권장 값으로부터

상당히 벗어나는 경우가 드물지 않기 때문이다. 이러한 투여량은 사용된 화합물의 활성, 치료되는 질환 또는 병태, 투여 방식, 개별 대상체의 요구사항, 치료되는 질환 또는 병태의 중증도, 및 의사의 판단을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아닌 많은 변수에 따라 변경된다.

[0405] 몇몇 실시양태에서, 이러한 치료 요법의 독성 및 치료 효능은 LD50(집단의 50%에 치사적인 용량) 및 ED50(집단의 50%에서 치료적으로 효과적인 용량)의 결정을 포함하나 이들로 제한되는 것은 아닌, 세포 배양 또는 실험 동물에서의 표준 약학 절차에 의해 결정된다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 용량 비율은 치료 지수(therapeutic index)이며, 이것은 LD50과 ED50 사이의 비율로서 표현된다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다. 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 얻은 데이터는 인간에서 사용하기 위한 투여량의 범위를 정하는데 사용된다. 이러한 화합물의 투여량은 바람직하게는 최소 독성을 보이면서 ED50을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 속한다. 투여량은 사용되는 투여 형태 및 이용되는 투여 경로에 따라 상기 범위 내에서 달라진다.

[0406] **키트/제조 물품**

[0407] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 하나 이상의 조성물 및 방법과 함께 사용하기 위한 키트 및 제조 물품이 본 출원에서 개시된다. 이러한 키트는 바이알, 튜브 등과 같은 하나 이상의 용기를 수용하도록 구획화된 캐리어, 패키지, 또는 용기를 포함하며, 각각의 용기(들)는 본 출원에 기재된 방법에서 사용되는 개별 요소 중 하나를 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 주사기, 및 시험관을 포함한다. 한 실시양태에서, 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 물질로부터 형성된다.

[0408] 본 출원에서 제공되는 제조 물품은 포장재를 포함한다. 약물 포장재의 예는 선택된 제제 및 의도된 투여 및 치료 방식에 적합한 블리스터 팩, 병, 튜브, 백, 용기, 병, 및 임의의 포장재를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0409] 예를 들어, 용기(들)는 본 출원에 기재된 항트랜스페린 수용체 항체 및 경우에 따라 하나 이상의 타겟 핵산을 포함한다. 이러한 키트는 선택적으로 본 출원에 기재된 방법에서의 그의 용도와 관련된 식별 설명서 또는 라벨 또는 설명서를 포함한다.

[0410] 키트는 전형적으로 내용물을 열거하는 라벨 및/또는 사용을 위한 설명서 및 사용을 위한 설명서가 존재하는 포장 삽입물을 포함한다. 설명서 세트가 또한 전형적으로 포함될 것이다.

[0411] 한 실시양태에서, 라벨은 용기 상에 있거나 또는 용기와 결합된다. 한 실시양태에서, 라벨을 형성하는 글자, 숫자, 또는 다른 문자가 용기 자체에 부착되거나, 몰딩되거나 또는 에칭될 때 라벨은 용기 상에 있으며; 예를 들어 포장 삽입물로서, 용기를 또한 보유하는 통 또는 캐리어 내에 존재할 때, 라벨은 용기와 결합된 것이다. 한 실시양태에서, 라벨은 내용물이 특정 치료 용도로 사용되어야 한다는 것을 나타내기 위해 사용된다. 라벨은 또한 본 출원에 기재된 방법에서와 같이 내용물의 사용을 위한 지시 내용을 나타낸다.

[0412] 특정 실시양태에서, 약학 조성물은 본 출원에서 제공된 화합물을 함유하는 하나 이상의 단위 투여 형태를 함유하는 팩 또는 디스펜서 장치 내에 제공된다. 팩은 예를 들어 블리스터 팩과 같은 금속 또는 플라스틱 포일을 함유한다. 한 실시양태에서, 팩 또는 디스펜서 장치에는 투여를 위한 설명서가 제공된다. 한 실시양태에서, 팩 또는 디스펜서에는 또한 의약품의 제조, 사용, 또는 판매를 규제하는 정부 당국에 의해 규정된 형태로 용기와 결합된 안내문이 제공되며, 이 안내문은 인간 또는 동물 투여를 위한 약물 형태에 대한 당국에 의한 승인을 반영한다. 이러한 안내문은 예를 들어 처방 약물 또는 승인된 제품 삽입물에 대해 미국 식품의약국에 의해 승인된 라벨이다. 한 실시양태에서, 상용성의 약학 담체에서 제제화된 본 출원에서 제공되는 화합물을 함유하는 조성물이 또한 제조되고, 적절한 용기에 담기고, 표시된 병태의 치료를 위해 라벨이 제시된다.

[0413] **특정 용어**

[0414] 달리 정의되지 않는 한, 본 출원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 특허 청구된 주제가 속하는 관련 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 전술한 일반적인 설명 및 하기의 상세한 설명은 단지 예시적이고 설명적이며, 특허 청구된 임의의 주제를 제한하는 것이 아닌 것으로 이해되어야 한다. 본 출원에서, 단수의 사용은 달리 명시적으로 언급하지 않는 한 복수를 포함한다. 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수 형태 "a," "an" 및 "the"는 문맥이 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함한다는 것에 유의해야 한다. 본 출원에서, "또는"의 사용은 달리 나타내지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. 또한, 용어 "포함하는"뿐만 아니라 다른 형태, 예를 들어 "포함하다" 및 "포함된"의 사용은 제한적인 의미로 사용되는 것이 아니다.

[0415] 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 범위 및 양은 "약" 특정 값 또는 범위로서 표현될 수 있다. 약은 또한 정확한 양을 포함한다. 따라서, "약 5 μL"는 "약 5 μL" 및 또한 "5 μL"를 의미한다. 일반적으로, 용어 "약"은 실험 오차 내일 것으로 예측되는 양을 포함한다.

[0416] 본 출원에서 사용되는 섹션 제목은 단지 조직적인 표현을 위한 것이며, 설명되는 주제를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0417] "항체" 및 "면역글로불린"(Ig)은 동일한 구조적 특성을 보유하는 당단백질이다. 용어는 동의적으로 사용된다. 몇몇 경우에서, 면역글로불린의 항원 특이성은 공지되어 있다.

[0418] 용어 "항체"는 가장 광의의 의미로 사용되고, 완전히 결합된 항체 항원에 결합할 수 있는 항체 단편(예를 들어, Fab, $F(ab')_2$, Fv, 단일 사슬 항체, 디아바디, 항체 키메라, 하이브리드 항체, 이중특이성 항체, 인간화 항체 등), 및 전술한 것을 포함하는 재조합 펩타이드를 포괄한다.

[0419] 본 출원에 사용된 바와 같이 용어 "모노클로날 항체" 및 "mAb"는 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 수득된 항체를 의미하는데, 즉 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다.

[0420] "천연 항체" 및 "천연 면역글로불린"은 일반적으로 약 150,000 Da의 이종 4량체성 당단백질이고, 2개의 동일한 경(L)쇄 및 두 개의 동일한 중(H)쇄로 구성되어 있다. 각각의 경쇄는 하나의 공유 다이설파이드 결합에 의해 중쇄에 연결되어 있는 반면, 다이설파이드 연결의 수는 상이한 면역글로불린 아이소타입의 중쇄 중에서 상이하다. 또한 각각의 중쇄 및 경쇄는 규칙적으로 이격된 사슬 사이 다이설파이드 브리지를 보유한다. 각각의 중쇄는 한 단부에 다수의 불변 도메인을 수반하는 가변 도메인(V_H)을 보유한다. 각각의 경쇄는 한 단부에 가변 도메인(V_L) 및 그의 다른 단부에 불변 도메인을 보유하고; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 생각된다.

[0421] 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 부분이 항체 중에서 서열이 광범위하게 상이함을 의미한다. 가변부는 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전체에 균일하게 분포되지 않는다. 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 상보성 결정 영역(CDR) 또는 초가변부라 칭하는 3개의 절편 내에 집중된다. 가변 도메인의 더 고도로 보존된 부분은 프레임워크(FR) 영역이라 칭한다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 4개의 FR 영역을 포함하는데, 거의 β-주름 시트 배치를 채용하고 있고, 3개의 CDR에 의해 연결되고, β-주름 시트 구조를 연결하고, 몇몇 경우에서 β-주름 시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 각 사슬 내의 CDR은 함께 FR 영역에 의해 및 다른 사슬의 CDR과 함께 근접하여 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다(Kabat et al., (1991) NIH PubL. No. 91-3242, Vol. I, pages 647-669 참조). 불변 도메인은 항체를 항원에 결합시키는데 직접적으로 관여하지는 않지만, 다양한 이펙터 기능, 예를 들어 Fc 수용체(FcR) 결합, 항체 의존성 세포성 독성에 항체의 참여, 보체 의존성 세포독성의 개시, 및 비만 세포 탈과립화를 나타낸다.

[0422] 본 출원에서 사용되는 경우, 용어 "초가변부"는 항원 결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 의미한다. 초가변부는 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"(즉, 경쇄 가변 도메인 내의 잔기 24-34(L1), 50-56(L2), 및 89-97(L3) 및 중쇄 가변 도메인 내의 31-35(H1), 50-65(H2), 및 95-102(H3); Kabat et al., (1991) Sequence of Protein of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, Md.) 및/또는 "초가변 루프"(즉, 경쇄 가변 도메인 내의 잔기 26-32(L1), 50-52(L2), 및 91-96(L3) 및 중쇄 가변 도메인 내의 (H1), 53-55(H2), 및 96-101(13); Clothia and Lesk,(1987) J. Mol. Biol., 196:901-917) 유래의 아미노산 잔기를 포함한다. "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본 출원에서 간주되는 바와 같이 초가변부 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

[0423] "항체 단편"은 온전한 항체의 부분, 바람직하게는 온전한 항체의 항원 결합부 또는 가변부를 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab, F(ab')2, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체(Zapata et al., (1995) Protein Eng. 10:1057-1062); 단일 사슬 항체 분자; 및 항체 단편으로 형성된 다중특이성 항체를 포함한다. 항체의 파파인 분해는 2개의 동일한 항원 결합 단편을 생성하는데, 이들은 "Fab" 단편이라 칭하고, 각각은 단일 항원 결합 부위 및 나머지 "Fc" 단편을 보유하며, 상기 명칭은 용이하게 결정화될 수 있는 그의 능력을 반영한다. 펩신 처리는 2개의 항원 경합 부위를 보유하고 여전히 가교 결합 항원일 수 있는 F(ab')2 단편을 생성한다.

[0424] "Fv"는 완전한 항원 인식 및 결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이 영역은 견고하지만 비공유 회합으로

하나의 중쇄 가변 도메인 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 구성된다. 이러한 배치에서 각각의 가변 도메인의 3개의 CDR은 V_H-V_L 이량체의 표면 상에서 항원 결합 부위를 규정하기 위해 상호작용한다. 종합적으로, 6개의 CDR은 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 심지어 단일 가변 도메인(또는 항원에 특이적인 단지 3개의 CDR을 포함하는 Fv의 절반)은 전체적인 결합 부위보다 더 낮은 친화도에도 불구하고 항원을 인식하고 결합할 수 있는 능력을 보유한다.

[0425] 또한, Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(C_{H1})을 함유한다. Fab 단편은 항체 힌지 영역으로부터 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 C_{H1} 도메인의 카르복시 단부에 몇 개의 잔기가 첨가된다는 점에서 Fab' 단편과는 상이하다. Fab'-SH는 본 출원에서 Fab'으로 지정되고, 이때 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)는 유리 티올기를 보유한다. Fab' 단편은 F(ab')2 단편의 중쇄 다이설파이드 브리지를 환원시킴으로써 생성된다. 또한, 항체 단편의 다른 화학적 커플링도 공지되어 있다.

[0426] 임의의 척추동물 종 유래의 항체(면역글로불린)의 "경쇄" 그들의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여 카파(κ) 및 람다(λ)로 칭하는 3개의 명백히 구분되는 유형 중 하나에 할당될 수 있다.

[0427] 그들의 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 클래스로 분류될 수 있다. 5종류의 주요한 인간 면역글로불린 클래스가 존재한다: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM, 및 IgY, 및 이들 중 몇몇은 하위클래스(아이소타입), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2로 추가로 분류될 수 있다. 면역글로불린의 상이한 클래스에 대응되는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마, 및 뮤라 칭한다. 상이한 클래스의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 배치는 널리 공지되어 있다. 상이한 아이소타입은 상이한 이펙터 기능을 보유한다. 예를 들어, 인간 IgG1 및 IgG3 아이소타입은 ADCC(항체 의존성 세포 매개 세포독성) 활성을 보유한다.

[0428] 몇몇 경우에서, 항체의 CDR은 (i) 카바트 넘버링 시스템(Kabat *et al*. (197) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 and, Kabat *et al*.(1991) Sequence of Protein of Immunological Interest Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242); 또는 (ii) 본 출원에서 "코티아 CDR"로 언급될 코티아 넘버링 스킴(예를 들어, Chothia 및 Lesk, 1987, *J. Mol. Biol*., **196**:901-917; Al-Lazikani *et al*., 1997, *J. Mol. Biol*., **273**: 927-948; Chothia *et al*., 1992, *J. Mol. Biol*., **227**:799-817; Tramontano A *et al*. , 1990, *J. Mol. Biol*. **215**(1): 175-82; 및 미국 특허 7,709,226 참조); 또는 (iii) 예를 들어 Lefranc, M.-P., 1999, *The Immunologist*, **7**: 132-136 and Lefranc, M.-P. *et al*, 1999, *Nucleic acid Res*., **27**:209-212에 기재된 바와 같은 ImMunoGeneTics(IMGT) 넘버링 시스템; 또는 (iv) MacCallum et al, 1996, *J. Mol. Biol*., **262**:732-745에 따라 결정된다. 또한, 예를 들어 Martin, A., "Protein 서열 및 Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Diibel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin(2001) 참조.

[0429] 카바트 넘버링 시스템과 관련하여, 항체 중쇄 분자 내의 CDR은 아미노산 위치 31 내지 35에 전형적으로 존재하는데, 이는 경우에 따라 35(카바트 넘버링 시스템에서 35A 및 35B로 언급됨)(CDR1), 아미노산 위치 50 내지 65(CDR2), 및 아미노산 위치 95 내지 102(CDR3) 후에 1개 또는 2개의 추가의 아미노산을 포함할 수 있다. 카바트 넘버링 시스템을 이용하면, 항체 경쇄 분자 내의 CDR은 아미노산 위치 24 내지 34(CDR1), 아미노산 위치 50 내지 56(CDR2), 및 아미노산 위치 89 내지 97(CDR3)에 전형적으로 존재한다. 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 바와 같이, 카바트 넘버링 시스템을 이용하면, 항체 가변 도메인의 실질적인 선형 아미노산 서열은 FR 및/또는 CDR의 단축 또는 연장에 기인하여 더 적거나 또는 추가의 아미노산을 함유할 수 있고, 이에 따라 아미노산의 카바트 번호는 그의 선형 아미노산 번호와 반드시 동일하지 않을 수 있다.

[0430] 코티아 넘버링 시스템과 관련하여, 항체 중쇄 분자 내의 CDR은 아미노산 위치 26 내지 31에 전형적으로 존재하는데, 이는 경우에 따라 31(카바트 넘버링 시스템에서 31A 및 31B로 언급됨)(CDR1), 아미노산 위치 52 내지 56(CDR2), 및 아미노산 위치 95 내지 102(CDR3) 후에 1개 또는 2개의 추가의 아미노산을 포함할 수 있다. 코티아 넘버링 시스템을 이용하면, 항체 경쇄 분자 내의 CDR은 아미노산 위치 24 내지 34(CDR1), 아미노산 위치 50 내지 56(CDR2), 및 아미노산 위치 89 내지 97(CDR3)에 전형적으로 존재한다. 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 바와 같이, 코티아 넘버링 시스템을 이용하면, 항체 가변 도메인의 실질적인 선형 아미노산 서열은 FR 및/또는 CDR의 단축 또는 연장에 기인하여 더 적거나 또는 추가의 아미노산을 함유할 수 있고, 이에 따라 아미노산의 카바트 번호는 그의 선형 아미노산 번호와 반드시 동일하지 않을 수 있다.

[0431] 용어 "키메라" 항체는 항체를 의미하는데, 이때 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분은 특정 소스 또는 종으로부터 유래

되는 반면, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지는 다른 소스 또는 종으로부터 유래된다.

[0432] 용어 "인간화 항체"는 항체를 의미하는데, 이때 프레임워크 또는 CDR은 모 면역글로불린의 특이성에 비해 상이한 특이성의 면역글로불린의 CDR을 포함하도록 변형된다.

[0433] 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "개체(들)", "대상체(들)" 및 "환자(들)"는 임의의 포유동물을 의미한다. 몇몇 실시양태에서, 포유동물은 인간이다. 몇몇 실시양태에서, 포유동물은 비인간이다. 상기 용어들은 보건 전문가(예를 들어, 의사, 공인 간호사, 임상 간호사, 의료 조무사, 잡역부 또는 호스피스 직원)의 감독(예를 들어, 지속적 또는 간헐적)을 특징으로 하는 상황을 요구하거나 이로 제한되지 않는다.

[0434] **실시예**

[0435] 이들 실시예는 단지 예시적인 목적으로 제공되며 본 출원에 제공된 청구범위의 범주를 제한하지 않는다.

[0436] **실시예 1: 인간화된 항TfR 항체 생성 및 특성규명**

[0437] 예시적인 항TfR 항체를 코딩하는 핵산은 생성물당 3개의 안정한 풀을 생성하기 위해 CHOK1SV GSKO 세포 내로 안정하게 형질감염되었다. 안정한 풀은 형질감염 후 8일째부터 세포 성장 및 단백질 A 역가에 대해 모니터링되었다. 일단 배양물이 70%의 생존률로 0.6 x $10e^{6}$ cells/mL의 역치에 도달하면, 안정한 풀은 계대배양되었다. 세포의 생존률이 97%를 초과하는 경우, 테스트된 풀 중에서 가장 높은 생성 풀은 생성물당 600 mL의 유가식 과성장 배양물(FOG)에 0.2 x $10e^{6}$ cells/mL로 시딩하기 위해 사용되었다. FOG 배양물은 4일째 및 8일째에 공급되었고, 11일째에 원심분리 및 멸균 여과에 의해 수확되었다. 멸균 세포 배양 상등액은 AKTA 정제기(10 mL/min으로 작동) 상의 직렬 3 x 5 ml MabSelectSuRE 컬럼을 이용하는 단백질 A 정제에 의해 정제되었다. 컬럼은 50 mM 나트륨 포스페이트; 250 mM 염화나트륨, pH 7.0으로 평형화되었고, 50 mM 나트륨 포스페이트 및 1 M 염화나트륨, pH 7.0으로 세척되었고, 10 mM 나트륨 포르메이트, pH 3.5로 용출되었다. 용출된 분획은 2x PBS를 이용하여 1:2로 희석함으로써 중화되었고, 이어서 pH는 희석된 NaOH를 이용하여 7.4로 조정되었다.

[0438] 항체는 SE-HPLC 및 SDS-PAGE에 의해 분석되었다. 중복 샘플은 Zorbax GF-2509.4 mm ID x 25 cm 컬럼(Agilent)을 이용하는 SE-HPLC에 의해 분석되었다. 1 mg/ml 샘플의 80 μl 액적이 주입되었고, 50 mM 나트륨 포스페이트, 150 mM 염화나트륨, 500 mM L-아르기닌, pH 6.0 중에서 1 ml/min으로 15분 동안 작동되었다. 모든 변이체는 ~7.66분의 체류 시간으로 작은 피크 < 16.89%를 나타냈는데, 이는 가용성 응집체와 일치한다. 가용성 응집체 레벨은 Empower v3 소프트웨어를 이용하여 분석되었다.

[0439] 표 9는 테스트된 항TfR 항체의 컨스트럭트 디자인 및 HPLC 분석을 나타낸다.

표 9

[0440]

항체 명칭	HC 명칭	LC 명칭	체류 시간 (분)	% 단량체
13E4-Variant 2i	13E_VH2_a	13E4_VL1	8.315	95.44
13E4-Variant 2ii	13E_VH2_b	13E4_VL1	8.326	95.86
13E4-Variant 2iii	13E_VH2_c	13E4_VL1	8.324	95.85
13E4-Variant 9i	13E_VH1_a	13E4_VL3	8.337	94.40
13E4-Variant 9ii	13E_VH1_b	13E4_VL3	8.347	94.62
13E4-Variant 9iii	13E_VH1_c	13E4_VL3	8.324	96.28
13E4-Variant 15i	13E_VH3_a	13E4_VL4	8.311	83.11
13E4-Variant 15ii	13E_VH3_b	13E4_VL4	8.316	87.39
13E4-Variant 15iii	13E_VH3_c	13E4_VL4	8.311	88.50

[0441] 9개의 예시적인 인간화 항TfR 항체 및 모 키메라 항체의 결합 키네틱스가 특성규명되었다. 연구는 mAb 포획을 위한 단백질 A로 코팅된 GLM 센서 칩을 이용하는 BioRad ProteOn XPR36 광학 바이오센서에서 진행되었다. 러닝 버퍼는 0.05% 트윈-20 및 0.2 mg/ml BSA가 첨가된 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7.4를 포함하였다. 데이터는 25℃에서 수집되었다. 모든 mAb는 제공된 스탁 농도를 기준으로 2 μg/ml로 러닝 버퍼에 희석되었다. 이어서 각각은 단백질 A 표면 상에서 40초 동안 포획되었다.

[0442] hTfR(100 ug)은 300 uL의 물에 용해되어 4.3 uM 스탁 농도를 생성하였다. hTfR은 최고 농도로서 43 nM로 희석되었고, 3배 희석 시리즈로 테스트되었다. hTfR은 200 ul/min으로 2분 동안 주입되었고, 이어서 1시간 해리 기간이 동반되었다.

[0443] 응답 데이터는 내부 스팟 기준 표면으로부터 데이터를 추출함으로써 처리되었을뿐만 아니라 버퍼 주입을 이용하여 이중 참조되었다.

[0444] 표 10은 25℃에서 결정된 결합 상수를 나타낸다.

표 10

[0445]

	$k_a(M^{-1}s^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	K_D(pM)
13E4_WT 1 회	1.0608(2)*e6	3.7(2)e-7	0.35(1)
13E4_WT 2 회	9.03(1)e5	1.50(2)e-6	1.66(1)
13E4_WT 3 회	8.402(9)e5	1.18(2)e-6	1.40(1)
평균 (n=3)	9[1]**e5	1.0[6]e-6	1.1[7]
13E4_variant 2-i	9.132(1)e5	3.9(2)e-7	0.43(1)
13E4_variant 2-ii	8.801(1)e5	4.3(2)e-7	0.49(1)
13E4_variant 2-iii	8.623(1)e5	8.2(2)e-7	0.95(1)
13E4_variant 9-i	8.427(2)e5	1.02(2)e-6	1.21(2)
13E4_variant 9-ii	7.843(2)e5	1.81(3)e-6	2.31(1)
13E4_variant 9-iii	7.913(8)e5	4.17(2)e-6	5.27(1)
13E4_variant 15-i	7.205(7)e5	6.13(2)e-6	8.51(1)
13E4_variant 15-ii	6.966(8)e5	9.14(3)e-6	13.1(1)
13E4_variant 15-iii	6.947(9)e5	6.94(3)e-6	9.99(1)

[0446] * 괄호 내의 숫자는 데이터 세트의 적합성에 기초한 최종 보고된 숫자의 표준 오류를 나타낸다.

[0447] ** 브래킷 내의 숫자는 이중 데이터 세트에 기초한 실험 표준 편차를 나타낸다. 예를 들어, 9[1]e5는 (9 ± 1)e5를 나타낸다.

[0448] **실시예 2**

[0449] **hIgG2 TfR1 키메라 항체 siRNA(SSB) 컨쥬게이트를 이용하는 생체 내 유전자 하향조절**

[0450] hTfR1에 대한 마우스 IgG2 항체의 CDR은 인간 IgG2 백그라운드에 서브클로닝되었고, CHO-K1SP 세포에 형질감염되었다. 서열은 실시예 4를 참조할 것. 안정한 세포 풀은 선택되고, 증폭되고, Wave Bioreactor(GE Healthcare)를 이용하여 5% CO2와 함께 37℃에서 cellbag(GE Healthcare) 내의 Dynamis 배지(GIBCO)에 시딩되었다. 8%의 최종 배양 부피(25 리터)는 총 14일의 인큐베이션 동안 4일째부터 시작하여 매 2일마다 공급되었다. 배양 상등액은 수집되었고, 뎁스 여과되었고, 30 ml/min의 유속으로 Monofinity A Resin(GenScript)을 이용하여 정제되었다. 용출된 단백질의 버퍼는 PBS로 교환되었고, 정제된 단백질은 분자량 및 순도에 대해 환원 및 비환원 조건 하에서 SDS-PAGE 및 SEC-HPLC에 의해 분석되었다. 최종 단백질의 순도는 > 98%였다.

[0451] **비스말레이미드(BisMal) 링커를 이용하는 SSB siRNA에 대한 TrR1-IgG2 mAb 키메라의 컨쥬게이션**

[0452] 본 실험에서 사용된 컨쥬게이트의 경우, SSB siRNA 이중체가 사용되었다. 21mer SSB 가이드/안티센스 스트랜드의 서열은 (5'에서 3') UUACAUUAAAGUCUGUUGUUU였다. 단일 스트랜드는 표준 포스포르아미다이트 화학을 이용하여 고체 상에 완전히 어셈블리되었고, HPLC를 이용하여 정제되었다. RNAi 분야에 널리 기재된 염기, 당 및 포스페이트 변형은 이중체의 효능을 최적화하고 면역원성을 감소시키기 위해 사용되었다. siRNA 패신저 스트랜드는 5' 단부 상에 C6-NH_2 컨쥬게이션 핸들을 함유하였다. 도 1 참조. siRNA 이중체는 19개 염기의 상보성 및 하나의 3' 다이뉴클레오타이드 오버행을 보유하는 평활 말단화된 이중체로서 디자인되었다. 컨쥬게이션 핸들은 말단 염기 상의 포스포다이에스테르를 통해 siRNA 패신저 스트랜드에 연결되었다. 도 2 참조.

[0453] **단계 1: TCEP를 이용하는 항체 환원**

[0454] 항체는 1 mM DTPA를 보유하는 25 mM 보레이트 버퍼(pH 8)로 버퍼 교환되었고, 10 mg/ml 농도로 제조되었다. 이 용액에, 동일한 보레이트 버퍼 중의 4 당량의 TCEP가 첨가되었고, 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션되었다. 생성된 반응 혼합물은 pH 6.0의 10 mM 아세테이트 버퍼 중의 BisMal-siRNA(1.25 당량) 용액과 실온(RT)에서 연합되었고, 4℃에서 하룻밤 유지되었다. 분석용 SAX 컬럼 크로마토그래피에 의한 반응 혼합물의 분석은 미반응 항체 및 siRNA와 함께 항체 siRNA 컨쥬게이트를 나타냈다. 반응 혼합물은 임의의 잔류하는 유리 시스테인 잔기를 캡핑하기 위해 10 EQ의 N-에틸말레이미드(DMSO 중의 10 mg/mL)로 처리되었다.

[0455] **단계 2: 정제**

[0456] 미정제 반응 혼합물은 음이온 교환 크로마토그래피(SAX) 방법-1을 이용하여 AKTA Pure FPLC에 의해 정제되었다. DAR1 항체-siRNA 컨쥬게이트를 함유하는 분획은 분리되었고, 농축되었고, pH 7.4 PBS로 버퍼 교환되었다.

[0457] **음이온 교환 크로마토그래피 방법(SAX)-1**

[0458] 컬럼: Tosoh Bioscience, TSKGel SuperQ-5PW, 21.5 mm ID X 15 cm, 13 μm

[0459] 용매 A: 20 mM TRIS 버퍼, pH 8.0; 용매 B: 20 mM TRIS, 1.5 M NaCl, pH 8.0; 유속: 6.0 ml/min

[0460] 구배:

[0461] a) %A %B 컬럼 부피

[0462] b) 100 0 1

[0463] c) 81 19 0.5

[0464] d) 50 50 13

[0465] e) 40 60 0.5

[0466] f) 0 100 0.5

[0467] g) 100 0 2

[0468] **강 음이온 교환 크로마토그래피 방법(SAX)-2**

[0469] 컬럼: Thermo Scientific, ProPac™ SAX-10, Bio LC™, 4 X 250 mm

[0470] 용매 A: 80% 10 mM TRIS pH 8, 20% 에탄올; 용매 B: 80% 10 mM TRIS pH 8, 20% 에탄올, 1.5 M NaCl; 유속: 0.75 ml/min

[0471] 구배:

[0472] a) 시간 %A %B

[0473] b) .0 90 10

[0474] c) 3.00 90 10

[0475] d) 11.00 40 60

[0476] e) 14.00 40 60

[0477] f) 15.00 20 80

[0478] g) 16.00 90 10

[0479] h) 20.00 90 10

[0480] 컨쥬게이트의 순도는 SAX 방법-2를 이용하여 분석용 HPLC에 의해 평가되었다(표 11).

표 11

[0481]

컨쥬게이트	SAX 체류 시간 (분)	% 순도(피크 면적에 의함)
TfR-SSB DAR 1	9.41	99

[0482] 본 실시예에서 사용된 컨쥬게이트의 분석 데이터 표: HPLC 체류 시간(RT) (분) 및 크로마토그래피 피크 면적에 의한 순도 %.

[0483] **hTfR1-IgG2 mAb siRNA DAR1 컨쥬게이트의 시험관 내 활성**

[0484] 인간 및 시노TfR1에 결합하는 hTfR1-IgG2 mAb siRNA 컨쥬게이트의 능력은 ELISA 어세이를 이용하여 평가되었다. 하프웰 고결합 96웰 플레이트(Costar #3690)는 PBS(Gibco 14190) 중의 1 ng/μL로 재조합 인간 트랜스페린 수용체 단백질(Sino Biological 11020-H07H) 또는 재조합 시노 트랜스페린 수용체 단백질(Sino Biological 90253-C07H)로 코팅되었고, 4℃에서 하룻밤 인큐베이션되었다. 플레이트는 100 μL의 트리스 완충처리된 염수 + 트윈(20x TBST, Cell Signaling 9997S)d으로 4회 세척되었다. 100 μL의 Superblock(ThermoFisher PI-37535)은 각각의 웰에 첨가되었고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션되었다. 세척 단계는 샘플 첨가 전까지 반복되었다. 샘플은 최대 10 nM의 농도 및 50 μL/웰로 첨가되었다. 플레이트는 실온에서 다시 1시간 동안 인큐베이션되었고, 세척 단계가 반복되었다. 2차 항체(퍼옥시다아제 AffiniPure 염소 항인간 IgG, Fcγ 단편 특이적, Jackson Immunoresearch, 109-035-098)는 Superblock 중에서 1:5000으로 희석되었고, 50 μL/웰로 첨가되었다. 플레이트는 실온에서 1시간 동안 인큐베이션되었고, 1회 더 세척되었다. 결합은 50 μL의 1-Step™ Ultra TMB-ELISA(ThermoFisher, 34028)의 첨가에 의해 측정되었고, 5분 동안 인큐베이션되었으며, 반응은 25 μL의 정지 용액 2N 황산(R&D Systems DY994)의 첨가에 의해 정지되었다. 흡광도는 차감된 기준 파장 570 nm를 이용하여 450 nm에서 측정되었다. 결합 상수는 힐 슬로프(Hill Slope)와 함께 그래프패드 프리즘 특이 결합(GraphPad Prism Specific Binding)을 이용하여 결정되었다.

[0485] 비컨쥬게이션된 및 컨쥬게이션된 hTfR1.IgG2 mAb 항체는 유사한 친화도로 재조합 인간 및 시노 TfR1에 결합한다(도 3a-도 3b).

[0486] SSB 발현을 하향조절하는 TfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트의 능력은 HEL92.1.7 및 인간 골격근 세포에서 모니터링되었다. HEL92.1.7 세포(ATCC® TIB-180™)는 10% 태아 소 혈청(Nucleus Biologics FBS1824)을 함유하는 RPMI 1640 중에서 배양되었다. 세포는 100,000/mL로 희석되었고, 100 μL가 플레이트의 각 웰에 첨가되었다. 항체 컨쥬게이트는 100 nM의 최대 농도로 희석되었다. 20 μL의 컨쥬게이트 또는 음성 대조군으로서의 PBS는 96웰 플레이트의 웰에 첨가되었고, 처리된 세포는 37℃ 및 5% CO_2에서 72시간 동안 위치되었다.

[0487] 불멸화된 인간 골격근 세포(Institute of Myology, Paris)는 24웰 콜라겐 플레이트(Thermo Fisher A1142802) 상에서 500 μl의 골격근 세포 성장 배지(PromoCell C-23260) 중에 플레이팅되었고, 근아세포가 융합성으로 될 때까지 5% CO_2 중의 37℃에서 인큐베이션되었다. 이 지점에서, 근관으로의 분화는 10 ug/ml 인슐린 및 50 μg/ml 젠타마이신이 보충된 500 μl의 분화 배지(DMEM(Gibco 10566-016) 중에서 4일 동안의 인큐베이션에 의해 유도되었다. 배지는 교환되었고, PBS 중에서 희석된 50 μl의 TfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트가 첨가되었다. 처리된 세포는 72시간 동안 인큐베이션되었다. 양쪽 세포 유형의 수확 및 분석을 위해, 배지는 웰로부터 제거되었고, 150 μl의 Trizol(Ambion 15596018)이 첨가되었다. 플레이트는 분석 전까지 -80℃에서 하룻밤 이상 동결되었다. RNA는 제조사의 지침에 따라 Direct-zol 96 RNA 키트를 이용하여 분리되었고, 분광학적으로 정량되었다. RNA(100-200 ng)는 제조사의 지침에 따라 High Capacity cDNA 키트(Thermo Fisher #4368813)를 이용하여 역전사되었다. mRNA 레벨은 적절히 디자인된 프라이머와 프로브를 이용하는 TaqMan qPCR을 이용하여 정량되었다. PPIB(하우스키핑 유전자)는 내부 RNA 로딩 대조군으로서 사용되었다. % mRNA는 100% 발현으로 설정된 PBS 처리 세포와 함께 ΔΔCt 방법을 이용하여 계산되었다. 이들 실험에서, TfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트는 SSB를 최대 60%까지 하향조절하였지만, 반면에 SSB는 TfR1.IgG2 mAb-MSTN 컨쥬게이트(음성 대조군)로 처리된 세포에서 최대 25% 하향조절되었다(도 4a-도 4b).

[0488] **시노몰구스 원숭이에서 hTfR1-IgG2 mAb SSB siRNA 컨쥬게이트의 활성 및 안전성**

[0489] hIgG2 TfR1.mAb-siSSB 컨쥬게이트의 PK, PD, 및 안전성 특징은 시노몰구스 원숭이에서 평가되었다. 동물들은 2-

3살의 수컷이었으며, 체중은 2-3 kg이었다. 동물들에게 30 mg/kg 또는 60 mg/kg(mAb 농도)의 컨쥬게이트, 또는 PBS가 30분(+/- 3분) 정맥 내(IV) 주입에 의해 투여되었다. 혈액 샘플 및 근육 생검은 자제되고 의식이 있는 동물 또는 진정된 동물의 비복근 및 대퇴사두근으로부터 각각 표 12에 나타낸 상이한 시간에 수집되었다.

표 12

hTfR1.IgG2 mAb siRNA 컨쥬게이트로 처리된 시노몰구스 원숭이의 샘플링 스케줄.

시점 (연구 주)	혈액학	혈청 화학	PK	근육 생검[c]
순화 (주 -2)	1x	1x	–	1x(비복근)
순화 (주 -1)	1x	1x	-	1x(비복근)
투여 1 일째	1x	1x	3x(5', 4h)	-
2 일째	1x	1x	1x	-
3 일째			1x	-
4 일째	1x	1x	1x	-
8 일째	1x	1x	1x	-
15 일째	1x	1x	1x	-
22 일째	1x	1x	1x	1x (비복근)
29 일째	1x	1x	1x	2x (비복근, 대퇴사두근)

[0490]

[0491] hIgG2 TfR1.mAb-siSSB 컨쥬게이트의 혈장 농도는 스템-루프 qPCR 어세이를 이용하여 결정되었다. 개략적으로, 혈장 샘플은 TE 버퍼 + 0.1% v/v 트리톤 X-100 중에 직접 희석되었다. 표준 곡선은 미처리된 동물 유래의 혈장 내로 siRNA를 스파이킹하고, 이어서 TE 버퍼 + 0.1% v/v 트리톤 X-100으로 순차 희석함으로써 생성되었다. siRNA의 안티센스 스트랜드는 25 nM의 서열 특이적인 스템-루프 RT 프라이머와 함께 TaqMan 마이크로RNA 역전사 키트(Applied Biosystems)를 이용하여 역전사되었다. RT 단계 유래의 cDNA는 1.5 μM의 포워드 프라이머, 0.75 μM의 리버스 프라이머, 및 0.2 μM의 프로브와 함께 TaqMan 패스트 어드밴스트 매스터 믹스(Applied Biosystems)를 이용하는 리얼타임 PCR을 위해 이용되었다. 측정을 위해 사용된 SSB siRNA 안티센스 스트랜드 및 모든 프라이머 및 프로브의 서열은 표 13에 나타낸다. 정량적 PCR 반응은 QuantStudio 7 플렉스 리얼-타임 PCR 시스템(Life Technologies)에서 표준 사이클링 조건을 이용하여 수행되었다. Ct 값은 표준 곡선으로부터 유도된 1차 방정식을 이용하여 혈장 또는 조직 농도로 변환되었다.

표 13

스템-루프 qPCR 어세이에 사용된 모든 siRNA 안티센스 스트랜드, 프라이머, 및 프로브의 서열.

타겟	명칭	서열 (5' - 3')
SSB	안티센스 (가이드)	UUACAUUAAAGUCUGUUGUUU
SSB	RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAACAAC
SSB	포워드	GGCGGCTTACATTAAAGTCTGT
SSB	리버스	AGTGCAGGGTCCGAG
SSB	프로브	(6FAM)-TGGATACGACAAACAA-(NFQ-MGB)

[0492]

[0493] 컨쥬게이트의 클리어런스 및 반감기는 표 14에 나타낸다. 이들 컨쥬게이트의 PK 특성은 마우스에서 테스트된 마우스 항트랜스페린 mAb 컨쥬게이트와 유사하였다.

표 14

시노몰구스 원숭이 (n=3)에서 30 분 주입에 의한 30 및 60 mg/kg 투여 후 hTfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트에 대한 PK 파라미터 추정치.

		AUC_{0-29d}	Dose	CL	CL	알파 $t_{1/2}$	베타 $t_{1/2}$
AOC	용량(mg/kg)	(mg/mL)*min	mg/kg	mL/min/kg	uL/min/kg	h	h
hTfR1.IgG2 mAb-SSB(DAR1)	3	82.89	3	0.036	36	12.9	230
hTfR1.IgG2 mAb-SSB(DAR1)	6	155.2	6	0.039	39	13.8	269

[0494]

[0495] 근육 내의 컨쥬게이트의 siRNA 농도 및 활성을 평가하기 위해, 근육 생검(비복근 및 대퇴사두근)은 표 12에 나타낸 스케줄에 따라 얻었다. 근육 생검은 6 mm 펀치에 의해 취해지고, 무게가 측정되고, 액체 질소에 스냅 동결되었다. 동결된 조직 샘플은 1 ml 냉 TRIZOl(vendor) 중에서 균질화되었다. mRNA 녹다운을 결정하기 위해, 총 RNA는 제조사의 지침에 따라 Direct-zol 96 RNA 키트를 이용하여 조직으로부터 추출되었고, 분광학적으로 정량되었다. RNA(100-200 ng)는 제조사의 지침에 따라 High Capacity cDNA 키트(Thermo Fisher #4368813)를 이용하여 역전사되었다. SSB mRNA 레벨은 적합하게 디자인된 프라이머 및 프로브를 이용하는 TaqMan qPCR을 이용하여 정량되었다. PPIB(하우스키핑 유전자)는 내부 RNA 로딩 대조군으로서 사용되었다. % mRNA는 100% 발현으로 설정된 PBS 처리 동물 내의 SSB 레벨 또는 동일한 동물 전처리 중의 SSB mRNA 레벨를 이용하는 ΔΔCt 방법을 이용하여 계산되었다.

[0496] 조직 siRNA 농도의 정량은 스템-루프 qPCR 어세이를 이용하여 결정되었다. 개략적으로, 15-50 mg의 조직편은 500 uL의 Trizol 중에서 TissueLyser II 플레이트 기반 균질화기(Qiagen)를 이용하여 균질화되었고, 이어서 TE 버퍼 + 0.1% v/v 트리톤 X-100 중에 희석되었다. 표준 곡선은 미처리된 동물 유래의 균질활된 조직 내로 siRNA를 스파이킹하고, 이어서 TE 버퍼 + 0.1% v/v 트리톤 X-100으로 순차 희석함으로써 생성되었다. siRNA의 안티센스 스트랜드는 25 nM의 서열 특이적인 스템-루프 RT 프라이머와 함께 TaqMan 마이크로RNA 역전사 키트(Applied Biosystems)를 이용하여 역전사되었다. RT 단계 유래의 cDNA는 1.5 μM의 포워드 프라이머, 0.75 μM의 리버스 프라이머, 및 0.2 μM의 프로브와 함께 TaqMan 패스트 어드밴스트 ㅁ매스터 믹스(Applied Biosystems)를 이용하는 리얼타임 PCR을 위해 이용되었다. 측정을 위해 사용된 SSB siRNA 안티센스 스트랜드 및 모든 프라이머 및 프로브의 서열은 표 13에 나타낸다. 정량적 PCR 반응은 QuantStudio 7 플렉스 리얼-타임 PCR 시스템(Life Technologies)에서 표준 사이클링 조건을 이용하여 수행되었다. Ct 값은 표준 곡선으로부터 유도된 1차 방정식을 이용하여 혈장 또는 조직 농도로 변환되었다.

[0497] 컨쥬게이트를 이용하는 시노몰구스 원숭이의 처리는 비복근에서 최대 62% 및 대퇴사두근에서 최대 75%까지 SSB mRNA의 하향조절을 나타냈다(도 5a 및 도 5b). 이들 조직에서 siRNA 농도는 용량 의존적이었고, 30 mg/kg 및 60 mg/kg 용량 각각에 대해 0.6-1.9 nM 내지 2.0-6.5 nM 사이였다. 투여 후 21일 또는 28일에 조사한 경우 조직에서 컨쥬게이트의 활성 및 siRNA 농도는 유사하였다. 이들 결과는 선택된 TfR1 항체는 영장류 근 조직 내로 siRNA를 효과적으로 전달할 수 있음을 입증하고, 트랜스페린 수용체 타겟팅 AOC의 활성은 종 사이에서 변화되는 것을 입증한다.

[0498] 영장류에서 선택된 항 hTfR1 항체의 안전성을 모니터링하기 위해, 혈액학 및 임상 화학은 표 x에 나타낸 스케줄에 따라 분석되었다. 용량 의존적이지만 일시적인 망상적혈구의 고갈(도 6)을 제외하고, 처리 관련 효과는 임의의 혈액학 또는 임상 화학 파라미터에서 투여 후 최대 28일까지 관찰되지 않았다. 관찰된 망상적혈구의 일시적인 하향조절은 TfR1 항체의 부작용으로서 기재되었다. 본래의 이펙터 기능 또는 보체 결합능을 보유하는 뮤린 TfR1 항체는 TfR1을 발현하는 망상적혈구를 심각하게 고갈시키는 것으로 확인되었다(Daniels-Wells, *et al.*, "Transferrin receptor 1: a target for angibody-mediated cancer therapy, "*Immunotherapy* 8(9): 991-994(2016)). 영장류에서 높은 레벨의 TfR1을 발현하는 망상적혈구의 분율은 낮기 때문에, 망상적혈구의 고갈은

단지 일시적이고 설치류에서보다 덜 확연하다. 중요한 것은 다른 연구에서 이러한 활성이 항체의 ADCC/CDC 활성을 제거하는 돌연변이에 의해 성공적으로 억제될 수 있음을 확인하였다는 점이다(WO 2014/189973 A2).

[0499] **실시예 3**

[0500] **인간/시노 교차 반응성 항TfR1 항체의 생성, 특성규명 및 인간화**

[0501] 당해 기술분야에 널리 기재된 현대 인 실리코 항체 인간화 및 탈면역화 프로그램을 이용하여, 실시예 1의 NHP 연구에서 테스트된 키메라 항트랜스페린 1 mAb의 16개의 변이체가 디자인되었다. 변이체의 서열은 표 XYZ를 참조할 것. 디자인의 일부로서, 고위험 번역후 변형(PTM)의 확인에 의한 제조 가능성의 평가가 수행되었는데, 아미노산 치환을 통한 실행 가능한 그들의 제거는 인간화 활성의 일부로서 수행되었다. 또한, 면역원성 위험의 평가는 고위험 에피토프를 확인하고, 실행 가능한 제거를 위해 수행되었다. 또한, 변이체의 Fc 도메인 내로 돌연변이의 도입은 이펙터 기능(ADCC 및 CDC)을 제거하기 위해 수행되었다. 이어서, 16개의 변이체는 당해 기술분야에 널리 기재된 기법을 이용하여 포유동물 세포 배양에서 발현되었고, 단백질 A 수지에 기반한 친화성 크로마토그래피를 이용하여 정제되었다. 이어서, mAb 변이체는 완전히 특성규명되었고, siRNA 컨쥬게이트는 다음과 같이 제조되었다.

[0502] **인간 및 시노 TfR1 ELISA 어세이**

[0503] 이들 어세이의 목표는 16개의 변이체 인간 항TfR1 항체가 인간 및 시노 TfR1에 결합하는 것을 입증하기 위한 것이었다. 이하, 인간 또는 시노 트랜스페린 수용체 ELISA 어세이 프로토콜이 기재된다:

[0504] 하프웰 고결합 96웰 플레이트(Costar #3690)는 PBS(Gibco 14190) 중의 1 ng/μL로 재조합 인간 트랜스페린 수용체 단백질(Sino Biological 11020-H07H) 또는 재조합 시노 트랜스페린 수용체 단백질(Sino Biological 90253-C07H)로 코팅되었고, 4℃에서 하룻밤 인큐베이션되었다. 플레이트는 100 μL의 트리스 완충처리된 염수 + 트윈(20x TBST, 세포 Signaling 9997S)로 4회 세척되었다. 100 μL의 Superblock(ThermoFisher PI-37535)은 각각의 웰에 첨가되었고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션되었다. 세척 단계는 샘플 첨가 전까지 반복되었다. 샘플은 최대 10 nM의 농도 및 50 μL/웰로 첨가되었다. 플레이트는 실온에서 다시 1시간 동안 인큐베이션되었고, 세척 단계가 반복되었다. 2차 항체(퍼옥시다아제 AffiniPure 염소 항인간 IgG, Fcγ 단편 특이적, Jackson Immunoresearch, 109-035-098)는 1:5000 in Superblock 중에서 1:5000으로 희석되었고, 50 μL/웰로 첨가되었다. 플레이트는 실온에서 1시간 동안 인큐베이션되었고, 1회 더 세척되었다. 결합은 50 μL의 1-Step™Ultra TMB-ELISA(ThermoFisher, 34028)의 첨가에 의해 측정되었고, 5분 동안 인큐베이션되었으며, 반응은 25 μL의 정지 용액 2N 황산(R&D Systems DY994)의 첨가에 의해 정지되었다. 흡광도는 차감된 기준 파장 570 nm를 이용하여 450 nm에서 측정되었다. 결합 상수는 힐 슬로프와 함께 그래프패드 프리즘 특이 결합을 이용하여 결정되었다.

[0505] 도 7 및 도 8은 각각 시노 CD71 및 인간 CD71에 대한 결합 결과를 나타낸다.

[0506] **Tf-TfR 차단 ELISA 어세이**

[0507] 본 어세이의 목표는 TfR 항체가 홀로트랜스페린의 존재 하에서 TfR에 결합하는지 여부를 검증하기 위한 것이었다.

[0508] 항체는 제조사의 지침에 따라 50배 몰 과량의 EZ-Link No weigh NHS-Biotin(Thermo Scientific A39256)을 이용하여 비오티닐화되었다. 하프웰 고결합 플레이트(Costar #3690)는 PBS 중의 500 ng/mL의 정제된 인간 홀로트랜스페린(R&D Systems 2914-HT)으로 4℃에서 하룻밤 코팅되었다. 비교를 위해, 플레이트는 hTfR로 직접 코팅되었다. 플레이트는 100 μL의 트리스 완충처리된 염수 + 트윈(20x TBST, Cell Signaling 9997S)으로 4회 세척되었다. 100 μL의 Superblock(ThermoFisher PI-37535)은 각각의 웰에 첨가되었고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션되었다. 세척 단계는 트랜스페린 플레이트에 hTfR(25 μl 내의 200 ng/mL)의 첨가 또는 hTfR 플레이트에 Superblock의 첨가까지 반복되었고, 30분 동안 인큐베이션되었다. 비오티닐화된 항체는 고농도에 대해 20 nM로 희석되었고, 3배 순차 희석액과 함께 플레이트에 첨가되었다. 25 μl/웰은 이미 플레이트 내의 25 μl에 첨가되었다. 플레이트는 1시간 동안 인큐베이션되었고, 세척 단계가 반복되었다. 스트렙타비딘-HRP(R&D Systems DY998)은 패키지 설명서에 추천된 희석 후 첨가되었고, 최종 세척 단계가 수행되었다. 결합은 50 μL의 1-Step™ Ultra TMB-ELISA(ThermoFisher, 34028)의 첨가에 의해 측정되었고, 5분 동안 인큐베이션되었으며, 반응은 25 μL의 정지 용액 2N 황산(R&D Systems DY994)의 첨가에 의해 정지되었다. 흡광도는 차감된 기준 파장 570 nm를 이용하여 450 nm에서 측정되었다. 결합 상수는 힐 슬로프와 함께 그래프매프 프리즘 특이 결합을 이용하여 결정되었다. 트랜스페린의 존재 대 부재 하에서 항체 결합 상수의 변화는 트랜스페린과의 오버랩핑 에피토프를

보유하는 것으로 공지된 시판되는 항체(AF2474, R&D Systems)에 대한 것으로 간주된다. 참조 도 9a-도 9b.

[0509] **HFE-TfR 결합 ELISA 어세이**

[0510] 본 어세이의 목표는 TfR이 HFE에 결합되는 경우 TfR 항체가 결합을 유지하는지 여부를 검증하기 위한 것이었다.

[0511] 본 어세이는 보조인자 HFE(유전성 혈색소침착증 단백질, mybiosource.com, MBS953891)에 의해 대체된 트랜스페린을 이용하여 트랜스페린의 존재 하에서 TfR 결합과 동일한 방법을 따라 수행된다. 도 10a-도 10b 참조.

[0512] **FcγIIIA(CD16a) ELISA**

[0513] 본 어세이의 목표는 FcγRIIIA(CD16a) 유전형 V158에 대한 결합을 측정함으로써 항체의 ADCC 활성에 대한 가능성을 결정하기 위한 것이었다. 하프웰 고결합 96웰 플레이트(Costar #3690)는 PBS(Gibco 14190) 중의 2 ng/μL로 재조합 CD16a 단백질(Sino Biological 10389-H27H1)로 코팅되었고, 4℃에서 하룻밤 인큐베이션되었다. 플레이트는 100 μL의 트리스 완충처리된 염수 + 트윈(20x TBST, 세포 Signaling 9997S)으로 4회 세척되었다. 100 μL의 Superblock(ThermoFisher PI-37535)은 각각의 웰에 첨가되었고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션되었다. 세척 단계는 샘플 첨가 전까지 반복되었다. 샘플은 최대 1 μM의 농도 및 50 μL/웰로 첨가되었다. 플레이트는 실온에서 다시 1시간 동안 인큐베이션되었고, 세척 단계가 반복되었다. 2차 항체(퍼옥시다아제 AffiniPure 염소 항인간 IgG, Fcγ 단편 특이적, Jackson Immunoresearch, 109-035-098)는 Superblock 중에서 1:5000으로 희석되었고, 50 μL/웰로 첨가되었다. 플레이트는 실온에서 1시간 동안 인큐베이션되었고, 1회 더 세척되었다. 결합은 50 μL의 1-Step™ Ultra TMB-ELISA(ThermoFisher, 34028)의 첨가에 의해 측정되었고, 5분 동안 인큐베이션되었으며, 반응은 25 μL의 정지 용액 2N 황산(R&D Systems DY994)의 첨가에 의해 정지되었다. 흡광도는 차감된 기준 파장 570 nm를 이용하여 450 nm에서 측정되었다. 결합 상수는 힐 슬로프와 함께 그래프패드 프리즘 특이 결합을 이용하여 결정되었다. 도 11 참조.

[0514] **HEL92.1.7 세포에서 시험관 내 효능 어세이**

[0515] 본 어세이의 목표는 컨쥬게이트가 siRNA의 전달 및 유전자 특이적 하향조절을 가능하게 할 수 있는지 여부를 입증하기 위한 것이었다. mAb 변이체는 활성 siRNA(SSB) 또는 스크램블된 대조군(Scr)에 컨쥬게이션되었다. HEL92.1.7 세포주(ATCC® TIB-180™)는 10% 태아 소 혈청(Nucleus Biologics FBS1824)을 함유하는 RPMI 1640 중에서 배양되었다. 항체-siRNA 컨쥬게이트는 100 nM의 최대 용량으로 희석되었다. 20 μl의 컨쥬게이트는 96웰 플레이트의 웰에 첨가되었다. 20 μl의 PBS는 추가적인 음성 대조군으로서 몇몇 웰에 첨가되었다. 세포는 100,000/mL로 희석되었고, 100 μL이 플레이트의 각 웰에 첨가되었다. 세포는 37℃ 및 5% CO_2 에서 72시간 동안 위치되었다. 배지는 웰로부터 제거되었고, 150 μl의 Trizol(Ambion 15596018)이 첨가되었다. 플레이트는 분석 전까지 -80℃에서 하룻밤 이상 동결되었다. RNA는 제조사의 지침에 따라 Direct-zol 96 RNA 분리 키트(Zymo Research R2056)를 이용하여 분리되었다. RNA는 제조사의 지침에 따라 High Capacity cDNA 키트(Thermo Fisher #4368813)를 이용하여 역전사되었고, qPCR은 SSB 및 PPIB Taqman 프로브 세트(ThermoFisher Hs04187362_g1 및 Hs00168719_m1)와 함께 Taqman 패스트 어드밴스틀 매스터 믹스(Applied Biosystems 4444558)를 이용하여 수행되었다. % mRNA는 100% 발현으로 설정된 PBS 처리 세포와 함께 ΔΔCt 방법을 이용하여 계산되었다.

[0516] 활성 siRNA(SSB) 또는 비활성 또는 스크램블된 siRNA(Scr)를 함유하는 DAR1 컨쥬게이트가 제조되었고, 실시예 2에 기재된 바와 같이 특성규명되었다. 이들 컨쥬게이트의 경우, SSB siRNA는 리보오스 2' 하이드록실 상의 패신저 스트랜드의 위치 11에 컨쥬게이션된 Cy5 형광 태그를 함유하였다. 이는 고체 상 합성 중 도입되었고, 가이드 스트랜드의 활성을 억제하지 않았지만, 흡수 어세이의 수행을 가능하게 하였다. 컨쥬게이트의 순도는 음이온 교환 크로마토그래피 방법-2를 이용하는 분석용 HPLC에 의해 평가되었고, 크로마토그래피 체류 시간 및 순도는 하기 표 15에 기재된다.

표 15

컨쥬게이트	SAX 체류 시간 (분)	% 순도 (피크 면적에 의함)
hIgG1 TfRVar2i-SSB DAR 1	9.106	98.2
hIgG1 TfR-Var2i-Scr DAR 1	8.905	98.0
hIgG1 TfR-Var2ii-SSB DAR 1	9.059	98.3
hIgG1 TfR-Var2ii-Scr DAR 1	8.863	98.4
hIgG1 TfR-Var2iii-SSB DAR 1	9.069	98.2
hIgG1 TfR-Var2iii-Scr DAR 1	8.871	98.5
hIgG1 TfR-Var9i-SSB DAR 1	9.066	98.4
hIgG1 TfR-Var9i-Scr DAR 1	8.867	98.5
hIgG1 TfR-Var9ii-SSB DAR 1	9.048	98.6
hIgG1 TfR-Var9ii-Scr DAR 1	8.855	98.8
hIgG1 TfR-Var9iii-SSB DAR 1	9.069	98.6
hIgG1 TfR-Var9iii-Scr DAR 1	8.862	99.0
hIgG1 TfR-Var15i-SSB DAR 1	9.097	98.8
hIgG1 TfR-Var15i-Scr DAR 1	8.892	98.6
hIgG1 TfR-Var15ii-SSB DAR 1	9.082	98.2
hIgG1 TfR-Var15ii-Scr DAR 1	8.882	98.8
hIgG1 TfR-Var15iii-SSB DAR 1	9.078	98.3
hIgG1 TfR-Var15iii-Scr DAR 1	8.877	98.6
hIgG1 TfR-WT-SSB DAR 1	9.045	98.6
hIgG1 TfR-WT-Scr DAR 1	8.847	98.9

[0517]

[0518] 본 실시예에서 사용된 컨쥬게이트의 분석용 데이터 표: HPLC 체류 시간 (RT) (분) 및 크로마토그래피 피크 면적에 의한 % 순도.

[0519] **PBMC에서 TfR1 항체 및 항체 siRNA 컨쥬게이트(ASC)에 의해 매개된 항체 의존성 세포독성(ADCC)**

[0520] 마우스 및 비인간 영장류(NHP)에서의 연구는 이펙터 기능 및/또는 보체 결합능을 보유하는 뮤린/시아노 TfR에 결합하는 항체가 TfR을 발현하는 망상적혈구를 선택적으로 고갈시키는 것으로 입증되었다. 변이체가 이펙터 기능을 보유하였는지 여부를 확인하기 위해, ADCC 어세이는 이펙터 세포로서 건강한 인간 공여자 유래의 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 이용하여 수행되었다.

[0521] **재료:**

[0522] BUYPBMC.COM에서 구입한 PBMC, lot#2010113378, 강력한 ADCC 활성을 보유함.

[0523] 타겟 세포: HEL-92.1.7(ATCC, #TIB-180); HEL(#JCRB0062)

[0524] 세포독성 LDH 키트, Pierce(ThermoFisher), #88953

[0525] 혈청을 보유하는 조직 배양 배지(완전 배지) RPMI 1640(Life Technologies), 10% 열불활성화된 FBS(56℃에서 30분) 및 2% L-글루타민을 함유함

[0526] hIgG1 mAb 변이체

[0527] **절차:**

[0528] PBMC 세포는 37℃ 수조에서 부드럽게 교반하면서 해동한다. 일단 해동되면, 1 mL의 가온된 배양 배지를 바이알 드롭에 30초에 걸쳐 적가하여 세포가 환경 변화에 적응하도록 한다. 9 mL의 가온된 배양 배지를 함유하는 15 mL 또는 50 mL 코니칼 튜브에 세포를 서서히 첨가한다. 원래의 바이알을 1 mL의 세포 함유 배지로 세정하여 측면에 부착될 수 있는 세포를 회수하고; 세정 배지를 코니칼 튜브에 첨가한다. 350 x g에서 8-12분 동안 원심분리에 의해 세포를 펠릿화한다. 상등액은 폐기한다. 부드럽게 탭핑하여 세포 펠릿을 재현탁한다(과도한 전단력은 회피한다). 10 mL의 가온 배양 배지를 코니칼 튜브에 첨가하여 세포를 다시 세정한다. 350 x g에서 8-12분 동안 원

심분리에 의해 세포를 펠릿화한다. 두 번째 세척 유래의 상등액은 폐기한다. 부드럽게 탭핑하여 세포 펠릿을 재현탁한다(과도한 전단력은 회피한다). 필요에 따라 10 mL의 가온된 배양 배지 중에 세포를 재현탁한다. T75 중에서 37℃에서 하룻밤 인큐베이션하여 세포를 순응시킨다.

[0529] 냉 어세이 배지 2x를 이용하여 타겟 세포 HEL-92를 수확 및 세척하고; 높은 생존률을 보장한다. 아이스 상에서 96웰 둥근 바닥 플레이트 내의 냉각한 50 μl(8×10^5) 어세이 배지(1% BSA 및 100 units/mL 페니실린 및 스트렙토마이신을 보유하는 RPMI-1640) 중에 타겟 세포를 4×10^4/웰로 시딩한다. 테스트 및 대조군 항체/ACS의 희석액(6x, 10 μg/ml에서 시작)은 하기 표에서와 같이 타겟 세포를 함유하는 플레이트에 첨가될 것이고, 이어서 아이스 상에서 30분 동안 인큐베이션하여 옵소닌화가 일어나게 한다. 10 μl의 배지는 부피를 유지하기 위해 대조군 웰에 첨가될 것이다.

[0530] **대조군:**

[0531] - 백그라운드 저 대조군: 타겟 세포 자연 LDH 방출 조절은 타겟 세포 유래의 자연 방출(저 대조군)에 대해 교정된다. 실험 웰에 사용된 타겟 세포의 동일한 수를 첨가한다. 최종 부피는 배양 배지를 이용하여 100 μL/웰로 조정한다.

[0532] - 양성 고 대조군: 타겟 세포 최대 LDH 방출 조절은 LDH의 100% 방출을 결정하기 위한 계산에 필요하다. 실험 웰에서 사용된 타겟 세포의 동일한 수를 더한다. 최종 부피는 100 μL/웰이어야 한다(단계 5는 10 μL의 10X 용해 버퍼를 첨가한다).

[0533] - 항체 비의존성 세포독성(AICC)은 항체의 첨가 없이 타겟 및 이펙터 세포를 함유하는 웰에서 측정될 것이다.

[0534] 후술하는 2개의 대조군은 ADCC 계산에 필요한 것이 아니라 어세이 조건을 모니터링하기 위한 것이다.

[0535] - 이펙터 세포 자연 LDH 방출 조절은 이펙터 세포 유래의 자연 방출에 대해 교정된다. 실험 웰에 사용된 다양한 수로 이펙터 세포를 첨가한다. 최종 부피는 배양 배지를 이용하여 100 μL/웰로 조정한다.

[0536] - 배양 배지 백그라운드 대조군은 혈청 함유 배양 배지 내에 존재할 수 있는 LDH 활성에 의해 유발된 기여를 교정하기 위해 필요하다. 100 μ의 배양 배지를 3세트의 웰(세포 없음)에 첨가한다.

[0537] 아이스 상에서 30분 인큐베이션 후, 50 ㎕의 가온된 어세이 배지(1% BSA 및 100 units/mL 페니실린 및 스트렙토마이신을 보유하는 RPMI-1640) 중의 8×10^5 PBMC 이펙터 세포는 20:1의 이펙터:타겟 세포의 비율을 얻기 위해 각각의 웰에 첨가되고, 37℃에서 추가로 4시간 동안 인큐베이션될 것이다.

[0538] 상등액을 수확하기 45분 전에, 타게 세포 최대 LDH 방출 대조군(양성 대조군) 및 부피 교정 대조군에 10 μL의 용해 버퍼(10X)를 첨가한다. 세포를 보유하는 백그라운드 저 대조군, 샘플 및 다른 대조군에 10 μL의 PBS를 첨가한다. 인큐베이션 후 플레이트를 원심분리(350 g, 10분)한다. 50 μL의 상등액을 96웰 평평한 바닥 플레이트에 이전하고, 50 μL의 반응 혼합물을 각각의 샘플 웰에 첨가하고, 부드러운 탭핑에 의해 혼합한다. 빛이 차단된 조건에서 플레이트를 실온에서 30분 동안 인큐베이션한다. 각각의 웰에 50 μL의 정지 용액을 첨가하고 부드러운 탭핑에 의해 혼합한다. 490 nm 및 680 nm에서 흡광도를 측정한다. LDH 활성을 결정하기 위해, 490 nm 흡광도 값에서 680 nm 흡광도 값(기기의 백그라운드 신호)을 차감한다.

[0539] **특이적인 ADCC 활성은 다음과 같이 계산되었다:**

[0540] % ADCC = 100x((A_{490}(샘플)-A_{490}(AICC))/(A_{490}(고대조군)-A_{490}(저대조군))

[0541] 결과는 도 14에 나타낸다.

[0542] **토끼 혈청에서 TfR1 항체 및 항체 siRNA 컨쥬게이트(ASC)에 의해 매개된 보체 의존성 세포독성(CDC)**

[0543] **재료:**

[0544] 토끼 보체, 동결건조됨. 아이스 냉 증류수로 재구성. 부드럽게 교반하여 모든 동결건조된 재료가 용해되도록 한다. 재구성하고 1시간 이내에 사용한다. 재구성된 재료는 항상 아이스 상에서 유지한다. 1/2 희석액에서 완전한 활성이 나타나지 않으면 액적은 폐기한다.

[0545] 타겟 세포: HEL-92.1.7(ATCC, #TIB-180)

[0546] 비오빌리티(Viobility) 405/452 고정성 염료

[0547] 10% 열 불활성화된 FBS(56℃에서 30분) 및 2% L-글루타민을 함유하는 혈청 보유 조직 배양 배지(완전 배지) RPMI 1640(Life Technologies)

[0548] hIgG1 변이체

[0549] **절차:**

[0550] HEL92.1.7 타겟 세포는 수확되었고, 냉 어세이 배지로 2회 세척되었다. 세포는 96웰 둥근 바닥 플레이트 내의 25 μl의 어세이 배지(1% BSA 및 100 units/mL 페니실린 및 스트렙토마이신을 보유하는 RPMI-1640)에 5 x 10^4/웰로 시딩되었다. 테스트 및 대조군 항체(25 μl)의 희석액(5x, 최종 50 ug/ml을 위해 100 ug/ml에서 시작)은 25 μl의 타겟 세포를 함유하는 플레이트에 첨가되었고, 이어서 옵소닌화를 가능하게 하기 위해 30분 동안 아이스에서 인큐베이션되었다.

[0551] **대조군:**

[0552] - 백그라운드 저 대조군: 타겟 세포 자연 LDH 방출 조절은 타겟 세포 유래의 자연 방출(저 대조군)에 대해 교정된다. 실험 웰에 사용된 타겟 세포의 동일한 수를 첨가한다. 최종 부피는 배양 배지를 이용하여 100 μL/웰로 조정한다.

[0553] - 항체 비의존성 세포독성(AICC)은 항체의 첨가 없이 타겟 및 CDC를 함유하는 웰에서 측정될 것이다.

[0554] 30분 인큐베이션 후, 배지 및 저 대조군(50 μL의 배지 보유)을 제외하고 50 μL의 보체가 각각의 웰에 첨가되었고, 플레이트는 37℃에서 추가로 60분 동안 인큐베이션되었다. 플레이트는 인큐베이션의 종료 시 원심분리되었다(350 g, 10분). 희석된 비오빌리티 405/452 염료(100 μL의 염색 버퍼 중의 0.5 μL의 염료)가 첨가되었다. 플레이트는 실온에서 15분 동안 광을 차단하였다. 세포는 세척되었고, 고정되었다. 유동 분석은 사멸된 세포를 측정하기 위해 수행되었다.

[0555] **특이적인 CDC 활성은 다음과 같이 계산될 것이다:**

[0556] % CDC = % 샘플 중 사멸된 세포 - % 대조군 중 사멸된 세포

[0557] 결과는 도 15에 나타낸다.

[0558] **인간 골격 근관에서 인간 항TfR1 IgG1 siRNA 컨쥬게이트(ASC)의 시험관 내 흡수**

[0559] 근육 세포 내로 ASC의 흡수를 모니터링하기 위해, 10% FBS(Nucleus Biologics FBS1824) 및 1x ITS(Thermo Fisher Scientific 41400045)가 보충된 1 mL의 DMEM(ATCC 30-2002) 중의 일차 인간 골격 근아세포(Thermo Fisher Scientific A11440)는 24웰 콜라겐 플레이트(Thermo Fisher A1142802) 상에 플레이팅되었다. 세포는 근아세포가 융합될 때까지 5% CO2 중의 37℃에서 인큐베이션되었다. 이 시점에서, 근관으로의 분화는 2% 말 혈청(ATCC 30-2040) 및 1x ITS(Thermo Fisher Scientific 41400045)로 보충된 1 mL의 DMEM(ATCC 30-2002) 중에서 2일 동안 인큐베이션에 의해 유도되었다. 배지는 500 ul의 분화 배지로 대체되었고, PBS 중에 희석된 50 μl의 TfR1.IgG2 mAb-SSB(Cy5) 컨쥬게이트는 1 및 10 nM의 최종 농도로 첨가되었다. 세포는 5% CO2 중의 37℃에서 인큐베이션되었고, 500 ul의 PBS로 3회 세척되었고, 동결-해동 사이클을 이용하여 150 ul의 T-PER 용해 버퍼(Thermo Fisher Scientific 78510) 중에서 용해되었다. 75 ul의 용해된 세포는 75 μl의 뉴클레아제를 함유하지 않는 물로 희석되었고, TECAN 플레이트 리더를 이용하여 형광이 측정되었다(Ex 635 nM- Em 675 nM). 결과는 입력치에 대한 세포 내의 형광으로서 나타낸다(도 16).

[0560] **인간 골격 근관에서 인간 항TfR1 IgG1 siRNA 컨쥬게이트(ASC)에 의해 매개된 시험관 내 유전자 하향조절**

[0561] SSB mRNA 레벨을 하향조절하는 TfR1.mAb-SSB 컨쥬게이트의 능력을 모니터링하기 위해, 10% FBS(Nucleus Biologics FBS1824) 및 1x ITS(Thermo Fisher Scientific 41400045)가 보충된 1 mL의 DMEM(ATCC 30-2002) 중의 일차 인간 골격 근아세포(Thermo Fisher Scientific A11440)는 24웰 콜라겐 플레이트(Thermo Fisher A1142802) 상에 플레이팅되었다. 세포는 근아세포가 융합될 때까지 5% CO2 중의 37℃에서 인큐베이션되었다. 이 시점에서, 근관으로의 분화는 2% 말 혈청(ATCC 30-2040) 및 1x ITS(Thermo Fisher Scientific 41400045)로 보충된 1 mL의 DMEM(ATCC 30-2002) 중에서 2일 동안 인큐베이션에 의해 유도되었다. 배지는 대체되었고, PBS 중에 희석된 100 μl의 TfR1.IgG2 mAb-SSB 컨쥬게이트가 첨가되었다. 처리된 세포는 72시간 동안 인큐베이션되었다. 수확을 위해, 배지는 웰로부터 제거되었고, 150 uL의 Trizol(Ambion 15596018)이 첨가되었다. 플레이트는 -80℃에서 분석 전까지 하룻밤 이상 동결되었다. RNA는 제조사의 지침에 따라 Direct-zol 96 RNA 키트를 이용하여 분

리되었고, 분광학적으로 정량되었다. RNA(100-200 ng)는 High Capacity cDNA 키트(Thermo Fisher #4368813)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 역전사되었다. mRNA 레벨은 적합하게 디자인된 프라이머 및 프로브를 이용하는 TaqMan qPCR을 이용하여 정량되었다. PPIB(하우스키핑 유전자)는 내부 RNA 로딩 대조군으로 사용되었다. % mRNA는 100% 발현으로 설정된 PBS 처리 세포와 함께 ΔΔCt 방법을 이용하여 계산되었다. 모든 테스트된 SSB siRNA 컨쥬게이트는 유사한 효능으로 50%까지 SSB를 하향조절하였다(도 17).

[0562] **실시예 4**

[0563] **hTfR1 중쇄: 461aa**

NruI –Kozak 서열-- **인공 신호 펩타이드** –*hTfR1 mAb HC 가변부*–인간 IgG2 불변부 (P01859)—**종결 코돈—PmlI**

MGWSCIILFLVATATGVHS*QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMHWVK QRPGQGLEWIGEINPINGRSNYGERFKTKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGTRAM HYWGQGTSVTVSS*ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

[0564]

[0565] **hTfR1 경쇄: 233aa**

AscI –Kozak 서열-- 인공 신호 펩타이드 – *hTfR1 mAb LC 가변부*–인간 Ig 카파 불변부 (P01834)—

종결 코돈—FseI

MGWSCIILFLVATATGVHS*DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRTSENIYNNLAWYQQKQGKS PQLLVYAATNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGNYYCQHFWGTPLTFGAGTKLELK*RTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0566]

[0567] **실시예 5: 시노 연구에서 예시적인 항TfR 항체의 SSB siRNA 녹다운**

[0568] 예시적인 항TfR 항체를 이용하는 시노몰구스 원숭이의 처리는 비복근에서 SSB mRNA 하향조절의 백분율을 결정하기 위해 테스트될 것이다. 30 mg/kg, 10 mg/kg, 및 3 mg/kg의 투여량이 테스트될 것이다. 항체 컨쥬게이트의 활성은 투여 후 21일 및/또는 28일에 조사될 것이다. 또한, 영장류의 안전은 혈액학 및 임상 화학 분석에 의해 모니터링될 것이다.

[0569] **실시예 6: hIgG1 TfR-Var2ii 및 hIgG1 TfR-Var9ii의 SSB 컨쥬게이트는 시노몰구스 원숭이에서 절대 망상적혈구 레벨에 영향을 미치지 않는다**

[0570] hIgG1 TfR-Var2ii 및 hIgG1 TfR-Var9ii는 이펙터 기능을 제거하기 위해 디자인된 IgG1 중쇄의 힌지 영역에 돌연변이(LALA+L328R)를 함유하는 hTfR1을 타겟팅하는 인간화 IgG1이다. 키메릭 hIgG2 TfR1 항체와는 달리, hIgG1 TfR-Var2ii 및 hIgG1 TfR-Var9ii의 SSB 컨쥬게이트는 시노몰구스 원숭이에서 투여 후 망상적혈구 레벨을 감소시키지 않는다. 이 결과는 TfR1 타겟팅 항체에 의한 미성숙 망상적혈구의 고갈이 항체의 ADCC/CDC 활성을 제거하는 돌연변이에 의해 성공적으로 억제될 수 있음을 입증하는 다른 연구(WO 2014/189973 A2)와 일치한다.

[0571] **방법:**

[0572] 시노몰구스 원숭이(수컷; 2-3세; BW 2-3 kg)는 1일째에 30분(+/- 3분) 정맥 내(IV) 주입에 의해 투여되었다. 혈액 샘플은 도 18에 나타낸 바와 같이 투여 후 상이한 시점에서 구속되고 의식이 있는 동물의 말초 정맥으로부터 수집되었다.

[0573] **실시예 7: hIgG1 TfR-Var2ii Ab 및 hIgG1 TfR-Var9ii Ab의 SSB 컨쥬게이트는 시노몰구스 원숭이의 근육에서 SSB RNA 레벨을 하향조절한다**

[0574] 투여 전 SSB mRNA 레벨과 비교하여, 1 또는 6 mg/kg(siRNA)의 hIgG1 TfR-Var2ii 또는 hIgG1 TfR-Var9ii SSB 컨

쥬게이트의 단일 투여는 투여 후 21일에 비복근 및 대퇴사두근에서 최대 72%까지 SSB mRNA 레벨을 하향조절하였다(도 19). 인간화 항체의 활성은 모 키메라 IgG2 TfR1 항체의 활성과 유사하였다. 60 mg/kg(이는 6 mg/kg AOC 용량과 동일함)으로 투여된 비컨쥬게이션된 TfR-Var2ii Ab는 SSB의 유의미한 하향조절을 나타내지 않았다.

[0575] **방법:**

[0576] 시노몰구스 원숭이(수컷; 2-3세; BW 2-3 kg)는 1일째에 30분(+/- 3분) 정맥 내(IV) 주입에 의해 투여되었다. 근육 생검(비복근 및 대퇴사두근)은 투여 후 -10일째 및 +21일째에 진정된 동물로부터 6 mm 펀치에 의해 취해지고, 무게가 측정되고, 액체 질소에 스냅 동결되었다. 동결된 조직 샘플은 1 ml의 냉 TRIZOl(Thermo Fisher # 15596026)에서 균질화되었다. mRNA 녹다운을 결정하기 위해, 총 RNA는 제조사의 지침에 따라 Direct-zol 96 RNA 키트를 이용하여 조직으로부터 추출되었고, 분광학적으로 정량되었다. RNA(100-200 ng)는 제조사의 지침에 따라 High Capacity cDNA 키트(Thermo Fisher #4368813)를 이용하여 역전사되었다. SSB mRNA 레벨은 적합하게 디자인된 프라이머 및 프로브를 이용하는 TaqMan qPCR을 이용하여 정량되었다. PPIB(하우스키핑 유전자)는 내부 RNA 로딩 대조군으로서 사용되었다. % mRNA는 100% 발현으로 설정된 PBS 처리된 동물 내의 SSB 레벨 또는 동일한 전처리 동물 내의 SSB mRNA 레벨을 이용하는 ΔΔCt 방법을 이용하여 계산되었다.

[0577] **실시예 8: AOC 매개된 SSB 녹다운은 근육 특이적이지만, siRNA 전달은 아니다**

[0578] 6 mg/kg의 hIgG1 TfR-Var2ii-SSB 단일 투여 21일 후, 대부분의 조직은 10-100 nM 사이의 SSB siRNA 농도를 나타냈다. 가장 높은 siRNA 레벨은 간 및 부신(≥1000 nM)에서 확인되었고; 가장 낮은 siRNA 레벨은 뇌(2 nM)에서 확인되었다. 골격근 내의 siRNA 농도는 3-20 nM이었다. 상대적으로 낮은 siRNA 노출에도 불구하고, 단지 골격근 및 심장은 SSB mRNA 레벨에서 > 50% 감소를 나타냈다. 이 결과는 TfR1 타겟팅 항체에 의한 올리고뉴클레오타이드 페이로드의 전달이 근육 특이적이고, siRNA 노출보다는 세포 특이적인 트래픽킹 경로에 의해 구동된다는 것을 입증한다.

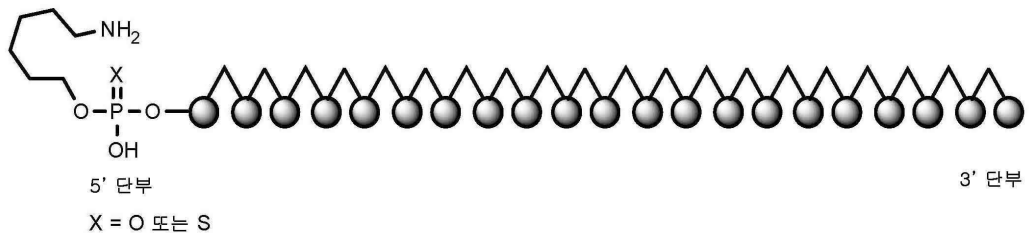
[0579] **방법:**

[0580] 시노몰구스 원숭이(수컷; 2-3세; BW 2-3 kg)는 1일째에 30분(+/- 3분) 정맥 내(IV) 주입에 의해 투여되었다. 투여 21일째 후, 근육 생검은 진정된 동물로부터 6 mm 펀치에 의해 취해졌다. 모든 다른 조직 샘플은 도살 후 30분 이내에 수집되었다. 조직 샘플은 가공되었고, SSB mRNA 레벨은 상기한 바와 같이 결정되었다(도 20b). 조직 SSB siRNA 농도는 방법 섹션에 기재된 바와 같이 스템-루프 qPCR 어세이를 이용하여 결정되었다(도 20a). siRNA의 안티센스 스트랜드는 서열 특이적인 스템-루프 RT 프라이머를 이용하는 TaqMan 마이크로RNA 역전사 키트를 이용하여 역전사되었다. 이어서, RT 단계 유래의 cDNA는 리얼 타임 PCR을 위해 이용되었고, Ct 값은 표준 곡선으로부터 유도된 1차 방정식을 이용하여 혈장 또는 조직 농도로 변환되었다.

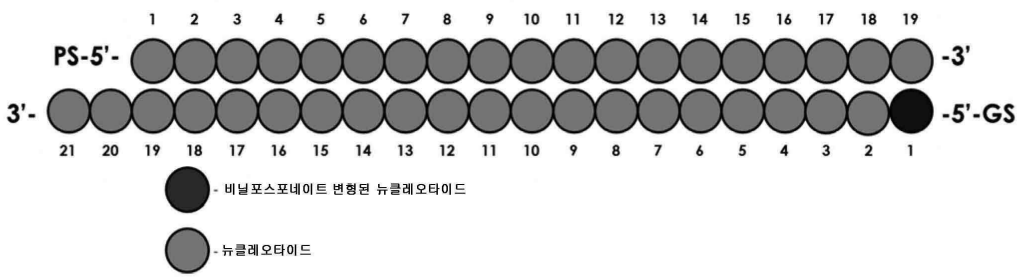
[0581] 본 개시내용의 바람직한 실시양태가 본 출원에 제시되고 설명되었지만, 이러한 실시양태는 단지 예로서 제공된다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 본 개시내용을 벗어나지 않으면서 다양한 변형, 변경, 및 치환이 관련 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 실시될 것이다. 본 출원에 기재된 개시내용의 실시양태에 대한 다양한 대안이 본 개시내용을 실시하는데 사용될 수 있음을 이해하여야 한다. 하기 청구범위는 본 개시내용의 범위를 정의하고, 이들 청구범위 및 그의 균등물에 속하는 방법 및 구조는 이에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

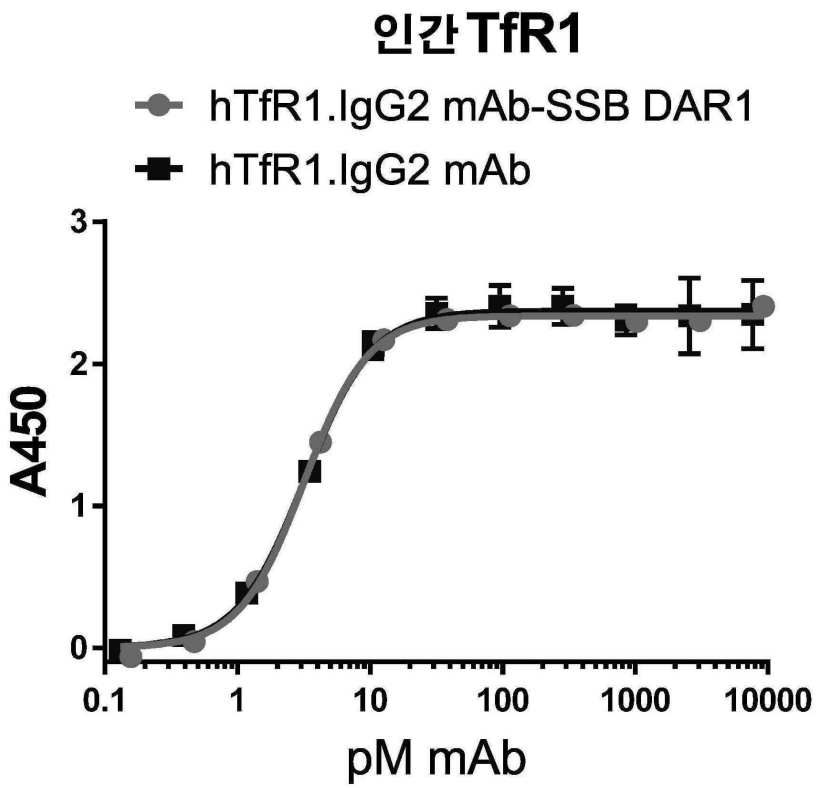
도면1



도면2

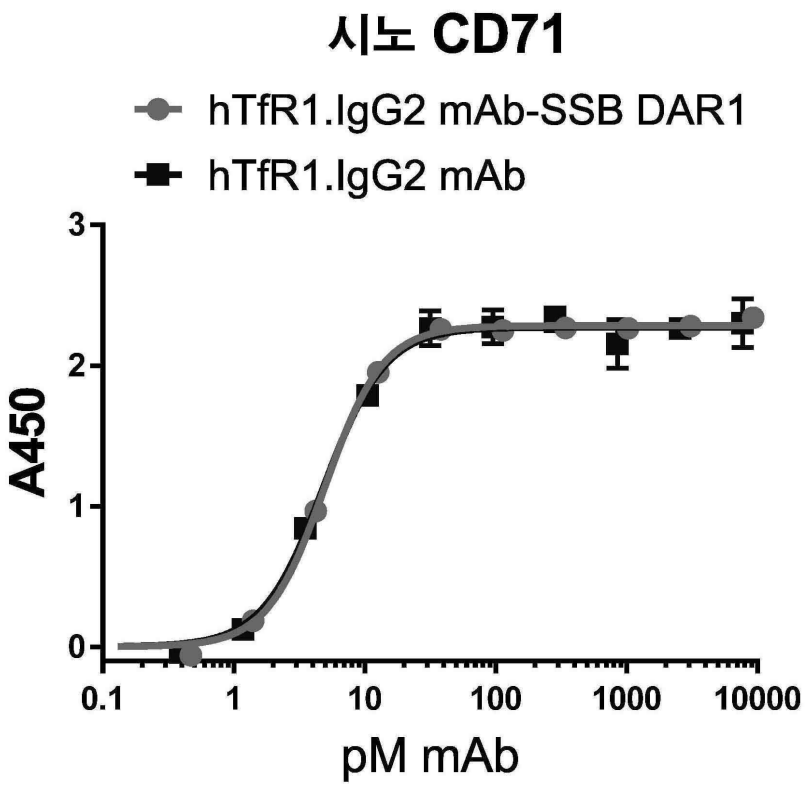


도면3a



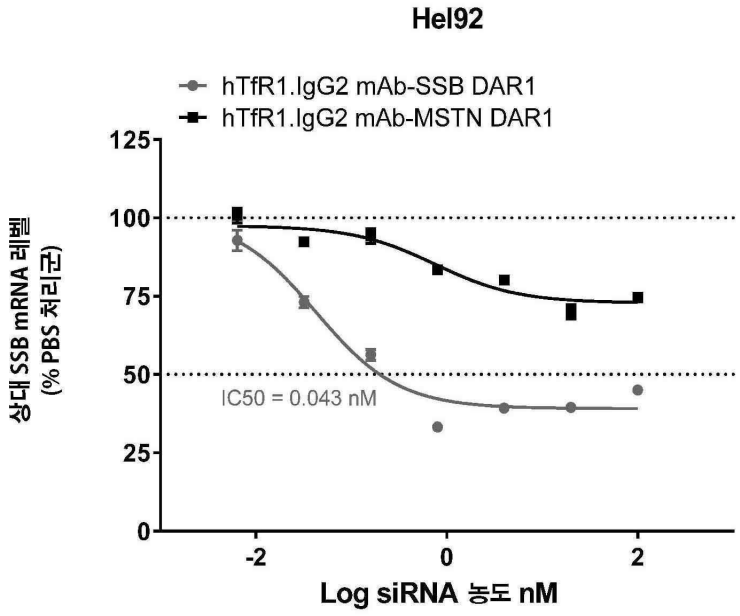
	hTfR1.IgG2 mAb-SSB DAR1	hTfR1.IgG2 mAb
힐 슬로프를 이용한 특이 결합		
베스트핏 값		
Bmax	2.339	2.371
h	1.794	1.717
Kd	3.179	3.224

도면3b

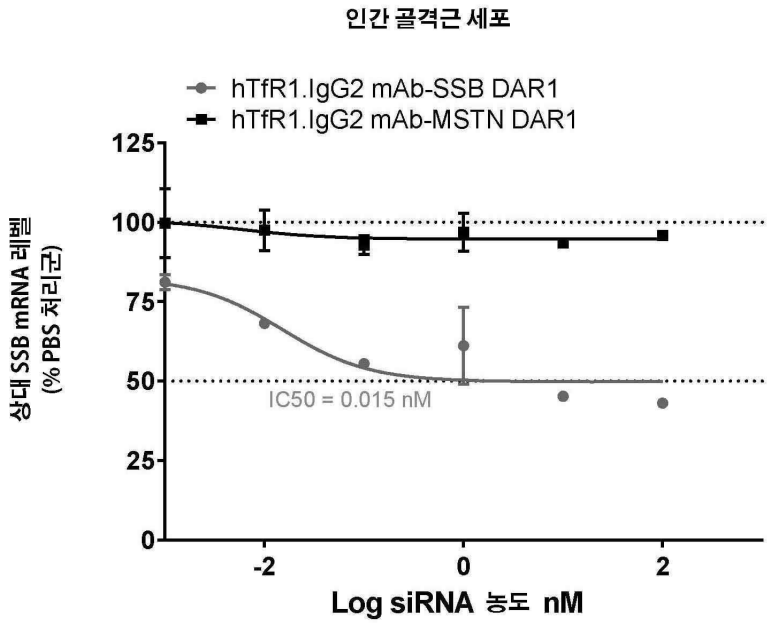


	hTfR1.IgG2 mAb-SSB DAR1	hTfR1.IgG2 mAb
힐 슬로프를 이용한 특이 결합		
베스트핏 값		
Bmax	2.283	2.273
h	1.959	1.86
Kd	4.994	4.872

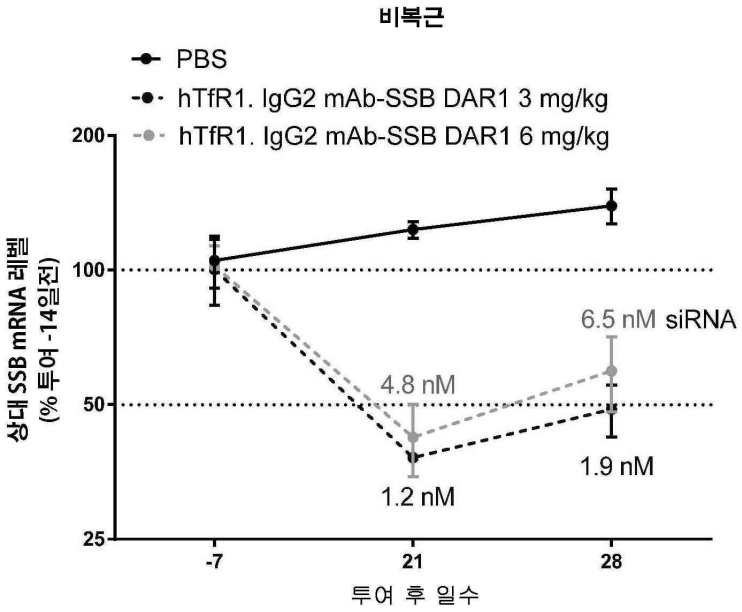
도면4a



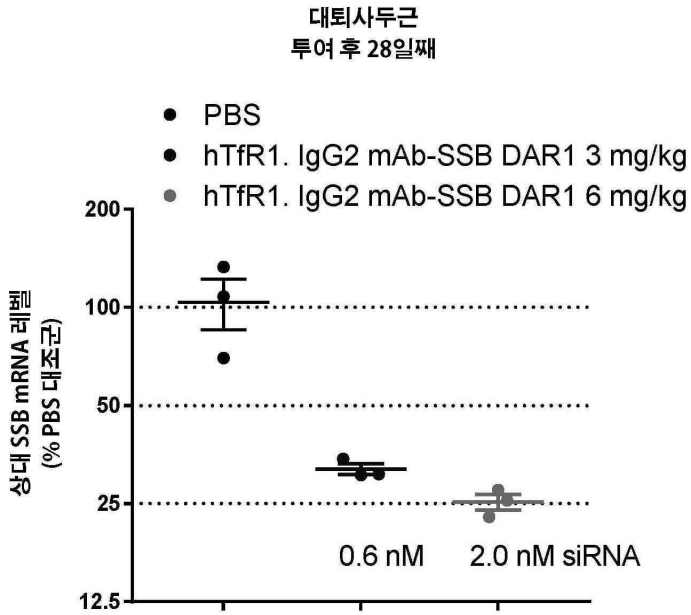
도면4b


인간 골격근 세포
hTfR1.IgG2 mAb-SSB DAR1
hTfR1.IgG2 mAb-MSTN DAR1
상대 SSB mRNA 레벨
(% PBS 처리군)
125
100
75
50
25
0
IC50 = 0.015 nM
-2
0
2
Log siRNA 농도 nM

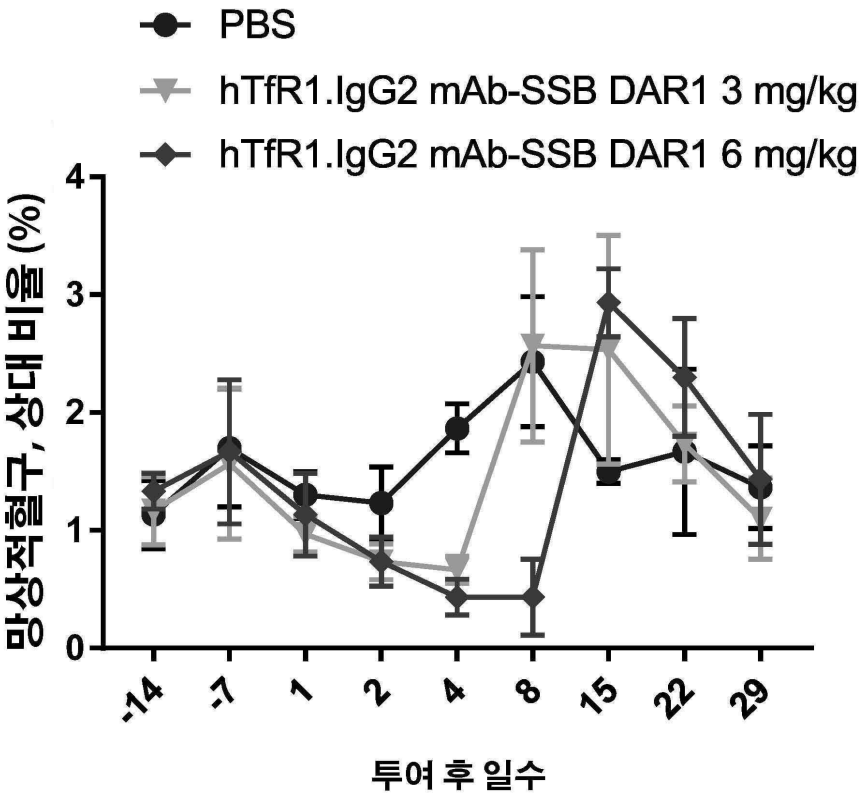
도면5a


비복근
PBS
hTfR1. IgG2 mAb-SSB DAR1 3 mg/kg
hTfR1. IgG2 mAb-SSB DAR1 6 mg/kg
상대 SSB mRNA 레벨
(% 투여 -14일전)
200
100
50
25
6.5 nM siRNA
4.8 nM
1.9 nM
1.2 nM
-7
21
28
투여 후 일수

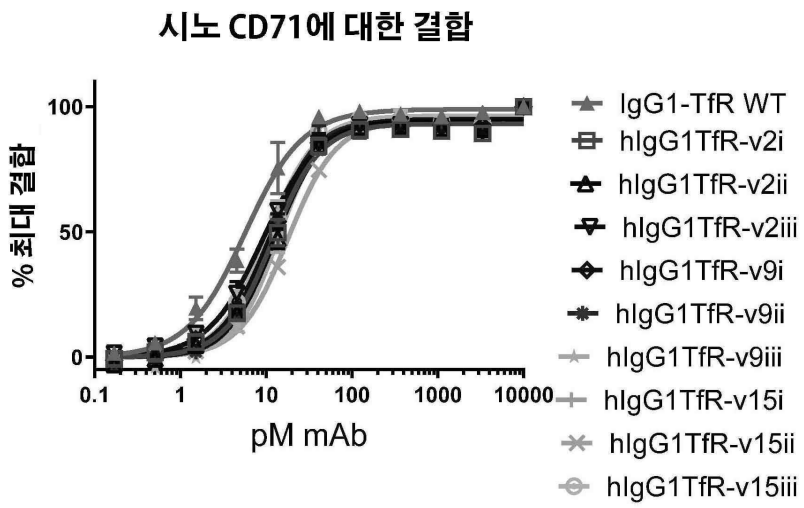
도면5b


대퇴사두근
투여 후 28일째
PBS
hTfR1. IgG2 mAb-SSB DAR1 3 mg/kg
hTfR1. IgG2 mAb-SSB DAR1 6 mg/kg
상대 SSB mRNA 레벨
(% PBS 대조군)
200
100
50
25
12.5
0.6 nM
2.0 nM siRNA

도면6

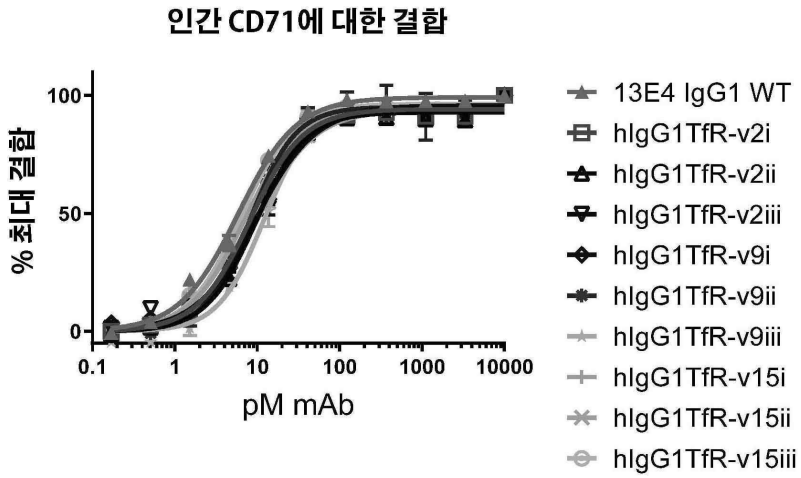

PBS
hTfR1.IgG2 mAb-SSB DAR1 3 mg/kg
hTfR1.IgG2 mAb-SSB DAR1 6 mg/kg
망상적혈구, 상대 비율 (%)
4
3
2
1
0
-14
-7
1
2
4
8
15
22
29
투여 후 일수

도면7



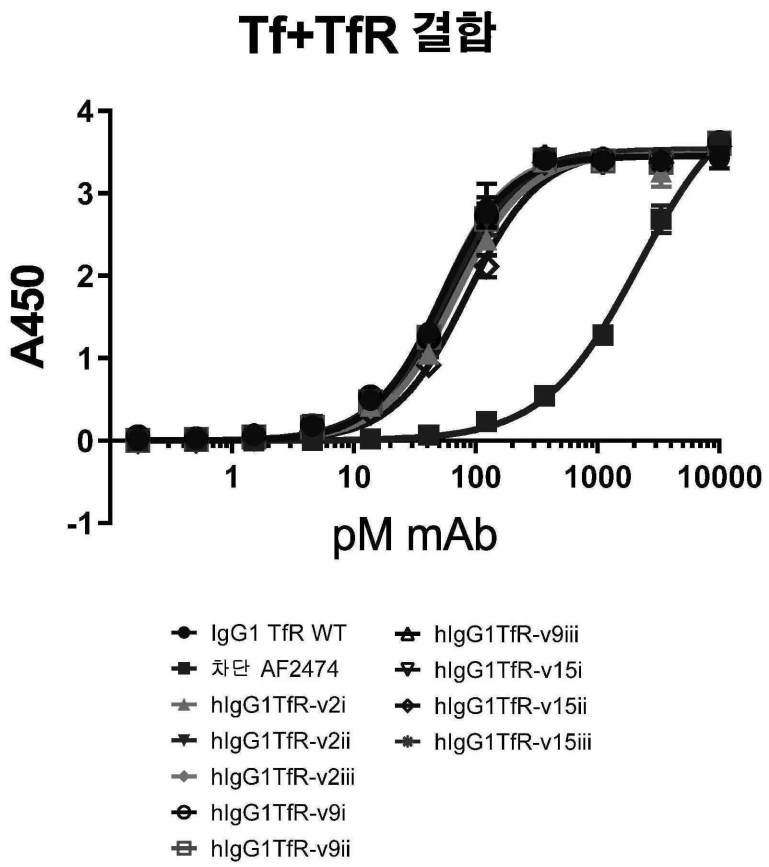
	IgG1-TfR WT	hIgG1TfR-v2i	hIgG1TfR-v2ii	hIgG1TfR-v2iii	hIgG1TfR-v9i
Bmax	99.11	93.14	94.21	94.32	94.96
h	1.339	1.559	1.58	1.349	1.513
Kd	5.819	11.95	12.72	9.2	11.01
	hIgG1TfR-v9ii	hIgG1TfR-v9iii	hIgG1TfR-v15i	hIgG1TfR-v15ii	hIgG1TfR-v15iii
Bmax	94.32	94.02	94.21	94.39	96.37
h	1.743	1.736	1.551	1.535	1.539
Kd	11.37	13.69	12.46	17.95	10.31

도면8



	IgG1-TfR WT	hIgG1TfR-v2i	hIgG1TfR-v2ii	hIgG1TfR-v2iii	hIgG1TfR-v9i
Bmax	98.26	94.18	92.89	95.01	95.74
h	1.181	1.352	1.434	1.202	1.223
Kd	6.196	8.175	9.643	9.578	9.729
	hIgG1TfR-v9ii	hIgG1TfR-v9iii	hIgG1TfR-v15i	hIgG1TfR-v15ii	hIgG1TfR-v15iii
	95.16	93.76	95.31	93.7	96.48
	1.571	1.56	1.291	1.252	1.351
	8.235	11.97	7.127	9.874	6.295

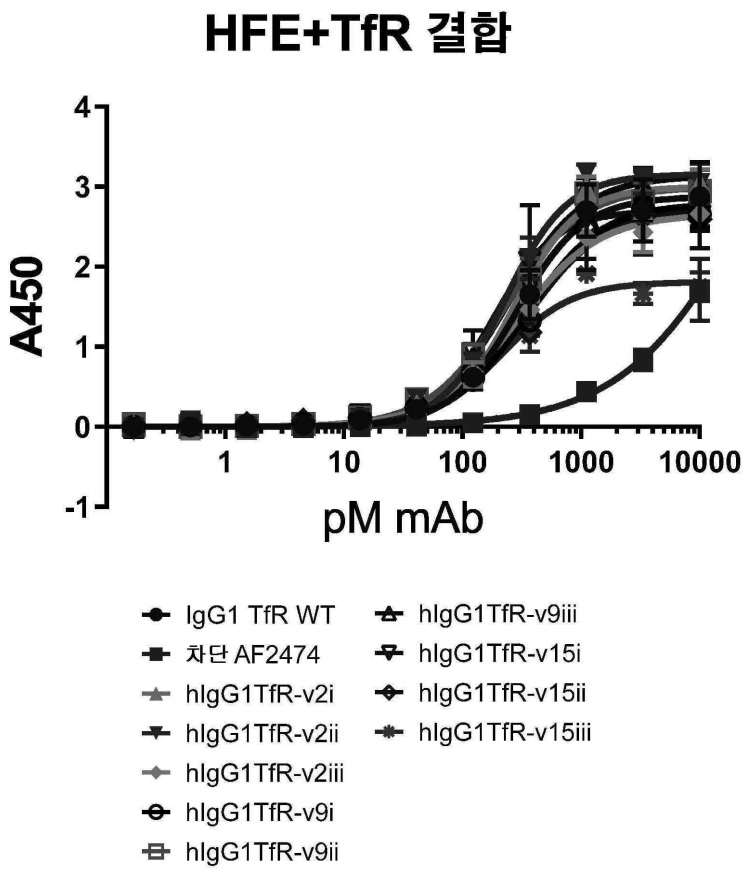
도면9a



도면9b

	IgG1 TfR WT	차단 AF2474	hIgG1TfR-v2i	hIgG1TfR-v2ii	hIgG1TfR-v2iii	hIgG1TfR-v9i
Bmax	3.452	4.258	3.477	3.533	3.474	3.528
h	1.575	1.117	1.487	1.447	1.614	1.451
Kd	51.79	2181	67.76	57.8	52.17	55.95
Kd(Tf+TfR)/Kd(TfR)	3.1	**51.8**	2.8	2.5	2.1	2.2
	hIgG1TfR-v9ii	hIgGTfR-v9iii	hIgG1TfR-v15i	hIgG1TfR-v15ii	hIgG1TfR-v15iii	
Bmax	3.509	3.527	3.473	3.523	3.5	
h	1.481	1.491	1.562	1.456	1.516	
Kd	56.99	54.62	61.87	84.94	60.39	
Kd(Tf+TfR)/Kd(TfR)	2.6	2.5	2.9	2.5	2.4	

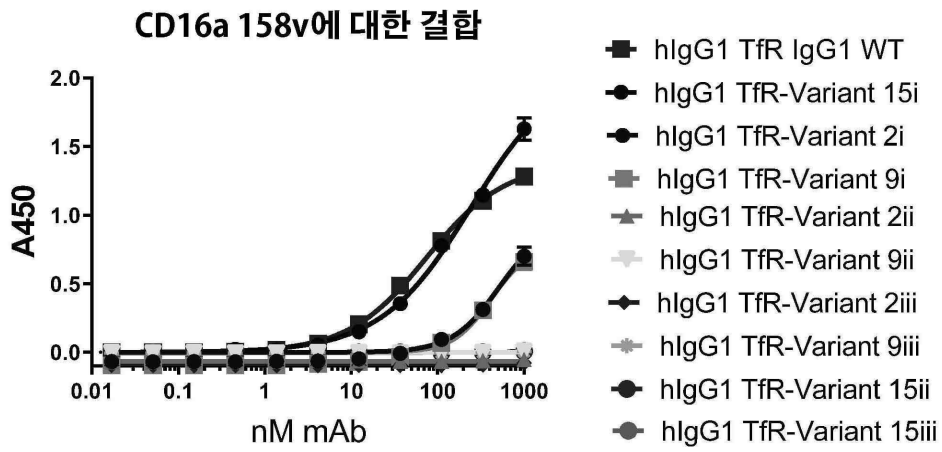
도면10a



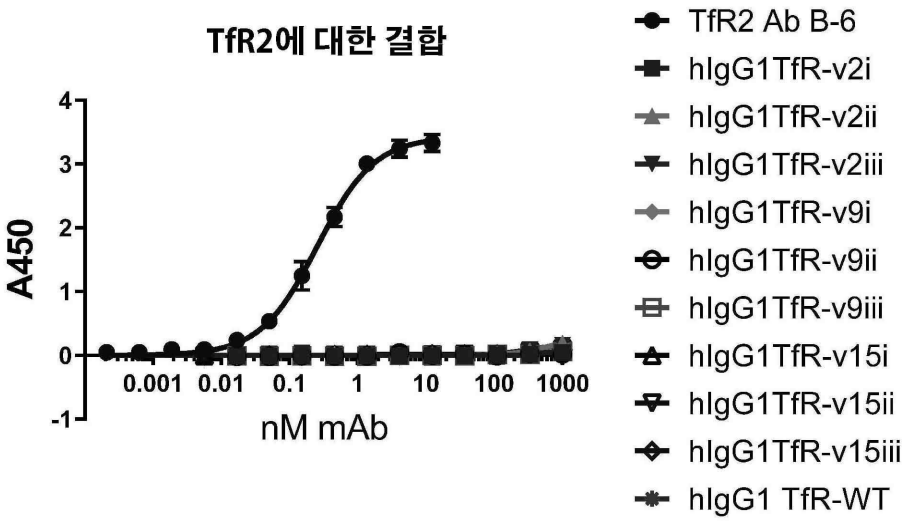
도면10b

HFE+TfR	IgG1 TfR WT	차단 AF2474	hIgG1TfR-v2i	hIgG1TfR-v2ii	hIgG1TfR-v2iii	hIgG1TfR-v9i
Bmax	2.875	5.703	2.999	3.155	2.658	2.789
h	1.544	0.8004	1.627	1.642	1.261	1.368
Kd	286.4	28940	273.2	227	289.2	340.9
Kd(HFE+TfR)/Kd(TfR)	16.9	**687.7**	11.1	9.9	11.9	13.6
	hIgG1TfR-v9ii	hIgGTfR-v9iii	hIgG1TfR-v15i	hIgG1TfR-v15ii	hIgG1TfR-v15iii	
Bmax	2.996	3.136	2.699	2.79	1.811	
h	1.357	1.38	1.653	1.285	1.452	
Kd	229.2	248.2	182.3	346.4	213.5	
Kd(HFE+TfR)/Kd(TfR)	10.4	11.4	8.5	10.2	8.5	

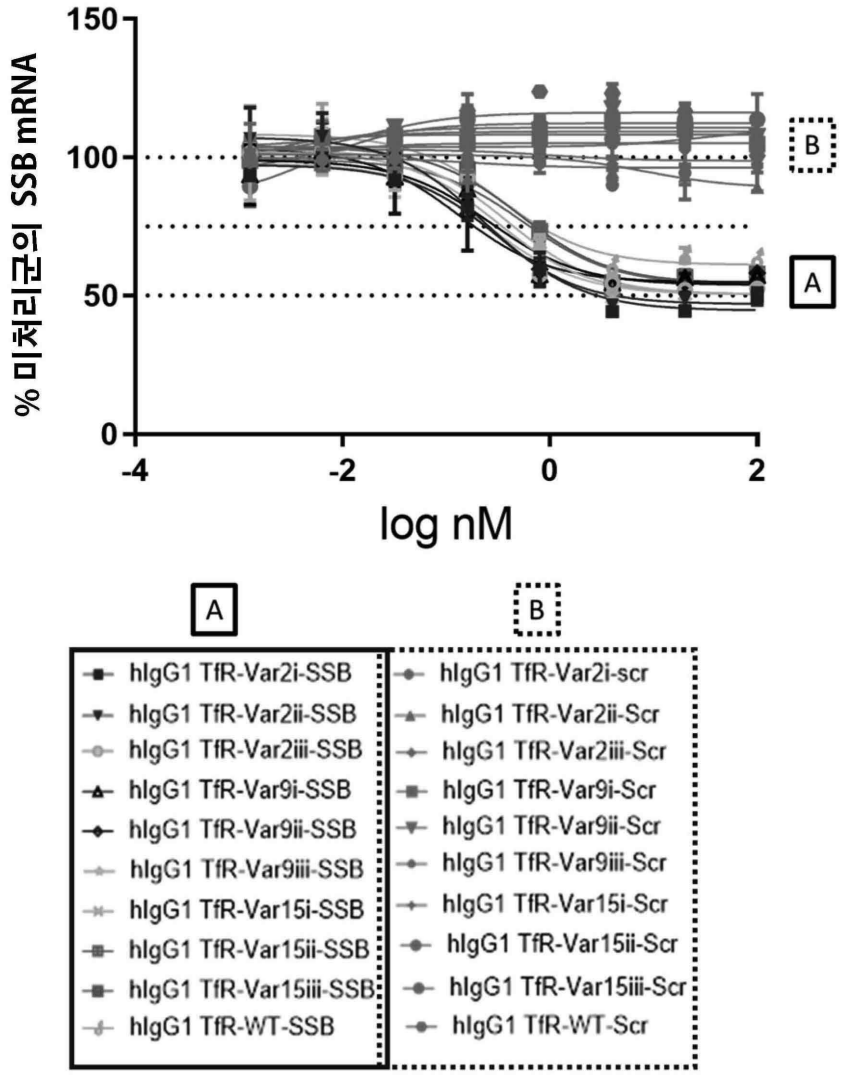
도면11


CD16a 158v에 대한 결합
A450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM mAb
hIgG1 TfR lgG1 WT
hIgG1 TfR-Variant 15i
hIgG1 TfR-Variant 2i
hIgG1 TfR-Variant 9i
hIgG1 TfR-Variant 2ii
hIgG1 TfR-Variant 9ii
hIgG1 TfR-Variant 2iii
hIgG1 TfR-Variant 9iii
hIgG1 TfR-Variant 15ii
hIgG1 TfR-Variant 15iii

도면12


TfR2에 대한 결합
A450
4
3
2
1
0
-1
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM mAb
TfR2 Ab B-6
hIgG1TfR-v2i
hIgG1TfR-v2ii
hIgG1TfR-v2iii
hIgG1TfR-v9i
hIgG1TfR-v9ii
hIgG1TfR-v9iii
hIgG1TfR-v15i
hIgG1TfR-v15ii
hIgG1TfR-v15iii
hIgG1 TfR-WT

도면13a

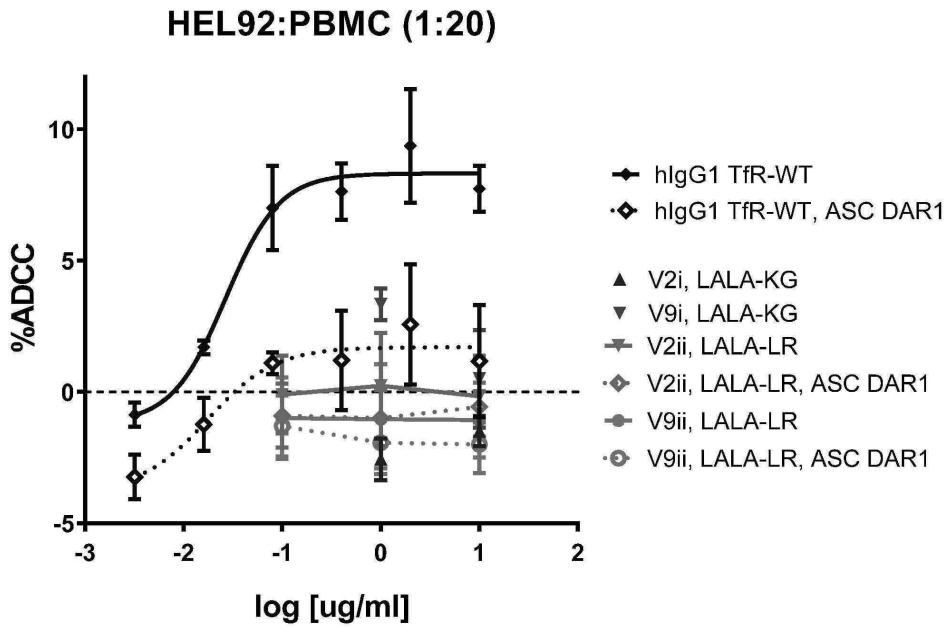


도면13b

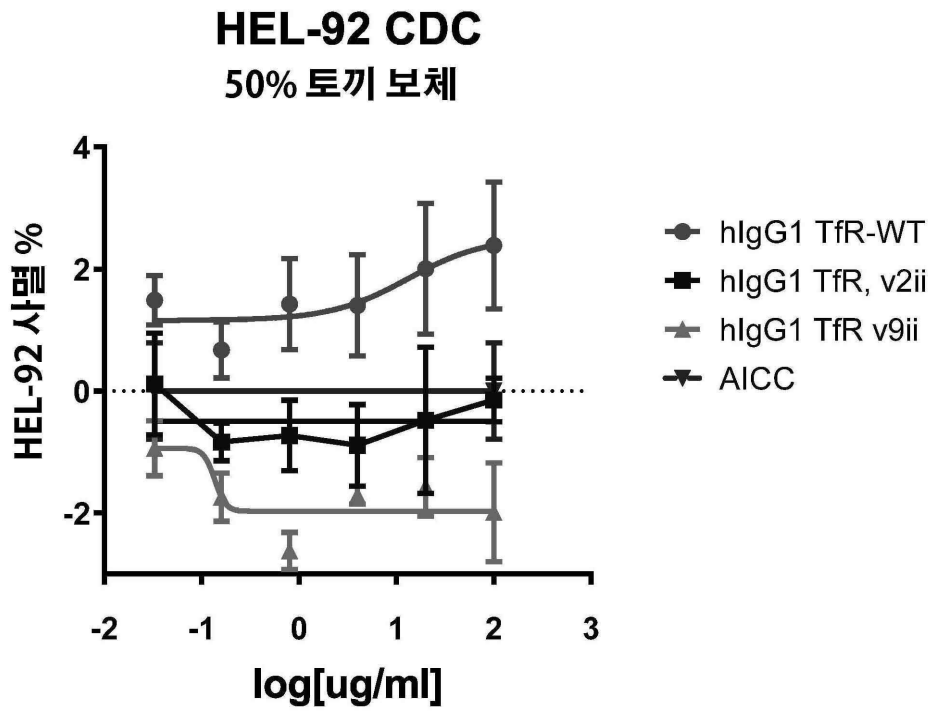
	hIgG1 TfR-Var2i-SSB	hIgG1 TfR-Var2ii-SSB	hIgG1 TfR-Var2iii-SSB	hIgG1 TfR-Var9i-SSB	hIgG1 TfR-Var9ii-SSB
최저	97.38	107.3	102.3	99.1	103.2
최고	44.58	46.89	50.43	53.83	54.82
LogEC50	-0.4851	-0.6479	-0.5046	-0.5777	-0.8734
EC50 (nM)	0.3273	0.225	0.3129	0.2644	0.1338
스팬	-52.8	-60.46	-51.83	-45.26	-48.37
Emax (%KD)	55.42	53.11	49.57	46.17	45.18

	hIgG1 TfR-Var9iii-SSB	hIgG1 TfR-Var15i-SSB	hIgG1 TfR-Var15ii-SSB	hIgG1 TfR-Var15iii-SSB	hIgG1 TfR-WT Chim-SSB
최저	98.01	103	99.32	104	108.4
최고	50.34	50.4	53.94	54.36	61.06
LogEC50	-0.5671	-0.4047	-0.2551	-0.289	-0.4791
EC50 (nM)	0.2709	0.3938	0.5557	0.514	0.3318
스팬	-47.67	-52.59	-45.37	-49.62	-47.38
Emax (%KD)	49.66	49.6	46.06	45.64	38.94

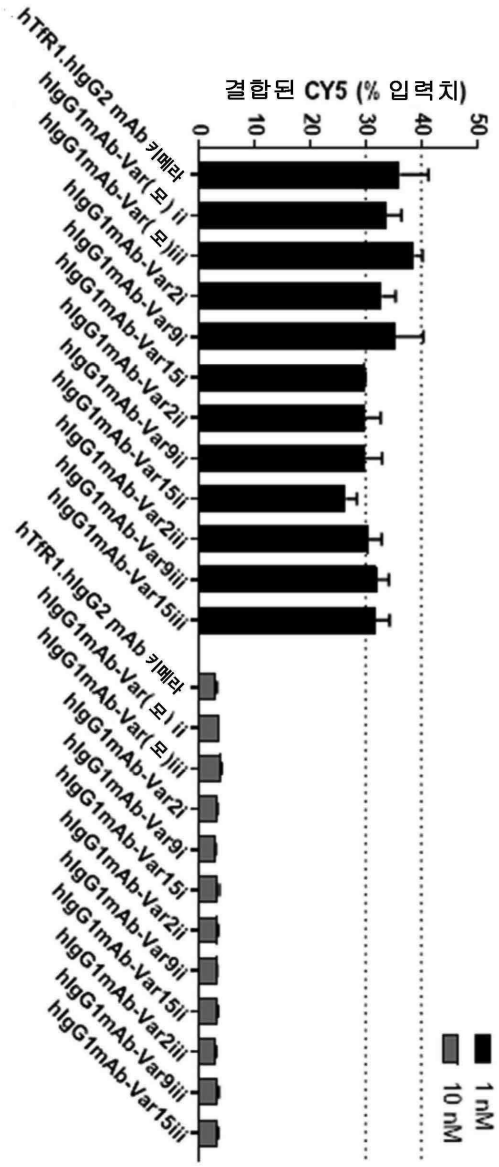
도면14


HEL92:PBMC (1:20)
%ADCC
log [ug/ml]
hIgG1 TfR-WT
hIgG1 TfR-WT, ASC DAR1
V2i, LALA-KG
V9i, LALA-KG
V2ii, LALA-LR
V2ii, LALA-LR, ASC DAR1
V9ii, LALA-LR
V9ii, LALA-LR, ASC DAR1

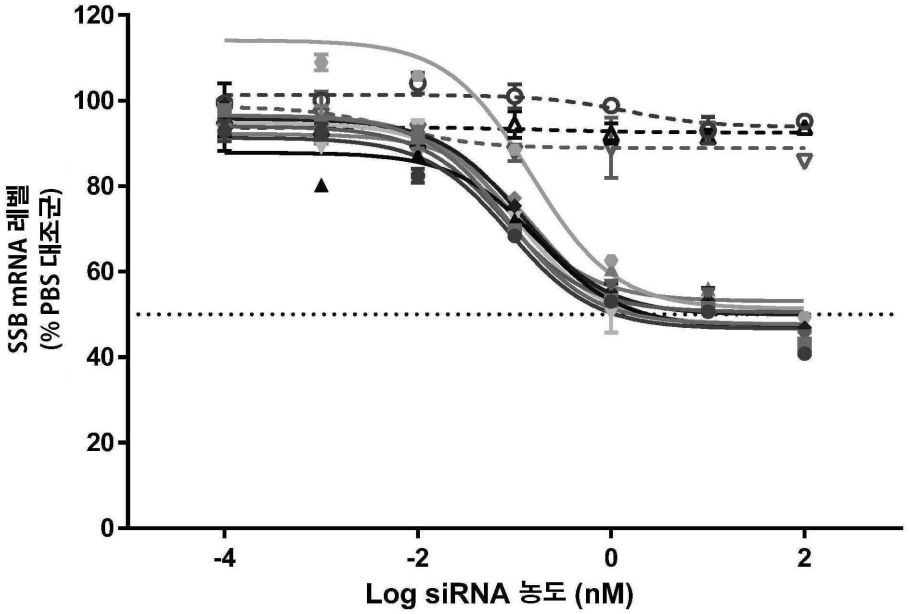
도면15


HEL-92 CDC
50% 토끼 보체
HEL-92 사멸 %
log[ug/ml]
hIgG1 TfR-WT
hIgG1 TfR, v2ii
hIgG1 TfR v9ii
AICC

도면16

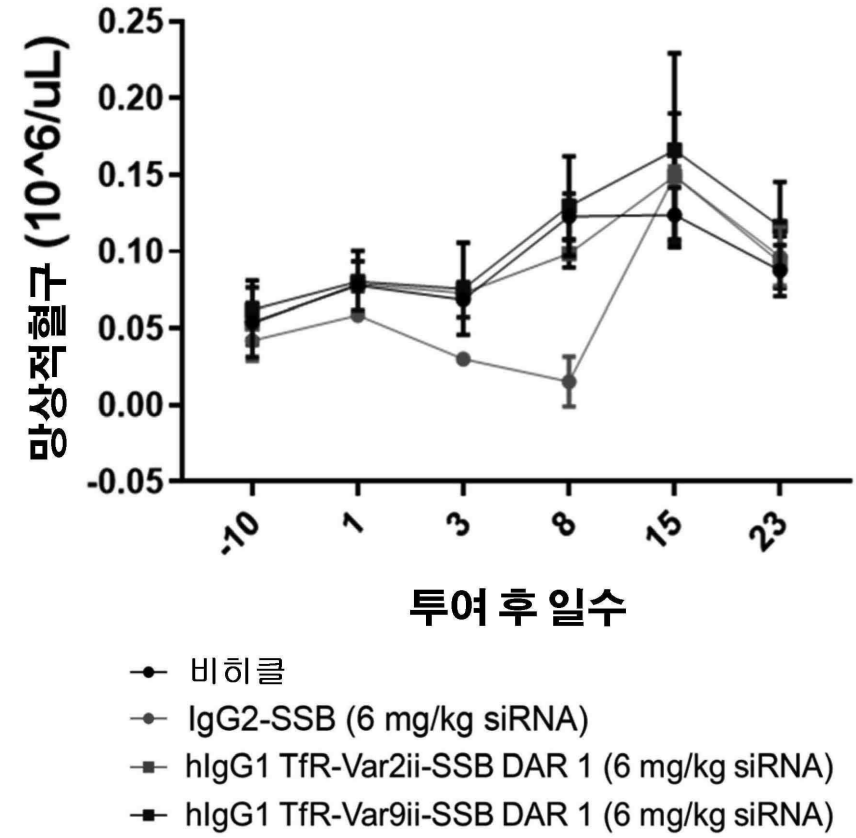

결합된 CY5 (% 입력치)
0
10
20
30
40
50
hTfR1.hIgG2 mAb 키메라
hIgG1mAb-Var(모) ii
hIgG1mAb-Var(모)iii
hIgG1mAb-Var2i
hIgG1mAb-Var9i
hIgG1mAb-Var15i
hIgG1mAb-Var2ii
hIgG1mAb-Var9ii
hIgG1mAb-Var15ii
hIgG1mAb-Var2iii
hIgG1mAb-Var9iii
hIgG1mAb-Var15iii
hTfR1.hIgG2 mAb 키메라
hIgG1mAb-Var(모) ii
hIgG1mAb-Var(모)iii
hIgG1mAb-Var2i
hIgG1mAb-Var9i
hIgG1mAb-Var15i
hIgG1mAb-Var2ii
hIgG1mAb-Var9ii
hIgG1mAb-Var15ii
hIgG1mAb-Var2iii
hIgG1mAb-Var9iii
hIgG1mAb-Var15iii
1 nM
10 nM

도면17

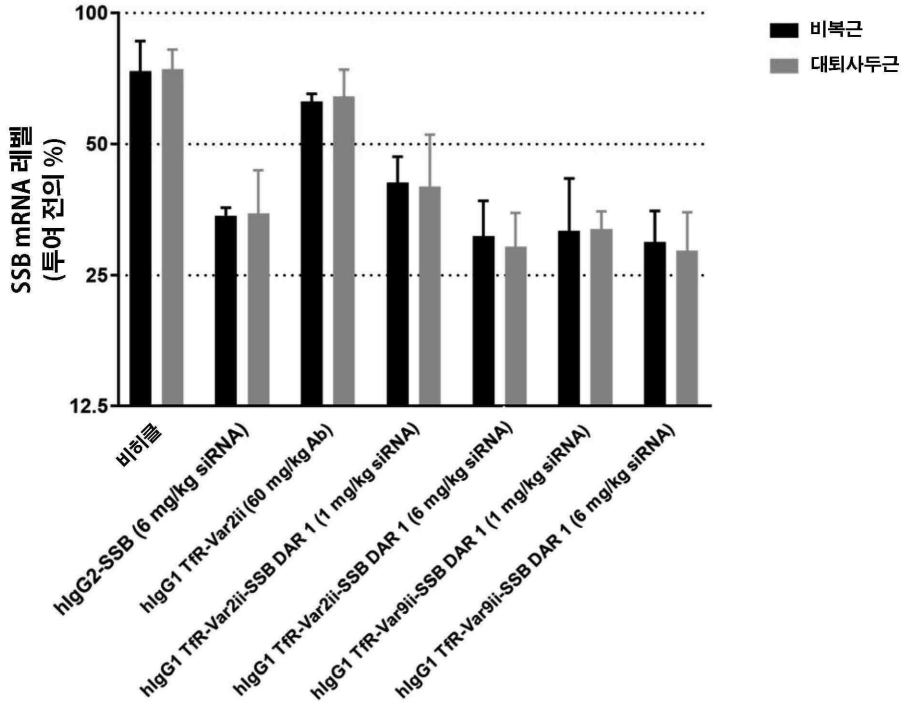


- TfR1.hIgG2 mAb-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var(모)ii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var(모)iii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var2ii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var2iii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var9ii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var9iii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var15ii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var15iii-SSB DAR 1
- TfR1.hIgG2 mAb-스크램블 DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var2ii-스크램블 DAR 1
- TfR1.hIgG1mAb-Var9ii-스크램블 DAR 1

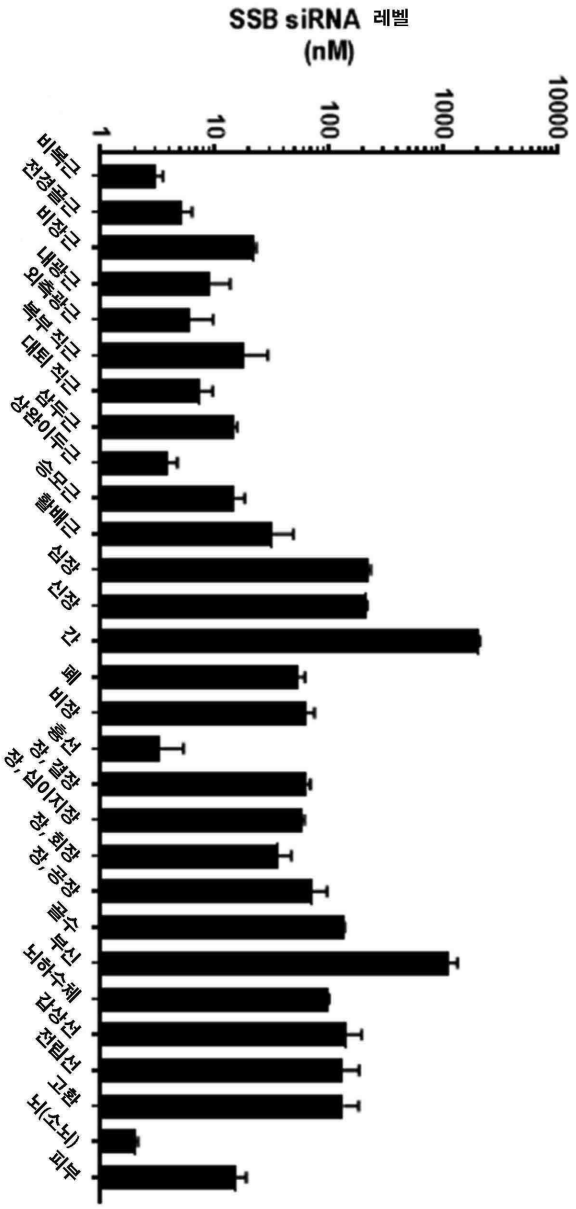
도면18


0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
-0.05
망상적혈구 (10^6/uL)
-10
1
3
8
15
23
투여 후 일수
비히클
IgG2-SSB (6 mg/kg siRNA)
hIgG1 TfR-Var2ii-SSB DAR 1 (6 mg/kg siRNA)
hIgG1 TfR-Var9ii-SSB DAR 1 (6 mg/kg siRNA)

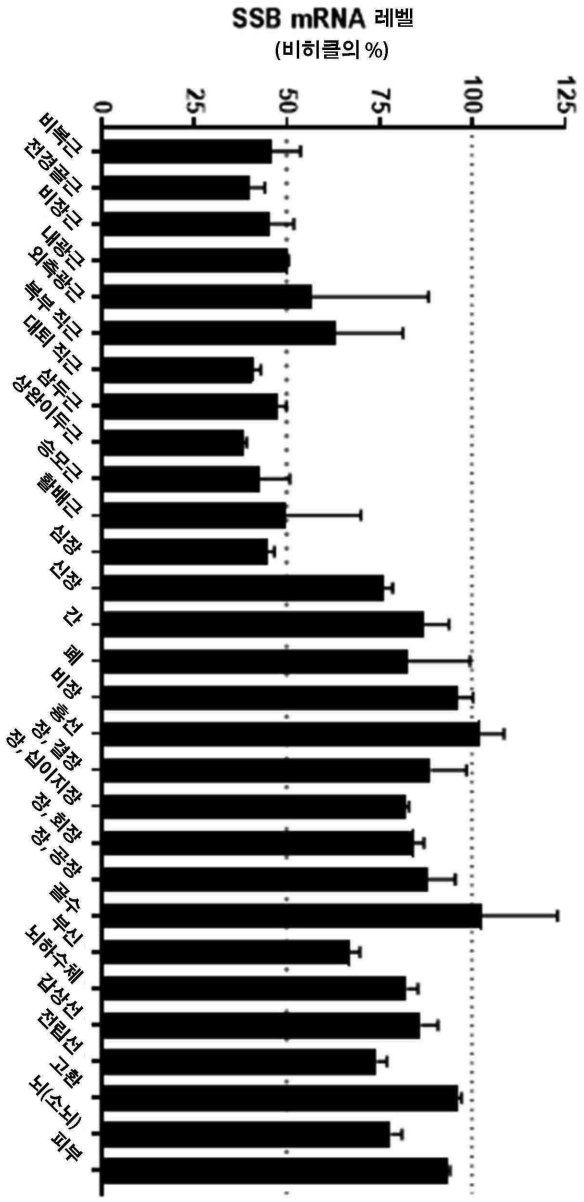
도면19


100
50
25
12.5
SSB mRNA 레벨
(투여 전의 %)
비복근
대퇴사두근
비히클
hIgG2-SSB (6 mg/kg siRNA)
hIgG1 TfR-Var2ii (60 mg/kg Ab)
hIgG1 TfR-Var2ii-SSB DAR 1 (1 mg/kg siRNA)
hIgG1 TfR-Var2ii-SSB DAR 1 (6 mg/kg siRNA)
hIgG1 TfR-Var9ii-SSB DAR 1 (1 mg/kg siRNA)
hIgG1 TfR-Var9ii-SSB DAR 1 (6 mg/kg siRNA)

도면20a


SSB siRNA 레벨
(nM)
1
10
100
1000
10000
비복근
전경골근
비장근
내측광근
외측광근
복부 직근
대퇴 직근
삼두근
상완이두근
승모근
활배근
심장
신장
간
폐
비장
흉선
정, 결장
정, 십이지장
정, 회장
정, 공장
골수
부신
뇌하수체
갑상선
전립선
고환
뇌(소뇌)
피부

도면20b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> AVIDITY BIOSCIENCES, INC.

<120> ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR ANTIBODIES AND USES THEREOF

<130> 45532-731.601

<140> PCT/US2019/068078

<141> 2019-12-20

<150> 62/784,181

<151> 2018-12-21

<160> 92

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 1

Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Trp Met His
1 5

<210> 2

<211> 17

<212
> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 2

Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 3

Gly Thr Arg Ala Met His Tyr
1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 4

Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 5

Glu Ile Asn Pro Ile Gln Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 6

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 7

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 8

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 9

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Glu

1 5

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 10

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 11

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 12

Ala Gly Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 13

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 13

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 14
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 15
<211> 116
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 15

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 16

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 16

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 17

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Gly Glu Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 18

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 Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 19

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 20
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 Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn

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

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 21

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 21

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 Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
20 25 30

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 22

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn
20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 23

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

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

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

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

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 24
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 24
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 25

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 26
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 26
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

```
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Arg Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
            340                 345                 350
```

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 27

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

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

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

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

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 28
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 28
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

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

340 345 350

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

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

<210> 29
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 29
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 30

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 30

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

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

<210> 31

<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 31
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 32
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 32
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Arg Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
<210> 33
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 33
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 34

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 34

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

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

<210> 35

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 35

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

Gly Glu Ile Asn Pro Ile Gln Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 36
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 36
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

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

<210> 37
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 37
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Gly Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 38
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 38
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Ile Gln Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

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

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Arg Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

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

<210> 39

<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 39
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

```
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

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

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

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 40
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 40
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Ile Gln Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

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

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

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

<210> 41
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 41
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

```
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300
```

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 42
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 42
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

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

<210> 43

<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 43
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

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

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Gly Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 44
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 44

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
```

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

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

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

<210> 45
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 45
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
```

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 46
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 46
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

```
        35                  40                  45
Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
```

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

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

<210> 47

<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 47
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 Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

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

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 48
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 48
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 Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 49

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 49

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 Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Asn
20 25 30

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

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

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

<210> 50

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 50

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 51

<211> 24

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

INF7 sequence

<400> 51

Cys Gly Ile Phe Gly Glu Ile Glu Glu Leu Ile Glu Glu Gly Leu Glu

1 5 10 15

Asn Leu Ile Asp Trp Gly Asn Ala

20

<210> 52

<211> 24

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

INF7 sequence

<400> 52

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Glu Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Cys

20

<210> 53

<211> 27

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

INF7 sequence

<400> 53

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Glu Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Trp Asp Tyr Gly Ser Gly Ser Cys Gly

20 25

<210> 54

<211> 23

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

INF7 sequence

<400> 54

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Glu Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly

20

<210> 55

<211> 27

<212> PRT

<213>

Unknown

<220><223> Description of Unknown:

INF7 sequence

<400> 55

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Glu Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Trp Asp Tyr Gly Ser Gly Ser Cys Lys

20 25

<210> 56

<211> 27

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

melittin sequence

<400> 56

Cys Leu Ile Gly Ala Ile Leu Lys Val Leu Ala Thr Gly Leu Pro Thr

1 5 10 15

Leu Ile Ser Trp Ile Lys Asn Lys Arg Lys Gln

20 25

<210> 57

<211> 26

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

melittin sequence

<400> 57

Gly Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr Thr Gly Leu Pro Ala Leu

1 5 10 15

Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln

20 25

<210> 58

<211> 13

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

meucin sequence

<400> 58

Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly Leu Leu Lys Asn Ile Phe

1 5 10

<210> 59

<211> 18

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

meucin sequence

<400> 59

Phe Phe Gly His Leu Phe Lys Leu Ala Thr Lys Ile Ile Pro Ser Leu

1 5 10 15

Phe Gln

<210> 60

<211> 21

<212> PRT

<213> Simian virus 40

<400> 60

Lys Glu Thr Trp Trp Glu Thr Trp Trp Thr Glu Trp Ser Gln Pro Lys

1 5 10 15

Lys Lys Arg Lys Val

20

<210> 61

<211> 19

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

pVEC sequence

<400> 61

Leu Leu Ile Ile Leu Arg Arg Arg Arg Ile Arg Lys Gln Ala His Ala

1 5 10 15

His Ser Lys

<210> 62

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 62

Asp Pro Lys Gly Asp Pro Lys Gly Val Thr Val Thr Val Thr Val Thr

1 5 10 15

Val Thr Gly Lys Gly Asp Pro Lys Pro Asp

20 25

<210> 63

<211> 17

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

C105Y sequence

<400> 63

Cys Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Tyr Leu

1 5 10 15

Ile

<

210> 64

<211> 27

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

Transportan sequence

<400> 64

Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu

1 5 10 15

Lys Ala Leu Ala Ala Leu Ala Lys Lys Ile Leu

20 25

<210> 65

<211> 21

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

TP10 sequence

<400> 65

Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu Lys Ala Leu Ala Ala Leu

1 5 10 15

Ala Lys Lys Ile Leu

20

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 66

Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly
1 5 10 15
Ala

<210> 67

<211> 20

<212> PRT

<213> Herpes simplex virus

<400> 67

His Gly Leu Ala Ser Thr Leu Thr Arg Trp Ala His Tyr Asn Ala Leu

1 5 10 15
Ile Arg Ala Phe
20

<210> 68

<211> 20

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:
CADY sequence

<400> 68

Gly Leu Trp Arg Ala Leu Trp Arg Leu Leu Arg Ser Leu Trp Arg Leu
1 5 10 15
Leu Trp Arg Ala
20

<210> 69

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 69

Trp Glu Ala Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu His
1 5 10 15

Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Glu Ala Leu Ala Ala
20 25 30

<210> 70

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 70

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Glu Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly
1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Cys
20

<210> 71

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 71

Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly
1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly
20

<210> 72

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 72

Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met

20 25 30

Lys Trp Lys Lys

35

<210> 73

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 73

Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Ser Ser Lys Lys Lys Lys

20 25

<210> 74

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 74

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Gly Gly Tyr Cys

20

<210> 75

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 75

Gly Leu Phe His Ala Ile Ala His Phe Ile His Gly Gly Trp His Gly
1 5 10 15

Leu Ile His Gly Trp Tyr Gly
20

<210> 76

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 76

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Glu Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Glu Ala Leu Ala Ala
20 25 30

<210> 77

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 77

Lys Trp Lys Leu Phe Lys Lys Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr
1 5 10 15

Thr Gly Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

20 25

<210> 78

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 78

Gly Gly Phe Gly
1

<210> 79

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 79

Ala Leu Ala Leu
1

<210> 80

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 80

Gly Phe Leu Gly
1

<210> 81

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 81

uuacauuaaa gucuguuguu u 21

<210> 82

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 82

gtcgtatcca gtgcagggtc cgaggtattc gcactggata cgacaaacaa c 51

<210> 83

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 83

ggcggcttac attaaagtct gt 22

<210> 84

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 84

agtgcagggt ccgag 15

<210> 85

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220
><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
probe

<400> 85

tggatacgac aaacaa 16

<210> 86

<211> 461

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 86

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Ile Asn Gly Arg Ser Asn Tyr Gly
65 70 75 80

Glu Arg Phe Lys Thr Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Arg Ala Met His Tyr Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
130 135 140

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
195 200 205

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
225 230 235 240
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
245 250 255
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
260 265 270
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
275 280 285

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

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
420 425 430
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
435 440 445
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 87

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 87

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

Leu Leu Val Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg
65 70 75 80
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser
85 90 95
Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly
100 105 110
Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr
115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
130 135 140
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
195 200 205

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
210 215 220

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 88

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Asn or Gln

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Gln or Glu

<400> 88

Glu Ile Asn Pro Ile Xaa Gly Arg Ser Asn Tyr Ala Xaa Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Asn or Ser

<400> 89

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Xaa Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 90

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Ala or Gly

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Asp or Glu

<400> 90

Ala Xaa Thr Asn Leu Ala Xaa

1 5

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> This residue may or may not be present

<400> 91

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Asp or Glu

<400> 92

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Xaa

1 5