



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0084817
(43) 공개일자 2018년07월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7014634
(22) 출원일자(국제) 2016년10월28일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년05월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/059443
(87) 국제공개번호 WO 2017/075432
국제공개일자 2017년05월04일
(30) 우선권주장
62/248,231 2015년10월29일 미국(US)

(71) 출원인
알렉터 엘엘씨
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코
스위트 300 오이스터 포인트 불러바드 151
(72) 발명자
로첸탈, 아논
미국 94062 캘리포니아주 우드사이드 노르망디 래
인 150
먼로, 케이트
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 불러바드 151 스위트 300 알렉터
엘엘씨 내
이, 승-주
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 불러바드 151 스위트 300 알렉터
엘엘씨 내
(74) 대리인
양영준, 이상남

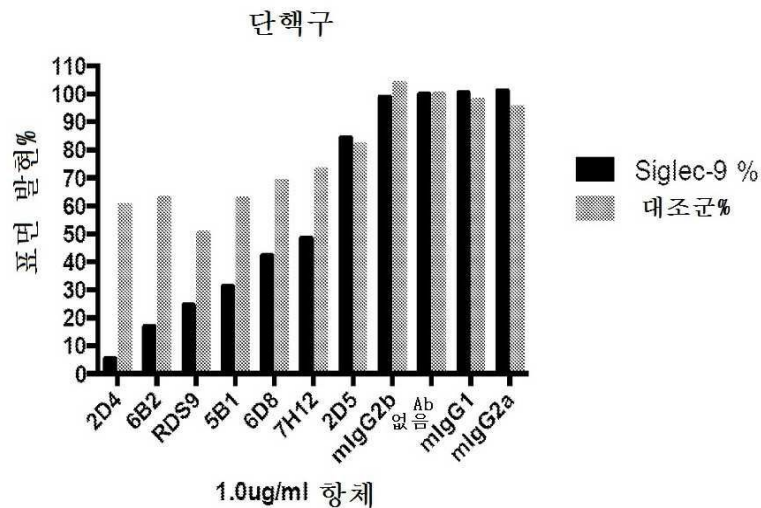
전체 청구항 수 : 총 109 항

(54) 발명의 명칭 항-SIGLEC-9 항체 및 이의 이용 방법

(57) 요약

본 개시내용은 일반적으로 Siglec-9 단백질, 예를 들어, 인간 Siglec-9 또는 포유류 Siglec-9 상에 또는 이들 내의 더 많은 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체, 예를 들어, 단일클론, 키메라, 인간화된 항체, 항체 단편 등을 포함하는 조성물, 및 이들이 필요한 개체에서 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료함에 있어서 이러한 조성물의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도7b



(52) CPC특허분류

C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/30 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/75 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/77 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 상기 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 일 없이 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항체는 추가로 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 4

단리된 단일클론 항-Siglec-9 항체로서, 상기 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키고, Siglec-9의 세포 내 수준을 감소시키며, Siglec-9의 총 수준을 감소시키거나, 또는 이들의 임의의 조합인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 분해, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 shedding, Siglec-9 발현의 하향조절, 또는 이들의 임의의 조합을 유도하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 생체내 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 표면 클러스터링을 저해하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 하나 이상의 Siglec-9 활성을 저해하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 하나 이상의 Siglec-9 활성은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된, 항-Siglec-9 항체:

(a) 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 대한 Siglec-9 결합으로서, 선택적으로 상기 하나 이상의 Siglec-9 리간드는 시알산-함유 당단백질, 시알산-함유 당지질, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된, 상기 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 대한 Siglec-9 결합;

(b) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 증식 감소;

(c) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동 저해;

(d) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 하나 이상의 세포의 한 가지 이상의 작용 저해;

(e) 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 다른 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스, 및 종양 세포 클리어런스로 이루어진 군으로부터 선택된 클리어런스의 한 가지 이상의 유형의 저해 (선택적으로 상기 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅턴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 젤슬린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택된 암으로부터 유래됨);

(f) 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 저해;

(g) 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 증식 활성화의 저해;

(h) 하나 이상의 염증 수용체의 조절된 발현(선택적으로 상기 하나 이상의 염증 수용체는 CD86을 포함하고, 상기 하나 이상의 염증 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨);

(i) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성을 촉진시키거나 또는 구조함;

(j) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 비-종양원성 $CD45^{+}CD14^{+}$ 골수성 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 증가;

(k) 종양에서, 말초 혈액, 또는 다른 림프 기관에서 종양-축진 골수성/과립구 면역-억제 세포 및/또는 비-종양원성 $CD45^{+}CD14^{+}$ 골수성 세포 수의 증가;

(l) 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 $CD45^{+}CD14^{+}$ 골수성 세포의 종양-축진 활성화의 향상;

- (m) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 $CD45^{+}CD14^{+}$ 골수성 세포의 생존의 향상;
- (n) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소;
- (o) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소;
- (p) 종양 용적의 증가;
- (q) 종양 성장 속도의 증가; 및
- (r) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역요법(선택적으로 상기 한 가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역-요법임), 또는 하나 이상의 암 백신의 효능 감소.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타내는, 항-Siglec-9 항체:

- (a) 종양 침윤성 $CD3^{+}$ T 세포 수의 증가;
- (b) 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포 내 $CD33$ 의 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함);
- (c) 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함);
- (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(myeloid-derived suppressor cell: MDSC)임);
- (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (h) 하나 이상의 세포에서 $CD200R$ 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (i) 하나 이상의 세포에서 $CD163$ 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (j) 하나 이상의 세포에서 $CD206$ 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소;
- (l) 종양 용적의 감소;
- (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가;
- (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아데노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함);
- (o) 1종 이상의 화학치료제 효능의 증가(선택적으로 상기 1종 이상의 상기 화학치료제는 에컨대 겐시타빈, 카페

시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(Adriamycin)(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(Ellence)(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(Taxol)(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(Taxotere)(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이톡산(Cytosan)(등록상표)), 및/또는 카보플라틴(파라플라틴(Paraplatin)(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합물임);

(p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가;

(q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해); 및

(r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 CD33-발현 면역억제자 비-종양원성 골수성 세포 및/또는 비-종양원성 CD14-발현 세포의 사멸.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 Siglec-9 리간드는 적혈구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 박테리아 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 세포자멸사 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 신경 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 신경교 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 미세아교세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 정상세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 바이러스 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 수지상 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 베타 아밀로이드 플라크 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 타우 단백질 엉킴(Tau tangles)에 결합된 Siglec-9 리간드, 질환-원인 단백질 상의 Siglec-9 리간드, 질환-원인 펩타이드 상의 Siglec-9 리간드, 대식세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 호중구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 자연 살해 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 단핵구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, T 헬퍼 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 세포독성 T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, B 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 대식세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 골수-유래 억제자 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 조절 T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 분비된 뮤신, 시알산, 시알산-함유 당지질, 시알산-함유 당단백질, 알파-2,8-다이스이알릴 함유 당지질, 분지된 알파-2,6-연결 시알산-함유 당단백질, 말단의 알파-2,6-연결 시알산-함유 당지질, 말단의 알파-2,3-연결 시알산-함유 당단백질 및 다이스이알로글리코사이드로부터 선택되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, Siglec-9의 상기 세포 수준은 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포, 호중구 및 NK 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 1차 세포 상에서 또는 세포주 상에서 측정되되, Siglec-9의 상기 세포 수준은 시험관내 세포 분석을 이용하여 측정되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 TREM2 발현을 감소시키지 않는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 불연속 Siglec-9 에피토프에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 불연속 Siglec-9 에피토프는 2개 이상의 펩타이드, 3개 이상의 펩타이드, 4개 이상의 펩타이드, 5개 이상의 펩타이드, 6개 이상의 펩타이드, 7개 이상의 펩타이드, 8개 이상의 펩타이드, 9개 이상의 펩타이드 또는 10개 이상의 펩타이드를 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 17

제16항에 있어서, 각각의 펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 서열의 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 또는 20개 이상의 아미노산 잔기; 또는 서열번호 1의 아미노산 서열에 대응하는 포유류

Siglec-9 단백질 상의 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 또는 20개 이상의 아미노산 잔기를 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 18

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 입체배좌적 에피토프에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 19

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347 내의; 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 20

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는, 항-Siglec-9 항체:

- i. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- ii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- iii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- iv. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- v. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- vi. 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- vii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; 및
- viii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기.

청구항 21

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-7 단백질 상의 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9에 대한 결합에 대해 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 항체와 경쟁하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함

하고, 상기 경쇄 가변 도메인, 상기 중쇄 가변 도메인, 또는 둘 다는: 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 단일클론 항체의 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 24

제23항에 있어서,

- (a) 상기 HVR-L1은 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (b) 상기 HVR-L2는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (c) 상기 HVR-L3은 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (d) 상기 HVR-H1은 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (e) 상기 HVR-H2는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (f) 상기 HVR-H3은 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서,

- (a) 상기 HVR-L1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (b) 상기 HVR-L1은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (c) 상기 HVR-L1은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (d) 상기 HVR-L1은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (e) 상기 HVR-L1은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (f) 상기 HVR-L1은 서열번호 172의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 174의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 176의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 178의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 180의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(g) 상기 HVR-L1은 서열번호 173의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 175의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 177의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 179의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 183의 아미노산 서열을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 26

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되, 상기 경쇄 가변 도메인은:

(a) 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; 및

(b) 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및

(c) 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고

상기 중쇄 가변 도메인은:

(a) 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1;

(b) 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및

(c) 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 27

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 서열번호 61-115 및 197-204로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및/또는 서열번호 116-170 및 205-212로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 28

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되,

(a) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(b) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(c) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(d) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(e) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호

160의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(f) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 197의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 205의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(g) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 201의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 210의 아미노산 서열을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 29

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 항-Siglec-9 항체는 : 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 경쇄 가변 도메인; 및/또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 30

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347 내의; 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는, 단리된 항-Siglec-9 항체.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는, 항-Siglec-9 항체

- i. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- ii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- iii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- iv. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- v. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- vi. 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기;
- vii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; 및
- viii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기.

청구항 32

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 상기 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-7 단백질 상의 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합하는, 단리된 항-Siglec-9 항체.

청구항 33

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 상기 경

쇄 가변 도메인, 상기 중쇄 가변 도메인, 또는 둘 다는: 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 단일클론 항체의 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 34

제33항에 있어서,

- (a) 상기 HVR-L1은 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (b) 상기 HVR-L2는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (c) 상기 HVR-L3은 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (d) 상기 HVR-H1은 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (e) 상기 HVR-H2는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (f) 상기 HVR-H3은 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 35

제33항 또는 제34항에 있어서,

- (a) 상기 HVR-L1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (b) 상기 HVR-L1은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (c) 상기 HVR-L1은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (d) 상기 HVR-L1은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (e) 상기 HVR-L1은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-L3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (f) 상기 HVR-L1은 서열번호 172의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 174의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 176의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 178의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 180의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(g) 상기 HVR-L1은 서열번호 173의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-L2는 서열번호 175의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 177의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H1은 서열번호 179의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 HVR-H2는 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HVR-H3은 서열번호 183의 아미노산 서열을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 36

제33항에 있어서, 상기 경쇄 가변 도메인은:

- (a) 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; 및
- (b) 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및
- (c) 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고; 그리고

상기 중쇄 가변 도메인은:

- (a) 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1;
- (b) 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및
- (c) 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 37

단리된 단일클론 항-Siglec-9 항체로서, 상기 항-Siglec-9 항체는 서열번호 61-115 및 197-204로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및/또는 서열번호 116-170 및 205-212로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되,

- (a) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (b) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (c) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (d) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (e) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 160의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (f) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 197의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호

205의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(g) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 201의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 210의 아미노산 서열을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 39

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 상기 항-Siglec-9 항체는 : 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 경쇄 가변 도메인; 및/또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 단리된 항-Siglec-9 항체.

청구항 40

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9에 대한 결합에 대해 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 77C2 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 항체와 경쟁하는, 단리된 항-Siglec-9 항체.

청구항 41

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체와 동일한 Siglec-9 에피토프에 본질적으로 결합하는, 단리된 항-Siglec-9 항체.

청구항 42

단리된 항-Siglec-9 항체로서, 상기 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되, 상기 경쇄 가변 도메인은:

(a) 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; 및

(b) 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및

(c) 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고; 그리고

상기 중쇄 가변 도메인은:

(a) 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; 및

(b) 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및

(c) 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG 부류, IgM 부류 또는 IgA 부류인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 아이소타입을 갖는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 항체는 저해 Fc 수용체에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 저해 Fc 수용체는 저해 Fc-감마 수용체 IIB (Fc γ IIb), 항-Siglec-9 항체.

청구항 47

제46항에 있어서,

(a) 항-Siglec-9 항체는 인간 또는 마우스 IgG1 아이소타입을 가지며, N297A, D265A, D270A, L234A, L235A, G237A, P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R, C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E, P331S, S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T, T256E, N297Q, P238S, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, T394D, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나, 또는 글리신 236에 대응하는 위치에서 상기 Fc 영역에서의 아미노산 결실을 포함하거나;

(b) 상기 항-Siglec-9 항체는 IgG1 아이소타입을 가지고, IgG2 아이소타입 중쇄 불변 도메인 1(CH1) 및 힌지 영역을 포함하되, 선택적으로 상기 IgG2 아이소타입 CH1 및 힌지 영역은 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVRKCCVECPPCP(서열번호 171)의 아미노산 서열을 포함하며, 선택적으로 상기 항체 Fc 영역은 S267E 아미노산 치환, L328F 아미노산 치환, 또는 둘 다, 및/또는 N297A 또는 N297Q 아미노산 치환을 포함하고, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나;

(c) 항-Siglec-9 항체는 IgG2 아이소타입을 가지며, P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, V309L, A330S, P331S, C214S, C232S, C233S, S267E, L328F, M252Y, S254T, T256E, H268E, N297A, N297Q, A330L 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 잔기 위치에서 Fc 영역에서의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나;

(d) 상기 항-Siglec-9 항체는 인간 또는 마우스 IgG4 아이소타입을 가지고, L235A, G237A, S228P, L236E, S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T, T256E, E233P, F234V, L234A/F234A, S228P, S241P, L248E, T394D, N297A, N297Q, L235E, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나; 또는

(e) 상기 항-Siglec-9 항체는 혼성체 IgG2/4 아이소타입을 가지고, 선택적으로 상기 항체는 인간 IgG2의 아미노산 118 내지 260 및 인간 IgG4의 아미노산 261 내지 447을 포함하는 아미노산 서열을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 48

제44항에 있어서,

(a) 상기 항-Siglec-9 항체는 인간 또는 마우스 IgG1 아이소타입을 가지며, N297A, N297Q, D270A, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, M252Y, S254T, T256E, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나;

(b) 상기 항-Siglec-9 항체는 IgG2 아이소타입을 가지며, P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나; 또는

(c) 상기 항-Siglec-9 항체는 IgG4 아이소타입을 가지며, E233P, F234V, L234A/F234A, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은

EU 넘버링에 따르는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 49

제48항에 있어서,

- (a) 상기 Fc 영역은 A330L, L234F; L235E, P331S, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에서 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환을 더 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나;
- (b) 상기 Fc 영역은 M252Y, S254T, T256E 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에서 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환을 더 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르거나; 또는
- (c) 상기 Fc 영역은 EU 넘버링에 따른 S228P 아미노산 치환을 추가로 포함하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 50

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG4 아이소타입을 갖는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 잔기 위치 228에서 S228P 아미노산 치환, 잔기 위치 234에서 F234A 아미노산 치환, 및 잔기 위치 235에서 L235A 아미노산 치환을 포함하되, 잔기 위치의 넘버링은 EU 넘버링에 따르는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Siglec-9 단백질은 포유류 단백질 또는 인간 단백질인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Siglec-9 단백질은 야생형 단백질인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 54

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Siglec-9 단백질은 천연 유래 변이체인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Siglec-9 단백질은 인간 수지상 세포, 인간 대식세포, 인간 호중구, 인간 NK 세포, 인간 단핵구, 인간 파골세포, 인간 T 세포, 인간 T 헬퍼 세포, 인간 세포독성 T 세포, 인간 과립구 및 인간 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포 상에서 발현되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 포유류 Siglec-9 단백질, 인간 Siglec-9 단백질, 또는 둘 다에 특이적으로 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 pH 의존적 방식으로 Siglec-9에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 5.5 내지 8.0 범위의 pH에서 Siglec-9에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 59

제57항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 5.0 미만의 pH에서 Siglec-9에 결합하는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 60

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9 또는 포유류 Siglec-9 단백질 상에서 아미노산 잔기를 포함하는 에피토프에 결합하는 항체 단편인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 61

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9, 인간 Siglec-9의 천연 유래 변이체, 및 인간 Siglec-9의 질환 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 인간 단백질에 결합하는 항체 단편인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 62

제60항 또는 제61항에 있어서, 상기 항체 단편은 인간 Siglec-9, 인간 Siglec-9의 천연 유래 변이체, 및 인간 Siglec-9의 질환 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 인간 단백질에 결합하는 제2 항체 단편에 가교되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 63

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 또는 scFv 단편인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 64

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 무린 항체인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 65

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 인간화된 항체, 이중 특이성 항체, 단일 클론 항체, 다가 항체, 접합된 항체, 또는 키메라 항체인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 66

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 제1 항원 및 제2 항원을 인식하는 이중특 이성 항체인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 제1 항원은 Siglec-9이고, 상기 제2 항원은 하기 (a) 내지 (e)인, 항-Siglec-9 항체:

(a) 상기 혈액-뇌-장벽을 가로지르는 수송을 용이하게 하는 항원;

(b) 트랜스페린 수용체(TR), 인슐린 수용체(HIR), 인슐린-유사 성장 인자 수용체(IGFR), 저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 1 및 2(LPR-1 및 2), 디프테리아 독소 수용체, CRM197, 라마 단일 도메인 항체, TMEM 30(A), 단백질 형질도입 도메인, TAT, Syn-B, 페너트라틴, 폴리-알기닌 펩타이드, 안지오젠 펩타이드 및 ANG1005로 이루어진 군으로부터 선택된 혈액-뇌 장벽을 가로지르는 수송을 용이하게 하는 항원;

(c) 질환-원인 펩타이드 또는 단백질 또는 질환-원인 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환-원인 제제(상기 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 상기 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈파옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔솔린, 케라토포에티린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택됨); 및

(d) 면역 세포 상에서 발현된 리간드 및/또는 단백질(상기 리간드 및/또는 단백질은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73 및 포스파티딜세린으로 이루어진 군으로부터 선택됨); 및

(e) 하나 이상의 종양 세포 상에서 발현된 단백질, 지질, 다당류, 또는 당지질.

청구항 68

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 접합된 항체인, 항-Siglec-9 항체.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 검출 가능한 마커, 독소, 또는 치료제에 접합되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 리신, 리신 A-쇄, 독소루비신, 다우노루비신, 메이탄시노이드, 탁솔, 브롬화에티뎀, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 다이하이드록시 안트라신 다이온, 악티노마이신, 디프테리아 독소, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소(PE) A, PE40, 아브린, 아브린 A-쇄, 모테신 A-쇄, 알파-사르신, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 쿠리신, 크로틴, 칼리키아마이신, 사포나리아 오피치날리스(*Saponaria officinalis*) 저해제, 글루코코르티코이드, 아우리스타틴, 아우로마이신, 이트름, 비스무스, 콤프레스타틴, 듀오카르마이신, 돌라스타틴, cc1065 및 시스플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택된 독소에 접합되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔술린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴, 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환-원인 단백질에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체와 조합하여; 또는 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73, TREM1, TREM2, CD33, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-11, 포스파티딜세린, 질환-원인 핵산, 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 면역조절 단백질에 결합하는 하나 이상의 항체와 조합하여 사용되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 72

제1항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 약 10nM 내지 약 10pM, 또는 10pM 미만의 범위의 인간 Siglec-9 및 포유류 Siglec-9에 대한 해리 상수(K_D)를 갖되, 상기 K_D 는 대략 25°C의 온도에서 결정되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 73

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 약 9nM 내지 약 230pM, 또는 230pM 미만의 범위의 인간 Siglec-9에 대한 해리 상수(K_D)를 갖되, 상기 K_D 는 대략 25°C의 온도에서 결정되는, 항-Siglec-9 항체.

청구항 74

제1항 내지 제73항 중 어느 한 항의 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 핵산을 포함하는 단리된 핵산.

청구항 75

제74항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 76

제75항의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 77

항-Siglec-9 항체의 생성 방법으로서, 상기 항-Siglec-9 항체가 생성되도록, 제76항의 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함하는, 생성 방법.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 숙주 세포에 의해 생성된 상기 항-Siglec-9 항체를 회수하는 단계를 더 포함하는, 생성 방법.

청구항 79

제77항 또는 제78항의 방법에 의해 생성된 단리된 항-Siglec-7 항체.

청구항 80

제1항 내지 제73항 중 어느 한 항의 항-Siglec-9 항체 및 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 81

치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 타우병증, 감염, 및 암으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상의 예방, 위험 감소 또는 치료가 필요한 개체에게 치료적 유효량의 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 이들 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료하는 방법.

청구항 82

제81항에 있어서, 상기 질환, 장애 또는 손상은 암이되, 상기 제제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 Siglec-9 활성을 저해하는, 방법:

(a) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 억제자 호중구, 종양-관련 억제자 NK 세포, 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 증식, 성숙, 이동, 분화, 및/또는 작용성의 촉진;

(b) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 억제자 호중구, 종양-관련 억제자 NK 세포, 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤의 향상;

(c) 종양에서, 말초 혈액, 또는 다른 림프 기관에서 종양-촉진성 골수/과립구 면역-억제 세포 및/또는 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 증가;

(d) 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 종양-촉진 활성의 향상) 및/또는 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포;

(e) 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-촉진 사이토카인의 발현을 증가시키되, 선택적으로 상기 종양-촉진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10인, 종양-촉진 사이토카인의 발현의 증가;

- (f) 종양-촉진 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤의 증가;
- (g) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소;
- (h) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소;
- (i) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소;
- (j) NK 세포의 종양 사멸 잠재력 감소;
- (k) 면역반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 감소;
- (l) 종양 용적의 증가;
- (m) 종양 성장 속도의 증가;
- (n) 전이 증가;
- (o) 종양 재발 속도의 증가;
- (p) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역요법(선택적으로 상기 한 가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역-요법임), 또는 하나 이상의 암 백신의 효능 감소;
- (q) PLC γ /PKC/칼슘 가동의 저해; 및
- (r) PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해.

청구항 83

제81항에 있어서, 상기 질환, 장애 또는 손상은 암이되, 상기 제제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 Siglec-9 활성을 나타내는, 방법:

- (a) 종양 침윤성 CD3⁺ T 세포 수의 증가;
- (b) 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포 내 CD33의 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함);
- (c) 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함);
- (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);
- (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제

자 세포(MDSC)임);

(k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소;

(l) 종양 용적의 감소;

(m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가;

(n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아데노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함);

(o) 1종 이상의 화학치료제 효능의 증가(선택적으로 상기 1종 이상의 상기 화학치료제는 예컨대 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(Adriamycin)(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(Ellence)(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(Taxol)(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(Taxotere)(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이토산(Cytoxan)(등록상표)), 및/또는 카보플라틴(파라플라틴(Paraplatin)(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합물임);

(p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가;

(q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해); 및

(r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 CD33-발현 면역억제자 골수성 세포 및/또는 CD14-발현 세포의 사멸.

청구항 84

제82항 또는 제83항에 있어서, 상기 암은 Siglec-9 또는 하나 이상의 Siglec-9 리간드를 발현시키는, 방법.

청구항 85

제81항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다발성 골수종으로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 86

하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식이 필요한 개체에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하거나 또는 촉진시키는 방법.

청구항 87

제86항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역 세포는 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 미세아교세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 88

제81항 또는 제87항에 있어서, 상기 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질 및 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 89

제81항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제는 단리된 항-Siglec-9 항체인, 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 제1항 내지 제73항 중 어느 한 항의 항-Siglec-9 항체인, 방법.

청구항 91

조절 T 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 골수성-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포, 또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포의 활성화, 작용성 또는 생존의 감소가 필요한 개체에서, 상기 개체에게 Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 이러한 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키는 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 제제는 단리된 항-Siglec-9 항체 또는 항-Siglec-9 항체 접합체인, 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키는 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 제1항 내지 제73항 중 어느 한 항의 항-Siglec-9 항체인, 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키는 방법.

청구항 94

하나 이상의 세포 상에서 Siglec-9의 세포 수준의 감소가 필요한 개체에서, 상기 개체에게 치료적 유효량의 단리된 항-Siglec-9 항체를 투여하는 단계를 포함하는, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는 방법.

청구항 95

제94항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 생체내 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 96

제94항 또는 제95항에 있어서, 상기 항-Siglec-9 항체는 제1항 내지 제73항 중 어느 한 항의 항-Siglec-9 항체인, 방법.

청구항 97

제81항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 개체에게 저해 관문 모듈, 및/또는 한 가지 이상의 표준 또는 연구 항암 요법에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 98

제97항에 있어서, 상기 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 상기 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여되는, 방법.

청구항 99

제97항 또는 제98항에 있어서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 상기 적어도 하나의 항체는 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-PD-L2 항체, 항-PD-1 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 및 항-HVEM 항체, 항-B- 및 T-림프구 감쇠기(BTLA) 항체, 항-살해 저해 수용체(KIR) 항체, 항-GAL9 항체, 항-TIM-1 항체, 항-TIM3 항체, 항-TIM-4 항체, 항-A2AR 항체, 항-CD39 항체, 항-CD73 항체, 항-LAG-3 항체, 항-포스포티딜세린 항체, 항-CD27 항체, 항-CD30 항체, 항-TNFα 항체, 항-CD33 항체, 항-Siglec-5 항체, 항-Siglec-7 항체, 항-Siglec-11 항체, 길항제 항-TREM1 항체, 길항제 항-TREM2 항체, 항-TIGIT 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD2 항체, 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 100

제97항에 있어서, 상기 한 가지 이상의 표준 또는 연구 항암 요법은 방사선요법, 세포독성 화학요법, 표적화된 요법, 이마티닙 요법, 트라스투주맙 요법, 에타너셉트 요법, 입양 세포 전달(ACT) 요법, 키메라 항원 수용체 T 세포 전달(CAR-T) 요법, 백신 요법, 및 사이토카인 요법으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 101

제81항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체에게 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 1종의 항체를 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 102

제101항에 있어서, 상기 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 상기 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여되는, 방법.

청구항 103

제101항 또는 제102항에 있어서, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 상기 적어도 하나의 항체는 항-CCL2 항체, 항-CSF-1 항체, 항-IL-2 항체, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 104

제81항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체에게 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 1종의 작용제 항체를 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 105

제104항에 있어서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 상기 적어도 1종의 작용제 항체는 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여되는, 방법.

청구항 106

제104항 또는 제105항에 있어서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체는 작용제 항-CD40 항체, 작용제 항-OX40 항체, 작용제 항-ICOS 항체, 작용제 항-CD28 항체, 작용제 항-TREM1 항체, 작용제 항-TREM2 항체, 작용제 항-CD137/4-1BB 항체, 작용제 항-CD27 항체, 작용제 항-글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질 GITR 항체, 작용제 항-CD30 항체, 작용제 항-BTLA 항체, 작용제 항-HVEM 항체, 작용제 항-CD2 항체, 작용제 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 107

제81항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 개체에게 적어도 1종의 자극 사이토카인을 투여하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 108

제107항에 있어서, 상기 적어도 1종의 자극 사이토카인은 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여되는, 방법.

청구항 109

제107항 또는 제108항에 있어서, 상기 적어도 1종의 자극 사이토카인은 IL-2, IFN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리를 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, MCP-1, MIP-1-베타 및 이들의 임의의 조합-베타, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2015년 10월 29일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/248,231호의 유익을 주장하며, 이 기초출원은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0003] ASCII 텍스트 파일 상의 서열목록의 제출

[0004] ASCII 텍스트 파일 상의 다음의 제출 내용은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다: 서열목록의 컴퓨터 판독 가능한 형태(CRF)(파일명: 735022001040SEQLISTING.TXT, 저장 날짜: 2016년 10월 28일, 용량: 197KB).

[0005] 기술분야

[0006] 본 개시내용은 항-Siglec-9 항체 및 이러한 항체의 치료 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 시알산-결합 Ig-유사 렉틴-9(Sialic acid-binding Ig-like lectin-9: Siglec-9)는 미숙 및 성숙 골수성 세포, 예컨대 단핵구, 대식세포, 수지상 세포, 호중구 및 미세아교세포뿐만 아니라 림프구 세포, 예컨대 자연 살해 세포, 및 T 세포의 서브세트를 포함하는 면역 및 조혈 세포 상에서 발현되는 1형, 면역글로불린-유사, 막관통 단백질이다(Crocker et al. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255-266; O'Reilly and Paulson (2009) Trends in Pharm. Sci. 30:5:240-248; 및 Macauley et al. (2014) Nat. Rev. Imm. 14: 653-666). Siglec-9는 당단백질 및 당지질의 시알산 잔기에 결합하는 렉틴의 Siglec 패밀리의 구성원이다. Siglec 단백질에 대한 하나의 잠재적 결합 표적은 강글리오사이드이며; 이는 시알산화된 글리칸에 연결된 세라마이드로 이루어진 당지질이다. 대부분의 강글리오사이드는 통상적인 락토-세라마이드 코어 및 하나 이상의 시알산 잔기를 공유한다. Siglec 리간드의 다양성은 상이한 결합(분지 또는 말단 중 하나)에서 다른 중성 당 및 시알산의 첨가, 및 시알산 그 자체의 변형에 의해 생성된다.

[0008] 시알산-결합 부위를 포함하는 아미노-말단 V-세트 도메인을 포함하는 2 내지 17개의 세포의 Ig 도메인으로 구성된 14종의 Siglec 단백질이 인간에서 동정되었고, 9종이 마우스에서 동정되었다. 시알산-결합 영역은 모든 Siglec에서 고도로 보존된 2개의 방향족 잔기 및 하나의 알기닌 모티프를 포함하는 V-세트 Ig-유사 도메인 상에 위치된다(Crocker et al. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255-266; McMillan and Crocker (2008) Carbohydr Res. 343:2050-2056; Von Gunten and Bochner (2008) Ann NY Acad Sci. 1143:61-82; May et al. (1998) MolCell. 1:719-728; Crocker et al. (1999) Biochem J. 341:355-361; 및 Crocker and Varki (2001) Trends Immunol. 2:337-342). 시알산화된 리간드에 대한 결합 부위는 결합된 리간드가 있는 그리고 결합된 리간드가 없는 결정 구조에 의해 맵핑되었다(Attrill et al., (2006) J. Biol. Chem. 281 32774-32783; Alpey et al. (2003) J. Biol. Chem. 278:5 3372-3377; Varki et al., Glycobiology, 16 pp. 1R-27R; 및 May et al. (1998) Mol. Cell 11:5:719-728). 세포막은 시알산이 풍부하기 때문에, Siglec에 의한 리간드 결합은 시스로 그리고 트랜스로 생기는데, 이들 둘 다 그들의 기능적 특성에 영향을 미칠 수 있다. 각각의 Siglec은 포유류 세포의 표면 상에서 발견되는 다양한 유형의 시알산화된 글리칸에 결합을 위한 별개의 선호도를 가진다(Crocker et al. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255-266; 및 Crocker et al. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255-266). Siglec-9를 포함하는 대부분의 Siglec 단백질은 그들의 세포질 꼬리에서 하나 이상의 면역수용체 타이로신-기반 저해 모티프(ITIM) 서열을 포함하는데, 이는 그들을 타이로신 포스파타제 SHP1 및 SHP2의 동원을 통해 저해 수용체로서 그리고 면역 기능의 음성 조절자로서 가능하게 한다(Crocker et al. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255-266; McMillan and Crocker (2008) Carbohydr Res. 343:2050-2056; 및 Von Gunten and Bochner (2008) Ann NY Acad Sci. 1143:61-82). 특정 Siglec은 그들의 세포질 꼬리에서 면역수용체 타이로신-기반 활성화 모티프(ITAM) 서열을 포함하는데, 이는 그들을 비장 타이로신 키나제(Syk)의 예측된 동원을 통해 면역 기능의 활성화 수용체 및 양성 조절제로서 작용하게 한다(Macauley SM. et al., (2014) Nature Reviews Immunology 14, 653-666). Siglec 단백질 패밀리는 자가면역, 감염에 대한 감수성, 림프종을 포함하는 다양한 유형의 암, 백혈병 및 급성 골수성 백혈병, 전신 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 신경퇴행성 장애, 천식, 알레르기, 패혈증, 만성 폐쇄성 폐질환, 이식편대 숙주병, 호산구 증가증 및 골다공증을 포함하는 다양한 인간 질환과 관련된다(Macauley SM. et al., (2014) Nature Reviews Immunology 14, 653-666).

[0009] Siglec-9는 말초 혈액 단핵 세포로부터 2000년에 클로닝되었고(Angata and Varki (2000) J. Biol. Chem. 275:29: 22127-22135) 과립구 및 단핵구 상에서 선택적 발현이 검출되었다. 독립적 그룹은 HL-60(인간 전골수성 백혈병) 세포로부터 Siglec-9를 분리시켰고, 단핵구, 호중구, NK 세포, 및 T 세포의 작은 서브세트 상에서의 발현을 입증하였다(Zhang et al. (2000) J. Biol. Chem. 275:29 22121-22126).

[0010] Siglec-9는 세포의 N-말단의 Ig-유사(면역글로불린-유사) V-형 도메인, 2개의 Ig-유사 C2-세트 도메인뿐만 아니라 그의 세포질 도메인에서 2개의 공통 ITIM 모티프를 포함한다. COS 세포에서 Siglec-9의 발현은 말단의 $\alpha 2-3$ 또는 $\alpha 2-6$ 시알산 결합에 의해 매개되는 적혈구의 시알산-의존적 결합을 입증하였다(Angata and Varki (2000) J. Biol. Chem. 275: 22127-22135, Zhang et al. (2000) J. Biol. Chem. 275:29 22121-22126). Siglec-9는 내인성 세포의 시알산에 의해 가리움되고, 세포의 시알리다제 치료 시에만 외인성 말단의 $\alpha 2-3$ 또는 $\alpha 2-6$ 시알산에 결합한다는 것을 추가로 확인하였다(Yamaji (2002) J. Biol. Chem. 277:8 6324-6332). Siglec-9의 N-말단의 V-세트 Ig-유사 도메인 내의 리간드 특이성은 Siglec-7을 Siglec-9 영역으로 그리고 그 반대로

교환함으로써, 작은 영역인 Asn⁷⁰-Lys⁷⁵로 맵핑되었다. 이들 아미노산 잔기의 각각의 Siglec 리간드 특이성의 획득은 리간드 특이성이 가변 C-C' 루프 내 상호작용에 의해 지시된다는 언급을 뒷받침한다(Yamaji (2002) J. Biol. Chem. 277:8 6324-6332). 병원균은 "자기(self)"시스템으로서의 시알산을 분명하게 인식시켰는데, 그룹 B 스타필로코커스(*Streptococcus*)가 인간 호중구 상의 Siglec-9에 결합함으로써, 병원균 또는 공생적일 수 있는 박테리아에 대한 면역 반응을 감소시킬 수 있다는 것이 보고되었기 때문이다(Carlin et al (2009) Blood 113: 3333-3336). 생체내 Siglec-9 시알산 리간드의 다른 공급원은 종양-분비 뮤신, 예컨대 MUC1, MUC2, MUC16이며; Siglec-9는 암 환자의 혈청으로부터의 뮤신에 결합하는 것으로 나타났다(Ohta et al. (2010) Biochem. and Biophys. Res. Comm. 402: 663-669; Belisle et al. (2010) Mol. Cancer 9:118).

[0011] Siglec-9는 c-Src 또는 Lck와 유사하게 타이로신 키나제에 의한 Tyr-433, 및 Tyr-456의 인산화를 겪고, 저해 수용체로서 작용한다(Avril et al., (2004) J. Imm. 173: 6841-6849). ITIM 도메인 내 근위 Tyr-433 상에서 인산화 후에, Siglec-9는 SHP-2/PTPN11 및 SHP-1/PTPN6에 결합한다. 막 원위 ITIM 모티프는 돌연변이가 Siglec-9의 타이로신 인산화 또는 저해 기능을 불가능하게 하지 않았기 때문에 상당히 기여하는 것으로 나타나지 않는다. Siglec-9는 래트 호염기성 백혈병 세포에서 FcεRI-매개 활성을 저해하는 것으로 나타났는데, 이는 KIR로 불리는 NK 세포 상에서 발현된 저해 수용체 부류를 특성규명하기 위해 이전에 사용되었다(Killer receptors)(Avril et al., (2004) J. Imm. 173: 6841-6849). 포스파타제 활성화는 추가적으로, ITAM 모티프, 패턴 인식 수용체, Toll-유사 수용체 및 손상-관련 분자 패턴(DAMP) 수용체를 포함하는 것을 비롯한 인접한 활성화 수용체 상의 신호전달 분자의 탈인산화를 통해 부분적으로, 감소된 세포내 칼슘 가동(mobilization), 및 다수의 단백질 상에서 감소된 타이로신 인산화(Ulyanova, T., et al., (1999) *Eur J Immunol* 29, 3440-3449; Paul, S.P., et al., (2000). *Blood* 96, 483-490)뿐만 아니라 신호 형질도입 및 면역반응의 차단과 관련된다. ITIM-함유 Siglec 수용체와 활성화 수용체 사이의 연관성은 이들 수용체에 결합하고 브릿지되는 세포외 리간드에 의해 매개될 수 있다는 것이 제안되었다(Macauley SM. et al., (2014) *Nature Reviews Immunology* 14, 653-666).

[0012] 모두는 아니지만 일부 Siglec 리간드는 수용체 하향조절을 유도한다(Macauley SM. et al., (2014) *Nature Reviews Immunology* 14, 653-666). 리간드-유도 수용체 분해는 타이로신 키나제 수용체(Monsonego-Oran et al., (2002) *Febs letters* 528, 83-89; 및 Fasen et al., (2008) *Cell & Molecular Biology* 9. 251-266)뿐만 아니라 스테로이드 수용체(Callige et al., (2005) *Mol. Cell. Biol.* 25. 4349-4358; 및 Pollenz et al., (2006) *Chemico-Biological Interactions*. 164. 49-59)에 대해 보고되었다. Siglec-9는 급성 골수성 백혈병(AML) 세포에서 구성적으로 재순환되는 것으로 생각되며, 이들 세포 상에서 항-Siglec-9 단클론성 항체의 빠른 내포작용을 매개하는 것으로 나타났다(Biedermann et al. (2007) *Leuk. Res.* 31:2:211-220). 그러나, Siglec-9의 세포 수준의 감소가 AML 또는 정상 1차 면역 세포에서 보고되었다. 마찬가지로, 수용체 재순환 또는 항체-의존적 수용체 하향 조절은 임의의 유형의 1차 세포에서 보고되지 않았다. 세포 표면 상에서 Siglec-9의 발현은 과발현 시스템에서 수행된 돌연변이 분석에 따라 부분적으로 막 근위 ITIM 모티프에(그러나 원위 모티프는 아님) 의존한다(Biedermann et al. (2007) *Leuk. Res.* 31:2:211-220).

[0013] Siglec-9는 사이토카인 생성에 대해 면역조절을 효과를 갖는 것으로 기재되었다. 대식세포 세포주 및 수반되는 TLR 자극에서 Siglec-9의 과발현은 전염증성 사이토카인 TNF-알파 및 IL-6의 생성 감소뿐만 아니라 IL-10의 상향조절과 관련되는 것으로 나타났다(Ando et al. (2008) *Biochem. And Biophys. Res. Comm.* 369:878-883). 또한 종양-생성 뮤신이 Siglec-9뿐만 아니라 미숙 DC에 결합한다는 것이 나타났다(Ohta et al. (2010) *Biochem. and Biophys. Res. Comm.* 402: 663-669). LPS 및 뮤신의 존재 하에서, 미숙 DC는 더 적은 IL-12를 생성하였지만, IL-10생성은 유지되었다. 이는 Siglec-9가 전염증으로부터 항염증으로 사이토카인 생성을 왜곡시킴으로써, 문제가 되는 병원균, 암 또는 다른 병리의 클리어런스와 대조적으로 내약성의 면역학적 상태를 유지한다는 것을 시사한다.

[0014] Siglec-9의 저해 역할은 자연 살해 세포의 기능 및 림프구 세포, 예컨대 T 세포 및 호중구의 조절에서 추가로 특성규명되었다(Crocker et al., (2012) *Ann. N Y Acad. Sci.* 1253, 102-111; Pillai et al., (2012) *Annu. Rev. Immunol.* 30, 357-392; von Gunten and Bochner (2008) *Ann. N Y Acad. Sci.* 1143, 61-82; Jandus et al. (2014) *J. Clin. Invest.* 124(4) 1810-1820; Ikehara et al. (2004) *J. Biol. Chem.* 279:41 43117-43125; 및 von Gunten et al. (2005) *Blood* 106(4)1423-1431). 자연 살해 세포에서 기능성 연구는 Siglec-9 결합 시알산 리간드를 발현시키는 종양 세포가 NK 세포 활성화 및 종양 세포 사멸을 저해한다는 것을 입증하였다. 다수의 인간 종양은 Siglec-9에 결합하는 시알산 리간드를 강하게 상향조절하는데, 이는 면역 침윤 및 암 진행을 가능하게 한다(Jandus et al. (2014) *J. Clinic. Invest.* 124:4: 1810-1820). 종양 상에서 시알산 상향조절은 자연

살해 세포 면역감시를 강하게 저해하는 "초 자기(super self)" 상태를 용이하게 하는 것으로 생각된다(Macauley and Paulson (2014) Nat. Chem. Biol. 10:1: 7-8). 림프구 계통 세포에서, Siglec-9는 ITIM 타이로신 인산화 및 SHP-1 결합을 통해 T 세포 수용체 신호전달을 음성으로 조절하는 것으로 나타났다. 하류의 TCR 신호전달 분자 ZAP-70은 Tyr³¹⁹ 상에서 감소된 인산화 및 감소된 NFAT 전사 활성을 나타내었다. TCR 신호전달에 대한 Siglec-9의 저해 효과는 시알산 리간드-결합 도메인에서 보존된 Arg 잔기의 돌연변이 시 감소되었다(Ikehara et al. (2004) J. Biol. Chem. 279:41 43117-43125). 호중구에서, Siglec-9 맞물림은 세포자멸사 및 비-세포자멸사 메커니즘을 통해 세포사를 매개한다. 비-질환 또는 류마티스 관절염 및 급성 폐혈성 쇼크 환자로부터 유래된 호중구는 항체 가교에 의해 입증된 Siglec-9 의존적 사멸을 겪었다. 폐혈성 또는 RA-환자 유래 호중구는 Siglec-9 결합 시 상당히 더 많은 세포사를 보여주었고; 이 증가는 전염증성 사이토카인과 함께 단기간 사전 인큐베이션에 의해 모방될 수 있었는데, 이는 염증이 Siglec-9 사멸 경로의 프라이밍을 야기한다는 것을 시사한다(Belisle et al. (2010) Mol. Cancer 9:118).

[0015] Siglec-9의 무린 상동체는 Siglec-E인데, 이는 53% 유사하다. Siglec-E는 시알산 의존적 방식으로 인간 적혈구에 결합하는 것으로 나타났고, 기능적으로 유사한 Siglec-9는 면역 세포에서 저해 신호전달을 매개하기 위해 ITIM을 통해 SHP-1 및 SHP-2를 동원한다(Yu et al Biochem. J. (2001)353,483-492). 마우스에서, Siglec-E의 유전자 비활성화는 분명한 발생적, 조직학적 또는 거동적 이상; 및 Siglec-E-결핍 마우스 품종을 정상적으로 유도하지 않는데, 이는 Siglec-E가 필수 유전자가 아니라는 것과 그의 작용이 선천성 면역으로 제한되지 않을 수도 있다는 것을 나타낸다(McMillan et al. (2013) Blood 121:11: 2084-2094). 에어로졸 LPS를 이용하는 Siglec-E 결핍 마우스의 시험감염 시, 폐에서의 증가된 호중구 동원을 보여주었는데, 이는 β 2-인테그린 CD11b의 차단에 의해 반전될 수 있다. Siglec-E 결핍 호중구는 CD11b-의존적 방식으로 Syk 및 p38 MAPK의 증가된 인산화를 갖는 것으로 나타났다. 이는 Siglec-E는 급성 폐 염증의 모델에서 호중구 동원을 억제하기 위한 작용을 한다는 것을 시사한다(McMillan et al. (2013) Blood 121:11: 2084-2094). 동질유전자적 암모델에서, Siglec-E 결핍 마우스로부터의 호중구는 생체밖 종양 세포 사멸을 향상시켰으며, 증가된 ROS 생성 및 세포자멸사 유도 리간드, 예컨대 TRAIL 및 FasL을 입증하였다(Laubli et al (2014) PNAS 111 (39) 14211-14216).

[0016] 종양학에서, Siglec-9는 1차 AML 세포 상에서 발현되고, 수많은 환자 골수 샘플 상에서 아직 전구체가 없기 때문에 급성 골수성 백혈병에 대한 치료적 표적으로서 제시되었다(Biedermann et al. (2007) Leuk. Res. 31:2:211-220). 고형암에서, 상피 종양 세포는 Siglec-9에 결합하는 심하게 글리코실화된 뮤신을 생성하는데, 이는 증가된 상호작용을 차단시키는 것이 치료적으로 유리하다는 것을 시사한다(Ohta et al. (2010) Biochem. and Biophys. Res. Comm. 402: 663-669; Belisle et al. (2010) Mol. Cancer 9:118). 더 나아가, Siglec-9 리간드 및 종양 침윤성 Siglec-9⁺ 면역 세포의 강한 발현이 결장직장, 유방, 난소, 비-소 폐세포, 및 전립선 암의 조직학적 절편에서 발견되었다(Laubli et al (2014) PNAS 111 (39) 14211-14216). 시알릴 리간드 결합을 감소시키는 천연유래 Siglec-9 K131Q (A391C) 다형성(rs16988910)은, 효과가 2년 후에 상실되었기는 하지만, 비-소-세포 폐암 환자에서 초기 생존(2년 미만)을 상당히 개선시키는 것으로 발견되었다(Laubli et al (2014) PNAS 111 (39) 14211-14216).

[0017] 암 세포에서 발현된 시알릴당단백질은 Siglec-9 결합을 통해 종양 세포 내로 '활성화' 신호를 형질도입하여, 국소 접착 키나제(Focal adhesion kinase: FAK)의 분해 및 증가된 세포 운동성 및 침습을 야기하는 것이 최근에 제안되었다(Sabit et al. (2013) J. Biol. Chem. 288(49): 35417-35427). 이들 결과는 Siglec-9-시알릴 리간드 상호작용이 면역계의 수많은 세포 유형에 대한 저해 효과에 기여할 뿐만 아니라, 암 세포 상의 직접적인 효과를 통해 종양 전이를 향상시킬 수 있다는 것을 시사한다.

[0018] Siglec-9에 대한 항체는, 예를 들어, WO2007049044, 미국 특허 제8394382호, 유럽 특허 제1954318호 및 미국 특허 제20130302317호에 기재되었다. 그러나, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 또는 Siglec-9와 그의 리간드 중 하나 이상의 상호작용을 방해하는 항체는 보고되지 않았다.

[0019] 따라서, 목적으로 하지 않는 Siglec-9 활성화와 관련된 하나 이상의 질환, 장애 및 병태를 치료하기 위해 세포 표면 상에서 Siglec-9와 특이적으로 결합하고 Siglec-9 발현을 감소시키고/시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 감소시키고/시키거나 하나 이상의 Siglec-9 활성을 감소시키는 치료적 항체에 대한 필요가 있다.

[0020] 특허, 특허 출원 및 간행물을 포함하는 본 명세서에 인용된 모든 참고문헌은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 포함된다.

발명의 내용

- [0021] 본 개시내용은 일반적으로 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체, 및 이러한 Siglec-9 제제를 이용하는 방법에 관한 것이다. 본 명세서에 제공된 방법은 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 폐혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골과제트병, 고형암 및 혈액암, 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9 및/또는 Siglec-9 리간드를 발현시키는 종양, 갑상선암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마(*Trypanosoma*) 감염, 크루지(*Cruzi*) 감염, 슈도모나스 에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 감염, 리슈마니아 도노반(*Leishmania donovani*) 감염, 그룹 B 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 감염, 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*) 감염, 네이세리아 메닝기티스(*Neisseria meningitidis*) 감염, I형 HIV, 및 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenza*)를 예방하거나, 이들의 위험을 감소시키거나, 또는 이들을 갖는 개체를 치료함에 있어서의 용도를 발견한다. 본 명세서에 제공된 방법은 또한 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하거나 또는 촉진에 필요한 개체에서 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하거나 또는 촉진시킴에 있어서의 용도를 발견한다. 본 명세서에 제공된 방법은 활성화, 작용성, 또는 조절 T 세포의 생존, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 호중구, 자연살해(NK) 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 호중구, NK 세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포, 또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포를 감소가 필요한 개체에서 이들을 감소시킴에 있어서의 용도를 추가로 발견한다. 본 명세서에 제공된 방법은 또한 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킴에 있어서의 용도를 발견한다.
- [0022] 본 개시내용의 특정 양상은 인간 1차 면역 세포 상에서 Siglec-9 및 Siglec-9-발현 세포주의 세포 표면 수준을 감소시킬 수 있고/있거나 Siglec-9에 대한 Siglec-9 리간드의 결합을 저해할 수 있는 항-Siglec-9 항체의 동정에 적어도 부분적으로 기반한다(예를 들어, **실시예 3 내지 5 참조**).
- [0023] 따라서, 본 개시내용의 특정 양상은 단리된 (예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 일 없이 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 추가로 저해한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해한다.
- [0024] 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키고, Siglec-9의 세포 내 수준을 감소시키며, Siglec-9의 총 수준을 감소시키거나, 또는 이들의 임의의 조합이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 분해, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 웨딩(shedding), Siglec-9 발현의 하향조절, 또는 이들의 임의의 조합을 유도한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항체는 생체내 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킨다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 표면 클러스터링을 저해한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 하나 이상의 Siglec-9 활성을 저해한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 하나 이상의 Siglec-9 활성은: (a) 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 대한 Siglec-9 결합(선택적으로 하나 이상의 Siglec-9 리간드는 시알산-함유 당단백질, 시알산-함유 당지질, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택됨); (b) SHP1 또는 SHP2에 대한 Siglec-9 결합; (c) 하나 이상의 SRC 패밀리 타이로신 키나제에 의해 유도되는 Tyr-433, Tyr-456 또는 둘 다의 인산화(선택적으로, 하나 이상의 SRC 패밀리 타이로신 키나제는 Syk, LCK, FYM 및 ZAP-70으로 이루어진 군으로부터 선택됨); (d) 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 조절된 발현(선택적으로 여기서, 하나 이상의 전염증성 사이토카인은 IFN- α 4, IFN-베타, IL-1 β , IL-1 α 과, TNF- α , IL-6,

IL-8, CRP, IL-20 패밀리를 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-33, MCP-1 및 MIP-1-베타로 이루어진 군으로부터 선택됨); (e) 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 및 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 조절된 발현; (f) 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 조절된 발현(선택적으로 여기서, 하나 이상의 항-염증성 사이토카인은 IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-베타, IL-1Ra, G-CSF, 및 TNF, IFN-베타1a, IFN-베타1b, 또는 IL-6에 대한 가용성 수용체로 이루어진 군으로부터 선택됨); (g) 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 세포에서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 조절된 발현; (h) C1qa, C1qb, C1qc, C1s, C1r, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및 PYCARD로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 단백질의 조절된 발현; (i) 세포의 신호-조절 키나제(ERK) 인산화의 저해; (j) 하나 이상의 세포 단백질 상에서 타이로신 인산화의 감소(선택적으로 여기서, 하나 이상의 세포 단백질은 ZAP-70을 포함하고, 타이로신 인산화는 ZAP-70의 Tyr-319 상에서 생김); (k) C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)의 조절된 발현; (l) CCL19-발현 및 CCL21-발현 세포에 대한 미세아교세포 주화성의 저해; (m) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포, M2 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구 및 M2 NK 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포에 의해 유도된 T 세포 증식의 감소; (n) 과골세포 생성의 저해, 감소된 비율의 과골세포형성, 또는 둘 다; (o) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 감소된 생존; (p) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 감소된 증식; (q) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동 저해; (r) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 한 가지 이상의 기능 저해; (s) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 성숙 저해; (t) 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 기타 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스, 및 종양 세포 클리어런스로 이루어진 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 유형의 클리어런스의 저해(선택적으로, 여기서 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이들의 단편, 타우, IAPP, 알파-시누클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 수퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방 나트륨이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지질단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔술린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되고, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑

색종, 비호지킨 림프종, 채장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); (u) 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 또는 종양 세포 중 하나 이상의 식균작용의 저해(선택적으로, 여기서 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이들의 단편, 타우, IAPP, 알파-시누클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 수퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지질단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔룰린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되고, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 채장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 또는 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); (v) 종양 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; (w) 호중구, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포 및 NK 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; (x) 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 저해; (y) 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 증식 확장의 저해; (z) 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 전이 확장의 저해; (aa) 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체의 저해(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체는 TREM1, TREM2, Sirp 베타, FcγR, DAP10 및 DAP12로 이루어진 군으로부터 선택됨); (bb) 하나 이상의 패턴 인식 수용체(PRR)에 의한 신호전달의 저해(선택적으로 여기서, 하나 이상의 PRR은 병원균-관련 분자 패턴(PAMP)을 동정하는 수용체, 손상-관련 분자 패턴(DAMP)을 동정하는 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택됨); (cc) 모티프 D/Ex₀₋₂YxxL/IX₆₋₈YxxL/I(서열번호 252)을 포함하는 하나 이상의 수용체의 저해; (dd) 하나 이상의 톨-유사 수용체에 의한 신호전달의 저해; (ee) JAK-STAT 신호전달 경로의 저해; (ff) 활성화된 B 세포의 핵인자 카파-경쇄 인핸서(NFκB)의 저해; (gg) ITAM 모티프 포함 수용체의 탈인산화; (hh) 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질, 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체의 조절된 발현(선택적으로 여기서, 하나 이상의 염증 수용체는 상보체 캐스케이드의 단백질, 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체는 CD86, C1qα, C1qβ, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, 및/또는 PYCARD를 포함하고, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); (ii) 하나 이상의 Siglec-9-의존적 유전자의 발현 증가; (jj) 파괴된 Siglec-9-의존적 유전자 발현의 정상화; (kk) 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자 발현의 감소(선택적으로 하나 초과 ITAM-의존적 유전자는 활성화된 T 세포(NFAT) 전사 인자의 핵 인자에 의해 활성화됨); (ll) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 분화를 촉진; (mm) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성을 촉진시키거나 또는 구조함; (nn) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 증가; (oo) 종양에서, 말초혈액에서 또는 다른 림프 기관에서 종양-촉진 골수성/과립구 면역-억제 세포 수의 증가; (pp) 골수-유래 억제자 세포의 종양-촉진 활성의 향상; (qq) 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-촉진성 사이토카인의 발현 증가(선택적으로 여기서, 종양-촉진성 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10임); (rr) 종양-촉진성 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가; (ss) 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 종양-촉진 활성의 향상; (tt) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; (uu) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; (vv) NK 세포의 종양 사멸 잠재력 감소; (ww) 면역반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양 특이적 B 림프구의 침윤 감소;

(xx) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; (yy) 종양 용적 증가; (zz) 종양 성장 속도의 증가; (aaa) 전이의 증가; (bbb) 종양 재발 속도의 증가; (ccc) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역 요법의 효능 감소(선택적으로 여기서, 하나 이상의 면역 요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, BTLA, KIR, GAL9, TIM3, A2AR, LAG, DR-5, TREM1, TREM2, CSF-1 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역요법, 또는 한 가지 이상의 암 백신임); (ddd) PLC γ /PKC/칼슘 가동의 저해; 및 (eee) PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 하나 이상의 Siglec-9 활성은: (a) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 면역억제자 호중구, 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포, 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤을 향상시키는 것; (b) 종양 내, 말초 혈액 또는 다른 림프구 기관 내 종양-촉진성 골수/과립구 면역-억제 세포의 수를 증가시키는 것; (r) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 종양-촉진 활성을 향상시키는 것; (c) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC) 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 생존을 향상시키는 것; (d) 종양 사멸 가능성을 갖는 종양-특이적 T 림프구 활성화를 감소시키는 것; (e) 종양 사멸 가능성을 갖는 CD45⁺CD3⁺ T 림프구의 활성화를 감소시키는 것; (f) 종양 사멸 가능성을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤을 감소시키는 것; (g) 종양 반응을 향상시키는 가능성을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤을 감소시키는 것; (h) 종양 사멸 가능성을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤을 감소시키는 것; 및 (i) CD45⁺CD3⁺ T 림프구의 침윤을 감소시키는 것으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 하나 이상의 Siglec-9 활성은 (a) 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 대한 Siglec-9 결합(선택적으로 여기서, 하나 이상의 Siglec-9 리간드는 시알산-함유 당단백질, 시알산-함유 당지질, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택됨); (b) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 증식 감소; (c) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동 저해; (d) 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 하나 이상의 세포의 한 가지 이상의 작용 저해; (e) 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 다른 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스, 및 종양 세포 클리어런스로 이루어진 군으로부터 선택된 클리어런스의 한 가지 이상의 유형의 저해(선택적으로 상기 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔술린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택된 암으로부터 유래된; (f) 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 저해; (g) 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의

항-종양 세포 증식 활성의 저해; (h) 하나 이상의 염증 수용체의 발현 조절(선택적으로 여기서, 하나 이상의 염증 수용체는 CD86을 포함하고, 하나 이상의 염증 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); (i) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성을 촉진시키거나 또는 구조함; (j) 면역억제자수지상 세포, 면역억제자대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 증가; (k) 종양 내, 말초 혈액 또는 다른 림프구 기관 내 종양-촉진성 골수/과립구 면역-억제 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포 수의 증가; (l) 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 종양-촉진 활성의 향상; (m) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 생존 향상; (n) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; (o) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; (p) 종양 용적의 증가; (q) 종양 성장 속도의 증가; 및 (r) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역 요법의 또는 1가지 이상의 암 백신의 효능 감소(선택적으로 한 가지 이상의 면역 요법은 D1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1수용체 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역 요법임)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9항체는 (a) 종양 침윤성 CD3⁺ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 CD14⁺골수성 세포에서 CD33의 세포 수준의 감소(선택적으로, 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 (MDSC)임); (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소; (l) 종양 용적의 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아테노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함); (o) 하나 이상의 화학요법제의 효능 증가(선택적으로 1종 이상의 화학요법제는 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(아드리마이신)(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(엘렌스)(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(탁솔)(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(Taxotere)(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이토산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(Paraplatin)(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합; (p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가); (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해; 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관 내 CD33-발현 면역억제자 비-종양원성 골수성 세포 및/또는 비-종양원성 CD14-발현 세포의 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 하나 이상의 Siglec-9 리간드는 적혈구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 박테리아 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 세포자멸사 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 신경 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 신경교 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 미세아교세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 성상세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 바이러스 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 수지상 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 베타 아밀로이드 플라크 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 타우 단백질 엉킴(Tau tangles)에 결합된 Siglec-9 리간드, 질환-원인 단백질 상의 Siglec-9 리간

드, 질환-원인 펩타이드 상의 Siglec-9 리간드, 대식세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 호중구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 자연 살해 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 단핵구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, T 헬퍼 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 세포독성 T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, B 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 대식세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 골수-유래 억제자 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 조절 T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 분비된 뮤신, 시알산, 시알산-함유 당지질, 시알산-함유 당단백질, 알파-2,8-다이스알릴 함유 당지질, 분지된 알파-2,6-연결 시알산-함유 당단백질, 말단의 알파-2,6-연결 시알산-함유 당지질, 말단의 알파-2,3-연결 시알산-함유 당단백질 및 다이스알로강 글리오사이드로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준은 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포, 호중구 및 NK 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 1차 세포 상에서 또는 세포주 상에서 측정되되, Siglec-9의 세포 수준은 시험관내 세포 분석을 이용하여 측정된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 TREM2 발현을 감소시키지 않는다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는: (a) 종양 침윤성 CD3⁺ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 내 Siglec-9의 세포 수준의 감소(선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로, 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도 감소; (l) 종양 용적 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 증가(선택적으로 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아테노신 경로, PD-L1, PD-L2, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함); (o) 하나 이상의 화학치료제의 효능 증가(선택적으로, 화학치료제 중 하나는 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(Elence)(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(Taxotere)(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이토산(Cytoxan)(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합물; (p) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포의 증식 증가; (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 한 가지 이상의 기능 저해; 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 Siglec-9-발현 면역억제자 비-종양원성 골수성 세포 및/또는 비-종양원성 CD14-발현 세포 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다.

[0025] 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 불연속 Siglec-9 에피토프에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 불연속 Siglec-9 에피토프는 2개 이상의 펩타이드, 3개 이상의 펩타이드, 4개 이상의 펩타이드, 5개 이상의 펩타이드, 6개 이상의 펩타이드, 7개 이상의 펩타이드, 8개 이상의 펩타이드, 9개 이상의 펩타이드 또는 10개 이상의 펩타이드를 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 각각의 펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 서열의 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 또는 20개 이상의 아미노산 잔기; 또는 서열번호 1의 아미노산 서열에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상에서 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상 또는 20개 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 입체배좌적 에피토프에 결합된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347 내의; 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347에 대응하는 포유류 Siglec-7 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결

합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는: i. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; ii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; iii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; iv. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; v. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; vi. 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; vii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; 및 viii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9에 대한 결합에 대해 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 항체와 경쟁한다.

[0026] 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되, 경쇄 가변 도메인, 중쇄 가변 도메인, 또는 둘 다는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 단일클론 항체의 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함한다. 임의의 선행 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서: (a) HVR-L1은 서열번호 6-9, 172 및 173로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (b) HVR-L2는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (c) HVR-L3은 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (d) HVR-H1은 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (e) HVR-H2는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (f) HVR-H3은 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 임의의 선행 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서: (a) HVR-L1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하

[illegible]

의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 183의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되, 경쇄 가변 도메인은: (a) 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은: (a) 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 61-115 및 197-204로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및/또는 서열번호 116-170 및 205-212로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되: (a) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (b) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (c) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (d) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (e) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 160의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (f) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 197의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 205의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (g) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 201의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 210의 아미노산 서열을 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 : 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 경쇄 가변 도메인; 및/또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0027] 본 개시내용의 다른 양상은 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347 내의; 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는: i. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; ii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; iii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; iv. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; v. 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; vi. 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; vii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기; 및 viii. 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기로 이루어진 군으로부터 선택된

아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194 내의 하나 이상의 아미노산, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-7 단백질 상의 하나 이상의 아미노산 잔기에 결합한다.

[0028] 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다.

[0029] 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 (예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인, 중쇄 가변 도메인, 또는 둘 다는: 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 단일클론 항체의 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함한다. 일부 실시형태에서: (a) HVR-L1은 서열번호 6-9, 172 및 173로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (b) HVR-L2는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (c) HVR-L3은 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (d) HVR-H1은 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (e) HVR-H2는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[illegible]

181의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 183의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 (a) 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고; 그리고 중쇄 가변 도메인은 (a) 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0030]

본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 172의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 174의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 176의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 서열번호 178의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 180의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 173의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열번호 175의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열번호 177의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 서열번호 179의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 서열번호 183의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-

H3을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 상기 항-Siglec-9 항체는 서열번호 61-115 및 197-204로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및/또는 서열번호 116-170 및 205-212로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되: (a) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (b) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (c) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (d) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (e) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 160의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (f) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 197의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 205의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (g) 상기 경쇄 가변 도메인은 서열번호 201의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 210의 아미노산 서열을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는: 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 경쇄 가변 도메인; 및/또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체의 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9에 대한 결합에 대해 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 항체와 경쟁한다. 본 개시내용의 다른 양상은 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로 이루어진 군으로부터 선택된 단일클론 항체와 동일한 Siglec-9 에피토포에 본질적으로 결합하는 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 단리된(예를 들어, 단일클론) 항-Siglec-9 항체에 관한 것이되, 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 경쇄 가변 도메인은: (a) 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 6-9, 172 및 173으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 10-13, 174 및 175로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 14-18, 176 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하고, 그리고 중쇄 가변 도메인은 (a) 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 19-21, 178 및 179로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 22-25, 180 및 181로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 26-29, 182 및 183으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0031]

임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항체는 IgG 분류, IgM 분류 또는 IgA 분류를 가진다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 아이소타입을 가진다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항체는 저해 Fc 수용체에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 저해 Fc 수용체는 저해 Fc-감마 수용체 IIB(Fc γ IIB)이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서: (a) 항-Siglec-9 항체는 인간 또는 마우스 IgG1 아이소타입을 가지고, N297A, D265A, D270A, L234A, L235A, G237A, P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R, C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E, P331S, S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T, T256E, N297Q, P238S, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, T394D, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치에서 Fc 영역 내 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트(Kabat) 넘버링에 따르거나, 또는 글리신 236에 대응하는 위치에서 Fc 영역에서 아미노산 결실을 포함하고; (b) 항-Siglec-9 항체는 IgG1 아이소타입을 가지며, IgG2 아이소타입 중쇄 불변 도메인 1(CH1)

및 힌지 영역을 포함하되, 선택적으로 IgG2 아이소타입 CH1 및 힌지 영역은 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTWS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSVVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCP (서열번호 171)의 아미노산 서열을 포함하고, 선택적으로 항체 Fc 영역은 S267E 아미노산 치환, L328F 아미노산 치환, 또는 둘 다, 및/또는 N297A 또는 N297Q 아미노산 치환을 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 넘버링에 따르고; (c) 항-Siglec-9 항체는 IgG2 아이소타입을 가지고, P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, V309L, A330S, P331S, C214S, C232S, C233S, S267E, L328F, M252Y, S254T, T256E, H268E, N297A, N297Q, A330L, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치에서 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따르고; (d) 항-Siglec-9 항체는 인간 또는 마우스 IgG4 아이소타입을 가지고, L235A, G237A, S228P, L236E, S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T, T256E, E233P, F234V, L234A/F234A, S228P, S241P, L248E, T394D, N297A, N297Q, L235E, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치에서 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따르고; 또는 (e) 항-Siglec-9 항체는 혼성 IgG2/4 아이소타입을 가지되, 선택적으로 항체는 인간 IgG2의 아미노산 118 내지 260 및 인간 IgG4의 아미노산 261 내지 447을 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따른다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서: (a) 항-Siglec-9 항체는 인간 또는 마우스 IgG1 아이소타입을 가지며, N297A, N297Q, D270A, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, M252Y, S254T, T256E, 및 이들의 조합으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따르거나; (b) 항-Siglec-9 항체는 IgG2 아이소타입을 가지며, P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따르거나; 또는 (c) 항-Siglec-9 항체는 IgG4 아이소타입을 가지며, E233P, F234V, L234A/F234A, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔기 위치의 Fc 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하되, 상기 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따른다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서: (a) Fc 영역은 A330L, L234F; L235E, P331S, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에서 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환을 추가로 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따르고; (b) Fc 영역은 M252Y, S254T, T256E 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에서 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환을 추가로 포함하되, 잔기의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따르거나; 또는 (c) Fc 영역은 EU 또는 카바트 넘버링에 따른 S228P 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항체는 IgG4 아이소타입을 가진다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 잔기 위치 228에서 S228P 아미노산 치환, 잔기 위치 234에서 F234A 아미노산 치환, 및 잔기 위치 235에서 L235A 아미노산 치환을 포함하되, 잔기 위치의 넘버링은 EU 또는 카바트 넘버링에 따른다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질은 포유류 단백질 또는 인간 단백질이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질은 야생형 단백질이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질은 천연 유래 변이체이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질은 인간 수지상 세포, 인간 대식세포, 인간 호중구, 인간 NK 세포, 인간 단핵구, 인간 파골세포, 인간 T 세포, 인간 T 헬퍼 세포, 인간 세포독성 T 세포, 인간 과립구 및 인간 미세아교세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포 상에서 발현된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 포유류 Siglec-9 단백질, 인간 Siglec-9 단백질, 또는 둘 다에 대해 특이적으로 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 pH 의존적 방식으로 Siglec-9에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 5.5 내지 8.0 범위의 pH에서 Siglec-9에 결합한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 5.0 미만의 pH에서 Siglec-9로부터 해리된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9 또는 포유류 Siglec-9 단백질 상에서 아미노산 잔기를 포함하는 에피토프에 결합하는 항체 단편이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9, 인간 Siglec-9의 천연 유래 변이체, 및 인간 Siglec-9의 질환 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 인간 단백질에 결합하는 항체 단편이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항체 단편은 인간 Siglec-9, 인간 Siglec-9의 천연 유래 변이체, 및 인간 Siglec-9의 질환 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 인간 단백질에 결합하는 제2 항체 단편에 가교된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 단편은 Fab,

Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 또는 scFv 단편이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 무린 항체이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간화된 항체, 이중 특이성 항체, 단일클론 항체, 다가 항체, 접합된 항체, 또는 키메라 항체이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 제1 항원 및 제2 항원을 인식하는 이중 특이성 항체이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 제1 항원은 Siglec-9이고, 제2 항원은: (a) 혈액-뇌-장벽을 가로지르는 수송을 용이하게 하는 항원; (b) 트랜스페린 수용체(TR), 인슐린 수용체(HIR), 인슐린-유사 성장 인자 수용체(IGFR), 저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 1 및 2(LPR-1 및 2), 디프테리아 독소 수용체, CRM197, 라마 단일 도메인 항체, TMEM 30(A), 단백질 형질도입 도메인, TAT, Syn-B, 페너트라틴, 폴리-알기닌 펩타이드, 안지오펍 펩타이드 및 ANG1005로 이루어진 군으로부터 선택된 혈액-뇌-장벽을 가로지르는 수송을 용이하게 하는 항원; (c) 질환-원인 펩타이드 또는 단백질 또는, 질환-원인 핵산으로부터 선택된 질환-원인 제제로서, 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 젤술린, 케라토포테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는, 상기 질환-원인 제제; (d) 면역 세포 상에서 발현된 리간드 및/또는 단백질로서, 상기 리간드 및/또는 단백질은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73 및 포스포타디세린으로 이루어진 군으로부터 선택된, 상기 리간드 및/또는 단백질; 및 (e) 하나 이상의 종양 세포 상에서 발현된 단백질, 지질, 다당류, 또는 당지질이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 접합된 항체이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 검출 가능한 마커, 독소, 또는 치료제에 접합된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 리신, 리신 A-쇄, 독소루비신, 다우노루비신, 메이탄시노이드, 탁솔, 브롬화에티듬, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 다이하이드록시 안트라신 다이온, 악티노마이신, 디프테리아 독소, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 외독소(PE) A, PE40, 아브린, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 젤로닌, 미토겔린, 레스트락토신, 페노마이신, 에노마이신, 쿠리신, 크로틴, 칼리키아마이신, 사포나리아 오피치날리스(*Saponaria officinalis*) 저해제, 글루코코르티코이드, 아우리스타틴, 아우로마이신, 이트륨, 비스무스, 콤프레스타틴, 듀오카르마이신, 돌라스타틴, cc1065 및 시스플라틴으로 이루어진 군으로부터 선택된 독소에 접합된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 젤술린, 케라토포테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴, 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환-원인 단백질에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체와 조합하여; 또는 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73, TREM1, TREM2, CD33, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-11, 포스포타디세린, 질환-원인 핵산, 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 면역조절 단백질에 결합하는 하나 이상의 항체와 조합하여 사용된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9 및 포유류 Siglec-9에 대해 해리 상수 (K_D)가 약 10nM 내지 약 10pM, 또는 10pM 미만의 범위이되, K_D 는 대략 25℃의 온도에서 결정된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될

수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9에 대해 해리 상수(K_D)가 약 9nM 내지 약 300pM, 또는 300pM 미만의 범위이되, K_D 는 대략 25℃의 온도에서 결정된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9에 대해 해리 상수 (K_D)가 약 9nM 내지 약 230pM, 또는 230pM 미만의 범위이되, K_D 는 대략 25℃의 온도에서 결정된다.

[0032]

본 개시내용의 다른 양상은 임의의 앞의 실시형태의 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 임의의 앞의 실시형태의 핵산을 포함하는 벡터에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 임의의 앞의 실시형태의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 항-Siglec-9 항체가 생성되도록 임의의 앞의 실시형태의 숙주를 배양시키는 단계를 포함하는, 항-Siglec-9 항체를 생성하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 숙주 세포에 의해 생성된 항-Siglec-9 항체를 회수하는 단계를 추가로 포함한다. 본 개시내용의 다른 양상은 임의의 앞의 실시형태의 방법에 의해 생성된 단리된 항-Siglec-9 항체에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 임의의 앞의 실시형태의 항-Siglec-9 항체 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0033]

본 개시내용의 다른 양상은 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 땀 암, 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 하나 이상의 Siglec-9 리간드를 발현시키는 종양, 갑상선암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자로 이루어진 군으로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료가 필요한 개체에게, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나 또는 둘 다인 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 이들 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 땀 암, 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 하나 이상의 Siglec-9 리간드를 발현시키는 종양, 갑상선암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자로 이루어진 군으로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료함에 있어서 사용하기 위한 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나 또는 둘 다인 제제에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성

대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 사이드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 폐혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화 석증, 골과제트병, 및 암, 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 하나 이상의 Siglec-9 리간드를 발현시키는 종양, 갑상선암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메니기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자로 이루어진 군으로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료하기 위한 의약의 제조에서 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나 또는 둘 다인 제제의 용도에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 타우병증, 감염, 및 암으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료가 필요한 개체에게 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 이들 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 타우병증, 감염, 및 암으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 질환을 치료함에 있어서 사용하기 위한 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나 또는 둘 다인 제제에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 타우병증, 감염, 및 암으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료하기 위한 의약의 제조에서 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나 또는 둘 다인 제제의 용도에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 상기 질환, 장애 또는 손상은 암이되, 상기 제제는 (a) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 억제자 호중구, 종양-관련 억제자 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 증식, 성숙, 이동, 분화, 및/또는 작용성의 촉진; (b) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 억제자 호중구, 종양-관련 억제자 NK 세포, 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤의 향상; (c) 종양에서, 말초 혈액, 또는 다른 림프 기관에서 종양-촉진 골수성/과립구 면역-억제 세포 수의 증가; (d) 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 종양-촉진 활성의 향상; (e) 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-촉진 사이토카인의 발현을 증가시키되, 선택적으로 상기 종양-촉진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10인, 종양-촉진 사이토카인의 발현의 증가; (f) 종양-촉진 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤의 증가; (g) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; (h) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; (i) 면역억제자수지상 세포, 면역억제자대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 증가; (j) 종양에서, 말초 혈액 또는 다른 림프구 기관에서 종양-촉진성 골수/과립구 면역-억제 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포 수의 증가; (k) 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 종양-촉진 활성의 향상; (l) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 생존 향상; (m) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; (n) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; (o) 종양 용적의 증가; (p) 종양 성장 속도의 증가; (q) 전이 증가; (r) 종양 재발 속도의 증가; (s) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 하나 이상의 면역요법 또는 한 가지 이상의 암 백신의 효능 감소(선택적으로, 하나 이상의 면역요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역요법); (t) PLCγ/PKC/칼슘 가동의 저해; 및 (u) PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 Siglec-9 활성을

저해한다. 일부 실시형태에서, 암은 Siglec-9 또는 하나 이상의 Siglec-9 리간드를 발현시킨다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 질환, 장애 또는 손상은 암이고, 상기 제제는 (a) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 비-종양원성 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 증식, 성숙, 이동, 분화 및/또는 기능의 촉진; (b) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 비-종양원성 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 향상; (c) 종양에서, 말초 혈액 또는 다른 림프구 기관에서 종양-촉진성 골수/과립구 면역-억제 세포 및/또는 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 증가; (d) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 활성화의 종양-촉진 활성 향상; (e) 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-촉진 사이토카인의 발현 증가(선택적으로, 종양-촉진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10임); (f) 종양-촉진 FoxP3⁺ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가; (g) 종양 사멸 가능성을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; (h) 종양 사멸 가능성을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; (i) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; (j) NK 세포의 종양 사멸 잠재력 감소; (k) 면역 반응을 향상시키기 위한 가능성을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 감소; (l) 종양 용적 증가; (m) 종양 성장 속도 증가; (n) 전이 증가; (o) 종양 재발 속도 증가; (p) 하나 이상의 PD-1 리간드의 발현 증가; (q) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 하나 이상의 면역 요법의 또는 한 가지 이상의 암 백신의 효능 감소(선택적으로, 하나 이상의 면역 요법은 CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, BTLA, KIR, GAL9, TIM3, A2AR, LAG, DR-5, TREM1, TREM2, CSF-1 수용체 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 단백질을 표적화하는 면역 요법임); (r) PLC γ /PKC/칼슘 가동의 저해; (s) PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해; 및 (t) 하나 이상의 화학치료제의 효능 감소(선택적으로 화학치료제 중 하나 이상은 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁술(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이토산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)), 및 이들의 임의의 조합임)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 Siglec-9 활성을 저해한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 질환, 장애 또는 손상은 암이며, 제제는 (a) 종양 침윤성 CD3⁺ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 CD14⁺골수성 세포에서 Siglec-9의 세포 수준 감소(선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소; (l) 종양 용적의 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아테노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함); (o) 하나 이상의 화학치료제 효능의 증가(선택적으로, 화학치료제 중 하나 이상은 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁술(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이토산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합임); (p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가; 및 (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해; 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 Siglec-9-발현 면역억제자 골수성 세포 및/또는 CD14-발현 세포의 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 제제는 (a) 종양 침윤성 CD3⁺ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 CD14⁺골수성 세포에서 CD33의 세포 수준의 감소(선택적으

로, 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소; (l) 종양 용적의 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아테노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함); (o) 하나 이상의 화학치료제의 효능 증가(선택적으로 1종 이상의 화학치료제는 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(등록상표)), 타산, 파클리탁셀(타술(등록상표)), 도세탁셀(타소텔(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드 (사이톡산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합임); (p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가; 및 (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해; 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 CD33-발현 면역억제자 골수성 세포 및/또는 CD14-발현 세포의 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 암은 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다발성 골수종으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 상기 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질 및 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제제는 단리된 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 임의의 앞의 실시형태의 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 세포는 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 미세아교세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0034] 본 개시내용의 다른 양상은 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식이 필요한 개체에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하거나 또는 촉진시키는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식이 필요한 개체에서 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하거나 또는 촉진시키는데 사용하기 위한 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 제제에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식이 필요한 개체에서 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하거나 또는 촉진시키기 위한 약의 제조에서 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 제제의 용도에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 세포는 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 미세아교세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 상기 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질 및 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제제는 단리된 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 임의의 앞의 실시형태의 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 세포는 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 미세아교세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0035] 본 개시내용의 다른 양상은 조절 T 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포,

골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포, 또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포의 활성화, 작용성 또는 생존의 감소가 필요한 개체에서, 개체에게 Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 이러한 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 조절 T 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포 또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포의 활성화, 작용성 또는 생존이 필요한 개체에서 이들 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키기 위해서 사용하기 위해 Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 제제의 용도에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 조절 T 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포 또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포의 활성화, 작용성 또는 생존이 필요한 개체에서 이들 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키기 위한 의약의 제조에서 Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 제제의 용도에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 제제는 단리된 항-Siglec-9 항체 또는 항-Siglec-9 항체 접합체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 임의의 앞의 실시형태의 항-Siglec-9 항체이다.

[0036] 본 개시내용의 다른 양상은 하나 이상의 세포 상에서 Siglec-9의 세포 수준의 감소가 필요한 개체에서, 개체에게 치료적 유효량의 단리된 항-Siglec-9 항체를 투여하는 단계를 포함하는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 수준의 감소가 필요한 개체에서, 하나 이상의 세포 상에서 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키기 위해서 사용하기 위한 단리된 항-Siglec-9 항체의 용도에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 수준의 감소가 필요한 개체에서, 하나 이상의 세포 상에서 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키기 위한 의약의 제조에서 단리된 항-Siglec-9 항체의 용도에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 생체내 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 임의의 앞의 실시형태의 항-Siglec-9 항체이다.

[0037] 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 상기 방법은 개체에게 저해 관문 모듈에 특이적으로 결합하는 적어도 1종의 항체, 및/또는 한 가지 이상의 표준 또는 연구 항암 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-PD-L2 항체, 항-PD-1 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 및 항-HVEM 항체, 항- B- 및 T-림프구 감쇠기 (BTLA) 항체, 항-살해 저해 수용체(KIR) 항체, 항-GAL9 항체, 항-TIM-1 항체, 항-TIM3 항체, 항-TIM-4 항체, 항-A2AR 항체, 항-CD39 항체, 항-CD73 항체, 항-LAG-3 항체, 항-포스파티딜세린 항체, 항-CD27 항체, 항-CD30 항체, 항-TNFA 항체, 항-CD33 항체, 항-Siglec-5 항체, 항-Siglec-7 항체, 항-Siglec-11 항체, 길항제 항-TREM1 항체, 길항제 항-TREM2 항체, 항-TIGIT 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD2 항체, 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 한 가지 이상의 표준 또는 연구 항암 요법은 방사선요법, 세포독성 화학요법, 표적화된 요법, 이마티닙 요법, 트라스투주맙 요법, 에타너셉트 요법, 입양 세포 전달(ACT) 요법, 키메라 항원 수용체 T 세포 전달(CAR-T) 요법, 백신 요법 및 사이토카인 요법으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 상기 방법은 개체에게 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-CCL2 항체, 항-CSF-1 항체, 항-IL-2 항체, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 상기 방법은 개체에게 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체는 작용제 항-CD40 항체, 작용제 항-OX40 항체, 작용제 항-ICOS 항체, 작용제 항-CD28 항체, 작용제 항-TREM1 항체, 작용제 항-TREM2 항체, 작용제 항-CD137/4-1BB 항체, 작용제 항-CD27 항체, 작용제 항-글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질 GITR 항체, 작용제 항-CD30 항체, 작용제 항-BTLA 항체, 작용제 항-HVEM 항체, 작용제 항-CD2 항체, 작용제 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 상기 방법은 개체에게 적어도 하나의 자극 사이토카인을 투여하는 단

계를 추가로 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 자극 사이토카인은 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 자극 사이토카인은 IFN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, MCP-1, MIP-1-베타, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0038] 본 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9에 결합하거나 또는 상호작용하는 제제에 대해 반응성의 평가가 필요한 대상체의 반응성을 평가하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 a. 대상체에게 항-Siglec-9 항체를 투여하기 전에 대상체로부터 얻은 혈액 샘플에서 비-종양원성 골수성 세포 상의 CD45⁺ 및 CD14⁺의 발현 수준을 측정하는 단계; b. 대상체에게 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계; 및 c. 항-Siglec-9 항체의 투여 후에 대상체로부터 얻은 혈액에서 비-종양성 골수성 세포 상의 CD45⁺ 및 CD14⁺의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하되, 항-Siglec-9 항체의 투여 후 비-종양원성 골수성 세포 상의 CD45⁺ CD14⁺ 수준의 감소는 대상체가 제제에 대해 반응성이라는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 반응성을 평가하는 방법은 하나 이상의 추가적인 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 가용성 Siglec 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질, Siglec 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질, 및 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 제제는 단리된 항-Siglec-9 항체 또는 항-Siglec-9 항체 접합체이다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 임의의 앞의 실시형태의 항-Siglec-9 항체이다.

도면의 간단한 설명

[0039] **도 1a**는 인간 Siglec-9(서열번호 1), 침팬지 Siglec-9(서열번호 2), 그린 원숭이 Siglec-9(서열번호 3), 래스스 마카크 Siglec-9(서열번호 4)와 마우스 Siglec-9(서열번호 5) 사이의 아미노산 서열 정렬을 도시한 도면. 별표("*")는 단일의, 완전히 보존된 잔기를 갖는 위치를 나타내고; 콜론(":")은 강하게 유사한 특성(Gonnet PAM 250 행렬에서 0.5 초과와 스코어링)의 그룹 사이의 보존을 나타내고; 마침표(".")는 약하게 유사한 특성(Gonnet PAM 250 행렬에서 0.5 이하의 스코어링) 사이의 보존을 나타낸다. **도 1b**는 표시된 Siglec-9 돌연변이체에 대한 본 개시내용의 항체의 야생형 Siglec-9(WT%)에 대한 결합 반응성(백분율)을 도시한 도면. **도 1c**는 항-Siglec-9 항체 2D4의 결합에 수반된 아미노산 잔기를 나타내는 Siglec-9의 Phyre2-유래 모델(Siglec-5의 결정 구조에 기반; PDB ID 2ZG2)을 도시한 도면. 결합을 위한 중요한 잔기는 적색 구체로 나타낸다. **도 1d**는 항-Siglec-9 항체 5C6의 결합에 수반된 아미노산 잔기를 나타내는 Siglec-9의 Phyre2-유래 모델(Siglec-5의 결정 구조에 기반; PDB ID 2ZG2)을 도시한 도면. 결합을 위한 중요한 잔기는 적색 구체로 나타낸다. **도 1e**는 항-Siglec-9 항체 12B12의 결합에 수반된 아미노산 잔기를 나타내는 Siglec-9의 Phyre2-유래 모델(Siglec-5의 결정 구조에 기반; PDB ID 2ZG2)을 도시한 도면. 결합을 위한 중요한 잔기는 적색 구체로 나타낸다.

도 2는 인간 Siglec 단백질, 예컨대 Siglec-9의 글리칸-결합 특이성을 도시한 도면. 이 도면은 가장 통상적으로 연구되는 시알산화 글리칸에 대해 가장 통상적으로 보고되는 특이성의 요약을 나타낸다. 각각의 Siglec의 연구 내의 상대적 결합은 ++, 강한 결합; +, 검출 가능한 결합; 및 -, 매우 약한 또는 검출 불가능한 결합으로서 나타낸다. 6' 황산화-시알릴-루이스 x(sLex)에 대한 hSiglec-8 및 mSiglec-F의 그리고 6-황산화-sLex에 대한 hSiglec-9의 최근에 보고된 강한-결합 선호도는 나타나지 않는다. 소수를 제외하고(CD22 및 MAG), 상이한 분석을 이용하는 상이한 연구자에 의한 인간 Siglecs의 결합 특이성 연구 결과는 유의하게 변화되었다. 분석 형식 및 글리칸 링커 문제에 추가로, 연구한 리간드의 밀도 및 배열은 이런 변화를 초래할 수 있었다(Varki et al., (2006) Glycobiol. 16:1R-27R).

도 3는 포유류 뇌에서 다이시알로강글리오사이드의 구조 및 대사를 도시한 도면. 도면에서 다이시알로강글리오사이드의 명명은 문헌[Svennerholm (1964) J. Lipid Res. 5:145-155 (Ariga T et al. (2008) J. Lipid Res. 49:1157-1175)]의 시스템에 따른다.

도 4는 인간 1차 면역 세포에서 Siglec-9 발현을 보여주는 FACS 분석 결과를 도시한 도면.

도 5는 아이소타입 대조군에 비해 인간 1차 수지상 세포에 대한 Siglec-9 항체 결합의 FACS 분석을 도시한 도면.

도 6a는 정제된 Siglec-9-his 태그 단백질에 대한 본 개시내용의 Siglec-9 항체의 결합 친화도를 나타내는 비아

코어(Biacore) 센소그램을 도시한 도면. **도 6b**는 정제된 Siglec-9-his 태그 단백질에 대한 본 개시내용의 Siglec-9 항체의 결합 친화도를 나타내는 포르테바이오(ForteBio) 센소그램을 도시한 도면. **도 6c**는 항-Siglec-9 항체 5C6(AbM S9-5C6.3)의 인간화된 형태의 항체 경쇄 가변 영역(VL) 서열을 조합하기 위한 도식을 도시한 도면. 추가적인 변형을 이하의 각각의 서열에 열거한다. 도면은 인간화된 항체 5C6의 형태에 대한 서열을 포함한다. 도면에서, IGKV230*01(서열번호 213); 결합 영역(서열번호 214); 5C6.3(서열번호 215); 2-30*01(서열번호 216); h5C6.3-L1(서열번호 217); h5C6.3-L2(서열번호 218); h5C6.3-L3(서열번호 219). **도 6d**는 항-Siglec-9 항체 5C6(AbM S9-5C6.3)의 인간화된 형식의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 서열을 조합하기 위한 도식을 도시한 도면. 추가적인 변형을 이하의 각각의 서열에 열거한다. 도면은 인간화된 항체 5C6의 형태에 대한 서열을 포함한다. 도면에서, IGHV1-18*01(서열번호 220); 결합 영역(서열번호 221); 5C6.3(서열번호 222); 1-18*01(서열번호 223); h5C6.3-H1(서열번호 224); h5C6.3-H2(서열번호 225); h5C6.3-H3(서열번호 226); h5C6.3-H4(서열번호 227). **도 6e**는 항-Siglec-9 항체 12B12 (AbM S9-12B12.2)의 인간화된 형태의 항체 경쇄 가변 영역(VL) 서열을 조합하기 위한 도식을 도시한 도면. 추가적인 변형을 이하의 각각의 서열에 열거한다. 도면은 인간화된 항체 12B12의 형태에 대한 서열을 포함한다. 도면에서, IGKV1-39*01(서열번호 228); 결합 영역(서열번호 229); 12B12.2 (서열번호 230); 1-39*01(서열번호 231); h12B12.2-L1(서열번호 232); h12B12.2-L2(서열번호 233); h12B12.2-L3(서열번호 234). **도 6f**는 항-Siglec-9 항체 12B12 (AbM S9-12B12.2)의 인간화된 형식의 항체 중쇄 가변 영역(VH) 서열을 조합하기 위한 도식을 도시한 도면. 추가적인 변형을 이하의 각각의 서열에 열거한다. 도면은 인간화된 항체 12B12의 형태에 대한 서열을 포함한다. 도면에서, IGHV3-23*04(서열번호 235); 결합 영역(서열번호 236); 12B12.2(서열번호 237); 3-23*04(서열번호 238); h12B12.2-H1(서열번호 239); h12B12.2-H2(서열번호 240). **도 6c 내지 도 6f**에 대해, CDR 서열을 볼드체로 도시하고; 잔기 넘버링을 순차적으로(seq) 또는 코티아(Chothia)에 따라 나타내고; "b"는 파묻힌 측쇄를 지칭하며; "p"는 부분적으로 파묻힘을 지칭하며; "i"는 VH와 VL 도메인 사이의 계면에서의 측쇄를 지칭하고; 인간과 무린 생식계열 사이의 서열 차이는 별표(*)로 나타내며; 프레임워크 내 잠재적인 추가적 돌연변이를 이하의 서열에서 나타내고; CDR 서열 내 잠재적 변화를 이하의 각각의 CDR 서열에서 나타낸다(이러한 변화는 아스파라긴(N) 탈아미드화, 트립토판(W) 산화, 또는 아이소아스파르트레이트(DG) 형성을 방지할 수 있다).

도 7a 내지 7h는 다양한 인간 세포 유형 상의 세포 표면 Siglec-9 수용체의 Siglec-9 항체-의존적 하향조절을 도시한 도면. **도 7a**는 THP-1 급성 단핵구성 림프구 세포를 도시한 도면. **도 7b**는 인간 1차 단핵구를 도시한 도면. **도 7c**는 인간 1차 미세아교세포를 도시한 도면. **도 7d**는 인간 1차 대식세포를 도시한 도면. **도 7e**는 인간 1차 수지상 세포를 도시한 도면. **도 7f**는 인간 1차 수지상 세포를 이용하는 항체 적정을 도시한 도면. **도 7g**는 생체내 항체 치료 후 Siglec-9의 세포 표면 수준에서의 생체내 감소를 도시한 도면. **도 7h**는 관련없는 수용체 CD33의 발현을 도시한 도면. CD33을 대조군으로서 사용하였다. CD33의 세포 표면 수준은 생체내 항체 처리 후 상당히 감소되지 않았다. **도 7i**는 Siglec-9 항체 5C6(S9-5C6), 12B12 (S9-12B12), 17C2(S9-17C2) 및 아이소타입 대조군(mIgG2a)을 이용하여 인간 1차 대식세포 상에서 Siglec-9의 세포 표면 발현을 감소시키기 위한 항체 농도 적정 곡선을 도시한 도면. **도 7j**는 Siglec-9 항체 5C6(S9-5C6), 12B12(S9-12B12), 17C2 (S9-17C2) 및 아이소타입 대조군(mIgG2a)을 이용하여 인간 1차 대식세포 상에서 대조군 수용체 CD11b의 세포 표면 발현을 감소시키기 위한 항체 농도 적정 곡선을 도시한 도면. **도 7k**는 항-Siglec-9 항체 2D4 또는 아이소타입 대조군 항체 (MOPC-21)에 의한 처리 21일 후에 인간화된 NSG 마우스로부터의 말초 골수성 세포 내 Siglec-9 및 CD33 발현을 도시한 도면. **도 7l**는 생체내 항체 치료 후 Siglec-9의 세포 표면 수준에서의 생체내 감소를 도시한 도면. **도 7m**는 관련없는 수용체 CD33의 발현을 도시한 도면. CD33을 대조군으로서 사용하였다. CD33의 세포 표면 수준은 생체내 항체 처리 후 상당히 감소되지 않았다. **도 7n**는 항-Siglec-9 항체 2D4 또는 아이소타입 대조군 항체 (MOPC21)에 의한 처리 21일 후에 인간화된 NSG 마우스로부터의 혈액 샘플에 대한 FACS 개폐 전략을 도시한 도면. **도 7o**는 항체 대조군 없음에 비해 항-Siglec-9 항체 2D4 또는 아이소타입 대조군 항체에 의한 처리 후 인간 수지상 세포 상에서의 Siglec-9 표면 발현 및 TREM2 표면 발현의 수준을 도시한 도면. **도 7p**는 항-Siglec-9 항체 2D4에 의한 처리 후 인간 수지상 세포 상의 CD11c 표면 발현, Siglec-9 표면 발현 및 TREM2 표면 발현 수준을 도시한 도면. **도 7q**는 U937 암세포 상에서 내인성으로 발현된 시알산 리간드에 대한 Siglec-9(Siglec-9-FC)의 결합을 차단하기 위한 본 개시내용의 Siglec-9 항체의 능력을 도시한 도면.

도 8은 수지상 세포 상의 시알산 리간드가 인간 1차 세포와의 혼합된 림프구 반응 동안 T 세포 증식을 제한한다는 것을 나타내는 FACS 분석을 도시한 도면.

도 9는 수지상 세포 상의 시알산 Siglec-9 리간드가 혼합된 림프구 반응 동안 T 세포 증식을 제한한다는 것을 나타내는 결과를 도시한 도면.

도 10A 내지 도 10H는 다양한 자극에 의해 유도된 인간 골수성 세포 상에서 Siglec-9 수용체 및 증가된 Siglec-9 리간드 발현을 나타내는 결과를 도시한 도면. 도 10A 및 도 10B는 종양 상청액에 의한 처리 후 인간 1차 수지상 세포 상에서 Siglec-9 수용체 및 증가된 Siglec-9 리간드 발현을 나타내는 결과를 도시한 도면. 도 10C 및 도 10D는 종양 상청액에 의한 처리 후 인간 1차 수지상 세포 상에서 증가된 Siglec-9 리간드 발현을 나타내는 결과를 도시한 도면. 도 10E 및 도 10F는 LPS-유도 염증 동안 인간 수지상 세포 상의 Siglec-9 수용체 발현을 나타내는 결과를 도시한 도면. 도 10G 및 도 10H는 LPS-유도 염증 동안 인간 골수성 세포 상의 시알산 발현 증가를 나타내는 결과를 도시한 도면. 이 발견은 종양 세포 사에서 그리고 면역 세포 상에서 Siglec-9에 대한 저해 리간드 수준을 상향조절함으로써 면역감시를 피할 수 있다는 것을 나타낸다.

도 11은 이콜라이(*E. coli*)로부터 Siglec-9 리간드를 제거하기 위한 시알리다제 처리가 인간 1차 수지상 세포에 의한 식세포작용을 증가시킨다는 것을 나타내는 결과를 도시한 도면.

도 12는 알츠하이머병 뇌(AD) 및 건강한 뇌(비-AD)로부터의 뇌 절편에서 Siglec-9 리간드 발현을 도시한 도면. 도 12는 두 공여자(공여자 1 및 공여자 2)로부터의 Siglec-9-Fc의 면역조직화학 염색을 도시한 도면.

도 13은 저해 Siglec-9 리간드의 발현이 폐 종양 세포, 흑색종 세포 및 결장암 세포에서 증가된다는 것을 나타내는 결과를 도시한 도면. 결과는 저해 Siglec-9 리간드가 이들 종양 유형에서의 암 병리에 기여한다는 것을 나타낸다.

도 14는 인간 말초 혈액 세포와 함께 주사한 NOG 마우스의 세포에서 Siglec-9의 발현을 도시한 도면. 인간 태아 간 CD34⁺ 세포와 함께 생착 12주 후에, 인간화된 마우스에 환자-유래 흑색종을 이식하였다. 말초 혈액, 비장 및 종양 조직을 해리시키고 나서, 면역 세포 마커 및 Siglec-9 발현에 대해 분석하였다. FACS 분석을 위해, 인간 조혈세포를 CD45 발현에 의해 동정하였고, 이어서, CD14⁺, CD3⁺ 집단을 개폐하였다. 결과는 저해 Siglec-9 리간드가 이들 종양 유형에서의 암 병리에 기여한다는 것을 나타낸다.

도 15a는 면역학적으로 인간화된 마우스에서 환자-유래 암의 마우스 모델에 대한 PD-1/Siglec-9 조합 항체 치료 프로토콜을 도시한 도면. 도 15B는 항-PD-1 항체 단독 또는 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 키트루다(Keytruda)(등록상표)(펩브롤리주맵)으로 처리한 마우스의 혈액 샘플로부터의 CD14⁺ 골수성 세포 상에서의 Siglec-9의 세포 표면 수준의 생체내 감소를 도시한 도면. 도 15C는 항-PD-1 항체 단독 또는 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 키트루다(Keytruda)(등록상표)(펩브롤리주맵)로 처리한 마우스의 혈액 샘플로부터의 CD14⁺ 골수성 세포 상에서의 대조군 수용체 CD33의 생체내 세포 표면 수준을 도시한 도면. 도 15D는 항-PD-1 항체 단독 또는 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 키트루다(Keytruda)(등록상표)(펩브롤리주맵)으로 처리한 마우스로부터의 말초 혈액 CD14⁺ 골수성 세포의 생체내 감소를 도시한 도면. 도 15E는 항-PD-1 항체 단독 또는 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 키트루다(Keytruda)(등록상표)(펩브롤리주맵)으로 처리한 마우스로부터의 혈액 샘플 중의 말초 혈액 CD3⁺ T 세포의 생체내 증가를 도시한 도면. 도 15F는 항-PD-1 항체 단독 또는 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 키트루다(Keytruda)(등록상표)(펩브롤리주맵)으로 처리한 마우스로부터의 종양 침윤성 CD14⁺ 골수성 세포의 생체내 감소를 도시한 도면. 도 15G는 항-PD-1 항체 단독 또는 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 키트루다(Keytruda)(등록상표)(펩브롤리주맵)으로 처리한 마우스로부터의 종양 침윤성 CD3⁺ T 골수성 세포의 생체내 증가를 도시한 도면. 도 15H는 키트루다(등록상표)(펩브롤리주맵) 항-PD-1 항체 단독으로 또는 인간 공여자 984480112로부터의 인간 면역 줄기 세포를 이식한 마우스에서 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 처리 후 평균 종양 용적을 도시한 도면. 도 15I는 키트루다(등록상표)(펩브롤리주맵) 항-PD-1 항체 단독으로 또는 인간 공여자 17509112로부터의 인간 면역 줄기 세포를 이식한 마우스에서 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 처리 후 평균 종양 용적을 도시한 도면. 도 15J는 키트루다(등록상표)(펩브롤리주맵) 항-PD-1 항체 단독으로 또는 인간 공여자 165547112로부터의 인간 면역 줄기 세포를 이식한 마우스에서 항-Siglec-9 항체 2D4와 조합하여 처리 후 평균 종양 용적을 도시한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

일반 기술

본 명세서에 기재하거나 또는 언급한 기술 및 절차는 일반적으로 잘 이해되고, 당업자에 의한 통상적인 방법, 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M.

Ausubel, et al. eds., (2003)); the series *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.): *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual* 및 *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney), ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J.B. Griffiths 및 D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; *Handbook of Experimental Immunology* (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J.E. Coligan et al., eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999); *Immunobiology* (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); *The Antibodies* (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); 및 *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)]에 기재된 널리 이용되는 방법을 이용하여 통상적으로 사용된다.

[0042] 정의

[0043] 본 명세서에 기재된 용어 "방지하는"은 개체에서 특정 질환, 장애 또는 병태의 발생 또는 재발에 대해 예방을 제공하는 것을 포함한다. 개체는 특정 질환, 장애 또는 병태의 성향이 있거나 또는 의심의 여지가 있거나 또는 이러한 질환, 장애 또는 병태가 발생할 위험에 있을 수 있지만, 질환, 장애 또는 병태로 아직 진단되지 않았다.

[0044] 본 명세서에서 사용되는 특정 질환, 장애 또는 병태가 발생할 "위험"에 있는 개체는 검출 가능한 질환 또는 질환 증상을 가질 수도 있거나 또는 갖지 않을 수도 있고, 본 명세서에 기재된 치료 방법 전에 검출 가능한 질환 또는 질환 증상을 나타낼 수 도 있거나 또는 나타내지 않을 수도 있다. "위험에 있는"은 개체가 당업계에 공지된 바와 같은 특정 질환, 장애 또는 병태의 발생과 상관관계가 있는 측정 가능한 매개변수인 하나 이상의 위험 인자를 가진다는 것을 나타낸다. 이들 위험 인자 중 하나 이상을 갖는 개체는 이들 위험 인자 중 하나 이상 없이 개체보다 특정 질환, 장애 또는 병태가 발생할 더 높은 확률을 가진다.

[0045] 본 명세서에 기재된 용어 "치료"는 임상 병리 과정 동안 처리 중인 개체의 자연적 과정을 변경시키도록 설계된 임상 개입을 지칭한다. 바람직한 치료 효과는 병리학적 상태의 진행 속도의 감소, 개선 또는 완화, 및 특정 질환, 장애 또는 병태의 관해 또는 개선된 예후를 포함한다. 예를 들어, 특정 질환, 장애 또는 병태와 관련된 하나 이상의 증상이 완화되거나 또는 제거된다면, 개체는 성공적으로 "치료된다".

[0046] "유효량"은 목적으로 하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하기 위해 필요한 투약량으로 그리고 시간 기간 동안 적어도 유효한 양을 지칭한다. 유효량은 1회 이상의 투여로 제공될 수 있다. 본 명세서의 유효량은 질환 상태, 연령, 성별 및 개체의 체중, 및 개체에서 목적으로 하는 반응을 유발하기 위한 치료 능력과 같은 인자에 따라 다를 수 있다. 유효량은 또한 임의의 독성 또는 유해한 치료 효과가 치료적으로 유리한 효과보다 더 큰 양이다. 예방적 용도를 위해, 유리한 또는 목적으로 하는 결과는 질환의 발생 동안 제시되는 질환, 그의 합병증 및 중간 병리학적 표현형의 생화학적, 조직학적 및/또는 거동적 증상을 포함하는, 질환의 위험의 제거 또는 감소, 질환의 중증도의 감소 또는 질환 개시의 지연과 같은 결과를 포함한다. 치료적 용도를 위해, 유리한 또는 목적으로 하는 결과는 질환으로부터 초래되는 하나 이상의 증상의 감소, 질환으로 고통받는 것의 삶의 질 증가, 질환을 치료하는 데 필요한 다른 의약 용량의 감소, 예컨대 질환을 표적화, 진행의 지연 및/또는 생존 연장을 통해 다른 의약 효과의 향상과 같은 임상 결과를 포함한다. 유효량의 약물, 화합물 또는 약제학적 조성물은 직접적으로 또는 간접적으로 예방 또는 치료적 처치를 달성하는 데 충분한 양이다. 임상 관련하여 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 약제학적 조성물의 유효량은 다른 약물, 화합물 또는 약제학적 조성물과 함께 달성될 수도 있거나 또는 달성되지 않을 수도 있다. 따라서, "유효량"은 하나 이상의 치료제를 투여하는 것과 관련하여 고려될 수 있고, 단일 제제는 하나 이상의 다른 제제와 함께, 목적으로 하는 결과가 달성될 수 있다면 유효량으로 주어지도록 고려될 수 있다.

[0047] "치료적 유효량"은 적어도 특정 질환, 장애 또는 병태의 측정 가능한 개선을 달성하는 데 필요한 최소 농도이다. 본 명세서의 치료적 유효량은 환자의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 목적으로 하는 반

응을 유발하기 위한 Siglec-9 단백질 길항체의 능력과 같은 인자에 따라 다를 수 있다. 치료적 유효량은 또한 Siglec-9 단백질 길항체의 임의의 독성 또는 유해 효과가 치료적으로 유리한 효과보다 더 큰 것이다.

- [0048] 본 명세서에서 사용되는 다른 화합물 또는 조성물과 "함께" 투여는 동시 투여 및/또는 상이한 시간에 투여를 포함한다. 함께 투여는 또한 상이한 투약 빈도 또는 간격에서, 그리고 동일한 투여 경로 또는 상이한 투여 경로를 이용하는 것을 포함하는 공동 제형으로서의 투여 또는 별개의 조성물로서의 투여를 포함한다.
- [0049] 위험의 치료, 예방 또는 감소의 목적을 위한 "개체"는 인간, 가축 및 농장 동물, 동물원, 스포츠 또는 반려 동물, 예컨대 개, 말, 토끼, 소, 돼지, 햄스터, 게르빌루스, 마우스, 페릿, 래트, 고양이 등을 포함하는 포유류로서 분류되는 임의의 동물을 지칭한다. 바람직하게는, 개체는 인간이다.
- [0050] 용어 "면역글로불린"(Ig)은 본 명세서의 "항체"와 상호 호환적으로 사용된다. 본 명세서의 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 그들이 목적으로 하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 적어도 2개의 무손상 항체, 및 항체 단편으로부터 형성된 단일클론 항체, 다클론성 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체)를 특이적으로 아우른다.
- [0051] 기본 4-쇄 항체 단위는 2개의 동일한 경(L) 쇄 및 2개의 동일한 중(H) 쇄로 구성된 이형사량체 당단백질이다. V_H 와 V_L 의 쌍은 단일 항원-결합 부위를 함께 형성한다. 상이한 부류의 항체의 구조 및 특성에 대해, 예를 들어, 문헌[*Basic and Clinical Immunology*, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, 페이지 71 및 Chapter 6] 참조.
- [0052] 임의의 척추동물 종으로부터의 L 쇄는 그들의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반하여 카파("κ") 및 람다("λ")로 불리는 2개의 분명하게 별개인 유형 중 하나가 부여될 수 있다. 중쇄(CH)의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라서, 면역글로불린은 상이한 부류 또는 아이소타입이 부여될 수 있다. 5가지 부류의 면역글로불린이 있다: 알파("α"), 델타("δ"), 엡실론("ε"), 감마("γ") 및 뮤("μ")로 각각 표기되는 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM. γ 및 α 부류는 CH 서열 및 기능의 상대적으로 약간의 차이에 기반하여 하위부류(아이소타입)으로 추가로 나뉘어지며, 예를 들어, 인간은 다음의 하위부류를 발현시킨다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 입체배치는 잘 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[Abbas *et al.*, Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders Co., 2000)]에서 일반적으로 기재된다.
- [0053] "천연 항체"는 보통 2개의 동일한 경(L) 쇄 및 2개의 동일한 중(H) 쇄로 구성된 약 150,000 달톤의 이형사량체 당단백질이다. 각각의 경쇄는 하나의 공유 이황화 결합에 의해 중쇄에 연결되는 반면, 이황화 결합의 수는 상이한 면역글로불린 아이소타입의 중쇄 중에서 변한다. 각각의 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적으로 이격된 쇄 내의 이황화 브릿지를 가진다. 각각의 중쇄는 하나의 말단에서 가변 도메인(V_H) 다음에 다수의 불변 도메인을 가진다. 각각의 경쇄는 하나의 말단(V_L)에서 가변 도메인 및 그의 말단에서 불변 도메인을 가지고; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인에 맞추어 조정되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인에 맞추어 조정된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄와 중쇄 가변 도메인 사이의 계면을 형성하는 것으로 여겨진다.
- [0054] "단리된" 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 그의 생성 환경의 성분으로부터 (예를 들어, 자연적으로 또는 재조합적으로) 동정되고/되거나, 분리되고/되거나 회수된 것이다. 바람직하게는, 단리된 폴리펩타이드는 그의 생성 환경으로부터의 모든 다른 오염 성분과의 회합이 없다. 그의 생성환경으로부터의 오염 성분, 예컨대 재조합 형질감염 세포로부터 초래된 것은 항체에 대한 연구, 진단 또는 치료 용도를 전형적으로 방해하지 않는 물질이고, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 폴리펩타이드는: (1) 예를 들어, 로리법(Lowry method)에 의해 결정하여 항체의 95중량% 초과까지, 그리고 일부 실시형태에서, 99중량% 초과까지; (2) 스피닝 컵 시퀀서의 사용에 의해 N-말단의 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마씨 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 이용하는 비-환원 또는 환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의한 균질성에 대해 정제될 것이다. 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 제시되지 않을 것이기 때문에 단리된 항체는 재조합 T 세포 내에서 인시주로 항체를 포함한다. 그러나, 보통 단리된 폴리펩타이드 또는 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.
- [0055] 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인", 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노 말단 도메인을 지칭한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각 " V_H " 및 " V_L "로서 지칭될 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로 (동일한 부류의 다른 항체에 비해) 항체의 대부분의 가변 부분이며, 항원 결합 부위를 포함

한다.

[0056] 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 세그먼트가 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 중의 서열에서 광범위하게 상이하다는 사실을 지칭한다. V 도메인은 항원 결합을 매개하고, 그의 특정 항원에 대한 특정 항체의 특이성을 정한다. 그러나, 가변성은 가변 도메인의 전체 폭에 걸쳐 균일하게 분포되지 않는다. 대신에, 이는 경쇄와 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 초가변 영역(HVR)으로 불리는 3개의 세그먼트에서 집중된다. 가변 도메인의 더 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역(FR)으로 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 베타-시트 구조를 연결하고 그리고 일부 경우에 이의 부분을 형성하는 루프를 형성하는 3개의 HVR에 의해 연결되는 베타-시트 입체배치를 대체로 채택하는 4개의 FR 영역을 각각 포함한다. 각각의 쇠에서 HVR은 FR 영역에 의해 그리고 다른 쇠로부터의 HVR에 의해 근접하게 함께 보유되고, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다(문헌[Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)] 참조). 불변 도메인은 항원에 대한 항체의 결합에서 직접적으로 수반되지 않지만, 다양한 효과기 기능, 예컨대 항체-의존적-세포 독성에서 항체의 참여를 나타낸다.

[0057] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "단일클론 항체"는 실질적으로 동종의 항체 집단으로부터 얻은 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 지칭하며, 즉, 집단을 포함하는 개개 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 유래 돌연변이 및/또는 번역후 변형(예를 들어, 이성질체화, 아마이드화)을 제외하고 동일하다. 단일클론 항체는 고도로 특이적이며, 하나 이상의 항원 부위로 향한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단일클론 항체는 이중 특이성 항체일 수 있다. 상이한 결정소(에피토프)로 향하는 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다클론성 항체 제제와 대조적으로, 각각의 단일클론 항체는 하나 이상의 항원 부위 상의 단일 결정소로 향한다. 변형어 "단일클론"은 실질적으로 동종의 항체 집단으로부터 얻어지는 항체의 특징을 나타내며, 임의의 특정 방법에 의해 항체의 생성을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 예를 들어, 본 개시내용에 따라 사용될 단일클론 항체는, 예를 들어, 파지-디스플레이 기법을 포함하는 다양한 기법(예를 들어, Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093(2004); Fellouse, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 101(34):12467-472(2004); 및 Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004), 하이브리도마 방법(예를 들어, Kohler and Milstein., *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo et al., *Hybridoma*, 14(3):253-260 (1995), Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1988); Hammerling et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), 재조합 DNA 방법(예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호), 및 인간 면역글로불린 좌위의 부분 또는 모두 또는 인간 면역글로불린 서열을 암호화하는 유전자를 갖는 동물에서 인간 또는 인간 유사 항체를 생성하기 위한 기법에 의해 이루어질 수 있다(예를 들어, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7:33(1993); 미국 특허 제5,545,807호; 제5,545,806호; 제5,569,825호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 및 제5,661,016호; 문헌[Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783(1992); Lonberg et al., *Nature* 368:856-859(1994); Morrison, *Nature* 368:812-813(1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14:845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14:826(1996); 및 Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93(1995)]).

[0058] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 또는 "전체 항체"는 항체 단편과 대조적으로 실질적으로 무손상 형태로 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 같은 항체를 지칭하기 위해 상호 호환적으로 사용된다. 구체적으로 전체 항체는 Fc 영역을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 갖는 것을 포함한다. 불변 도메인은 천연 서열 불변 도메인(예를 들어, 인간 천연 서열 불변 도메인) 또는 이의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 일부 경우에, 무손상 항체는 하나 이상의 효과기 기능을 가질 수 있다.

[0059] "항체 단편"은 무손상 항체의 일부, 바람직하게는 무손상 항체의 항원 결합 및/또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 다이어바디; 선형 항체(미국 특허 제5,641,870호, 실시예 2; 문헌[Zapata et al., *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 (1995)] 참조); 단일쇄 항체 분자 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함한다.

[0060] 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 과파인 분해는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 항원 결합 단편, 및 잔여 "Fc" 단편을 생성하며, 표기는 용이하게 결정화하는 능력을 반영한다. Fab 단편은 H 쇠(V_H)의 가변 영역 도메인, 및 하나의 중쇄 (C_H1)의 제1 불변 도메인과 함께 전체 L 쇠로 이루어진다. 각각의 Fab 단편은 항원

결합에 대해 1가이고, 즉, 이는 단일 항원-결합 부위를 가진다. 항체의 펩신 처리는 상이한 항원-결합 활성을 갖는 2개의 이황화 연결된 Fab 단편에 거의 대응하고 여전히 항원을 가교할 수 있는 단일의 거대한 $F(ab')_2$ 단편을 수득한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 C_H1 도메인의 카복시 말단에서 소수의 추가적인 잔기를 가짐으로써 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올기를 보유하는 Fab'에 대한 본 명세서의 표기이다. $F(ab')_2$ 항체 단편은 본래 Fab' 단편의 쌍으로서 생성되는데, 이 단편의 쌍 사이에 사이에 시스테인 힌지를 가진다. 항체 단편의 다른 화학적 결합이 또한 공지되어 있다.

[0061] Fc 단편은 이황화물에 의해 함께 보유되는 H 쇠 둘 다의 카복시-말단 부분을 포함한다. 항체의 효과기 기능은 Fc 영역에서 서열에 의해 결정되는데, 이 영역은 또한 특정 유형의 세포 상에서 발견되는 Fc 수용체(FcR)에 의해 인식된다.

[0062] "Fv"는 완전한 항원-인식 및 -결합 부위를 포함하는 최소 항체 단편이다. 이 단편은 단단한, 비공유 회합에서 하나의 중쇄- 및 하나의 경쇄 가변 영역 도메인의 이량체로 이루어진다. 이들 두 도메인의 폴딩으로부터 항원 결합에 대한 아미노산 잔기에 기여하고 항체에 대해 항원 결합 특이성을 부여하는 6개의 추가변 루프(각각 H쇄 및 L쇄로부터 3개의 루프)가 나온다. 그러나, 전체 결합 부위보다 더 낮은 친화도에도 불구하고, 단일 가변 도메인(또는 항원에 대해 특이적인 단지 3개의 HVR을 포함하는 Fv의 절반)조차도 항원을 인식하고 결합하는 능력을 가진다.

[0063] 또한 "sFv" 또는 "scFv"로서 약칭되는 "단일쇄 Fv"는 단일 폴리펩타이드 쇠에 연결된 VH 및 VL 항체 도메인을 포함하는 항체 단편이다. 바람직하게는, sFv 폴리펩타이드는 sFv가 항원 결합에 대해 목적으로 하는 구조를 형성할 수 있게 하는 V_H 와 V_L 도메인 사이의 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함한다. sFv의 검토를 위해, 문헌 [Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)] 참조.

[0064] 항체, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 "작용성 단편"은 무손상 항체의 항원 결합 또는 가변 영역 또는 변형된 FcR 결합 능력을 보유하거나 또는 갖는 항체의 F 영역을 일반적으로 포함하는, 무손상 항체의 부분을 포함한다. 항체 단편의 예는 선형 항체, 단일쇄 항체 분자 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함한다.

[0065] 용어 "다이어바디"는 V 도메인의 쇠간이지만 쇠내 짝짓기가 달성되지 않음으로써, 2가 단편, 즉, 2개의 항원-결합 부위를 갖는 단편을 초래하도록 V_H 와 V_L 도메인 사이의 짧은 링커(약 5 내지 10개) 잔기를 갖는 sFv 단편(앞 단락을 참조)을 구성함으로써 제조된 작은 항체 단편을 지칭한다. 이중특이성 다이어바디는 2개의 항체의 V_H 및 V_L 도메인이 상이한 폴리펩타이드 쇠 상에 존재하는 2개의 "크로스오버(crossover)" sFv 단편의 이형이량체이다. 다이어바디는, 예를 들어, 유럽 특허 제404,097호; WO 93/11161; 문헌[Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:6444-48(1993)]에서 더욱 상세하게 기재된다.

[0066] 본 명세서에서 사용되는 "키메라 항체"는 그들이 목적으로 하는 생물학적 활성을 나타낸다면, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래된 또는 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 대응하는 서열과 동일하거나 또는 상동성인 반면, 쇠(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유래되거나 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류뿐만 아니라 이러한 항체의 단편에 속하는 항체에서의 대응하는 서열과 동일하거나 또는 상동성인 항체(면역글로불린), 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 지칭한다(미국 특허 제4,816,567호; 문헌[Morrison et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 81:6851-55(1984)] 참조). 본 명세서의 관심 대상의 키메라 항체는 프리마티제드(PRIMATIZED)(등록상표) 항체를 포함하되, 항체의 항원-결합 영역은, 예를 들어, 관심 대상의 항원을 이용하여 마카크 원숭이를 면역화함으로써 생성된 항체로부터 유래된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "인간화된 항체"는 "키메라 항체"의 서브세트로 사용된다.

[0067] 비-인간(예를 들어, 무린) 항체, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 "인간화된" 형태는, 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 포함하는 키메라 항체이다. 일 실시형태에서, 인간화된 항체는 수용자의 HVR로부터의 잔기가 목적으로 하는 특이성, 친화도 및/또는 능력을 갖는 비-인간 종(공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 비-인간 영장류의 HVR로부터의 잔기로 대체되는 인간 면역글로불린(수용자 항체)이다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 FR 잔기는 대응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 더 나아가, 인간화된 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능, 예컨대 결

합 친화도를 추가로 개선하기 위해 이루어질 수 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 하나의, 전형적으로 2개의 가변 도메인 중 실질적으로 모두를 포함하는데, FR 영역이 항체 성능, 예컨대 결합 친화도, 이성질체화, 면역원성 등을 개선시키는 하나 이상의 개개 FR 잔기 치환을 포함할 수 있다고 해도, 초가변 루프의 모두 또는 실질적으로 모두는 비-인간 면역글로불린 서열의 초가변 루프에 대응하고, FR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 면역글로불린 서열의 FR 영역이다. FR에서 이들 아미노산 치환의 수는 전형적으로 H 쇄에서 6개 이하, 그리고 L 쇄에서 3개 이하이다. 인간화된 항체는 선택적으로 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 추가 상세한 설명을 위해, 예를 들어, 문헌[Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329(1988); 및 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596(1992)] 참조. 또한, 예를 들어, 문헌[Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433(1994)]; 및 미국 특허 제6,982,321호 및 제 7,087,409호 참조.

[0068] "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체에 대응하는 아미노산 서열을 갖고/갖거나 본 명세서에 개시된 인간 항체를 제조하기 위한 임의의 기법을 이용하여 이루어진 것이다. 인간 항체의 이런 정의는 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화된 항체를 구체적으로 제외한다. 인간 항체는 파지-디스플레이 라이브러리를 포함하는 당업계에서 공지된 다양한 기법을 이용하여 생성될 수 있다. 문헌[Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581(1991)] 참조. 또한 인간 단일클론 항체의 제조를 위해 문헌[Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991)]에 기재된 방법을 이용 가능하다. 또한 문헌[van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74(2001)] 참조. 인간 항체는 항원 시험감염에 반응하여 이러한 항체를 생성하도록 변형되지만, 이의 내인성 좌위가 망가진 유전자이식 동물, 예컨대, 면역화된 제노마우스(xenomice)에 대해 항원을 투여함으로써 제조될 수 있다(예를 들어, 제노마우스(XENOMOUSE)(상표명) 기법에 관해 미국 특허 제6,075,181호 및 제6,150,584호 참조). 또한 인간 B-세포 혼성 기법을 통해 생성된 인간 항체에 대해, 예를 들어, 문헌[Li et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)] 참조.

[0069] 본 명세서에서 사용될 때 용어 "초가변 영역", "HVR" 또는 "HV"는 서열에서 초가변이고/이거나 구조적으로 한정된 루프를 형성하는 항체-가변 도메인의 영역, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 항체 가변 도메인 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR; VH에서 3개(H1, H2, H3), 및 VL에서 3개(L1, L2, L3)를 포함한다. 천연 항체에서, H3 및 L3은 6개의 HVR의 최고의 다양성을 나타내고, 특히 H3은 항체의 미세한 특이성을 부여함에 있어서 고유한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 예를 들어, 문헌[Xu et al., *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson and Wu in *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003))] 참조. 사실, 중쇄만으로 이루어진 천연 유래 낙타 항체는 경쇄의 부재 하에서 작용성이고 안정하다. 예를 들어, 문헌[Hamers-Casterman et al., *Nature* 363:446-448 (1993) 및 Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3:733-736(1996)] 참조.

[0070] 다수의 HVR 정의를 사용 중이며, 본 명세서에 포함된다. EU 또는 Kabat 상보성-결정 영역(CDR)인 HVR은 서열 가변성에 기반하며, 가장 통상적으로 사용된다(Kabat et al., 상기 참조). 대신에 코티아는 구조적 루프의 위치를 지칭한다(Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917(1987)). AbM HVR은 EU 또는 카바트 CDR과 코티아 구조적 루프 사이의 절충을 나타내고, 옥스포드 몰레큘러 AbM 항체-모델링 소프트웨어(Oxford Molecular's AbM antibody-modeling software)에 의해 사용된다. "접촉" HVR은 이용 가능한 복합 결정 구조의 분석에 기반한다. 각각의 이들 HVR로부터의 잔기를 이하에서 주목한다.

루프	카바트	AbM	코티아	접촉
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (카바트 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (코티아 넘버링)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0071]

[0072] HVR은 다음과 같이 "연장된 HVR"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34(L1), 46-56 또는 50-56(L2), 및 89-97 또는 89-96(L3), 및 VH에서 26-35 (H1), 50-65 또는 49-65(바람직한 실시형태)(H2), 및 93-102, 94-102 또는 95-102(H3). 가변-도메인 잔기는 각각의 이들 연장된-HVR 정의에 대해 EU 또는 문헌[Kabat et al., 상기

참조]에 따라 넘버링된다.

- [0073] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본 명세서에 정의된 HVR 잔기 이외의 해당 가변-도메인 잔기이다.
- [0074] 어구 "EU 또는 카바트에서와 같은 가변-도메인 잔기-넘버링" 또는 "EU 또는 카바트에서와 같은 아미노산 위치 넘버링" 및 이의 변이체는 EU 또는 문헌[Kabat et al., 상기 참조]에서 항체편성의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 대해 사용되는 넘버링 시스템을 지칭한다. 이 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선행 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축 또는 이들 내로의 삽입에 대응하는 더 소수의 또는 추가적인 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52 다음에 단일 아미노산 삽입(카바트에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 다음에 삽입 잔기(예를 들어, 카바트에 따른 잔기 82a, 82b 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 EU 또는 카바트 넘버링은 "표준" 카바트 넘버링 서열을 갖는 항체 서열의 상동체 영역에서의 배열에 의해 주어진 항체에 대해 결정될 수 있다.
- [0075] EU 또는 카바트 넘버링 시스템은 가변 도메인에서의 잔기(대략 경쇄의 잔기 1 내지 107 및 중쇄의 잔기 1 내지 113)를 지칭할 때 일반적으로 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)] 참조). "EU 또는 카바트 넘버링 시스템" 또는 "EU 지표"는 일반적으로 면역글로불린 중쇄 불변 영역 내 잔기를 지칭할 때 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat et al., 상기 참조]에서 보고되는 EU 지표). "카바트에서와 같은 EU 지표"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다. 본 명세서에서 달리 언급되지 않는 한, 항체의 가변 도메인에서 잔기 수에 대한 언급은 카바트 넘버링 시스템에 의한 잔기 넘버링을 의미한다. 본 명세서에서 달리 언급되지 않는 한, 항체의 불변 도메인에서 잔기 수에 대한 언급은 EU 또는 카바트 넘버링 시스템에 의한 잔기 넘버링을 의미한다(예를 들어, 미국 특허 공개 제2010-280227호 참조).
- [0076] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "엑셉터 인간 프레임워크"는 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크로부터 유래된 VL 또는 VH 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크"로부터 유래된 엑셉터 인간 프레임워크는 이의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 사전 존재하는 아미노산 서열 변화를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 사전 존재하는 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하 또는, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하 또는 2개 이하이다. 사전 존재하는 아미노산 변화가 VH에 존재하는 경우, 바람직한 해당 변화는 위치 71H, 73H 및 78H 중 단지 3, 2 또는 1개에서 생기며; 예를 들어, 해당 위치에서 아미노산 잔기는 71A, 73T 및/또는 78A일 수 있다. 일 실시형태에서, VL 엑셉터 인간 프레임워크는 VL 인간 면역글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 공통 프레임워크 서열에 대한 서열에서 동일하다.
- [0077] "인간 공통 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 통상적으로 생기는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위그룹으로부터 유래된다. 일반적으로, 서열의 하위그룹은 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)]에서와 같은 하위그룹이다. 예는 VL을 포함하며, 하위 그룹은 문헌[Kabat et al., 상기 참조]에서와 같은 하위그룹 카파 I, 카파 II, 카파 III 또는 카파 IV일 수 있다. 추가적으로, VH에 대해, 하위 그룹은 문헌[Kabat et al., 상기 참조]에서와 같은 하위그룹 I, 하위그룹 II 또는 하위그룹 III일 수 있다.
- [0078] 예를 들어, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 구체화된 위치에서 "아미노산 변형"은 구체화된 잔기의 치환 또는 결실, 또는 구체화된 잔기에 인접한 적어도 하나의 아미노산 잔기의 삽입을 지칭한다. 구체화된 잔기에 "인접한" 삽입은 이의 1 내지 2개의 잔기 내의 삽입을 의미한다. 삽입은 구체화된 잔기에 대해 N-말단 또는 C-말단일 수 있다. 본 명세서의 바람직한 아미노산 변형은 치환이다.
- [0079] "친화도-성숙" 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 해당 변경(들)을 갖지 않는 모 항체에 비해 항원에 대한 항체 친화도의 개선을 초래하는 하나 이상의 HVR에서 하나 이상의 변경을 갖는 것이다. 일 실시형태에서, 친화도-성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰 친화도를 가진다. 친화도-성숙 항체는 당업계에 공지된 절차에 의해 생성된다. 예를 들어, 문헌[Marks et al., Bio/Technology 10:779-783(1992)]은 VH- 및 VL-도메인 서플링에 의한 친화도 성숙을 기재한다. HVR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은, 예를 들어: 문헌[Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813(1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004(1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9(1995); 및 Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896(1992)]에 의해 기재된다.

- [0080] 본 명세서에서 사용되는 용어 "**특이적으로 인식하는**" 또는 "**특이적으로 결합하는**"은 생물학적 분자를 포함하는 분자의 이중성 집단의 존재 하에서 표적의 존재를 결정하는, 표적과 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 사이의 끌어당김 또는 결합과 같은 측정 가능하고 재현 가능한 상호작용을 지칭한다. 예를 들어, 표적 또는 에피토프에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 그것이 다른 표적 또는 표적의 다른 에피토프에 결합하는 것 보다 더 큰 친화도, 아비디티로 더 용이하게 그리고/또는 더 큰 지속기간으로 이 표적 또는 에피토프에 결합하는 항체이다. 또한 이 정의를 읽음으로써, 예를 들어, 제1 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체(또는 모이어티)는 제2 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수도 있거나 또는 결합하지 않을 수도 있는 것으로 이해된다. 이렇게 해서, "**특이적 결합**" 또는 "**우선적 결합**"은 (그것이 배타적 결합을 포함할 수는 있지만) 배타적 결합을 반드시 필요로 하지는 않는다. 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 적어도 약 10^3 M^{-1} 또는 10^4 M^{-1} , 때때로 약 10^5 M^{-1} 또는 10^6 M^{-1} , 다른 예에서 약 10^6 M^{-1} 또는 10^7 M^{-1} , 약 10^8 M^{-1} 내지 10^9 M^{-1} , 또는 약 10^{10} M^{-1} 내지 10^{11} M^{-1} 이상의 해리 상수를 가질 수 있다. 다양한 면역분석 형식은 특정 단백질과 특이적으로 면역반응성인 항체를 선택하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 단백질과 특이적으로 면역반응성인 단일클론 항체를 선택하기 위해 고체상 ELISA 면역분석이 일상적으로 사용된다. 특이적 면역반응성을 결정하기 위해 사용될 수 있는 면역분석 형식 및 조건의 설명을 위해, 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York] 참조.
- [0081] 본 명세서에서 사용되는 Siglec-9 단백질과 제2 단백질 사이의 "**상호작용**"은, 제한 없이, 단백질-단백질 상호작용, 물리적 상호작용, 화학적 상호작용, 결합, 공유 결합 및 이온 결합을 포함한다. 항체가 두 단백질 사이의 상호작용을 파괴하거나, 감소시키거나 또는 완전히 제거할 때 두 단백질 사이에서 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 항체가 "상호작용을 저해한다". 본 개시내용의 항체 또는 이의 단편은 항체 또는 이의 단편이 두 단백질 중 하나에 결합할 때 두 단백질 사이의 "상호작용을 저해한다".
- [0082] "**작용제**" 항체 또는 "**활성화**" 항체는 항체가 항원에 결합한 후에 항원의 하나 이상의 활성 또는 기능을 유도하는(예를 들어, 증가시키는) 항체, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체이다.
- [0083] "**차단**" 항체, "**길항제**" 항체, 또는 "**저해**" 항체는 항체가 항원에 결합한 후에 하나 이상의 리간드에 대한 항원 결합을 저해하거나 또는 감소시키는(예를 들어, 줄이는) 그리고/또는 항체가 항원에 결합한 후 항원의 하나 이상의 활성 또는 작용을 저해하거나 또는 감소시키는(예를 들어, 줄이는) 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 차단 항체, 길항제 항체, 또는 저해 항체는 하나 이상의 리간드에 대한 항원 결합 및/또는 항원의 하나 이상의 활성 또는 작용을 실질적으로 또는 완전히 저해한다.
- [0084] 항체 "**효과기 기능**"은 항체의 Fc 영역(천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 해당 생물학적 활성을 지칭하고, 항체 아이소타입에 따라 다르다.
- [0085] 본 명세서의 용어 "**Fc 영역**"은 천연-서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단의 영역을 정하기 위해 사용된다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 변할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 보통 위치 Cys226에서 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 이의 카복실 말단까지 신장하는 것으로 정의된다. Fc 영역의 C-말단의 라이신(EU 또는 카바트 넘버링 시스템에 따른 잔기 447)은, 예를 들어, 항체의 생성 또는 정제 동안, 또는 항체의 중쇄를 암호화하는 핵산을 재조합적으로 조작함으로써 제거될 수 있다. 따라서, 무손상 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 집단, 및 K447 잔기가 있거나 또는 없는 항체의 혼합물을 갖는 항체 집단을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 항체에서 사용하기 위한 적합한 천연-서열 Fc 영역은 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함한다.
- [0086] "**천연 서열 Fc 영역**"은 천연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역(비-A 및 A 동종이인자형); 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역뿐만 아니라 이의 천연 유래 변이체를 포함한다.
- [0087] "**변이체 Fc 영역**"은 적어도 하나의 아미노산 변형, 바람직하게는 하나 이상의 아미노산 치환(들) 때문에 천연 서열 Fc 영역과 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역에 비해 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환, 예를 들어, 천연 서열 Fc 영역에서 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역에서 약 1 내지 약 10개의 아미노산 치환, 바람직하게는 약 1 내지 약 5개의 아미노산 치환을 가진다. 본 명세서의 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역과 그리고/또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역과 적어도 약 80% 상동성, 가장 바람직하게는 그와 적어도 약 90% 상동성, 더 바람직하게는 그와 적어도

약 95% 상동성을 가질 것이다.

- [0088] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재한다. 바람직한 FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 게다가, 바람직한 FcR은 IgG 항체(감마 수용체)에 결합하고, Fc γ RI, Fc γ RRI 및 Fc γ RRII 하위부류의 수용체(이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함)를 포함하는 것이며, Fc γ RRII 수용체는 주로 이의 세포질 도메인에서 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는 Fc γ RRIIA("활성화 수용체") 및 Fc γ RRIIB("저해 수용체")를 포함한다. 활성화 수용체 Fc γ RRIIA는 그의 세포질 도메인 내에 면역수용체 타이로신-기반 활성화 모티프("ITAM")를 포함한다. 수용체 Fc γ RRIIB를 저해하는 것은 그의 세포질 도메인에서 면역수용체 타이로신-기반 저해 모티프("ITIM")를 함유한다. (예를 들어, 문헌[M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234(1997)] 참조). FcR은 문헌[Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel et al., *Immunomethods* 4:25-34(1994); 및 de Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41(1995)]에서 검토된다. 장래에 동정되는 것을 포함하는 다른 FcR은 본 명세서의 용어 "FcR"에 의해 포함된다. FcR은 또한 항체의 혈청 반감기를 증가시킬 수 있다.
- [0089] 생체내 FcRn에 대한 결합 및 인간 FcRn 고친화도 결합 폴리펩타이드의 혈청 반감기는, 예를 들어, 인간 FcRn을 발현시키는 유전자이식 마우스 또는 형질감염된 인간 세포주에서, 또는 변이체 Fc 영역을 갖는 폴리펩타이드가 투여되는 영장류에서 분석될 수 있다. WO 2004/42072(Presta)는 FcR에 대해 개선된 또는 감소된 결합을 갖는 항체 변이체를 기재한다. 또한 예를 들어, 문헌[Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604(2001)] 참조.
- [0090] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 항체 서열에 대해 "아미노산 서열 동일성 백분율(%)" 및 "상동성"은, 필요하다면, 최대 백분율 서열 동일성을 달성하기 위해 서열 및 도입 갭을 정렬시킨 후에, 서열 동일성의 부분으로서 임의의 보존적 치환을 고려하지 않고, 특정 펩타이드 또는 폴리펩타이드 서열에서 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내 아미노산 잔기의 백분율을 지칭한다. 아미노산 서열 동일성 백분율을 결정하는 목적을 위한 정렬은 당업계의 기술 내의 다양한 방법, 예를 들어, 공공연하게 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 MEGALIGN(상표명)(DNASTAR) 소프트웨어로 달성될 수 있다. 당업자는 비교 중인 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하기 위해 필요한 당업계에 공지된 임의의 알고리즘을 포함하여, 정렬을 측정하기 위한 적절한 매개변수를 결정할 수 있다.
- [0091] "단리된" 세포는 그것이 생성된 환경에서 그것이 본래 관련된 적어도 하나의 오염물질 세포로부터 동정되고 분리된 분자 또는 세포이다. 일부 실시형태에서, 단리된 세포는 생성 환경과 관련된 모든 성분과 관련이 없다. 단리된 세포는 천연에서 발견된 형태 또는 상황이 아닌 형태이다. 단리된 세포는 조직, 기관 또는 개체에서 자연적으로 존재하는 세포와 구별된다. 일부 실시형태에서, 단리된 세포는 본 개시내용의 숙주 세포이다.
- [0092] 항체, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 "단리된" 핵산 분자는 그것이 생성된 환경에서 그것이 본래 관련된 적어도 하나의 오염 핵산으로부터 동정되고 분리된 핵산 분자이다. 바람직하게는, 단리된 핵산은 생성 환경과 관련된 모든 성분과 관련이 없다. 본 명세서의 폴리펩타이드 및 항체를 암호화하는 단리된 핵산 분자는 그것이 자연에서 발견되는 형태 또는 상황이 아닌 형태이다. 따라서 단리된 핵산 분자는 세포에서 자연적으로 존재하는 본 명세서의 폴리펩타이드 및 항체를 암호화하는 핵산과 구별된다.
- [0093] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "벡터"는 그것이 연결된 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭하는 것으로 의도된다. 한 가지 유형의 벡터는 "플라스미드"인데, 이는 추가적인 DNA 세그먼트가 결합될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA를 지칭한다. 다른 유형의 벡터는 파지 벡터이다. 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터이되, 추가적인 DNA 세그먼트는 바이러스 게놈 내로 결합될 수 있다. 특정 벡터는 그들이 도입된 숙주 세포에서 자율적 복제를 할 수 있다(예를 들어, 박테리아 복제 기점 및 에피솜 포유류 벡터를 갖는 박테리아 벡터). 다른 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유류 벡터)는 숙주 세포 내로 도입 시 숙주 세포의 게놈 내로 통합될 수 있고, 이에 의해 숙주 게놈과 함께 복제된다. 게다가, 특정 벡터는 그들이 조작 가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본 명세서에서 "재조합 발현 벡터" 또는 단순히, "발현 벡터"로서 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기법에서 효용의 발현 벡터는 종종 플라스미드 형태이다. 본 명세서에서, "플라스미드" 및 "벡터"는 플라스미드가 가장 통상적으로 사용되는 벡터 형태이기 때문에 상호 호환적으로 사용될 수 있다.
- [0094] 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되는 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하며, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기 및/또는 그들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해 또는 합성 반응에 의해 중합체에 혼입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨

대 메틸화된 뉴클레오타이드 및 그들의 유사체를 포함할 수 있다. 존재한다면, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전에 또는 후에 부여될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열은 비-뉴클레오타이드 성분에 의해 방해될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 합성 후에 이루어진 변형(들), 예컨대 표지에 대한 접합을 포함할 수 있다. 다른 유형의 변형은, 예를 들어, "캡", 천연 유래 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 유사체로의 치환, 뉴클레오타이드간 변형, 예를 들어, 비하전 연결을 갖는 것(예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트라이에스터, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전된 연결을 갖는 것(예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로다이트오에이트 등), 현수 모이어티를 포함하는 것, 예를 들어, 단백질(예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩타이드, 폴리-L-라이신 등), 삽입제를 갖는 것(예를 들어, 아크리딘, 소랄렌 등), 킬레이터를 포함하는 것(예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화 금속 등), 알킬화제를 함유하는 것, 변형된 결합을 갖는 것(예를 들어, 알파 방향족 핵산 등)뿐만 아니라 폴리뉴클레오타이드(들)의 비변형 형태를 포함한다. 추가로, 당 내에 보통 존재하는 임의의 하이드록실기는, 예를 들어, 포스포네이트기, 포스페이트기로 대체될 수 있거나, 표준 보호기로 보호되거나, 또는 추가적인 뉴클레오타이드에 대한 추가적인 결합을 만들도록 활성화되거나, 또는 고체 또는 반고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단의 OH는 인산화되거나 또는 아민 또는 1 내지 20개의 탄소 원자의 유기 캡핑기 모이어티로 치환될 수 있다. 다른 하이드록실은 또한 표준 보호기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 일반적으로 당업계에 공지된 리보스 또는 데옥시 리보스 당의 유사체 형태(예를 들어, 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴-, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 탄소환식 당 유사체, α-방향족 당, 에피머 당, 예컨대 아라비노스, 자일로스 또는 락소오스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도헥스로스, 비환식 유사체, 및 염기성 뉴클레오사이드 유사체, 예컨대 메틸 리보스를 포함)를 포함할 수 있다. 하나 이상의 포스포다이에스터 결합은 대안의 연결기로 대체될 수 있다. 이들 대안의 연결기는 포스페이트가 P(O)S("티오에이트"), P(S)S("다이트오에이트"), (O)NR₂("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH₂("폼아세탈")로 대체되는 실시형태를 포함하지만, 이들로 제한되지 않으며, 이때 각각의 R 또는 R'은 독립적으로 (-O-) 결합, 알릴, 알켄릴, 사이클로알킬, 사이클로알켄릴 또는 아랄릴 중 하나를 선택적으로 포함하는 치환 또는 비치환 알킬(1-20 C) 또는 H이다. 폴리뉴클레오타이드의 모든 결합은 동일할 필요가 없다. 앞의 설명은 RNA 및 DNA를 포함하는 본 명세서에서 언급되는 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용된다.

[0095] "숙주 세포"는 폴리뉴클레오타이드 삽입물의 혼입을 위한 벡터(들)에 대한 수용자일 수 있거나 또는 수용자인 개개 세포 또는 세포 배양물을 포함한다. 숙주 세포는 단일 숙주 세포의 자손을 포함하고, 자손은 천연, 우연적 또는 의도적인 돌연변이에 기인하여 본래의 모 세포와 (형태 또는 게놈 DNA 상보체가) 완전히 동일할 필요는 없다. 숙주 세포는 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(들)에 의해 생체내에서 형질감염된 세포를 포함한다.

[0096] 본 명세서에서 사용되는 "담체"는 사용되는 투약량 및 농도에서 그것이 노출되는 세포 또는 포유류에 대해 비독성인 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제를 포함한다. 종종 생리적으로 허용 가능한 담체는 수성 pH 완충 용액이다. 생리적으로 허용 가능한 담체의 예는 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산; 아스코르브산을 포함하는 항산화제; 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 알기닌 또는 라이신; 당당류, 이당류, 및 기타 탄수화물(글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함); 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당 알코올, 예컨대 만니톨 또는 솔비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)(상표명), 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 플루로닉스(PLURONICS)(상표명)를 포함한다.

[0097] 본 명세서에 기재된 용어 "세포자멸사" 세포내 세포 파괴의 유전자 관련 과정을 지칭한다. 세포자멸사는 괴사와 별개이며, 이는 세포골격 파괴, 세포질 수축 및 축합, 세포막 외면 상에서 포스포티딜세린의 발현 및 기포형성을 포함하여 세포막 결합 소포 또는 세포자멸사 몸체의 형성을 초래한다. 상기 과정은 또한 "세포예정사"로 지칭된다. 세포자멸사 동안, 특징적 현상, 예컨대 곡선 세포 표면, 핵 염색질의 축합, 염색체 DNA의 단편화 및 미토콘드리아 기능의 상실에 관찰된다. 세포자멸사를 검출하기 위해 다양한 공지된 기법, 예컨대 아넥신 V, 요오드화 프로피듐, DNA 단편화 분석 및 YO-PRO-1(인비트로젠(Invitrogen))을 이용하는 세포 염색이 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 아넥신 V 및 요오드화 프로피듐을 이용하는 염색이 사용될 수 있고, 아넥신 V+/PI-, 아넥신 V+/PI+ 및 아넥신 V-/PI+ 집단의 조합된 백분율은 사멸 세포로서 고려된다.

[0098] 본 명세서에 기재된 용어 "Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 제제"는 시험관내, 인시주 및/또는 생체내에서 Siglec-9(포유류, 예컨대 인간 Siglec-9) 생물학적 활성을 감소시키거나(상당히 포함), 줄이거나, 차단시키거나, 저해하거나 또는 방해하는 분자를 지칭한다. 용어 "제제"는 어떤 것이든 생물학적 작용의 특정 메커니즘을 나타내지 않으며, 직

접적이든 또는 간접적이든 Siglec-9와의 모든 가능한 약학적, 생리적 및 생화학적 상호작용, 및 Siglec-9, 그의 리간드 중 하나 이상과의, 또는 다양하게 상이한 그리고 화학적으로 다양한 조성물에 의해 달성될 수 있는 다른 메커니즘 및 그의 결과를 통해, 상호작용하는지의 여부를 명백하게 포함한다. 예시적인 제제는 Siglec-9에 특이적으로 결합하는 항-Siglec-9 항체, 가용성 Siglec-9 수용체 단백질, 가용성 Siglec-9Fc 융합 단백질(예를 들어, Siglec-9 면역접합체), Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, Siglec-9 리간드에 결합하는 Siglec-Fc 융합 단백질(예를 들어, Siglec 면역접합체), Siglec-9를 암호화하는 핵산에 관한 안티센스 분자, Siglec-9를 암호화하는 핵산에 관한 짧은 간섭 RNA("siRNA")분자, Siglec-9 저해 화합물, Siglec-9에 결합하는 RNA 또는 DNA 앵타머, 및 Siglec-9 구조적 유사체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 저해제(예를 들어, 항체)는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 제제에 결합하고(물리적으로 상호작용하고), Siglec-9 리간드에 결합하고/하거나, Siglec-9 합성 또는 생성을 저해한다(감소시킨다). 다른 실시형태에서, 본 개시내용의 저해제 제제는 Siglec-9에 결합하고, 그의 리간드 중 하나 이상에 대한 그의 결합을 방지한다. 또 다른 실시형태에서, 본 개시내용의 제제는 Siglec-9의 발현(즉, 전사 또는 번역)을 감소시키거나 또는 제거한다. Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 제제 유형의 예가 본 명세서에 제공된다.

[0099] 본 명세서에 기재된 용어 "Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 제제"는 Siglec-9 단백질과 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 분자를 지칭한다. 용어 "제제"는 어떤 것이든 생물학적 작용의 특정 메커니즘을 나타내지 않으며, 직접적이든 또는 간접적이든 Siglec-9와의 모든 가능한 약학적, 생리적 및 생화학적 상호작용, 및 Siglec-9와의, 또는 다양하게 상이한 그리고 화학적으로 다양한 조성물에 의해 달성될 수 있는 다른 메커니즘 및 그의 결과를 통해, 상호작용하는지의 여부를 명백하게 포함한다. 예시적이니 제제는 Siglec-9에 특이적으로 결합하는 항-Siglec-9 항체를 포함하지만, 이것으로 제한되지 않는다.

[0100] 본 명세서에 기재된 용어 "RNA 간섭" 또는 "RNAi"는 일반적으로 이중 가닥 RNA 분자 또는 짧은 헤어핀 RNA 분자가 이중 가닥 또는 짧은 헤어핀 RNA 분자와 실질적인 또는 전체 상동성을 공유하는 핵산 서열의 발현을 감소시키거나 또는 저해하는 과정을 지칭한다. 용어 "짧은 간섭 RNA" 또는 "siRNA" 또는 "RNAi 제제"는 RNA 간섭을 유발하는 RNA 서열을 지칭한다. 크루저(Kreutzer) 등의 WO 00/44895; 제르니카-코에츠(Zernicka-Goetz) 등의 WO 01/36646; 파이어(Fire)의 WO 99/32619; 멜로 및 파이어(Mello and Fire)의 WO 01/29058 참조. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, siRNA 분자는 화학적으로 변형된 뉴클레오타이드 및 비-뉴클레오타이드를 포함하는 RNA 분자를 포함한다. 용어 "ddRNAi 제제"는 외인성 벡터로부터 전사된 DNA-관련 RNAi 제제를 지칭한다. 용어 "짧은 헤어핀 RNA" 또는 "shRNA"는 이중가닥 영역 및 루프 영역을 갖는 RNA 구조를 지칭한다. 특정 실시형태에서, ddRNAi 제제는 초기에 shRNA로서 발현된다.

[0101] 본 명세서에 기재된 용어 "앵타머"는 목적으로 하는 분자 표적에 단단하게 그리고 특이적으로 결합할 수 있는 이중성 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어, 통상적인 대사 보조인자(예를 들어, 조효소 A, S-아데노실 메티오닌 등), 단백질(예를 들어, 상보체 단백질 C5, 항체 등), 또는 핵산 분자에서 보존된 구조적 요소(예를 들어, 전사 인자 등의 결합에 중요한 구조)를 지칭한다. 앵타머는 전형적으로 길이가 약 10 내지 약 100개의 뉴클레오타이드, 길이가 약 10 내지 약 75개의 뉴클레오타이드, 길이가 약 10 내지 약 50개의 뉴클레오타이드, 길이가 약 10 내지 약 35개의 뉴클레오타이드 및 길이가 약 10 내지 약 25개의 뉴클레오타이드의 범위인 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 합성 DNA 또는 RNA 올리고뉴클레오타이드는 표준 고체상 포스포르아미다이트 방법 및 기기를 이용하여, 예컨대, 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems)(캘리포니아주 포스터 시티에 소재)로부터 입수 가능한 3900 고처리율 DNA 합성기(3900 High Throughput DNA Synthesizer)를 이용함으로써 제조될 수 있다. 앵타머는 뉴클레아제에 대한 저항, 결합 아비디티를 증가시키기 위해, 또는 다르게는 그들의 약동학적 특성을 변경시키기 위해 골격 또는 연결 변형(예를 들어, 펩타이드 핵산(PNA) 또는 포스포티오에이트 결합)을 포함하는 DNA 및 RNA(예를 들어, A, G, C 및 T/U)에서 발견되는 통상적으로 생기는 뉴클레오타이드의 유도체 또는 유사체를 빈번하게 혼입한다. 예시적인 변형은 미국 특허 제6,455,308호; 제4,469,863호; 제5,536,821호; 제5,541,306호; 제5,637,683호; 제5,637,684호; 제5,700,922호; 제5,717,083호; 제5,719,262호; 제5,739,308호; 제5,773,601호; 제5,886,165호; 제5,929,226호; 제5,977,296호; 제6,140,482호; 및 WIPO 공개 W000/56746 및 W001/14398에서 제시된다. 이러한 유사체 또는 유도체를 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 합성하는 방법은, 예를 들어, 상기 인용한 특허 공보에서, 그리고 미국 특허 제6,455,308호; 제5,614,622호; 제5,739,314호; 제5,955,599호; 제5,962,674호; 제6,117,992호; 및 WO 00/75372에 개시된다.

[0102] 본 명세서에 사용된 용어 "약"은 당업자에게 용이하게 알려진 각각의 값에 대한 보통의 오차 범위를 지칭한다.

본 명세서의 "약" 값 또는 매개변수에 대한 언급은 특정 값 또는 매개변수에 관한 실시형태를 포함한다(그리고 기재한다).

[0103] 본 명세서에서 사용되고 첨부하는 청구 범위에서, 단수의 형태는 문맥에서 달리 명확하게 나타내지 않는 한 복수의 대상을 포함한다. 예를 들어, "항체"에 대한 언급은 하나 내지 다수의 항체, 예컨대 몰량에 대한 언급이며, 당업자에게 공지된 동등물 등을 포함한다.

[0104] 본 명세서에 기재된 본 개시내용의 양상 및 실시형태는 "포함하는", "이루어진" 및 "본질적으로 이루어진" 양상 및 실시형태를 포함한다는 것이 이해된다.

[0105] **개요**

[0106] 본 개시내용은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드와의 상호작용을 저해하거나, 또는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는 일 없이 그리고/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 일 없이 Siglec-9에 결합하는 제제(예를 들어, 항-Siglec-9 항체); 이러한 제제(예를 들어, 항-Siglec-9 항체)를 제조하고 이용하는 방법; 이러한 제제(예를 들어, 항-Siglec-9 항체)를 함유하는 약제학적 조성물; 이러한 제제(예를 들어, 항-Siglec-9 항체)를 암호화하는 핵산; 및 이러한 제제(예를 들어, 항-Siglec-9 항체)를 암호화하는 핵산을 함유하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0107] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 천연 글리칸 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 항체의 능력에 적어도 부분적으로 기인하는 하나 이상의 길항적 활성을 가진다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 분해, 하향 조절, 절단, 수용체 탈민감성, 및/또는 Siglec-9의 리소좀 표적화를 유도함으로써 Siglec-9의 세포 발현(예를 들어, 세포 표면 발현)을 감소시키는 항체의 능력에 적어도 부분적으로 기인하는 하나 이상의 길항적 활성을 가질 수 있다.

[0108] 일부 실시형태에서, 항체-유도 Siglec-9 활성은 Siglec-9에 노출된 항체 밀도를 증가시키기 위해 전장 항-Siglec-9 항체의 플레이트-결합을 시험하는 것, 2차 항체와 항-Siglec-9 항체를 가교시키는 것, 하나 이상의 Fcg 수용체(예를 들어, FcγRIIB)를 발현시키는 세포와 항-Siglec-9 항체를 가교시키는 것, 용액 중의 Siglec-9 항체를 이용하는 것, 및 Siglec-9 항체의 Fab 단편을 이용하는 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 본 명세서에 개시된 임의의 기법(예를 들어, **실시예 1 내지 5**)에 의해 시험관내에서 결정되거나 또는 시험될 수 있다.

[0109] 본 개시내용의 특정 양상은 Siglec-9에 대한 결합을 위해 하나 이상의 Siglec-9 리간드와 경쟁하는 능력 및/또는 세포 상에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키는 능력을 나타내어, 하나 이상의 Siglec-9 활성의 감소, 중화, 방지 또는 커빙(curbing)을 초래하는 항-Siglec-9 항체와 같은 제제의 동정에 적어도 부분적으로 기반한다. 예시적인 Siglec-9 활성은 Src 패밀리 타이로신 키나제, 예컨대 Syk, LCK, FYM 및/또는 ZAP70에 의한 Tyr-433 및 Tyr-456의 인산화; 타이로신-특이적 단백질 포스포타제 SHP1 및 SHP2의 동원 및 이에 대한 결합; 다이나미니-1(Dynamin-1)에 대한 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자로서 작용하는 PLC-감마1의 동원 및 이에 대한 결합; SH2-도메인 포함 단백질(예를 들어, Crkl)의 동원 및 이에 대한 결합; 비장 타이로신 키나제 Syk의 동원 및 이에 대한 결합; SH3-SH2-SH3 성장 인자 수용체-결합 단백질 2(Grb2)의 동원 및 이에 대한 결합; 다중 SH2-함유 단백질의 동원 및 이에 대한 결합; 하나 이상의 전염증성 사이토카인, 예컨대 FN-α4, IFN-베타, IL-1β, IL-1α, TNF-α, IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리 구성원, LIF, IFN-γ, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, CRP, MCP-1 및 MIP-1-베타의 조절된 발현; 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 조절된 발현; 하나 이상의 항-염증성 사이토카인, 예컨대 IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-베타, IL-1Ra, G-CSF, 및 TNF, IFN-베타1a, IFN-베타1b 또는 IL-6에 대한 가용성 수용체의 증가된 발현; 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 조절된 발현; C1qa, C1qb, C1qc, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및 PYCARD로부터 선택된 하나 이상의 단백질의 조절된 발현; 세포의 신호-조절 키나제(ERK) 인산화의 저해; 하나 이상의 세포 단백질 상에서 타이로신 인산화의 감소(선택적으로, 여기서 하나 이상의 세포 단백질은 ZAP-70을 포함하고, 타이로신 인산화는 ZAP-70의 Tyr-319 상에서 생김); C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)의 조절된 발현; CCL19-발현 및 CCL21-발현 세포에 대한 미세아교세포 주화성의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포, M2 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포,

M2 대식세포, M2 호중구 및 M2 NK 세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에 의해 유도된 T 세포 증식의 감소; 과골세포 생성, 감소된 비율의 과골세포형성, 또는 둘 다의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 생존 감소; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 증식 감소; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 하나 이상의 기능의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 성숙 저해; 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 기타 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스, 및 종양 세포 클리어런스로부터 선택된 한 가지 이상의 유형의 클리어런스의 저해; (선택적으로 여기서 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 췌도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔슬린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되고, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 및 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 또는 종양 세포 중 하나 이상의 식세포작용의 저해; (선택적으로 여기서 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 췌도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔슬린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되며, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 또는 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 종양 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; 호중구, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포 및 NK 세포로부터 선택된 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 저해; 미세아교세포, 대식세포

포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 증식 활성의 저해; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 전이 활성의 저해; 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체의 저해(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체는 TREM1, TREM2, Sirp 베타, FcγR, DAP10 및 DAP12로부터 선택됨); 하나 이상의 패턴 인식 수용체(PRR)에 의한 신호전달의 저해(선택적으로 여기서, 하나 이상의 PRR은 병원균-관련 분자 패턴(PAMP)을 동정하는 수용체, 손상-관련 분자 패턴(DAMP)을 동정하는 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택됨); 모티프 D/Ex₀₋₂YxxL/IX₀₋₈YxxL/I(서열번호 252)을 포함하는 하나 이상의 수용체의 저해; 하나 이상의 톨-유사 수용체에 의한 신호전달의 저해; JAK-STAT 신호전달 경로의 저해; 활성화된 B 세포의 핵인자 카파-경쇄 인헨서(NFκB)의 저해; ITAM 모티프 포함 수용체의 탈인산화; 하나 이상의 염증 수용체의 조절된 발현, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체(선택적으로 여기서, 하나 이상의 염증 수용체, 면역 세포 상에서 발현된 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체는 CD86, C1qα, C1qβ, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, 및/또는 PYCARD를 포함하고, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); 하나 이상의 Siglec-9-의존적 유전자의 발현 증가; 파괴된 Siglec-9-의존적 유전자 발현의 정상화; 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자 발현의 감소(선택적으로 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자는 활성화된 T 세포(NFAT) 전사 인자의 핵 인자에 의해 활성화됨); 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성을 촉진시키거나 또는 구조함; 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 증가; 종양에서, 말초 혈액에서 또는 다른 림프구 기관에서 종양-촉진 골수성/파립구 면역-억제 세포 수의 증가; 골수-유래 억제자 세포의 종양-촉진 활성의 향상; 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-촉진 사이토카인의 발현 증가(선택적으로 여기서, 종양-촉진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10임); 종양-촉진성 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가; 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 종양-촉진 활성의 향상; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; NK 세포의 종양 사멸 잠재력 감소; 면역반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양 특이적 B 림프구의 침윤 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; 종양 용적 증가; 종양 성장 속도의 증가; 전이의 증가; 종양 재발 속도의 증가; 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역 요법의 효능 감소(선택적으로 여기서, 한 가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG-3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 한 가지 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역요법, 또는 한 가지 이상의 암 백신임); PLCγ/PKC/칼슘 가동성의 저해; PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0110] 일부 실시형태에서, 제제, 예컨대 Siglec-9 차단 항체를 이용하는 암의 치료: (i) 종양에서, 말초 혈액에서, 그리고 암 환자의 림프 기관에서 축적되는 종양-촉진 골수성/파립구 면역-억제 세포의 생존, 증식, 성숙, 분화 및/또는 작용성을 직접적으로 또는 간접적으로 감소시키고; (ii) 종양에서, 말초 혈액에서, 그리고 암 환자의 다른 림프 기관에서 종양-촉진 골수성/파립구 면역-억제 세포 수의 감소시키며; (iii) 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 종양-촉진 활성 차단하고; (iv) 종양에서 그리고 암 환자의 말초 혈액에서 종양-촉진 사이토카인, 예컨대 TGF-베타 및 IL-10의 발현 감소시키고; (v) 종양에서 종양-촉진 FoxP3+ 조절 T 림프구 침윤 감소시키며; (vi) 종양 사멸 잠재력을 갖는 T 림프구의 침윤 및 활성화 증가시키고; (vii) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 증가시키며; (viii) NK 세포의 종양 사멸 잠재력 증가시키고; (ix) 면역반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 증가시키며; (x) 종양 용적 감소시키고; (xi) 종양 성장 속도 감소시키며; (xii) 전이의 감소 및/또는 저해시키고; (xiii) 종양 재발 속도 감소시키며; (xiv) 항-종양 T 세포 반응, 예컨대 PD1/PDL1, CTLA4, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, KIR, GAL9, CD2, CD5, CD39, CD73, CD30, TIGIT, VISTA, TIM1, TIM3, TIM4, 및 암 백신을 조절하는 면역 요법 효능 증가, (xv) PLCγ/PKC/칼슘 가동을 유도, 활성화 또는 달리 증가시키고; 그리고 (xvi) PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달을 유도, 활성화 또는 달리 증가시킨다.

- [0111] 면역억제자 세포는 때때로 또한 골수-유래 억제자 세포(MDSC)로서 지칭된다. 인간에서, MDSC는 마커의 다음의 조합 중 하나에 의해 정해질 수 있다: (1) $CD14^+ HLA-DR^{low/-}$, (2) $CD14^+ IL4R\alpha^+$, (3) $CD14^+ HLA-DR^- IL4R\alpha^+$, (4) $CD34^+ CD14^+ CD11b^+ Siglec-9^+$, (5) $CD11b^+ CD14^+ Siglec-9^+$, (6) $Siglec-9^+ HLA-DR^-$, (7) $Lin^- HLA-DR^-$, (8) $Lin^- HLA-DR^- Siglec-9^+$, (9) $Lin^- HLA-DR^- Siglec-9^+ CD11b^+$, (10) $Lin^- Siglec-9^+ CD11b^+ CD15^+$, (11) $Lin^- HLA-DR^- Siglec-9^+ CD11b^+ CD14^- CD15^+$, (12) $CD11b^+ CD14^- Siglec-9^+$, (13) $CD11b^+ CD14^- HLA-DR^- Siglec-9^+ CD15^+$, (14) $Siglec-9^+ HLA-DR^- CD15^+$, (15) $CD15^+ IL4R\alpha^+$, (16) $CD11b^+ CD15^+ CD66b^+$, (17) $CD15^+ FSC^{low} SSC^{high}$, (18) $CD15^{high} Siglec-9^+$, (19) $CD11b^+ CD14^- CD15^+$, (20) $CD66b^+ SSC^{high}$ 및 (21) $CD11b^+ CD15^+$ (또한 문헌[Solito S et al. Annals of the NY Academy of Sciences, 2014] 참조). 마우스에서, MDSC는 $CD45^+$, $CD11b^+$, $Gr1^+$ 및/또는 $IL4Ra^+$ 의 표면 마커의 발현에 의해 정해질 수 있다. 추가적인 예시적 면역억제성 단핵구 계통은 $CD45^+$, $CD11b^+$, $Gr1^{low}$; 및 $CD45^+$, $CD11c^+$ 이다.
- [0112] 본 개시내용은 추가로 Siglec-9, 예컨대 항-Siglec-9 항체에 결합하거나 또는 상호작용하는 제제에 관한 것이다. 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 표면 수준을 상당히 감소시키지 않고/않거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하지 않는다.
- [0113] **Siglec-9 단백질**
- [0114] 일 양상에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 Siglec-9 단백질 내에서 영역, 예컨대 에피토프와 상호작용하거나 또는 달리 결합하는 제제, 예컨대 단리된(예를 들어, 단일클론) 항체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 단백질에 결합하고, Siglec-9 단백질에 대한 결합 후 하나 이상의 Siglec-9 활성화, 예를 들어, 세포 내에서 Siglec-9 발현과 관련된 활성을 조절한다. 본 개시내용의 Siglec-9 단백질은 포유류 Siglec-9 단백질, 인간 Siglec-9 단백질, 마우스 Siglec-9 단백질, 및 래트 Siglec-9 단백질을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0115] Siglec-9는 Siglec-9 모듈, 시알산-결합 Ig-유사 렉틴 9, CD329 항원, CD329; CDw329, FOAP-9 및 OBBP-LIKE로서 다양하게 지칭된다.
- [0116] Siglec-9는 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 과골세포, 단핵구 및 미세아교세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 골수 계통 세포 상에서 주로 발현되는 면역글로불린-유사 수용체이다. 일부 실시형태에서, Siglec-9는 CD64과의 수용체-신호전달 복합체를 형성한다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 신호전달은 PI3K 또는 다른 세포내 신호의 하류 저해를 초래한다. 골수성 세포 상에서, Toll-유사 수용체(TLR) 신호는, 예를 들어, 감염 반응과 관련하여 Siglec-9 활성화의 저해에 대해 중요하다. TLR, 예를 들어, 대식세포, 호중구, NK 세포 및 수지상 세포에서 발현된 TLR은 또한 병리학적 염증 반응에서 중요한 역할을 한다.
- [0117] 인간 Siglec-9, 침팬지 Siglec-9, 그린 원숭이 Siglec-9, 레서스 마카크 Siglec-9, 및 마우스 Siglec-9를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 다양한 Siglec-9 상동체가 공지되어 있다. 인간 Siglec-9의 아미노산 서열은 이하에서 서열번호 1로서 제시된다:

10	20	30	40	50
MLLLLLPLW	GRERAEGQTS	KLLTMQSSVT	VQEGLCVHVP	CSFSYPSHGW
60	70	80	90	100
IYPGPVVHGY	WFREGANTDQ	DAPVATNNPA	RAVWEETRDR	FHLLGDPHTK
110	120	130	140	150
NCTLSIRDAR	RSDAGRYFFR	MEKGSIKWNY	KHHRLSVNVT	ALTHRPNILI
160	170	180	190	200
PGTLESGCPQ	NLTCSVPWAC	EQGTTPMISW	IGTSVSPPLDP	STTRSSVLTL
210	220	230	240	250
IPQPQDHGTS	LTCQVTFPGA	SVTINKTVHL	NVSYPFQNL	MTVFQGDGT
260	270	280	290	300
STVLGNGSSL	SLPEGQSLRL	VCAVDAVDSN	PPARLSLSWR	GLTLCPSPQS
310	320	330	340	350
NPGVLELPWV	HLRDAAEFTC	RAQNPLGSQQ	VYLNVSLSQSK	ATSGVTQGVV
360	370	380	390	400
GGAGATALVF	LSFCVIFVVV	RSCRKKSARP	AAGVGDTGIE	DANAVRGSAS
410	420	430	440	450
QGPLTEFWAE	DSFPDQPPPA	SARSSVGE	LQYASLSFQM	VKPWDSRGQE
460				
ATDTEYSEIK	IHR			

[0118]

[0119]

일부 실시형태에서, Siglec 9는 신호 서열을 포함하는 프레단백질(preprotein)이다. 일부 실시형태에서, Siglec-9는 성숙 단백질이다. 일부 실시형태에서, 성숙 Siglec-9 단백질은 신호 서열을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 성숙 Siglec-9 단백질은 세포 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 성숙 Siglec-9 단백질은, 인간 수지상 세포, 인간 대식세포, 인간 단핵구, 인간 파골세포, 인간 호중구, 인간 T 세포, 인간 헬퍼 T 세포, 인간 세포독성 T 세포, 인간 과립구 및 인간 미세아교세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 세포, 예컨대 세포 표면 상에서 발현된다. 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 본 명세서에 개시된 임의의 세포 상에서 발현되는 임의의 본 개시내용의 Siglec-9 단백질에 결합할 수 있다.

[0120]

본 개시내용의 Siglec-9 단백질, 예컨대 인간 Siglec-9는 서열번호 1의 아미노산 잔기 1-17에 위치한 신호 서열, 서열번호 1의 아미노산 잔기 20 내지 140에 위치한 세포의 면역글로불린-유사 가변-유형(IgV) 도메인, 서열번호 1의 아미노산 잔기 146-229 및 236-336에 위치한 2개의 Ig-유사 C2-유형 도메인, 서열번호 1의 아미노산 잔기 348-370에 위치한 막관통 도메인, 서열번호 1의 아미노산 잔기 431-436에 위치한 ITIM 모티프, 및 서열번호 1의 아미노산 잔기 454-459에 위치한 SLAM-유사 모티프를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 몇몇 도메인을 포함한다. 당업자가 인식하는 바와 같이, 본 개시내용의 도메인의 시작 및 종결 잔기는 도메인을 결정하기 위해 사용되는 컴퓨터 모델링 또는 사용되는 방법에 따라서 다를 수 있다.

[0121]

본 개시내용의 특정 양상은 포유류 Siglec-9 단백질 및 다른 종으로부터의 Siglec-9 오솔로그를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 인간 Siglec-9, 또는 이의 상동체에 결합하는 항-Siglec-9 항체를 제공한다. 예시적인 Siglec-9 상동체 및 오솔로그를 표 A에 열거한다.

표 A: Siglec-9 상동체 및 오솔로그

유기체	Siglec-9 수탁 번호
침팬지(판 트로글로디테스(<i>Pan troglodytes</i>))	NCBI 수탁 번호 XP_003316614
그린 원숭이(클로로세부스(<i>Chlorocebus sabaeus</i>))	NCBI 수탁 번호 XP_007995940.1
레서스 마카크(마카카 몰라타(<i>Macaca mulatta</i>))	NCBI 수탁 번호 XP_001114560.2
마우스(무스 무스쿨러스(<i>Mus musculus</i>))	NCBI 수탁 번호 NP_112458.2

[0122]

[0123]

따라서, 본 명세서에서 사용하는 바와 같은 본 개시내용의 "Siglec-9" 단백질은 포유류 Siglec-9 단백질, 인간 Siglec-9 단백질, 및 영장류 Siglec-9 단백질을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가적으로, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 포유류 Siglec-9 단백질, 인간 Siglec-9 단백질 및 영장류 Siglec-9 중 하나 이상 내의 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 포유류 Siglec-9 단백질, 인간 Siglec-9 단백질, 또는 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9, 영장류 Siglec-9, 또는 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0124]

일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 Siglec-9, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 결합하거나 또는 상호

작용하는 본 개시내용의 제제는 pH 의존적 방식으로 Siglec-9에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체는 중성 pH에서 Siglec-9에 결합할 수 있고, Siglec-9 단백질로부터 해리되는 일 없이 내재화될 수 있다. 대안적으로, 산성 pH에서 본 개시내용의 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체는 일단 그들이 내재화되고, 이어서 엔도솜/라이소솜 경로에 의해 분해된다면, Siglec-9로부터 해리될 수 있다. 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 5.5 내지 8.0, 5.5 내지 7.5, 5.5 내지 7.0, 5.5 내지 6.5, 5.5 내지 6.0, 6.0 내지 8.0, 6.5 내지 8.0, 7.0 내지 8.0, 7.5 내지 8.0, 6.0 내지 7.5, 6.0 내지 7.0, 6.5 내지 7.5 범위의 pH에서 Siglec-9에 결합한다. 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 6.0 미만, 5.5 미만, 5.0 미만, 4.5 미만, 4.0 미만, 3.5 미만, 3.0 미만, 2.5 미만 또는 2.0 미만의 pH에서 Siglec-9로부터 해리된다.

[0125] 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 Siglec-9, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체에 결합하거나 또는 상호작용하는 본 개시내용의 제제는 야생형 본 개시내용의 Siglec-9 단백질, 이의 천연 유래 변이체 및/또는 이의 질환 변이체에 결합한다.

[0126] 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 Siglec-9, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 결합하거나 또는 상호작용하는 본 개시내용의 제제는 인간 Siglec-9의 변이체에 결합할 수 있다.

[0127] 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 Siglec-9, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 결합하거나 또는 상호작용하는 본 개시내용의 제제는 인간 수지상 세포, 인간 대식세포, 인간 NK 세포, 인간 단핵구, 인간 파골세포, 인간 호중구, 인간 T 세포, 인간 T 헬퍼 세포, 인간 세포독성 T 세포, 인간 과립구 및 인간 미세아교세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 세포 표면 상에서 발견되는 Siglec-9 단백질에 결합한다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 Siglec-9, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 결합하거나 또는 상호작용하는 본 개시내용의 제제는 세포 표면 상에서 발견되는 Siglec-9 단백질에 결합하고, 표면 발견된 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 본 개시내용의 적어도 하나의 Siglec-9 활성을 조절한다(예를 들어, 유도하거나 또는 저해한다). 본 개시내용의 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 단백질에 특이적으로 결합한다. 본 개시내용의 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 추가로 적어도 하나의 추가적인 Siglec 단백질에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 적어도 하나의 추가적인 Siglec 단백질의 또는 적어도 하나의 추가적인 Siglec 단백질을 발현시키는 세포의 한 가지 이상의 활성을 조절한다.

[0128] **Siglec-9 리간드**

[0129] 본 개시내용의 Siglec-9 단백질은 하나 이상의 Siglec-9 리간드와 상호작용(예를 들어, 결합)할 수 있다.

[0130] 예시적인 Siglec-9 리간드는 시알산, 시알산-함유 당지질, 시알산-함유 당단백질, 당지질을 함유하는 알파-2,8-다이스이알릴, 분지된 알파-2,6-연결 시알산-함유 당단백질, 말단의 알파-2,6-연결 시알산-함유 당지질, 말단의 알파-2,3-연결 시알산-함유 당단백질, 다이스이알로강글리오사이드(예를 들어, 시알산화 글리칸에 연결된 세라마이드를 함유하는 강글리오사이드 또는 당지질), 분비된 뮤신, 적혈구 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 박테리아 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 세포자멸사 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 신경 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 신경교 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 미세아교세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 성상세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 종양 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 바이러스 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 수지상 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 베타 아밀로이드 플라크에 결합된 Siglec-9 리간드, 타우 단백질 엉킴에 결합된 Siglec-9 리간드, 질환-원인 단백질 상의 Siglec-9 리간드, 질환-원인 펩타이드 상의 Siglec-9 리간드, 대식세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 호중구 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 단핵구 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 자연 살해 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, T 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, T 헬퍼 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 세포독성 T 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, B 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 대식세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 골수-유래 억제자 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드, 및 조절 T 세포 상에서 발견된 Siglec-9 리간드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 리간드는 강글리오사이드(예를 들어, 다이스이알로강글리오사이드)이다. 다이스이알로강글리오사이드 일반적으로 통상적인 락토-세라마이드 코어 및 하나 이상의 시알산 잔기를 공유한다.

[0131] 적합한 Siglec-9 리간드의 추가적인 예를 도 2에 도시한다.

[0132] 적합한 강글리오사이드(예를 들어, 다이스알로강글리오사이드) 리간드의 추가적인 예를 도 3에 도시하고, 표 B에서 열거한다. 일반적으로, 강글리오사이드(예를 들어, 다이스알로강글리오사이드)는 당쇄 상에 연결된 하나 이상의 시알산(예를 들어, n-아세틸-네우라민산, NANA)과 함께 글리코스핑고지질로 구성된 분자이다.

표 B: 예시적인 강글리오사이드 Siglec-9 리간드의 구조

GM2-1 = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-?) bDGalNAc(1-?) bDGalNAc(1-?) bDGlc(1-1)Cer
GM3 = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GM2, GM2a(?) = bDGalpNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GM2b(?) = aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GM1, GM1a = bDGalp(1-3) bDGalNAc[aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
아시알로-GM1, GA1 = bDGalp(1-3) bDGalpNAc(1-4) bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
아시알로-GM2, GA2 = bDGalpNAc(1-4) bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GM1b = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GD3 = aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GD2 = bDGalpNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GD1a = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GD1 알파 = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-6)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GD1b = bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GT1a = aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GT1, GT1b = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
OA-GT1b = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) aXNeu5Ac9Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GT1c = bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GT3 = aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GT3Q1b = aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-3) bDGalNAc(1-4) [aNeu5Ac(2-8) aNeu5Ac(2-3)] bDGalp(1-4) bDGlc(1-1)Cer
GGal = aNeu5Ac(2-3) bDGalp(1-1)Cer
여기서:
aNeu5Ac = 5-아세틸-알파-뉴라민산
aNeu5Ac9Ac = 5,9-다시아세틸-알파-뉴라민산
bDGalp = 베타-D-갈락토피라노스
bDGalpNAc = N-아세틸-베타-D-갈락토피라노스
bDGlc = 베타-D-글루코피라노스
Cer = 세라마이드 (일반적 N-아세틸화된 스펅고이드)

[0133]

[0134] Siglec-9 제제

[0135] 본 개시내용의 특정 양상은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제(예를 들어, Siglec-9 제제)에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키지 않고/양거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하지 않는 Siglec-9에 결합하는 제제(예를 들어, Siglec-9 제제)에 관한 것이다. 본 개시내용의 추가 양상은 Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 제제(예를 들어, Siglec-9 제제)에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제제는 시험관내, 인시추 및/또는 생체내 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 차단하거나, 저해하거나, 감소시키거나 또는 방해한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제제는 시험관내, 인시추 및/또는 생체내 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 차단, 저해, 감소 또는 방해하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제제는 시험관내, 인시추 및/또는 생체내 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 증가시키거나, 활성화시키거나 또는 유도한다.

[0136] 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 제제는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제(예를 들어, Siglec-9 제제)이다. Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 본 개시내용의 제제는 다음의 특징 중 하나 이상을 갖는 분자이다: (1) 하나 이상의 Siglec-9활성을 저해하거나 또는 감소시킴; (2) Siglec-9의 그의 리간드 중 하나 이상의 결합을 저해하거나 또는 감소시키는 능력; (3) Siglec-9-발현 세포에서 Siglec-9 발현(예컨대 mRNA 수준에서 그리고/또는 단백질 수준에서)을 감소시키는 능력; (4) Siglec-9 단백질과 상호작용하거나, 결합하거나 또는 인식하는 능력; (5) Siglec-9 단백질과 특이적으로 상호작용하거나 또는 결합하는 능력; 및 (6) 본 명세서에 기재되거나 또는 상정된 질환 또는 장애의 임의의 양상을 치료하거나, 개선시키거나 또는 예방하기 위한 능력.

- [0137] Siglec-9의 생성을 저해하는 예시적인 제제는 Siglec-9 합성 및/또는 방출을 특이적으로 저해하는 화합물, Siglec-9에 관한 안티센스 분자, 또는 Siglec-9를 암호화하는 핵산에 관한 짧은 간섭 RNA(siRNA) 분자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 하나 이상의 Siglec-9 활성을 저해하는 추가적인 예시적 제제는 Siglec-9 단백질에 특이적으로 결합하는 항-Siglec-9 항체, 하나 이상의 Siglec-9 활성을 특이적으로 저해하는 화합물, 예컨대 소분자 저해제 및/또는 펩타이드 저해제, 하나 이상의 리간드에 대한 Siglec-9 결합을 특이적으로 저해하는 화합물, Siglec-9 구조적 유사체 또는 Siglec-9에 결합하는 RNA 또는 DNA 앵타머를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 다른자리 입체성 저해제이다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 오쏘스테릭(orthosteric) 저해제이다.
- [0138] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 작은 펩타이드 또는 펩타이드-유사 분자, 가용성 펩타이드, 및 합성 비-펩타이드 유기 또는 무기 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 소분자 저해제이다. 소분자 저해제는 분자량이 약 100 내지 약 20,000 달톤(Da), 약 500 내지 약 15,000Da, 약 1000 내지 약 10,000Da 중 임의의 것일 수 있다. 소분자가 하나 이상의 Siglec-9 활성을 갖는 저해 효과를 생성하고 시험하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 이러한 방법은 Siglec-9 활성에 대한 소분자 저해제의 효과를 평가하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 임의의 방법 및 분석은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 소분자 저해제에 대한 선별을 위해 사용될 수 있다.
- [0139] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 Siglec-9에 결합하거나 또는 물리적으로 상호작용하는 항-Siglec-9 항체이다. 항체는 표적 항원(예를 들어, Siglec-9)에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰 친화도를 가질 수 있다. 특정 실시형태에서, 항체의 kd는 약 0.05 내지 약 100nM이다. 예를 들어, 항체의 Kd는 임의의 약 100nM, 약 50nM, 약 10nM, 약 1nM, 약 900pM, 약 800pM, 약 790pM, 약 780pM, 약 770pM, 약 760pM, 약 750pM, 약 740pM, 약 730pM, 약 720pM, 약 710pM, 약 700pM, 약 650pM, 약 600pM, 약 590pM, 약 580pM, 약 570pM, 약 560pM, 약 550pM, 약 540pM, 약 530pM, 약 520pM, 약 510pM, 약 500pM, 약 450pM, 약 400pM, 약 350pM, 약 300pM, 약 290pM, 약 280pM, 약 270pM, 약 260pM, 약 250pM, 약 240pM, 약 230pM, 약 220pM, 약 210pM, 약 200pM, 약 150pM, 약 100pM, 또는 약 50pM 내지 임의의 약 2pM, 약 5pM, 약 10pM, 약 15pM, 약 20pM, 또는 약 40pM이다. Siglec-9에 대한 특이성에 의해 상호작용하고/하거나 결합하는 항체의 제조 및 선택 방법이 본 명세서에 기재된다.
- [0140] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 Siglec-9를 암호화하는 핵산을 표적화함으로써 작용성 Siglec-9의 발현을 차단하거나 또는 감소시킬 수 있는 적어도 하나의 안티센스 분자를 포함한다. Siglec-9의 핵산 서열은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 인간 Siglec-9는 NCBI 수탁 번호 NM_001198558.1에 나타난 바와 같은 핵산 서열을 가질 수 있고, 침팬지 Siglec-9는 NCBI 수탁 번호 XM_003316566.3에 나타난 바와 같은 핵산 서열을 가질 수 있으며, 마우스 SIGLEC-E는 NCBI 수탁 번호 NM_031181.2에 나타난 바와 같은 핵산 서열을 가질 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자의 제조 방법이 공지되어 있으며, 이러한 방법은 다른 폴리뉴클레오타이드와 교차반응하는 일 없이 Siglec-9 mRNA 중 하나 이상에 특이적으로 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 제조하기 위해 사용될 수 있다. 표적화의 예시적인 부위는 개시 코돈, 5' 조절 영역, 임의의 보존된 공통 영역을 포함하는 암호 서열, 및 3' 비번역 영역을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 길이가 약 10 내지 약 100개의 뉴클레오타이드, 길이가 약 15 내지 약 50개의 뉴클레오타이드, 길이가 약 18 내지 약 25 뉴클레오타이드, 또는 그 이상이다. 특정 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들어, 당업자에게 공지된 포스포로티오에이트 결합 및 2'-O-당 변형과 같은 뉴클레아제 저항성 등을 증가시키기 위한 화학적 변형을 추가로 포함한다.
- [0141] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 Siglec-9를 암호화하는 핵산을 표적화함으로써 작용성 Siglec-9의 발현을 차단하거나 또는 감소시킬 수 있는 적어도 하나의 siRNA 분자를 포함한다. siRNA 분자의 제조 방법은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 이러한 방법은 다른 폴리뉴클레오타이드와 반응하는 일 없이 Siglec-9 mRNA를 특이적으로 표적화하는 siRNA 분자를 제조하기 위해 사용될 수 있다. siRNA 분자는 전형적인 고체상 올리고뉴클레오타이드 합성에 의하는 것과 같은 방법에 의해 생성될 수 있고, 종종 반감기 및/또는 siRNA 제제의 효능을 증가시키기 위

해, 그리고/또는 더 강한 전달 제형을 허용하기 위해 화학적 변형을 포함할 것이다. 대안적으로, siRNA 분자는 siRNA의 세포내 전사를 위한 발현을 암호화하는 벡터를 이용하여 전달된다.

[0142] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 Siglec-9에 결합하거나 또는 물리적으로 상호작용하고, Siglec-9와 그의 리간드 중 하나 이상 사이의 상호작용을 차단하는 RNA 또는 DNA 앵타머이다. 특정 실시형태에서, 앵타머는 Siglec-9의 성숙 형태에 결합하는 적어도 하나의 RNA 또는 DNA 앵타머를 포함한다.

[0143] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 적어도 하나의 Siglec-9 구조적 유사체를 포함한다. 용어 Siglec-9 구조적 유사체는 Siglec-9의 구조적 유사체의 부분과 유사한 3차원 구조를 갖고, 시험관내 또는 생체내에서 생리적 조건하에 하나 이상의 CD3 리간드에 결합하는 화합물을 지칭하되, 결합은 Siglec-9 생물학적 활성을 적어도 부분적으로 저해한다. 적합한 Siglec-9 구조적 유사체는 리간드, 예컨대 본 개시내용의 Siglec-9 리간드에 대한 Siglec-9 결합의 분자 모델링을 통해 설계되고, 합성될 수 있다. Siglec-9 구조적 유사체는 개선된 친화도 및 생물학적 효과를 얻기 위해 동일 또는 상이한 구조의 임의의 목적으로 하는 조합에서 단량체, 이량체 또는 더 고차의 다량체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 제제는 Siglec-9의 아미노산 서열에 결합하거나 또는 상호작용한다.

[0144] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 가용성 Siglec-9 수용체 단백질, 가용성 Siglec-9-Fc 융합 단백질(예를 들어, Siglec-9 면역접합체), Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, Siglec-9 리간드에 결합하는 Siglec-Fc 융합 단백질(예를 들어, Siglec 면역접합체)을 포함한다. 특정 실시형태에서, 이러한 제제는 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하고, 이에 의해 주어진 Siglec-9 리간드와 작용성 Siglec-9 수용체 사이의 상호작용을 방지한다.

[0145] 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 제제는 Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 제제(예를 들어, Siglec-9 제제)이다. Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 예시적인 제제는 비활성 항-Siglec-9 항체, 작용제 항-Siglec-9 항체, Siglec-9 리간드, Siglec-9 리간드 작용제 단편, Siglec-9 면역접합체, Siglec-9 가용성 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질(예를 들어, Siglec 면역접합체), 가용성 Siglec 수용체, Siglec-9 리간드 모방체 및 소분자 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소분자 화합물은 분자량이 약 100 내지 약 20,000 달톤(Da), 약 500 내지 약 15,000Da, 약 1000 내지 약 10,000Da 중 임의의 것일 수 있다. 제제가 하나 이상의 Siglec-9 활성을 갖는 효과를 생성하고 시험하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 이러한 방법은 Siglec-9 활성에 대한 소분자 저해제의 효과를 평가하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 임의의 방법 및 분석은 Siglec-9에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 소분자 저해제를 선별하기 위해 사용될 수 있다.

[0146] 분석

[0147] Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 당업계에 잘 공지된 방법, 예를 들어, 방사성표지된 저해제 분석, 광학 분석, 단백질결합 분석, 생화학적 선별 분석, 면역분석, 질량 변화 측정 분석, 형광 분석, 및/또는 형광 펩타이드 절단 분석을 이용하여 동정되고/되거나 특성규명될 수 있다.

[0148] 결합 분석 및 기타 분석

[0149] 특정 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 제제는 Siglec-9 제제 후보의 상호작용 및/또는 Siglec-9에 대한 결합 친화도의 존재를 검출하기 위해 당업계에 잘 공지된 기법에 의해 동정될 수 있다.

[0150] 특정 실시형태에서, Siglec-9와 상호작용하는 제제는 방사성표지된 저해제 분석을 이용하여 동정될 수 있다. 예를 들어, 알려진 양의 방사성표지된 제제 후보는 알려진 양의 고정된 Siglec-9 및 완충제와 함께 인큐베이션될 수 있다. 후속적으로, 고정된 Siglec-9은 완충제로 세척될 수 있고, 고정된 Siglec-9은, 예를 들어, 감마 상대와 같은 당업계에 공지된 기법을 이용하여 방사성표지된 Siglec-9 제제 후보의 남아있는 존재에 대해 측정될 수 있다. 방사성표지된 물질의 존재를 나타내는 측정은 방사성표지된 제제 후보가 Siglec-9와 상호작용하고/하거나 결합할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다.

[0151] 특정 실시형태에서, Siglec-9와 상호작용하는 제제는 광학 기법을 이용하여 동정될 수 있다. Siglec-9 제제를

검출하기 위한 예시적인 광학 기법은, 예를 들어, 표색 공명 접합면에 대한 Siglec-9의 부착을 포함할 수 있으며, 이에 의한 광학 경로에서의 변화에 기인하는 반사광의 파장의 이동을 취하고, 후속적으로 후보 제제가 Siglec-9와 상호작용하도록 허용될 때 반사광의 파장의 추가적인 변화를 측정하여야 한다. 예를 들어, 제제를 Siglec-9와 함께 인큐베이션할 때 반사광의 측정된 파장의 변화 없음은 제제 후보가 Siglec-9와 상호작용할 수 없다는 것을 나타낼 수 있다. 제제 후보를 Siglec-9와 함께 인큐베이션할 때 반사광의 측정된 파장의 변화는 제제 후보가 Siglec-9에 결합하고/하거나 상호작용할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다.

[0152] 특정 실시형태에서, Siglec-9와 상호작용하는 제제는 단백질-결합 분석을 이용하여 동정될 수 있다. Siglec-9 제제를 검출하기 위한 예시적인 단백질-결합 분석은, 예를 들어, 제제 후보의 존재 하에 Siglec-9의 공동면역침전을 포함할 수 있다. 예를 들어, Siglec-9은 완충제 중에서 제제 후보와 함께 인큐베이션될 수 있고, 후속적으로 Siglec-9, 예를 들어, 항-Siglec-9 항체를 포획하는 데 특이적인 고정 분자는 제제 후보의 존재 하에 Siglec-9를 포획하기 위해 사용될 수 있고, 당업계에 공지된 세척 절차 동안 잠재적으로 상호작용 제제 후보와 함께 Siglec-9에 결합한다. 후속적으로, 잠재적으로 상호작용 제제 후보와 함께 Siglec-9은 방출될 수 있고, 제제 후보의 존재는, 예를 들어, 질량 분석법 및/또는 웨스턴 블롯과 같은 기법에 의해 제제 후보 특징에 기반하여 검출될 수 있다.

[0153] 특정 실시형태에서, Siglec-9와 상호작용하는 제제는 당업계에 잘 공지된 생화학적분석 및/또는 면역분석을 이용하여 동정될 수 있다. 예시적인 기법은, 예를 들어, 웨스턴 블롯, 면역염색 및 공동면역침전과 같은 기법을 이용하여, 예를 들어, Siglec-9 농도 및/또는 단백질 반감기의 변화를 정량적으로 측정하는 분석을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제제 후보는 Siglec-9, 예컨대 세포 발현 Siglec-9를 함유하는 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있고, 후속적으로 Siglec-9 단백질 양 및/또는 세포 수준은 시간 과정 연구 동안의 시점에서 측정될 수 있다. 대조군 처리에 비해 단백질 양, 세포 수준 및/또는 단백질 반감기의 변화는 Siglec-9 제제 후보가 Siglec-9 반감기 및/또는 활성을 변경시킬 수 있다는 것을 나타낼 수 있다.

[0154] 특정 실시형태에서, 질량 변화 측정 분석은 Siglec-9와의 상호작용하는 제제를 동정하기 위해 사용될 수 있다. 예시적인 질량 변화 측정 분석은, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 질량 분석기와 같은 기기를 이용함으로써, 예를 들어 제제 후보가 Siglec-9와 상호작용할 때 Siglec-9 질량의 변화를 측정하는 것에 의해 강하게 그리고/또는 공유적으로 결합된 Siglec-9 제제의 존재를 검출하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 질량 변화 분석은 제제 후보 상호작용의 특성에 따라서 전체 단백질 및/또는 펩타이드 기반 분석에서 수행될 수 있다. Siglec-9에 대한 상기 제제 후보의 첨가와 상관 관계가 있는 질량 이동의 검출은 제제 후보가 Siglec-9와 상호작용하거나 또는 달리 저해할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다. 추가적으로, 예시적인 질량 이동 측정 분석은, 예를 들어, 표면 플라즈몬 공명과 같은 기법을 이용하여, 예를 들어 제제 후보가 Siglec-9와 상호작용할 때, 각각의 제제 후보 질량과 상호 연관되는 Siglec-9에 대한 질량의 첨가를 검출하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 광 굴절률의 변화가 측정될 수 있고, 센서 표면에 부착된 Siglec-9의 질량 변화와 상호 연관지을 수 있다.

[0155] 특정 실시형태에서, 화학적 가교 분석은 Siglec-9와 상호작용하는 Siglec-9 제제를 동정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 제제 후보는 Siglec-9와 상호작용하는 제제 후보를 상기 Siglec-9 분자에 공유 결합시킬 수 있는 분자 가교제를 이용하여 생체내 또는 시험관내에서 Siglec-9와 함께 인큐베이션될 수 있다. 후속적으로, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 질량분석법 및/또는 웨스턴 블롯과 같은 기법은 Siglec-9와 상호작용하거나 또는 달리 저해할 수 있는 제제 후보를 동정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 제제 후보와 공유적으로 가교되는 Siglec-9의 검출은 제제 후보가 Siglec-9와 상호작용하거나 또는 달리 저해할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다.

[0156] 특정 실시형태에서, Siglec-9와 상호작용하는 제제는 형광 분석을 이용하여 동정될 수 있다. 예를 들어, 알려진 양의 형광 제제 후보는 알려진 양의 고정된 Siglec-9 및 완충제와 함께 인큐베이션될 수 있다. 후속적으로, 고정된 Siglec-9은 완충제로 세척될 수 있고, 당업계에 공지된 기법, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 형광 검출을 이용하여 고정된 Siglec-9은 형광 Siglec-9 제제 후보의 남아있는 존재에 대해 측정될 수 있다. 형광 물질의 존재를 나타내는 측정은 형광 제제 후보가 Siglec-9와 상호작용하고/하거나 결합할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다.

[0157] **활성 분석**

[0158] 본 개시내용의 Siglec-9 제제의 생물학적 활성을 동정하고 시험하기 위해 당업계에 공지되고 본 명세서에 기재된 분석(예를 들어, **실시예 1 내지 10**)이 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절하기 위한 Siglec-9 제제의 능력을 시험하기 위한 분석이 제공된다.

[0159] 항-Siglec-9 항체

[0160] 본 개시내용의 특정 양상은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하는 항-Siglec-9 항체에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하는 일 없이 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다. 본 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키지 않고/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하지 않고 Siglec-9에 결합하는 항-Siglec-9 항체에 관한 것이다.

[0161] 본 명세서에 개시된 바와 같이, Siglec-9는 세포 상에서 구성적으로 재순환될 수 있고, 그렇게 해서 세포 표면 상의 Siglec-9에 결합하는 임의의 제제(예를 들어, 항체)를 세포 내로 재순환시킬 수 있다(예를 들어, 세포의 이물질 흡수(endocytose)). 그러나, 이러한 내포작용은 Siglec-9의 세포 수준(예를 들어, 세포 표면 수준)의 감소를 야기하지 않을 수도 있다. 급성 골수성 백혈병(AML) 세포는 표면-발현된 Siglec-9에 결합된 항-Siglec-9 항체의 내포작용을 매개할 수 있는 것으로 나타났지만, Siglec-9의 세포 수준의 감소는 입증되지 않았다. 따라서, 본 개시내용의 특정 양상은 세포 표면-발현 Siglec-9에 결합할 뿐만 아니라, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는 항-Siglec-9 항체에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포 표면-발현 Siglec-9에 결합하고, 추가로 세포 내로 흡수된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포 내로 흡수되지 않고 세포 표면-발현 Siglec-9에 결합한다.

[0162] Siglec-9의 세포 수준은, 제한 없이, Siglec-9의 세포 표면 수준, Siglec-9의 세포내 수준 및 Siglec-9의 총 수준을 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준의 감소는 Siglec-9의 세포 표면 수준의 감소를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 그것이 Siglec-9의 세포 표면 수준을 측정하기 위해 본 명세서에 기재된 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 세포 기반 분석 또는 적합한 생체내 모델에 의해 측정하여, 예를 들어, 유세포 분석, 예컨대 형광-활성화 세포 분류(FACS)를 이용하여, Siglec-9의 세포 표면 수준에서 21% 이상의 감소를 유도한다면 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준의 감소는 Siglec-9의 세포내 수준의 감소를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 그것이 임의의 시험관내 세포-기반 분석 또는 본 명세서에 기재된 또는 당업계에 공지된 적합한 생체내 모델, 예를 들어 면역염색, 웨스턴 블롯 분석, 공동면역침전 및 세포측정법에 의해 측정하여 Siglec-9의 세포내 수준의 21% 이상의 감소를 유도한다면, Siglec-9의 세포 내 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준의 감소는 Siglec-9의 총 수준의 감소를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 그것이 임의의 시험관내 세포-기반 분석 또는 본 명세서에 기재된 또는 당업계에 공지된 적합한 생체내 모델, 예를 들어 면역염색, 웨스턴 블롯 분석, 공동면역침전 및 세포측정법에 의해 측정하여 Siglec-9의 총 수준의 21% 이상의 감소를 유도한다면, Siglec-9의 총 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 분해, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 shedding, 및/또는 Siglec-9 발현의 하향조절을 유도한다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준은 1차 세포(예를 들어, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포 및 대식세포) 상에서 또는 시험관내 세포 분석을 이용하는 세포주 상에서 측정된다.

[0163] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 항-Siglec-9 항체의 부재 하의 Siglec-9의 세포 수준에 비해 적어도 21%, 적어도 22%, 적어도 23%, 적어도 24%, 적어도 25%, 적어도 26%, 적어도 27%, 적어도 28%, 적어도 29%, 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 이상만큼 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킨다.

[0164] 본 명세서에 기재된 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 세포 기반 분석 또는 적합한 생체내 모델은 Siglec-

9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)의 저해를 측정하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 본 명세서에 기재되거나 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 분석 또는 세포 기반 배양 분석을 이용하여 포화 항체 농도(예를 들어, 67nM)에서 적어도 21%, 적어도 22%, 적어도 23%, 적어도 24%, 적어도 25%, 적어도 26%, 적어도 27%, 적어도 28%, 적어도 29%, 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 이상 만큼 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다.

[0165]

일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 표면 클러스터링을 저해한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Src 패밀리에 속하는 티로신 키나제, 예컨대 Syk, LCK, FYM 및/또는 ZAP70에 의한 Tyr-433 및 Tyr-456의 인산화; 타이로신-특이적 단백질 포스포타제 SHP1 및 SHP2의 동원 및 이에 대한 결합; 다이아미니-1에 대한 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자로서 작용하는 PLC-감마1의 동원 및 이에 대한 결합; SH2-도메인 포함 단백질(예를 들어, Crk1)의 동원 및 이에 대한 결합; 비장 타이로신 키나제 Syk의 동원 및 이에 대한 결합; SH3-SH2-SH3 성장 인자 수용체-결합 단백질 2(Grb2)의 동원 및 이에 대한 결합; 다중 SH2-함유 단백질의 동원 및 이에 대한 결합; 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 조절된 발현(선택적으로 여기서, 하나 이상의 항-염증성 사이토카인은 FN- α 4, IFN-베타, IL-1 β , IL-1 α 와, TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리에 속하는 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-33, MCP-1 및 MIP-1-베타로 이루어진 군으로부터 선택됨); 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 조절된 발현; 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 조절된 발현(선택적으로 여기서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인은 TNF, IFN-베타1a, IFN-베타1b 또는 IL-6에 대해 IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-베타, IL-1Ra, G-CSF 및 가용성 수용체로부터 선택됨); 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 조절된 발현; C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및 PYCARD로부터 선택된 하나 이상의 단백질의 발현 조절; 세포외 신호-조절 키나제(ERK) 인산화의 저해; 하나 이상의 세포 단백질 상에서 타이로신 인산화의 감소(선택적으로, 여기서 하나 이상의 세포 단백질은 ZAP-70을 포함하고, 타이로신 인산화는 ZAP-70의 Tyr-319 상에서 생김); C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)의 조절된 발현; CCL19-발현 및 CCL21-발현 세포에 대한 미세아교세포 주화성의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포, M2 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구 및 M2 NK 세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에 의해 유도된 T 세포 증식의 감소; 파골세포 생성, 감소된 비율의 파골세포형성, 또는 둘 다의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 생존 감소; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK

세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 한 가지 이상의 작용의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 성숙 저해; 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 기타 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스, 및 종양 세포 클리어런스로부터 선택된 한 가지 이상의 유형의 클리어런스의 저해; (선택적으로 여기서 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 췌도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔솔린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되고, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁 내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암으로부터 선택된 암임); 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 또는 종양 세포 중 하나 이상의 식세포작용의 저해; (선택적으로 여기서 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 췌도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔솔린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되고, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁 내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 또는 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 종양 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; 호중구, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포 및 NK 세포로부터 선택된 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 저해; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 증식 활성의 저해; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 전이 활성의 저해; 하나 이상의 염증 수용체의 조절된 발현(선택적으로 하나 이상의 염증 수용체는 CD86을 포함하고, 하나 이상의 염증 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체의 저해(선택적으로 여기서 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체는 TREM1, TREM2, Sirp 베타, FcγR, DAP10 및 DAP12로부터 선택됨); 하나 이상의 패턴 인식 수용체(PRR)에 의한 신호전달의 저해(선택적으로 여기서, 하나 이상의 PRR은 병원균-관련 분자 패턴(PAMP)을 동정하는 수용체, 손상-관련 분자 패턴(DAMP)을 동정하는 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택됨); 모티프 D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I(서열번호 252)을 포함하는 하나 이상의 수용체의 저해; 하나 이상의 톨-유사 수용체에 의한 신호전달의 저해; JAK-STAT 신호전달 경로의 저해; 활성화된 B 세포의 핵인자 카파-경쇄 인헨서(NKκB)의 저해; ITAM 모티프 포함 수용체의 탈인산화; 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체의 조절된 발현(선택적으로 여기서, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상

에서 발현된 수용체는 CD86, C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, 및/또는 PYCARD를 포함하고, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포, 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); 하나 이상의 Siglec-9-의존적 유전자의 발현 증가; 파괴된 Siglec-9-의존적 유전자 발현의 정상화; 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자 발현의 감소(선택적으로 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자는 활성화된 T 세포(NFAT) 전사 인자의 핵 인자에 의해 활성화됨); 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성을 촉진시키거나 또는 구조함; 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 증가; 종양에서, 말초 혈액에서 또는 다른 림프구 기관에서 종양-촉진 골수성/과립구 면역-억제 세포 수의 증가; 골수-유래 억제자 세포의 종양-촉진 활성의 향상; 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-촉진 사이토카인의 발현 증가(선택적으로 종양-촉진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10임); 종양-촉진성 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가; 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 종양-촉진 활성의 향상; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; NK 세포의 종양 사멸 잠재력 감소; 면역 반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양 특이적 B 림프구의 침윤 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; 종양 용적 증가; 종양 성장 속도의 증가; 전이의 증가; 종양 재발 속도의 증가; 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역 요법의 효능 감소(선택적으로 1가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG-3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 한 가지 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역요법, 또는 한 가지 이상의 암 백신임); PLC γ /PKC/칼슘 가동의 저해; PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해; 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 면역억제자 호중구, 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 향상; 종양에서, 말초 혈액 또는 다른 림프구 기관에서 종양-촉진성 골수/과립구 면역-억제 세포 수의 증가; (r) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 종양 촉진 활성 향상; 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 (MDSC) 및/또는 비-종양원성 CD45⁺CD14⁺ 골수성 세포의 생존 향상; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양 특이적 T 림프구의 활성화 감소; (e) 종양 사멸 잠재력을 갖는 CD45⁺CD3⁺ T 림프구의 활성화 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; 면역 반응을 향상시키기 위한 잠재력을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; 및 CD45⁺CD3⁺ T 림프구의 침윤 감소를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 저해한다.

[0166]

일부 실시형태에서, Siglec-9 항체는 적혈구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 박테리아 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 세포자멸사 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 신경 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 신경교 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 미세아교세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 성상세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 바이러스 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 수지상 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 베타 아밀로이드 플라크 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 타우 단백질 엉킴(Tau tangles)에 결합된 Siglec-9 리간드, 질환-원인 단백질 상의 Siglec-9 리간드, 질환-원인 펩타이드 상의 Siglec-9 리간드, 대식세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 호중구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 자연 살해 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 단핵구 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, T 헬퍼 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 세포독성 T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, B 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 종양-포매 면역억제자 대식세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 골수-유래 억제자 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 조절 T 세포 상에서 발현된 Siglec-9 리간드, 분비된 뮤신, 시알산, 시알산-함유 당지질, 시알산-함유 당단백질, 알파-2,8-다이스이알릴 함유 당지질, 분지된 알파-2,6-연결 시알산-함유 당단백질, 말단의 알파-2,6-연결 시알산-함유 당지질, 말단의 알파-2,3-연결 시알산-함유 당단백질 및 강글리오사이드(예를 들어, 다이스이알로강글리오사이드)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 Siglec-9 리간드와 본 개시내용의 Siglec-9 단백질 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다.

- [0167] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포 표면 상에서 발현된 본 개시내용의 Siglec-9 단백질에 결합하고, 내이키드 항체는 Siglec-9 단백질과 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질에 결합하는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포 표면 상에서 또는 세포 내부에서 이들 단백질과 상호작용하도록 이용 가능한 Siglec-9의 유효한 수준을 감소시킴으로써 Siglec-9 단백질과 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질에 결합하는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 분해를 유도함으로써 Siglec-9 단백질과 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다.
- [0168] 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는: (a) 종양 침윤성 $CD3^+$ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 $CD14^+$ 골수성 세포 내 Siglec-9의 세포 수준의 감소(선택적으로 비-종양원성 $CD14^+$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 $CD14^+$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양원성 $CD14^+$ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로, 비-종양원성 $CD14^+$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 $CD14^+$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도 감소; (l) 종양 용적 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 증가(선택적으로 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아테노신 경로, PD-L1, PD-L2, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함); (o) 하나 이상의 화학치료제의 효능 증가(선택적으로, 화학치료제 중 하나 이상은 젬시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(Ellence)(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(Taxotere)(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이톡산(Cytoxan)(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합물; (p) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포의 증식 증가; (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 한 가지 이상의 기능 저해; 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 Siglec-9-발현 면역억제자 비-종양원성 골수성 세포 및/또는 비-종양원성 $CD14^+$ -발현 세포 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 제제에 접합되지 않되, 선택적으로 상기 제제는 약물, 독소, 화학치료제 또는 방사성 동위원소이다.
- [0169] 본 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 표면 수준을 상당히 감소시키지 않고/않거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하지 않는 항-Siglec-9 항체에 관한 것이다.
- [0170] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 본 명세서에 기재되거나 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 세포기반 분석 또는 적합한 생체내 모델을 이용하여 그것이 항-Siglec-9 항체의 부재 하에서의 Siglec-9의 세포 수준에 비해 20% 미만만큼 Siglec-9에 대한 리간드 결합을 감소시킨다면, Siglec-9의 세포 표면 수준을 상당히 감소시키지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 항-Siglec-9 항체의 부재 하의 Siglec-9의 세포 수준에 비해 20% 미만, 19% 미만, 18% 미만, 17% 미만, 16% 미만, 15% 미만, 14% 미만, 13% 미만, 12% 미만, 11% 미만, 10% 미만, 9% 미만, 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2%, 또는 1% 미만만큼 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킨다.
- [0171] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 본 명세서에 기재되거나 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 분석 또는 세포 기반 배양 분석을 이용하여 그것이 포화 항체 농도(예를 들어, 67nM)에서 20% 미만만큼 Siglec-9에 대한 리간드 결합을 감소시킨다면, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재되거나 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 분석 또는 세포 기반 배양 분석을 이용하여 포화 항체 농도(예를 들어, 67nM)에서 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 20% 미만, 19% 미만, 18% 미만, 17% 미만, 16% 미만, 15% 미만, 14% 미만, 13% 미만, 12% 미

만, 11% 미만, 10% 미만, 9% 미만, 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 또는 1% 미만만큼 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다.

[0172] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, Siglec-9의 수준은 Siglec-9를 암호화하는 유전자의 발현 수준; Siglec-9를 암호화하는 하나 이상의 전사체의 발현 수준; Siglec-9 단백질의 발현 수준; 및/또는 세포 내의 그리고/또는 세포 표면 상에 존재하는 Siglec-9 단백질의 양을 지칭할 수 있다. 유전자 발현, 전사, 번역 및/또는 단백질 존재 비 또는 국소화 수준을 측정하기 위한 당업계에서 공지된 임의의 방법은 Siglec-9 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0173] 추가적으로, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 췌양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 폐혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및/또는헤모필루스 인플루엔자를 예방하거나, 이의 위험을 감소시키거나 또는 이를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식의 유도 또는 촉진에 필요한 개체에서 이들을 유도하거나 또는 촉진시키기 위해; 또는 조절 T 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포, 및/또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포의 활성, 작용성 또는 생존의 감소가 필요하다 필요한 개체에서 이들의 감소를 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 단일클론 항체이다.

[0174] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포 수준(예를 들어, 세포 표면 수준, 세포내 수준 및/또는 총 수준)을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 하향조절을 유도한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 절단을 유도한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 내재화를 유도한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 분해를 유도한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 탈감작을 유도한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9를 일시적으로 활성화시키기 위해 리간드 모방체로서 작용한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 리간드 모방체로서 작용하고, Siglec-9의 세포 수준의 감소 및/또는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)의 저해를 유도하기 전에 Siglec-9를 일시적으로 활성화시킨다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 리간드 모방체로서 작용하고, Siglec-9의 분해를 유도하기 전에 Siglec-9를 일시적으로 활성화시킨다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 리간드 모방체로서 작용하고, Siglec-9의 절단을 유도하기 전에 Siglec-9를 일시적으로 활성화시킨다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 리간드 모방체로서 작용하고, Siglec-9의 내재화를 유도하기 전에 Siglec-9를 일시적으로 활성화시킨다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 리간드 모방체로서 작용하고, Siglec-9의 분해를 유도하기 전에 Siglec-9를 일시적으로 활성화시킨다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 리간드 모방체로서 작용하고, Siglec-9 발현의 하향조절을 유도하기 전에 Siglec-9를 일시적으로 활성화시킨다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 리간드 모방체로서 작용하고, Siglec-9의 탈감작을 유도하기 전에 Siglec-9를 일시적으로 활성화시킨다.

[0175] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체는 무린 항체이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용

의 단리된 항-Siglec-9 항체는 인간 항체, 인간화된 항체, 이중 특이성 항체, 단일클론 항체, 다가 항체, 또는 키메라 항체이다. 이러한 항체의 예시적인 설명은 본 개시내용 전체적으로 발견된다.

[0176] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 포유류 Siglec-9 단백질, 침팬지 Siglec-9 단백질(NCBI 수탁 번호 XP_003316614), 그린 원숭이 Siglec-9 단백질(NCBI 수탁 번호 XP_007995940.1), 레서스 마카크 Siglec-9 단백질(NCBI 수탁 번호 XP_001114560.2), 및 마우스 SIGLEC-E 단백질(NCBI 수탁 번호 NP_112458.2)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 인간 Siglec-9 또는 이의 상동체에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 영장류 Siglec-9에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9와 영장류 Siglec-9 둘 다에 특이적으로 결합한다.

[0177] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포 표면 상에서 발현된 본 개시내용의 Siglec-9 단백질에 결합하는 작용제 항체 또는 길항제 항체이며, 표면-발현된 Siglec-9 단백질에 결합 후에 본 개시내용의 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절한다(예를 들어, 유도하거나 또는 저해한다). 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 비활성 항체이다.

[0178] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 TREM2의 세포 표면 수준, TREM2의 세포내 수준, 및/또는 TREM2의 총 수준을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 TREM2 발현을 상당히 감소시키지 않는다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 생체내 TREM2의 세포 수준을 감소시키지 않는다. 일부 실시형태에서, TREM2의 세포 수준은 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포, 호중구 및 NK 세포로부터 선택된 1차 세포 상에서 또는 세포주 상에서 측정되되, TREM2의 세포 수준은 시험관내 세포 분석을 이용하여 측정된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 그것이 본 명세서에 기재되거나 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 세포-기반 분석 또는 적합한 시험관내 모델을 이용하여 항-Siglec-9 항체의 부재 하의 TREM2 발현에 비해 20% 미만만큼 TREM2를 감소시킨다면, cTREM2 발현을 상당히 감소시키지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 항-Siglec-9 항체의 부재 하의 TREM2 발현에 비해 20% 미만, 19% 미만, 18% 미만, 17% 미만, 16% 미만, 15% 미만, 14% 미만, 13% 미만, 12% 미만, 11% 미만, 10% 미만, 9% 미만, 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2%만큼 또는 1% 미만만큼 TREM2 발현을 감소시킨다.

[0179] 항-Siglec-9 항체-결합 영역

[0180] 본 개시내용의 특정 양상은 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-347, 20-140, 141-347, 146-347, 146-229, 236-336 또는 146-347에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는 항-Siglec-9 항체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 62-76 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 86-92 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-92에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 86-96 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 86-96 및 105-116에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 105-116 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 105-116에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 107-115 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 185-194 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합한다.

- [0181] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52, K123, I126, D189, P190, R194로부터 선택된 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 하나 이상의 아미노산에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 D189, P190 및 R194로부터 선택된 1 이상, 2 이상 또는 모두 3개의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 D189, P190 및 R194로부터 선택된 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 1 이상, 2 이상 또는 모두 3개의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 H48, W50, I51, Y52 및 I126로부터 선택된 1개 이상의, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 또는 모두 5개의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 H48, W50, I51, Y52 및 I126로부터 선택되는 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 1개 이상의, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 또는 모두 5개의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52 및 K123로부터 선택된 1개 이상의, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상 또는 모두 6개의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 L22, H48, W50, I51, Y52 및 K123로부터 선택되는 아미노산 잔기에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상의 1개 이상의, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상 또는 모두 6개의 아미노산 잔기에 결합한다.
- [0182] **표 8B**에 나타내는 바와 같이, 항체 2D4에 의한 결합에 연루된 중요한 Siglec-9 잔기는 서열번호 1의 아미노산 잔기 D189, P190 및 R194에 대응된다. 항체 12B12에 의해 결합에 연루된 중요한 Siglec-9 잔기는 서열번호 1의 아미노산 잔기 H48, W50, I51, Y52 및 I126에 대응되었다. 항체 5C6에 의해 결합에 연루된 중요한 Siglec-9 잔기는 서열번호 1의 아미노산 잔기 L22, H48, W50, I51, Y52 및 K123에 대응되었다.
- [0183] 선행 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하고, 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 62-76, 62-76 및 86-92, 86-92, 86-96, 86-96 및 105-116, 105-116, 또는 107-115 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76, 62-76 및 86-92, 86-92, 86-96, 86-96 and 105-116, 105-116, 또는 107-115에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는 항-Siglec-9 항체를 제공한다.
- [0184] 선행 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 표면 수준을 상당히 감소시키지 않고/않거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하지 않는, 그리고 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 185-194 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는 항-Siglec-9 항체를 제공한다. 선행 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9의 세포 표면 수준을 상당히 감소시키지 않고/않거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하지 않는, 그리고 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 아미노산 잔기 62-76 내의, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기 6에 대응하는 Siglec-9 상동체 또는 오솔로그 상의 아미노산 잔기 내의 하나 이상의 아미노산에 결합하는 항-Siglec-9 항체를 제공한다.
- [0185] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 입체배좌적 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 불연속 Siglec-9 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 불연속 Siglec-9 에피토프는 2개 이상의 펩타이드, 3개 이상의 펩타이드, 4개 이상의 펩타이드, 5개 이상의 펩타이드, 6개 이상의 펩타이드, 7개 이상의 펩타이드, 8개 이상의 펩타이드, 9개 이상의 펩타이드, 또는 10개 이상의 펩타이드를 가질 수 있다. 본 명세서에 개시하는 바와 같이, Siglec-9 에피토프는 서열번호 1의 아미노산 서열의 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 또는 20개 이상의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 아미노산 서열에 대응하는 포유류 Siglec-9 단백질 상에서 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 10개 이상, 11개 이상, 12개 이상, 13개 이상, 14개 이상, 15개 이상, 16개 이상, 17개 이상, 18개 이상, 19개 이상, 또는 20개 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 하나 이상의 펩타이드를 포함할 수 있다.
- [0186] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 **표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A 및 표 7B**에 열거된 임의의 항체로부터 선택된 적어도 하나의 항체의 결합을 경쟁적으로 저해한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 적어도 하나의 항체의 결합을 경쟁적으로 저해한다.
- [0187] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 **표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A 및 표 7B**에 열거된 임의의 항체로부터 선택된 적어도 하나의 항체에 의해 결합된 Siglec-9 에피토프와 동일하거나 또는 중복되는 인

간 Siglec-9의 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 적어도 하나의 항체에 의해 결합된 Siglec-9 에피토프와 동일하거나 또는 중복되는 인간 Siglec-9의 에피토프에 결합한다.

[0188] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 임의의 항체로부터 선택된 적어도 하나의 항체에 의해 결합되는 동일한 Siglec-9 에피토프에 본질적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 적어도 하나의 항체에 의해 동일한 Siglec-9 에피토프에 본질적으로 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하기 위한 상세한 예시적인 방법은 문헌[Morris (1996) "Mapping Protocols" *Methods in Molecular Biology* vol. 66(Humana Press, Totowa, NJ)]에서 제공된다.

[0189] 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체가 항-Siglec-9 항체의 부재 하의 Siglec-9에 대한 결합에 비해 약 50% 내지 100%의 범위의 양만큼 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체의 Siglec-9에 대한 결합을 감소시킬 때, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9에 대한 결합에 대해 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체와 경쟁한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체의 부재 하의 Siglec-9에 대한 결합에 비해 항-Siglec-9 항체가 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체의 Siglec-9에 대한 결합을 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100%만큼 감소시킬 때, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9에 대한 결합을 위해 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체와 경쟁한다. 일부 실시형태에서, Siglec-9에 대한 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체의 결합을 100%만큼 감소시키는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 항-Siglec-9 항체가 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체의 Siglec-9에 대한 결합을 본질적으로 완전하게 차단한다는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체 및 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체는 항-Siglec-9 항체 대 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체의 비의 10:1 비, 9:1 비, 8:1 비, 7:1 비, 6:1 비, 5:1 비, 4:1 비, 3:1 비, 2:1 비, 1:1 비, 0.75:1 비, 0.5:1 비, 0.25:1 비, 0.1:1 비, 0.075:1 비, 0.050:1 비, 0.025:1 비, 0.01:1 비, 0.0075:1 비, 0.0050:1 비, 0.0025:1 비, 0.001:1 비, 0.00075:1 비, 0.00050:1 비, 0.00025:1 비, 0.0001:1 비, 1:10 비, 1:9 비, 1:8 비, 1:7 비, 1:6 비, 1:5 비, 1:4 비, 1:3 비, 1:2 비, 1:0.75 비, 1:0.5 비, 1:0.25 비, 1:0.1 비, 1:0.075 비, 1:0.050 비, 1:0.025 비, 1:0.01 비, 1:0.0075 비, 1:0.0050 비, 1:0.0025 비, 1:0.001 비, 1:0.00075 비, 1:0.00050 비, 1:0.00025 비, 또는 1:0.0001 비에 대응하는 양으로 존재한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체의 양에 비해 약 1.5배 내지 100배, 또는 100배 초과 범위의 양만큼 과량으로 존재한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체의 양에 비해 약 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 25배, 30배, 35배, 40배, 45배, 50배, 55배, 60배, 65배, 70배, 75배, 80배, 85배, 90배, 95배 또는 100배 과량의 양으로 존재한다.

[0190] 임의의 적합한 경쟁 분석 또는 당업계에 공지된 Siglec-9 결합 분석, 예컨대 비아코어(BIAcore) 분석, ELISA 분석 또는 유세포분석은 Siglec-9에 대한 결합에 대해 항-Siglec-9 항체가 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 항체와 경쟁하는지의 여부를 결정하기 위해 이용될 수 있다. 예시적인 경쟁 분석에서, 세포 표면 상에서 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포는 Siglec-9에 결합하는 제1 표지 항체(예를 들어, 인간 또는 비-인간 영장류) 및 Siglec-9에 대한 결합을 위해 제1 항체와 경쟁하는 능력에 대해 시험 중인 제2 비표지 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이션된다. 제2 항체는 하이브리도마 상청액 중에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포는 제1 표지 항체를 포함하지만, 제2 비표지 항체는 포함하지 않는 용액 중에서 인큐베이션된다. Siglec-9에 대한 제1 항체의 결합에 허용적인 조건 하에서 인큐베이션 후에, 과량의 비결합 항체가 제거되고, 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포와 관련된 표지의 양이 측정된다. 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포와 관련된 표지의 양이 대조군 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소된다면, 제2 항체는 Siglec-9에 대한 결합에 대해 제1 항체와 경쟁한다는 것을 나타낸다. 문헌[Harlow and Lane (1988)]

Antibodies: A Laboratory Manual ch.14(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)] 참조.

[0191] 항-Siglec-9 항체 경쇄 및 중쇄 가변 영역

[0192] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 (a) 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 항체 중 임의의 하나의 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및/또는 (b) 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 항체 중 임의의 하나의 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3은 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A 및 표 7B에 나타난 바와 같은 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 17C2 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 항체로부터의 EU 또는 카바트 CDR, 코티아 CDR, 또는 콘택트(Contact) CDR 서열을 포함한다.

[0193] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 (i) 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체로부터의 임의의 HVR-L1 서열의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (ii) 표 2, 표 3, 표 4A, 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체로부터의 임의의 HVR-L2 서열의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; (iii) 표 2, 표 3, 표 4A, 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체로부터의 임의의 HVR-L3 서열의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; (iv) 표 2, 표 3, 표 4A, 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체로부터의 임의의 HVR-H1 서열의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (v) 표 2, 표 3, 표 4A, 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체로부터의 임의의 HVR-H2 서열의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (vi) 표 2, 표 3, 표 4A, 4B, 표 7A 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체로부터의 임의의 HVR-H3 서열의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함한다.

[0194] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되, 경쇄 가변 도메인은 (a) 서열번호 6-9, 172 및 173으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 6-9, 172 및 173으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열번호 10-13, 174 및 175로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 10-13, 174 및 175로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열번호 14-18, 176 및 177로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 14-18, 176 및 177로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3 중 하나 이상을 포함하고; 그리고/또는 중쇄 가변 도메인은: (a) 서열번호 19-21, 178 및 179로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 19-21, 178 및 179로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열번호 22-25, 180 및 181로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 22-25, 180 및 181로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열번호 26-29, 182 및 183으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 26-29, 182 및 183으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 90% 상동성인 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 중 하나 이상을 포함한다.

[0195] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하되, (a) HVR-L1은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H1은 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-H2는 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H3은 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (b) HVR-L1은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H1은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-H2는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H3은 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (c) HVR-L1은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-H2는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H3은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (d) HVR-L1은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-H2는 서열번호 25의 아미노산

서열을 포함하고, HVR-H3은 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (e) HVR-L1은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H1은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-H2는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H3은 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하거나; (f) HVR-L1은 서열번호 172의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 174의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 176의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H1은 서열번호 178의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H2는 서열번호 180의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H3은 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (g) HVR-L1은 서열번호 173의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-L2는 서열번호 175의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-L3은 서열번호 177의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H1은 서열번호 179의 아미노산 서열을 포함하며, HVR-H2는 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하고, HVR-H3은 서열번호 183의 아미노산 서열을 포함한다.

[0196] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A, 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체 중 임의의 하나의 경쇄 가변 영역; 및/또는 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A, 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항체 중 임의의 하나의 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 서열번호 61-115 및 197-204 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및/또는 서열번호 116-170 및 205-212 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 138의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 105의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 160의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 197의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 205의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인은 서열번호 201의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 중쇄 가변 도메인은 서열번호 210의 아미노산 서열을 포함한다.

[0197] 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 5C6-H1의 중쇄 가변 도메인 및 항체 5C6-L1의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 5C6-H2의 중쇄 가변 도메인 및 항체 5C6-L2의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 5C6-H2의 중쇄 가변 도메인 및 항체 5C6-L3의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 5C6-H3의 중쇄 가변 도메인 및 항체 5C6-L2의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 5C6-H3의 중쇄 가변 도메인 및 항체 5C6-L3의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 5C6-H4의 중쇄 가변 도메인 및 항체 5C6-L2의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 5C6-H4의 중쇄 가변 도메인 및 항체 5C6-L3의 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0198] 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 12B12-H1의 중쇄 가변 도메인 및 항체 12B12-L1의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 12B12-H2의 중쇄 가변 도메인 및 항체 12B12-L1의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 12B12-H2의 중쇄 가변 도메인 및 항체 12B12-L2의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항체 12B12-H2의 중쇄 가변 도메인 및 항체 12B12-L3의 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0199] 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항-Siglec-9 단일클론 항체 2D4이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 2D4와 본질적으로 동일한 TREM2 에피토프에 결합하는 단리된 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 단일클론 항체 2D4의 중쇄 가변 도메인의 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 포함하는 단리된 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 단일클론 항체 2D4의 경쇄 가변 도메인의 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함하는 단리된 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 단일클론 항체 2D4의 중쇄 가변 도메인의 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 및 경쇄 가변 도메인의 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함하는 단리된 항체이다.

[0200] 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 항-Siglec-9 단일클론 항체 2D5이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 2D5와 본질적으로 동일한 TREM2 에피토프에 결합하는 단리된 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 단일클론 항체 2D5의 중쇄 가변 도메인의 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 포함하는 단리된 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 단일클론 항체 2D5의 경쇄 가변 도메인의 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함

일 수 있다. 항체 생성에 적합한 당업계에 공지된 임의의 세포주는 본 개시내용의 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 항체 생성을 위한 예시적인 세포주는 본 개시내용 전체적으로 기재된다.

[0209] 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 항-Siglec-9 단일클론 항체이다. 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 길항제 항체이다. 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 작용제 항체 또는 비활성 항체이다.

[0210] 항-Siglec-9 항체 결합 친화도

[0211] 인간 Siglec-9, 포유류 Siglec-9 또는 둘 다에 대한 항-Siglec-9 항체의 해리 상수(K_D)는 100nM 미만, 90nM 미만, 80nM 미만, 70nM 미만, 60nM 미만, 50nM 미만, 40nM 미만, 30nM 미만, 20nM 미만, 10nM 미만, 9.5nM 미만, 9nM 미만, 8.5nM 미만, 8nM 미만, 7.5nM 미만, 7nM 미만, 6.9nM 미만, 6.8nM 미만, 6.7nM 미만, 6.6nM 미만, 6.5nM 미만, 6.4nM 미만, 6.3nM 미만, 6.2nM 미만, 6.1nM 미만, 6nM 미만, 5.9nM 미만, 5.8nM 미만, 5.7nM 미만, 5.6nM 미만, 5.5nM 미만, 5.4nM 미만, 5.3nM 미만, 5.2nM 미만, 5.1nM 미만, 5nM 미만, 4.5nM, 4nM 미만, 3.5nM 미만, 3nM 미만, 2.9nM 미만, 2.8nM 미만, 2.7nM 미만, 2.6nM 미만, 2.5nM 미만, 2.4nM 미만, 2.3nM 미만, 2.2nM 미만, 2.1nM 미만, 2nM 미만, 1.5nM 미만, 1nM 미만, 0.9nM 미만, 0.8nM 미만, 0.79nM 미만, 0.78nM 미만, 0.77nM 미만, 0.76nM 미만, 0.75nM 미만, 0.74nM 미만, 0.73nM 미만, 0.72nM 미만, 0.71nM 미만, 0.70nM 미만, 0.6nM 미만, 0.59nM 미만, 0.58nM 미만, 0.57nM 미만, 0.56nM 미만, 0.55nM 미만, 0.54nM 미만, 0.53nM 미만, 0.52nM 미만, 0.51nM 미만, 0.50nM 미만, 0.4nM 미만, 0.3nM 미만, 0.29nM 미만, 0.28nM 미만, 0.27nM 미만, 0.26nM 미만, 0.25nM 미만, 0.24nM 미만, 0.23nM 미만, 0.22nM 미만, 0.21nM 미만, 0.2nM 미만, 0.1nM 미만 또는 0.05nM(즉, 50pM) 미만일 수 있다. 일부 실시형태에서, 상기 항체는 인간 Siglec-9, 포유류 Siglec-9 또는 둘 다에 대해 해리 상수(K_D)가 10nM 미만으로부터 10pM(즉, 0.01nM) 까지의 범위이다. 일부 실시형태에서, 항체는 인간 Siglec-9에 대해 해리 상수(K_D)가 약 9nM 내지 약 300pM, 또는 300pM 미만의 범위이다. 일부 실시형태에서, 항체는 인간 Siglec-9에 대해 해리 상수(K_D)가 약 9nM 내지 약 230pM, 또는 2300pM 미만의 범위이다. 해리 상수는 임의의 생화학적 또는 생물리학적 기법, 예컨대 ELISA, 표면 플라즈몬 공명 (SPR), 생체층간섭계법(예를 들어, 문헌[Octet System by ForteBio] 참조), 등온 적정형 열량계(ITC), 시차주사 열량측정법(DSC), 원이색성(CD), 유동 정지 분석, 및 표색 또는 형광 단백질 용융 분석을 포함하는 임의의 분석 기법을 통해 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, K_D 는 1가 형태로 전장 항체를 이용하여 결정된다. 일부 실시형태에서, K_D 는, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 표면 플라즈몬 공명 분석 또는 포르테바이오 분석을 이용하여 결정된다(예를 들어, 실시예 1).

[0212] 추가적인 항-Siglec-9 항체, 예를 들어, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체는 당업계에 공지된 다양한 분석에 의해 그들의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 동정되고/되거나 선별되고/되거나 특성규명될 수 있다.

[0213] Fc 감마 수용체에 결합할 수 있는 항-Siglec-9 항체

[0214] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Fc 감마 수용체에 결합하는 능력을 보유한다. 일부 실시형태에서, 이러한 항체는 그들이 수용체 활성화와 양립 가능한 정확한 에피토프 특이성을 가질 때 그들을 클러스터링하고 일시적으로, 예를 들어, Siglec-9 수용체를 자극하게 할 수 있는 특징을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 항체는 후속적으로 Siglec-9 분해, Siglec-9 탈감작, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 웨딩, Siglec-9 발현의 하향조절, 및/또는 Siglec-9의 라이소좀 분해를 유도함으로써 Siglec-9 발현의 및/또는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성의 더 장기간의 저해제로서 작용할 수 있다.

[0215] 생체내, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 다중 잠재적 메커니즘 중 임의의 하나 이상에 의해 수용체를 클러스터링하고, 일시적으로 Siglec-9를 활성화시킬 수 있다. 인간 항체, 예컨대 IgG2의 일부 아이소타입은 그들의 고유한 구조에 기인하여 수용체를 클러스터링하는 본래의 능력을 가지거나 또는 클러스터링된 입체배치로 수용체를 보유함으로써, Fc 수용체에 대한 결합 없이 Siglec-9와 같은 수용체를 일시적으로 활성화시킨다(예를 들어, White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148).

[0216] 일부 실시형태에서, 다른 항체는 인접한 세포 상의 Fcγ 수용체에 대한 결합에 의해 수용체(예를 들어, Siglec-9)를 클러스터링할 수 있다. 일부 실시형태에서, Fcγ 수용체에 대한 항체의 불변 IgG Fc 영역의 결합은 항체의 응집을 야기할 수 있고, 항체는 결국 그들이 그들의 가변 영역을 통해 결합하는 수용체에 응집할 수 있다(Chu et al (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933; 및 Wilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101-113). 일부 실시형

태에서, 사이토카인 분비, 산화적 과열, 증가된 식세포작용 및 향상된 항체-의존적, 세포-매개 세포독성(ADCC)을 유발하지 않는 저해 Fcg 수용체 FcγR(FcγRIIB)에 대한 결합이 생체내 항체를 클러스터링하는 바람직한 방법인데, FcγRIIB에 대한 결합이 유해한 면역반응 효과와 관련되지 않기 때문이다.

[0217] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체가 수용체를 클러스터링할 수 있는 다른 메커니즘이 있다. 예를 들어, 함께 가교되는 항체 단편(예를 들어, Fab 단편)은 상기 기재되는 Fcg 수용체에 결합하는 Fc 영역을 갖는 항체와 유사한 방식으로 수용체(예를 들어, Siglec-9)를 클러스터링하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 가교 항체 단편(예를 들어, Fab 단편)은, 그들이 세포 표면 상에서 수용체 클러스터링을 유도하고 표적(예를 들어, Siglec-9) 상의 적절한 에피토프에 결합한다면, 작용제 항체로서 일시적으로 작용할 수 있다.

[0218] 따라서, 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질에 결합하는 본 개시내용의 항체는 그들의 에피토프 특이성에 기인하여, 그들이, 예를 들어, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고/시키거나, (예를 들어, Siglec-9의 감소된 세포 수준에 기인하여) 하나 이상의 Siglec-9 활성을 저해하고/하거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하기 전에, Siglec-9에 결합하고, 하나 이상의 Siglec-9 활성을 일시적으로 활성화시키는 작용제 항체를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 항체는 Siglec-9 상의 리간드-결합 부위에 결합하고, 천연 리간드의 작용을 일시적으로 모방할 수 있다. 대안적으로, 이러한 항체는 리간드-결합 부위가 아닌 하나 이상의 도메인에 대한 결합에 의해 신호를 도입하는 표적 항원을 자극할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 항체는 리간드 결합을 방해하지 않을 것이다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 상의 리간드-결합 부위에 결합하거나 또는 결합하지 않는지의 여부와 상관없이, Siglec-9 분해, Siglec-9 탈감작, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 shedding, Siglec-9 발현의 하향조절, 및/또는 Siglec-9의 라이소좀 분해를 유도함으로써 항체는 후속적으로 Siglec-9 발현 및/또는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성의 더 장기간 저해제로서 작용할 수 있다.

[0219] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 일시적으로 유도하는 일시적 작용제 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 세포에서 발현되는 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 하나 이상의 활성을 일시적으로 유도한다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질은 세포 표면 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 일시적 작용제 항-Siglec-9 항체에 의해 일시적으로 유도되는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성은 Src 패밀리 타이로신 키나제, 예컨대 Syk, LCK, FYM 및/또는 ZAP70에 의한 Tyr-433 및 Tyr-456의 인산화; 타이로신-특이적 단백질 포스포타제 SHP1 및 SHP2의 동원 및 이에 대한 결합; 다이아미나-1에 대한 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자로서 작용하는 PLC-감마1의 동원 및 이에 대한 결합; SH2-도메인 포함 단백질(예를 들어, Crkl)의 동원 및 이에 대한 결합; 비장 타이로신 키나제 Syk의 동원 및 이에 대한 결합; SH3-SH2-SH3 성장 인자 수용체-결합 단백질 2(Grb2)의 동원 및 이에 대한 결합; 다중 SH2-함유 단백질의 동원 및 이에 대한 결합; 하나 이상의 전염증성 사이토카인, 예컨대 FN-α4, IFN-베타, IL-1β, IL-1α와, TNF-α, IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리 구성원, LIF, IFN-감마, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, CRP, MCP-1 및 MIP-1-베타; 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 조절된 발현; TNF, IFN-베타1a, IFN-베타1b 또는 IL-6에 대한 하나 이상의 항-염증성 사이토카인, 예컨대 IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-베타, IL-1Ra, G-CSF 및 가용성 수용체의 발현; 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 조절된 발현; C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및 PYCARD; 세포외 신호-조절 키나제(ERK) 인산화의 저해로부터 선택된 하나 이상의 단백질의 발현 조절; 하나 이상의 세포 단백질 상에서 타이로신 인산화의 감소(선택적으로, 여기서 하나 이상의 세포 단백질은 ZAP-70을 포함하고, 타이로신 인산화는 ZAP-70의 Tyr-319 상에서 생김); C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)의 조절된 발현; CCL19-발현 및 CCL21-발현 세포에 대한 미세아교세포 주화성의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포, M2 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구 및 M2 NK 세포; 파골세포 생성, 감소된 비율의 파골세포형성, 또는 둘 다의 저해로부터 선택된 하나 이상의 세포에 의해 유도된 T 세포 증식의 감소; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 생존 감소;

수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포 증식의 감소; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 하나 이상의 작용의 저해; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 파골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 성숙 저해; 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 기타 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스 및 종양 세포 클리어런스로부터 선택된 한 가지 이상의 유형의 클리어런스의 저해; (선택적으로 여기서 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨 이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔솔린, 케라토피테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되고, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 또는 종양 세포의 하나 이상의 식세포 작용의 저해; (선택적으로 여기서 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔솔린, 케라토피테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되며, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 또는 갑상선암; 종양 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 호중구, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포 및 NK 세포로부터 선택된 세포 상의 Siglec-9 리간드에 대한 결합; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 저해; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 증식 활성의 저해; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포; 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체의 저해 중 하나 이상의 항-종양 세포 전이 활성의 저해(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체는 TREM1, TREM2, Sirp 베타, FcγR, DAP10 및 DAP12로부터 선택됨); 하나 이상의 패턴 인식 수용체(PRR)에 의한 신호전달

의 저해(선택적으로 하나 이상의 PRR은 병원균-관련 분자 패턴(PAMP)을 동정하는 수용체, 손상-관련 분자 패턴(DAMP)을 동정하는 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택됨); 모티프 D/Ex₀₋₂YxxL/IX₆₋₈YxxL/I(서열번호 252)를 포함하는 하나 이상의 수용체의 저해; 하나 이상의 톨-유사 수용체에 의한 신호전달의 저해; JAK-STAT 신호전달 경로의 저해; 활성화된 B 세포의 핵인자 카파-경쇄 인핸서(NF κ B)의 저해; ITAM 모티프 포함 수용체의 탈인산화; 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질, 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체의 조절된 발현(선택적으로 여기서, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질, 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체는 CD86, C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및/또는 PYCARD를 포함하고, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); 하나 이상의 Siglec-9-의존적 유전자의 발현 증가; 파괴된 Siglec-9-의존적 유전자 발현의 정상화; 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자 발현의 감소(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자는 활성화된 T 세포(NFAT) 전사 인자의 핵 인자에 의해 활성화됨); 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성의 촉진 또는 구조; 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 증가; 종양에서, 말초 혈액에서 또는 다른 림프 기관에서 종양-촉진 골수성/과립구 면역-억제 세포 수의 증가; 골수-유래 억제자 세포의 종양-촉진 활성의 향상; 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-촉진성 사이토카인의 발현 증가(선택적으로 종양-촉진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10임); 종양-촉진성 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가; 골수-유래 억제자 세포의 종양-촉진 활성의 향상(MDSC); 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; NK 세포의 종양 사멸 잠재력의 감소; 면역반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; 종양 용적의 증가; 종양 성장 속도의 증가; 전이의 증가; 종양 재발 속도의 증가; 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역-요법의 효능 감소(선택적으로 한 가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG-3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1 수용체로부터 선택된 하나 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역 요법, 및 이들의 임의의 조합, 또는 한 가지 이상의 암 백신임); PLC γ /PKC/칼슘 가동의 저해; 및 PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 임의의 적합한 기법 또는 당 업계에 공지되고 본 명세서에 개시된 분석을 이용하여 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 일시적으로 유도하는 그들의 능력에 대해 시험될 수 있다. 이러한 항체가 일시적으로 유도하는 것과 상관 없이, 이러한 항체는 후속적으로 Siglec-9 분해, Siglec-9 탈감작, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 웨딩, Siglec-9 발현의 하향조절, 및/또는 Siglec-9의 라이소좀 분해를 유도함으로써 Siglec-9 발현의 및/또는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성의 더 장기간의 저해제로서 작용할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 항체는 Fc 수용체에 대한 결합과 독립적으로 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 일시적으로 유도한다.

[0220]

예시적인 항체 Fc 아이소타입 및 변형은 이하의 표 C에 제공한다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체에 결합할 수 있는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 이하의 표 C에 열거되는 Fc 아이소타입을 가진다.

표 C: Fc 감마 수용체에 결합할 수 있는 예시적인 항-Siglec-9 항체 Fc 아이소타입

Fc 아이소타입	돌연변이(EU 또는 카바트 넘버링 계획)
IgG1	N297A
IgG1	D265A 및 N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A 및 L235A L234A 및 G237A L234A 및 L235A 및 G237A
IgG1	D270A, 및/또는 P238D, 및/또는 L328E, 및/또는 E233D, 및/또는 G237D, 및/또는 H268D, 및/또는 P271G, 및/또는 A330R
IgG1	P238D 및 L328E 및 E233D 및 G237D 및 H268D 및 P271G 및 A330R
IgG1	P238D 및 L328E 및 G237D 및 H268D 및 P271G 및 A330R
IgG1	P238D 및 S267E 및 L328F 및 E233D 및 G237D 및 H268D 및 P271G 및 A330R
IgG1	P238D 및 S267E 및 L328F 및 G237D 및 H268D 및 P271G 및 A330R
IgG2	V234A 및 G237A
IgG4	L234A 및 L235A 및 E318A
IgG4	S228P 및 L236E
IgG2/4 혼성체	IgG2 aa 118 내지 260 및 IgG4 aa 261 내지 447 H268Q 및 V309L; 및 A330S 및 P331S
IgG1	C226S 및 C229S 및 E233P 및 L234V 및 L235A
IgG1	L234F 및 L235E 및 P331S
IgG2	C232S 또는 C233S
IgG2	A330S 및 P331S
IgG1	S267E, 및 L328F S267E 단독
IgG2	S267E 및 L328F
IgG4	S267E 및 L328F
IgG2	카파(경쇄) LC를 갖는 WT HC 카파 LC를 갖는 HC C127S 카파 LC C214S 카파 LC C214S 및 HC C233S 카파 LC C214S 및 HC C232S P330S 및 P331S 돌연변이와 함께 임의의 상기 열거된 돌연변이 WT IgG1 및 임의의 상기 열거한 돌연변이의 F(ab') ₂ 단편

[0221]

Fc 아이소타입	돌연변이(EU 또는 카바트 넘버링 계획)
IgG1	IgG1의 불변 중쇄 1(CH1) 및 힌지 영역을 IgG2의 CH1 및 힌지 영역으로 치환 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEFVTVS WNSGALTSGV HTPFAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPKPS NTKVDKTVR KCCVECPQCP (서열번호 171) 카파 LC를 가짐
IgG1	A330L 및/또는 L234F 및/또는 L235E 및/또는 P331S와 함께 임의의 상기 열거된 돌연변이
IgG1, IgG2, 또는 IgG4	M252Y 및/또는 S254T 및/또는 T256E와 함께 임의의 상기 열거된 돌연변이
마우스 IgG1	F 또는 마우스 질환 모델
IgG4	WT

[0222]

[0223]

표 C에 기재한 아이소타입에 추가로, 이론으로 구속되는 일 없이, 인간에서 Fcγ 수용체 I, IIA, IIC, IIIA, IIIB 및/또는 마우스에서 Fcγ 수용체 I, III 및 IV에 결합하는 인간 IgG1 또는 IgG3 아이소타입 및 이의 돌연변이체를 갖는 항체(예를 들어, 문헌[Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 2009, 20:685-691])는 또한 일시적 작용제 항체로서 작용할 수 있다는 것이 생각된다.

[0224]

일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 IgG 부류, IgM 부류 또는 IgA 부류이다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 아이소타입을 가진다.

[0225]

특정 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 IgG2 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용

체-결합 항체는 인간 IgG2 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG2 불변 영역은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 저해 Fc 수용체에 결합한다. 특정 실시형태에서, 저해 Fc 수용체는 저해 Fc-감마 수용체 IIB(Fc γ IIB)이다. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 하나 이상의 변형을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, Fc 영역은 (예를 들어, 동일한 아이소타입의 야생형 Fc 영역에 비해) 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 V234A(Alegre et al., (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A(Cole et al. (1999) *Transplantation*, 68:563-571), H268Q, V309L, A330S, P331S(미국 특허 제2007/0148167호; Armour et al. (1999) *Eur J Immunol* 29: 2613-2624; Armour et al. (2000) *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27; Armour et al. (2000) *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27), C232S, 및/또는 C233S(White et al.(2015) *Cancer Cell* 27, 138-148), S267E, L328F(Chu et al., (2008) *Mol Immunol*, 45:3926-3933), M252Y, S254T, 및/또는 T256E로부터 선택되고, 아미노산 위치는 EU 또는 Kabat 넘버링 관례에 따른다.

[0226] 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 C127S 아미노산 치환을 포함하는 중쇄 불변 도메인을 갖는 IgG2 아이소타입을 가지며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다(문헌[White et al.,(2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762]; 및 W02008079246).

[0227] 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 C214S 아미노산 치환을 포함하는 카파 경쇄 불변 도메인을 갖는 IgG2 아이소타입을 가지며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다(문헌[White et al.,(2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762]; 및 W02008079246).

[0228] 특정 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 IgG1 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 마우스 IgG1 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 인간 IgG1 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG1 불변 영역은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 저해 Fc 수용체에 결합한다. 특정 실시형태에서, 저해 Fc 수용체는 저해 Fc-감마 수용체 IIB(Fc γ IIB)이다. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 하나 이상의 변형을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, Fc 영역은 (예를 들어, 동일한 아이소타입의 야생형 Fc 영역에 비해) 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 N297A(Bolt S et al. (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A (Shields et al. (2001) *R. J. Biol. Chem.* 276,6591-6604),D270A,L234A,L235A(Hutchins et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984; Alegre et al., (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A(Alegre et al. (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al. (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R, C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E(McEarchern et al., (2007) *Blood*,109:1185-1192), P331S(Sazinsky et al., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:20167-20172), S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T, T256E, N297Q, P238S, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, 및/또는 T394D로부터 선택되며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다.

[0229] 일부 실시형태에서, 항체는 IgG2 아이소타입 중쇄 불변 도메인 1(CH1) 및 힌지 영역을 포함한다(White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148). 특정 실시형태에서, IgG2 아이소타입 CH1 및 힌지 영역은 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKC CVECPPCP (서열번호 171)의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 Fc 영역은 S267E 아미노산 치환, L328F 아미노산 치환, 또는 둘다, 및/또는 N297A 또는 N297Q 아미노산 치환을 포함하며, 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다.

[0230] 특정 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 IgG4 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 인간 IgG4 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG4 불변 영역은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 저해 Fc 수용체에 결합한다. 특정 실시형태에서, 저해 Fc 수용체는 저해 Fc-감마 수용체 IIB(Fc γ IIB)이다. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 하나 이상의 변형을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, Fc 영역은 (예를 들어, 동일한 아이소타입의 야생형 Fc 영역에 비해) 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 L235A, G237A, S228P, L236E(Reddy et al., (2000) *J Immunol*,164:1925-1933), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T, 및/또는 T256E로부터 선택되며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다.

- [0231] 특정 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체는 혼성체 IgG2/4 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체-결합 항체 인간 IgG2의 EU 또는 카바트 넘버링에 따른 아미노산 118 내지 260 및 인간 IgG4의 EU 또는 카바트 넘버링에 따른 아미노산 261 내지 447(WO 1997/11971; WO 2007/106585)을 포함한다.
- [0232] 특정 실시형태에서, 상기 항체는 마우스 IgG4 불변 영역을 포함한다(Bartholomaeus, et al. (2014). J. Immunol. 192,2091-2098).
- [0233] 일부 실시형태에서, Fc 영역은 EU 또는 카바트 넘버링에 따른 A330L, L234F; L235E 또는 P331S로부터 선택된 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환; 및 이들의 임의의 조합을 추가로 포함한다.
- [0234] *비활성 항체*
- [0235] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 다른 부류는 비활성 항체를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, "비활성" 항체는 그들의 표적 항원(예를 들어, Siglec-9)에 특이적으로 결합하지만, 항원 작용을 조절(예를 들어, 감소/저해 또는 활성화/유도) 하지않는 항체를 지칭한다. 예를 들어, Siglec-9의 경우에, 비활성 항체는 Siglec-9의 세포 수준을 조절하지 않거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 조절하지 않거나, 또는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 조절하지 않는다. 일부 실시형태에서, 세포 표면 상의 Siglec-9를 클러스터링하는 능력을 갖지 않는 항체는, 그들이 수용체 활성화와 양립 가능한 에피토프 특이성을 가진다고 해도, 비활성 항체일 수 있다.
- [0236] 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질에 결합하는 항체는 Siglec-9에 결합하는 항체를 포함할 수 있지만, 그들의 에피토프 특이성 또는 특징에 기인하여, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키지 않고/않거나 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하지 않는다. 일부 실시형태에서, 이러한 항체는, 예를 들어, 종양 세포 내로 독소(예를 들어, 화학치료제)를 수송하기 위한 화물(cargo)로서 사용될 수 있다. 이러한 항체는 칼리키아미신 부류로부터의 세포독성제에 접합되고 급성 골수성 백혈병 종양을 표적화하고 사멸시키기 위해 사용되는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는 현재 상업적으로 입수 가능한 항-Siglec-9 항체, 예컨대 겐투주맙 조가미신보다 우수할 수 있다(Naito et al., (2000), Leukemia, 14, 1436-1443; Ricart (2011) Clin Cancer Res 17; 6417-6436; Hamann et al., (2002) Journal: Bioconjugate Chemistry, 13, 47-58; Beitz et al., (2001) Clin Cancer Res 7 ; 1490-6; 및 Malik M. et al. (2015) Human Molecular Genetics,1-14.). 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 비활성 항-Siglec-9 항체는 상업적 항체, 예컨대 겐투주맙 조가미신보다 우수할 수 있는데, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키지 않는 항체가 추가적인 독소-접합 항체에 의해 표적화되기 위한 종양 세포의 표면 상에 Siglec-9 무손상을 남길 것이기 때문이다. 대조적으로, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는 항체는 세포 표면으로부터 Siglec-9를 제거할 것이고, 독소-접합 항체에 의한 추가적인 표적화로부터 종양 세포의 보호를 야기할 것이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항체는 Siglec-9에 결합하지만 Siglec-9의 세포 수준을 감소시킬 수 없거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해할 수 없거나 또는 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 유도할 수 없는 비활성 항체이다.
- [0237] 세포 상에서 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나 또는 감소시키지 않는 항체는 하나 이상의 Fcγ 수용체에 대해 감소된 결합을 나타내는 비활성 Fc 영역과 조합될 수 있다. 이러한 Fc 영역 및 변형의 예는 이하의 표 D에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 비활성 Fc 영역을 갖는 항체는 이하의 표 D에 열거된 Fc 아이소타입을 가진다.
- [0238] *길항제 항-Siglec-9 항체*
- [0239] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 제3 부류는 길항제 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 단백질에 결합하는 항체는 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키고, Siglec-9 및/또는 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해하고, Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 저해하는 길항제 항체를 포함할 수 있다. 이러한 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 방지함으로써 또는 하나 이상의 Siglec-9 리간드의 존재 하에서 세포질 내로 Siglec-9의 세포의 도메인으로부터의 신호 형질도입을 방지함으로써 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 저해한다. 길항제 항체는 또한 Siglec-9 분해, Siglec-9 탈감작, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 웨딩, Siglec-9 발현의 하향조절, 및/또는 Siglec-9의 라이소좀 분해를 유도함으로써 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킴으로써 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 활성을 저해할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 길항제 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9를 일시적으로 활성화하지 않을 수도 있다.
- [0240] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 본 개시내용의 일시적 작용제 항-Siglec-9 항체의 에피토프 특이성을 가질 수 있지만, Fcγ 수용체와 결합할 수 없고, 따라서, 예를 들어, Siglec-9를 일시적으

로 클러스터 및 활성화시킬 수 없는 Fc 도메인을 가진다.

[0241]

일부 실시형태에서, 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 다음의 활성 중 하나 이상을 갖지만, 이들로 제한되지 않는다: 하나 이상의 Siglec-9 리간드, 예컨대 시알산-함유 당지질 또는 시알산-함유 당단백질에 대한 Siglec-9 단백질의 결합을 감소시키는 능력, Siglec-9 단백질에 대한 사이토카인 신호전달(SOCS) 단백질(예를 들어, SOCS3 단백질)의 억제자의 결합을 감소시키는 능력, Siglec-9 단백질의 프로테아좀 분해를 증가시키는 능력, 순환 수지상 세포, 대식세포, 단핵구, T 세포 및/또는 미세아교세포의 표면 상에서 Siglec-9의 작용성 발현을 감소시키는 능력, Src 패밀리 타이로신 키나제, 예컨대 Syk, LCK, FYM 및/또는 ZAP70에 의한 Tyr-433 및 Tyr-456의 인산화를 감소시키거나 또는 저해하는 능력; 타이로신-특이적 단백질 포스포타제 SHP1 및 SHP2의 동원 및 이에 대한 결합을 저해하는 능력; 다이아미니-1에 대한 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자로서 작용하는 PLC-감마1의 동원 및 이에 대한 결합을 저해하는 능력; SH2-도메인 포함 단백질(예를 들어, Crk1)의 동원 및 이에 대한 결합을 저해하는 능력; 비장 타이로신 키나제 Syk의 동원 및 이에 대한 결합을 저해하는 능력; SH3-SH2-SH3 성장 인자 수용체-결합 단백질 2(Grb2)의 동원 및 이에 대한 결합을 저해하는 능력; 다중 SH2-함유 단백질의 동원 및 이에 대한 결합을 저해하는 능력; 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 발현을 조절하는 능력(선택적으로 여기서, 하나 이상의 항-염증성 사이토카인은 FN- α 4, IFN-베타, IL-1 β , IL-1 α 와, TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리 구성원, LIF, IFN-감마, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-33, MCP-1, 및 MIP-1-베타로부터 선택됨); 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 발현을 조절하는 능력; 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 발현을 조절하는 능력(선택적으로 여기서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인은 TNF, IFN-베타1a, IFN-베타1b 또는 IL-6에 대한 IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-베타, IL-1Ra, G-CSF 및 가용성 수용체로부터 선택됨); 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 발현을 조절하는 능력; 세포의 신호-조절 키나제(ERK) 인산화의 저해에 대응하는 능력; 하나 이상의 세포 단백질 상에서 감소된 타이로신 인산화를 방지하는 능력(선택적으로 여기서, 하나 이상의 세포 단백질은 ZAP-70을 포함하고, 타이로신 인산화는 ZAP-70의 Tyr-319 상에서 생김); C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)의 발현을 조절하는 능력; CCL19-발현 및 CCL21-발현 세포에 대한 미세아교세포 주화성의 저해를 방지하는 능력; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포, M2 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구 및 M2 NK 세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에 의해 유도된 T 세포 증식 감소를 방지하는 능력; 과골세포 생성의 저해를 방지하는 능력, 감소된 비율의 과골세포형성을 방지하는 능력, 또는 둘 다; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 감소된 생존을 방지하는 능력; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 증식을 방지하는 능력; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동을 향상시키는 능력; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 하나 이상의 작용의 감소를 방지하는 능력; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포,

단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 성숙을 향상시키는 능력; 세포 자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 기타 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스 및 종양 세포 클리어런스로부터 선택된 한 가지 이상의 유형의 클리어런스를 향상시키는 능력; (선택적으로 여기서 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 젤슬린, 케라토피테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되고, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 또는 종양 세포의 하나 이상의 식세포작용의 저해; (선택적으로 여기서 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 젤슬린, 케라토피테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되며, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 또는 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 종양 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; 호중구, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포 및 NK 세포로부터 선택된 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 저해; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 증식 활성의 활성화; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 전이 활성을 향상시키는 능력; 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체의 활성을 향상시키는 능력(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체는 TREM1, TREM2, SIRP 베타, Fc 감마 수용체(FcγR), DAP10 및 DAP12로부터 선택됨); 하나 이상의 패턴 인식 수용체(PRR)에 의해 신호전달을 향상시키는 능력(선택적으로 하나 이상의 PRR은 병원균-관련 분자 패턴(PAMP)을 동정하는 수용체, 손상-관련 분자 패턴(DAMP)을 동정하는 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택됨); 모티프 D/Ex0-2YxxL/IX₆₋₈YxxL/I(서열번호 252)를 포함하는 하나 이상의 수용체의 활성을 향상시키는 능력; 하나 이상의 톨-유사 수용체에 의한 신호전달을 향상시키는 능력; JAK-STAT 신호전달 경로를 향상시키는 능력; 활성화된 B 세포의 핵인자 카파-경쇄 인핸서(NFκB)의 활성을 향상시키는 능력; ITAM 모티프 포함 수용체의 인핸서를 증가시키는 능력; 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현되는 수용체의 발현을 증가시키는 능력(선택적으로 여기서, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현되는 수용체는 CD86, C1qa, C1qb, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX, 및/또는 PYCARD를 포함하고, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 면역 세포 상에서 발현되는 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); 하나 이상의 Siglec-9-의존적 유전자의 발현을 감소시키는

능력; 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자의 발현을 향상시키는 능력(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자는 활성화된 T 세포(NFAT) 전사 인자의 핵 인자에 의해 활성화됨); 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 분화를 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성을 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤을 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 종양에서, 말초 혈액에서 또는 다른 림프구 기관에서 종양-축진 골수성/과립구 면역-억제 세포 수를 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 골수-유래 억제자 세포의 종양-축진 활성을 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-축진 사이토카인, 예컨대 TGF-베타 또는 IL-10의 발현을 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 종양-축진 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤을 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 종양-축진 활성을 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구를 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤을 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력; NK 세포의 종양 사멸 잠재력을 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력; 면역 반응을 향상시키기 위한 잠재력을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤을 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤을 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력; 종양 용적을 감소시키는 능력; 종양 성장 속도를 감소시키는 능력; 전이를 감소시키거나 또는 달리 저해하는 능력; 종양 재발 속도를 감소시키는 능력; 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역-요법의 효능을 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력(선택적으로 한 가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG-3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 하나 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역-요법, 또는 하나 이상의 암 백신임); PLC γ /PKC/칼슘 가동을 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력; 및 PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달을 증가시키거나 또는 달리 향상시키는 능력.

[0242] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 하나 이상의 Fcγ 수용체에 대해 감소된 결합을 나타내는 Fc 영역을 가진다. 이러한 Fc 영역 및 변형의 예는 이하의 표 D에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 항체는 이하의 표 D에 열거된 Fc 아이소타입을 가진다.

[0243] *Fc 감마 수용체에 대해 감소된 결합을 갖는 항체 Fc 아이소타입*

[0244] 일부 실시형태에서, Fc 감마 수용체에 대해 감소된 결합을 갖는 항-Siglec-9 항체는 이하의 표 D에 열거된 Fc 아이소타입을 가진다.

표 D: Fc 감마 수용체에 대해 감소된 결합을 갖는 예시적인 항-Siglec-9 항체 Fc 아이소타입

Fc 아이소타입	돌연변이(EU 또는 카바트 넘버링 계획)
IgG1	N297A 또는 N297Q
IgG1	D265A, D270A, 및 N297A
IgG1	L234A 및 L235A
IgG2	V234A 및 G237A
IgG4	F235A 및 G237A 및 E318A E233P 및/또는 F234V N297A 또는 N297Q
IgG4	S228P 및 L236E S241P S241P 및 L248E S228P 및 F234A 및 L235A
IgG2	H268Q 및 V309L 및 A330S 및 P331S
IgG1	C220S 및 C226S 및 C229S 및 P238S
IgG1	C226S 및 C229S 및 E233P 및 L234V, 및 L235A
IgG1	E233P 및 L234V 및 L235A 및 G236-결실 P238A D265A N297A A327Q 또는 A327G P329A
IgG1	K322A 및 L234A 및 L235A
IgG1	L234F 및 L235E 및 P331S
IgG1 또는 IgG4	T394D
IgG2	C232S 또는 C233S N297A 또는 N297Q
IgG2	V234A 및 G237A 및 P238S 및 H268A 및 V309L 및 A330S 및 P331S
IgG1, IgG2, 또는 IgG4	델타 a, b, c, ab, ac, g 변형
IgG1	A330L 또는 L234F 및/또는 L235E 및/또는 P331S와 함께 임의의 상기 열거된 돌연변이
IgG1, IgG2, 또는 IgG4	M252Y 및/또는 S254T 및/또는 T256E와 함께 임의의 상기 열거된 돌연변이

[0245]

[0246]

특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 IgG1 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, 항체는 마우스 IgG1 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체는 인간 IgG1 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG1 불변 영역은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 하나 이상의 변형을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, Fc 영역은 (예를 들어, 동일한 아이소타입의 야생형 Fc 영역에 비해) 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0247]

일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 N297A, N297Q (Bolt S et al. (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D270A, D265A, L234A, L235A (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), C226S, C229S (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P238S (Davis et al., (2007) *J Rheumatol*, 34:2204-2210), E233P, L234V (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P238A, A327Q, A327G, P329A (Shields RL. et al., (2001) *J Biol Chem*, 276(9):6591-604), K322A, L234F, L235E (Hezareh, et al., (2001) *J Virol* 75, 12161-12168; Oganessian et al., (2008). *Acta Crystallographica* 64, 700-704), P331S (Oganessian et al., (2008) *Acta Crystallographica* 64, 700-704), T394D (Wilkinson et al. (2013) *Mabs* 5(3): 406-417), A330L, M252Y, S254T, 및/또는 T256E로부터 선택되며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다. 특정 실시형태에서, Fc 영역은 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따라 글리신 236에 대응하는 위치에서 아미노산 결실을 추가로 포함한다.

[0248]

일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따라 C220S 아미노산 치환을 포함하는 중쇄 불변 영역을 갖는 IgG1 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따라 t A330L, L234F; L235E, 및/또는 P331S로부터 선택된 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 IgG2 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 IgG2 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG2 불변 영역은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 하나 이상의 변형을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, Fc 영역은 (예를 들어, 동일한 아이소타입의 야생형 Fc 영역에 비해) 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나

이상의 아미노산 치환은 P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, V309L, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, 및/또는 T256E로부터 선택되며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다(Vafa O. et al., (2014) *Methods* 65:114-126).

[0249] 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 IgG4 아이소타입을 가진다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 인간 IgG4 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 IgG4 불변 영역은 Fc 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 영역은 하나 이상의 변형을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, Fc 영역은 (예를 들어, 동일한 아이소타입의 야생형 Fc 영역에 비해) 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 E233P, F234V, L235A, G237A, E318A(Hutchins et al., (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984), S228P, L234A/F234A, L236E, S241P, L248E(Reddy et al., (2000) *J Immunol*, 164:1925-1933; Angal et al., (1993) *Mol Immunol*, 30(1):105-8; US 8614299 B2; Vafa O. et al., (2014) *Methods* 65:114-126), T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, 및/또는 N297Q로부터 선택되고, 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다.

[0250] 일부 실시형태에서, Fc 영역은 M252Y, S254T, 및/또는 T256E로부터 선택된 하나 이상의 추가적인 아미노산 치환을 추가로 포함하며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다.

[0251] 추가적인 IgG 돌연변이

[0252] 일부 실시형태에서, 상보체 활성화를 제거하기 위해 본 명세서에 기재된 IgG1 변이체 중 하나 이상은 A330L 돌연변이(Lazar et al., (2006) *Proc Natl Acad Sci USA*, 103:4005-4010), 또는 L234F, L235E, 및/또는 P331S 돌연변이 중 하나 이상(Sazinsky et al., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:20167-20172)와 조합될 수 있으며, 여기서 아미노산 위치는 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 IgG 변이체는 인간 혈청에서 항-Siglec-9 항체 반감기를 향상시키기 위해 하나 이상의 돌연변이와 조합될 수 있다(예를 들어, EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따라 M252Y, S254T, T256E 돌연변이)(Dall'Acqua et al., (2006) *J Biol Chem*, 281:23514-23524; 및 Strohl et al., (2009) *Current Opinion in Biotechnology*, 20:685-691).

[0253] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 IgG4 변이체는 항체 안정화를 향상시키기 위해 EU 또는 카바트 넘버링 관례에 따른 S228P 돌연변이(Angal et al., (1993) *Mol Immunol*, 30:105-108) 및/또는 문헌[Peters et al., (2012) *J Biol Chem*, 13:287(29):24525-33]에 기재된 하나 이상의 돌연변이와 조합될 수 있다.

[0254] 이중 특이성 항체

[0255] 본 개시내용의 특정 양상은 본 개시내용의 Siglec-9 단백질 상의 하나 이상의 도메인 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항체에 관한 것이다. 이중 특이성 항체를 생성하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 본 명세서에 기재되어 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중 특이성 항체는 본 개시내용의 Siglec-9 단백질의 하나 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 인간 Siglec-9(서열번호 1)의 하나 이상의 아미노산 잔기, 또는 서열번호 1의 아미노산 잔기에 대응하는 Siglec-9 단백질 상의 아미노산 잔기에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중 특이성 항체는 제1 항원 및 제2 항원을 인식한다. 일부 실시형태에서, 제1 항원은 Siglec-9 단백질 또는 이의 천연 유래 변이체이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 또한 Siglec-9 단백질, 또는 이의 천연 유래 변이체이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 혈액-뇌-장벽에 걸쳐 수송을 용이하게 하는 항원이다(예를 들어, 문헌 [Gabathuler R., *Neurobiol. Dis.* 37(2010)48-57] 참조). 이러한 제2 항원은 트랜스페린 수용체(TR), 인슐린 수용체(HIR), 인슐린-유사 성장 인자 수용체(IGFR), 저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 1 및 2(LPR-1 및 2), 디프테리아 독소 수용체, CRM197, 라마 단일 도메인 항체, TMEM 30(A), 단백질 형질도입 도메인, TAT, Syn-B, 페너트라틴, 폴리-알기닌 펩타이드, 안지오펩(Angiopep) 펩타이드, 예컨대 ANG1005(예를 들어, 문헌 [Gabathuler, 2010] 참조), 및 혈액-뇌 장벽 내피 세포 상에서 풍부한 다른 세포 표면 단백질(예를 들어, 문헌 [Daneman et al., *PLoS One*. 2010Oct29;5(10):e13741] 참조)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔룰린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴

틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 질환-원인 단백질이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73 및 포스파티딜세린을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 면역 세포 상에서 발현된 하나 이상의 리간드 및/또는 단백질이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 하나 이상의 종양 세포 상에서 발현되는 단백질, 지질, 다당류, 또는 당지질이다.

[0256] 항체 단편

[0257] 본 개시내용의 특정 양상은 본 개시내용의 Siglec-9 단백질, Siglec-9 단백질의 천연 유래 변이체, 및 Siglec-9 단백질의 질환 변이체 중 하나 이상에 결합하는 항체 단편에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 또는 scFv 단편이다.

[0258] 일부 실시형태에서, 항체 단편은 제2 Siglec-9 항체와 및/또는 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔술린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴, 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 질환-원인 단백질에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체와; 또는 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73, 포스파티딜세린, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 면역조절 단백질에 결합하는 하나 이상의 항체와 조합하여 사용된다.

[0259] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항체 단편은 임의의 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 작용성 단편일 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 단편은 항-Siglec-9 항체 또는 본 개시내용의 항체 단편의 대응하는 전장 항체의 동일한 에피토프를 갖지만, 훨씬 더 작은 분자량을 갖는 미니어처 형태이다. 이러한 미니어처 항-Siglec-9 항체 단편은 영상화 및 진단 효용에 유리한 더 양호한 뇌 침투 능력 및 더 짧은 반감기를 가질 수 있다(예를 들어, 문헌[Lütje S et al., *Bioconjug Chem.* 2014 Feb 19;25(2):335-41; Tavaré R et al., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Jan 21;111(3):1108-13; 및 Wiehr S et al., *Prostate.* 2014 May; 74(7):743-55] 참조). 따라서, 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 단편은 그들의 대응하는 전장 항체에 비해 더 양호한 뇌 침투를 가지고/가지거나 그들의 대응하는 전장 항체에 비해 더 짧은 반감기를 가진다.

[0260] 항체 프레임워크

[0261] 본 명세서에 기재된 임의의 항체는 추가로 프레임워크를 포함한다. 일부 실시형태에서, 프레임워크는 인간 면역글로불린 프레임워크이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 항체(예를 들어, 항-Siglec-9 항체)는 임의의 상기 실시형태에서와 같은 HVR을 포함하고, 추가로 역셉터 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다. 인간 면역글로불린 프레임워크는 인간 항체의 부분일 수 있거나, 또는 비-인간 항체는 하나 이상의 내인성 프레임워크를 인간 프레임워크 영역(들)으로 대체함으로써 인간화될 수 있다. 인간화를 위해 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 "베스트-핏(best-fit)" 방법을 이용하여 선택된 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296(1993)] 참조); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정 하위그룹의 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623(1993)] 참조); 인간 성숙(체세포 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식계열 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633(2008)]); 및 FR 라이브러리로부터 유래된 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684(1997) 및 Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618(1996)] 참조)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0262] 일부 실시형태에서, 항체는 본 개시내용의 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 표 4A에

나타내는 바와 같은 경쇄 프레임워크 영역 중 1, 2, 3 또는 4개를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체는 본 개시내용의 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 **표 3B**에 나타내는 바와 같은 경쇄 프레임워크 영역 중 1, 2, 3 또는 4개를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체는 본 개시내용의 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 **표 4A**에 나타내는 바와 같은 경쇄 프레임워크 영역 중 1, 2, 3 또는 4개를 포함하고, 본 개시내용의 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 **표 4B**에 나타내는 바와 같은 중쇄 프레임워크 영역 중 1, 2, 3 또는 4개를 추가로 포함한다.

[0263] 항체 제제

[0264] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 다클론성 항체, 단일클론 항체, 인간화된 및 키메라 항체, 인간 항체, 항체 단편(예를 들어, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv 및 F(ab')₂), 이중특이성 및 다중특이성 항체, 다가 항체, 이형접합체 항체, 접합된 항체, 라이브러리 유래 항체, 변형된 효과기 작용을 갖는 항체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위, 예컨대 본 개시내용의 Siglec-9 단백질의 아미노산 잔기를 갖는 에피토프(항체의 글리코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체 및 공유 변형된 항체를 포함)를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 입체배치를 포함할 수 있다. 항-Siglec-9 항체는 인간, 뮤린, 래트, 또는 임의의 다른 유래(키메라 또는 인간화된 항체를 포함)일 수 있다.

[0265] (1)다클론성 항체

[0266] 다클론성 항체, 예컨대 다클론성 항-Siglec-9 항체는 일반적으로 적절한 항원 및 애주번트의 다중 피하(sc) 또는 복강내(ip) 주사에 의해 동물에서 상승된다. 2작용성 또는 유도체화제, 예를 들어, 말레이미도벤조일 설포숙신이미드 에스터(시스테인 잔기를 통한 접합), N-하이드록시숙신이미드(라이신 잔기를 통해), 글루타르알데하이드, 숙신 무수물, SOCl₂ 또는 R¹N=C=NR(여기서, R 및 R¹은 독립적으로 저급 알킬기임)을 이용하여 면역화될 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들어, 키홀 림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin: KLH), 혈청 알부민, 소티로글로불린 또는 대두 트립신 저해제에 적절한 항원(예를 들어, 정제된 또는 본 개시내용의 재조합 Siglec-9 단백질)을 접합하는 데 유용할 수 있다. 사용될 수 있는 애주번트의 예는 프로인트 완전 애주번트 및 MPL-TDM 애주번트(모노포스포릴 지질 A, 합성 트레할로스 다이코리노마이콜레이트)를 포함한다. 면역화 프로토콜은 과도한 실험 없이 당업자에 의해 선택될 수 있다.

[0267] 동물은, 예를 들어, 100μg(토끼에 대해) 또는 5μg(마우스에 대해)의 단백질 또는 3 용적의 프로인트 완전 애주번트와의 접합체를 조합함으로써 그리고 다중 부위에서 용액을 진피내로 주사함으로써 목적으로 하는 항원, 면역원성 접합체, 또는 유도체에 대해 면역화된다. 1개월 후에, 동물을 다중 부위에서 피하 주사에 의해 프로인트 완전 애주번트 중의 펩타이드 또는 접합체의 본래의 양의 1/5 내지 1/10을 이용하여 부스팅한다. 7 내지 14일 후에, 동물을 방혈시키고, 항체 역가에 대해 혈청을 분석한다. 역가 안정기까지 동물을 부스팅한다. 접합체는 또한 단백질 융합으로서 재조합 세포 배양물 중에서 이루어질 수 있다. 또한, 응집제, 예컨대 명반은 면역반응을 향상시키는 데 적합하다.

[0268] (2)단일클론 항체

[0269] 단일클론 항체, 예컨대 단일클론 항-Siglec-9 항체는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 얻어지며, 즉, 집단을 포함하는 개개 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 유래 돌연변이 및/또는 번역후 변형(예를 들어, 이성질체화, 아미드화)을 제외하고 동일하다. 따라서, 변형어 "단일클론"은 별개의 항체의 혼합물이 아닌 항체의 특징을 나타낸다.

[0270] 예를 들어, 단일클론 항-Siglec-9 항체는 문헌[Kohler et al., *Nature*, 256:495 (1975)]에 의해 처음 기재된 하이브리도마 방법을 이용하여 이루어질 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법에 의해 이루어질 수 있다(미국 특허 제4,816,567호).

[0271] 하이브리도마 방법에서, 마우스 또는 다른 적절한 숙주 동물, 예컨대 햄스터는 면역화를 위해 사용되는 단백질(예를 들어, 정제된 또는 재조합 본 개시내용의 Siglec-9 단백질)에 특이적으로 결합하는 항체를 생성하거나 또는 생성할 수 있는 림프구를 유발하도록 본 명세서에서 상기 기재된 바와 같이 면역화된다. 대안적으로, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 이어서, 림프구는 하이브리도마 세포를 형성하기 위해 적합한 융합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 골수종 세포와 융합된다(Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103(Academic Press, 1986)).

[0272] 면역화제는 전형적으로 항원 단백질(예를 들어, 본 개시내용의 정제된 또는 재조합 Siglec-9 단백질) 또는 이의

융합 변이체를 포함할 것이다. 인간 유래의 세포가 요망된다면, 일반적으로 말초 혈액 림프구("PBL")가 사용되는 반면, 비-인간 포유류 공급원이 요망된다면, 비장 또는 림프절 세포가 사용된다. 이어서, 림프구는 하이브리도마 세포를 형성하기 위해 적합한 융합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 불멸 세포주와 융합된다. 문헌[Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59-103].

[0273] 불멸 세포주는 보통 형질전환된 포유류 세포, 특히 설치류, 소 또는 인간 유래의 골수종 세포이다. 보통, 래트 또는 마우스 골수종 세포주가 사용된다. 이렇게 제조된 하이브리도마 세포는 과종되고, 바람직하게는 비융합, 모 골수종 세포의 성장 또는 생존을 저해하는 하나 이상의 물질을 함유하는 적합한 배양 배지에서 성장된다. 예를 들어, 모 골수종 세포가 효소 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제(HGPRT 또는 HPRT)가 없다면, 하이브리도마에 대한 배양 배지는 전형적으로 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지하는 물질인 하이포크산틴, 아미노프테린, 및 티미딘(HAT 배지)을 포함할 것이다.

[0274] 바람직한 불멸 골수종 세포는 선택된 항체-생성 세포에 의해 항체의 안정한 고수준 생성을 효율적으로 뒷받침하고, HAT 배지와 같은 배지에 민감한 것이다. 이들 중에서, 무린 골수종 계통, 예컨대 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양으로부터 유래된 것(미국 캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 솔크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute Cell Distribution Center)로부터 입수 가능)뿐만 아니라 SP-2 세포 및 이의 유도체(예를 들어, X63-Ag8-653)(미국 버지니아주에 소재한 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection)로부터 입수 가능)이 바람직하다. 인간 골수종 및 마우스-인간 이형골수종 세포주는 또한 인간 단일클론 항체의 생성을 위해 기재되었다(Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001(1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

[0275] 하이브리도마 세포가 성장 중인 배양 배지는 항원(예를 들어, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질)과 관련된 단일클론 항체의 생성에 대해 분석된다. 바람직하게는, 하이브리도마 세포에 의해 생성되는 단일클론 항체의 결합 특이성은 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 분석, 예컨대 방사면역측정법(RIA) 또는 효소-연결 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 결정된다.

[0276] 하이브리도마 세포가 배양되는 배양 배지는 목적으로 하는 항원(예를 들어, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질)의 존재에 대해 분석될 수 있다. 바람직하게는, 단일클론 항체의 결합 친화도 및 특이성은 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 분석, 예컨대 방사면역측정법(RIA) 또는 효소-연결 분석(ELISA)에 의해 결정될 수 있다. 이러한 기법 및 분석은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 결합 친화도는 문헌[Munson et al., *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)]의 스캐차드(Scatchard) 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0277] 목적으로 하는 특이성, 친화도, 및/또는 활성의 항체를 생성하는 하이브리도마 세포가 동정된 후에, 클론은 희석 절차를 제한함으로써 서브클로닝되고, 표준 방법에 의해 성장될 수 있다(Goding, 상기 참조). 본 목적을 위한 적합한 배양 배지는, 예를 들어, D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 추가로, 하이브리도마 세포는 포유류에서 종양으로서 생체내에서 성장될 수 있다.

[0278] 서브클론에 의해 분비되는 단일클론 항체는 통상적인 면역글로불린 정제 절차, 예를 들어, 단백질A-세파로스 크로마토그래피, 하이드록시아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 친화도 크로마토그래피 및 상기 기재한 바와 같은 다른 방법에 의해 배양 배지, 복수액, 또는 혈청으로부터 적합하게 분리된다.

[0279] 항-Siglec-9 단일클론 항체는 또한 제조할 DNA 방법, 예컨대 미국 특허 제4,816,567호에 개시한 것 및 상기 기재한 것에 의해 생성될 수 있다. 단일클론 항체를 암호화하는 DNA는 용이하게 단리되고, 통상적인 절차를 이용하여(예를 들어, 무린 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 서열분석된다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 바람직한 공급원으로서 작용한다. 일단 단리되면, DNA는 이후에, 숙주 세포, 예컨대 이콜라이(*E. coli*) 세포, 시미안 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 면역글로불린 단백질을 달리 생성하지 않는 골수종 세포로 형질감염되는 발현 벡터 내에 위치되어 이러한 제조할 숙주 세포에서 단일클론 항체를 합성할 수 있다. 항체를 암호화하는 DNA의 박테리아에서의 제조할 발현에 대한 검토 논문은 문헌[Skerra et al., *Curr. Opin. Immunol.*, 5:256-262 (1993) 및 Plückthun, *Immunol. Rev.* 130:151-188(1992)]을 포함한다.

[0280] 특정 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 파지 라이브러리로부터 각각 무린 및 인간 항체의 단리를 기재한 문헌[McCafferty et al., *Nature*, 348:552-554(1990). Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991) 및 Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)]에 기재된 기법을 이용하여 생성된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 후속적 정제는 쉘 셔플링(chain shuffling)(Marks et al., *Bio/Technology*, 10:779-783(1992))뿐

만 아니라 매우 큰 파지 라이브러리를 구성하기 위한 전략으로서 조합적 감염 및 생체내 재조합(Waterhouse et al., *Nucl. Acids Res.*, 21:2265-2266(1993))에 의해 고친화도(나노몰("nM"범위) 인간 항체의 생성을 기재한다. 따라서, 이들 기법은 목적으로 하는 특이성의 단일클론 항체(예를 들어, 본 개시내용의 Siglec-9 단 백질에 결합하는 것)의 단리를 위한 전통적인 단일클론 항체 하이브리도마 기법에 대한 실행 가능한 대안이다.

[0281] 항체를 암호화하는 DNA 또는 이의 단편은 또한, 예를 들어, 상동성 유린 서열 대신 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 암호 서열을 대체함으로써(미국 특허 제4,816,567호; Morrison, et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)), 또는 면역글로불린 암호 서열에 비-면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 암호 서열의 모두 또는 일부를 공유 결합시킴으로써 변형될 수 있다. 전형적으로 이러한 비-면역글로불린 폴리펩타이드는 또는 항체의 불변 도메인으로 치환되거나, 또는 그들은 항원에 대한 특이성을 갖는 하나의 항원-조합 부위 및 상이한 항원에 대해 특이성을 갖는 다른 항원-조합 부위를 포함하는 키메라 2가 항원을 생성하기 위해 항체의 하나의 항원-조합 부위의 가변 도메인으로 치환된다.

[0282] 본 명세서에 기재된 단일클론 항체(예를 들어, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 또는 이의 단편)는 1가일 수 있으며, 이의 제조는 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 하나의 방법은 면역글로불린 경쇄 및 변형된 중쇄의 재조합 발현을 수반한다. 중쇄는 일반적으로 중쇄 가교를 방지하기 위해 Fc 영역 내 임의의 지점에서 절단된다. 대안적으로, 적절한 시스테인 잔기는 다른 아미노산 잔기로 치환될 수 있거나 또는 가교를 방지하기 위해 결실된다. 시험관내 방법은 또한 1가 항체를 제조하는데 적합하다. 항체의 단편, 특히 Fab 단편을 생성하기 위한 항체의 분해는 일상적인 당업계에 공지된 기법을 이용하여 달성될 수 있다.

[0283] 키메라 또는 혼성 항-Siglec-9 항체는 또한 가교제를 수반하는 것을 포함하는 합성 단백질 화학에서 공지된 방법을 이용하여 시험관내에서 제조될 수 있다. 예를 들어, 면역독소는 이황화물 교환 반응을 이용하여 또는 티오에터 결합을 형성함으로써 구성될 수 있다. 본 목적을 위한 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-머캅토부티르이미데이트를 포함한다.

[0284] (3)인간화된 항체

[0285] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 또는 이의 항체 단편은 인간화된 또는 인간 항체를 추가로 포함할 수 있다. 비-인간(예를 들어, 유린) 항체의 인간화된 형태는 비-인간 면역글로불린로부터 유래된 최소 서열을 포함하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 쇄 또는 이의 단편(예컨대, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)이다. 인간화된 항체는 수용자의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 목적으로 하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비-인간 중(공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기로 대체되는 인간 면역글로불린(수용자 항체)을 포함한다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 잔기는 대응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 인간화된 항체는 또한 수용자 항체에서도 또는 유입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역이 비-인간 면역글로불린의 그것에 대응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역이 인간 면역글로불린 공통 서열의 그것에 대응하는 실질적으로 모든 적어도 하나의, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 포함할 것이다. 인간화된 항체는 최적으로는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 문헌[Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332: 323-329(1988) 및 Presta, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2: 593-596(1992)] 참조.

[0286] 비-인간 항-Siglec-9 항체를 인간화하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 일반적으로, 인간화된 항체는 비-인간인 공급원으로부터의 아미노산 잔기 내로 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 이들 비-인간 아미노산 잔기는 종종 "유입" 잔기로서 지칭되는데, 이는 전형적으로 "유입" 가변 도메인으로부터 취해진다. 인간화는 본질적으로 윈터(Winter) 및 공동작업자, 문헌[Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., *Science* 239:1534-1536(1988)]의 방법에 따라, 또는 설치류 CDR 또는 CDR 서열을 인간 항체의 대응하는 서열로 치환하는 것을 통해 수행될 수 있다. 따라서, 이러한 "인간화된" 항체는 키메라 항체이되(미국 특허 제4,816,567), 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 적게 비인간 종으로부터의 대응하는 서열로 치환되었다. 실행에서, 인간화된 항체는 전형적으로 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기가 설치류 항체 내 유사한 부위로부터의 잔기로 치환된 인간 항체이다.

[0287] 인간화된 항체를 생성하는 데 사용될 인간 가변 도메인(경쇄와 중쇄 둘 다)의 선택은 항원성을 감소시키는 데 매우 중요하다. 소위 "베스트-핏" 방법에 따르면, 설치류 항체의 가변 도메인 서열은 공지된 인간 가변-도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 선별된다. 이어서, 설치류의 서열에 가장 근접한 인간 서열은 인간화된 항체에

대한 인간 프레임워크(FR)로서 수용된다. 문헌[Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296(1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901(1987)] 참조. 다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위그룹의 모든 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 특정 프레임워크를 사용한다. 동일한 프레임워크는 몇몇 상이한 인간화된 항체에 대해 사용될 수 있다. 문헌[Carter et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623(1993)].

[0288] 더 나아가, 항체가 항원 및 다른 바람직한 생물학적 특성에 대해 높은 친화도를 보유하여 인간화되는 것은 중요하다. 이 목표를 달성하기 위해, 바람직한 방법에 따르면, 모체 및 인간화된 서열의 3차원 모델을 이용하여 모체 서열 및 다양한 개념적 인간화 산물을 분석하는 과정에 의해 인간화된 항체가 제조된다. 3차원 면역글로불린 모델이 통상적으로 이용 가능하며, 당업자에게 친숙하다. 컴퓨터 프로그램은 선택된 후보 면역글로불린 서열의 개연성 있는 3차원 입체배와 구조를 설명하고, 나타낸다. 이들 디스플레이의 조사는 후보 면역글로불린 서열의 작용화에서 잔기의 가능성 있는 역할의 분석, 즉, 후보 면역글로불린이 그의 항원에 결합하는 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석을 허용한다. 이런 방법으로, 목적으로 하는 항체 특징, 예컨대 표적 항원 또는 항원들(예를 들어, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질)에 대해 증가된 친화도가 달성되도록 FR 잔기가 수용자 및 유입 서열로부터 선택되고, 조합될 수 있다. 일반적으로, CDR 잔기는 항원 결합에 영향을 미치는 데 직접적으로 그리고 가장 실질적으로 연루된다.

[0289] 인간화된 항-Siglec-9 항체의 다양한 형태가 상정된다. 예를 들어, 인간화된 항-Siglec-9 항체는 면역접합체를 생성하기 위해 하나 이상의 세포독성제(들)와 선택적으로 접합되는 항체 단편, 예컨대 Fab일 수 있다. 대안적으로, 인간화된 항-Siglec-9 항체는 무손상 항체, 예컨대 무손상 IgG1 항체일 수 있다.

[0290] (4)인간 항체

[0291] 대안적으로, 인간 항-Siglec-9 항체가 생성될 수 있다. 예를 들어, 이제 내인성 면역화 시, 면역글로불린 생성의 부재 하에서 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생성할 수 있는 유전자이식 동물(예를 들어, 마우스)을 생성할 수 있다. 키메라 및 생식계열 돌연변이체 마우스에서 항체 중쇄 결합 영역(J_H) 유전자의 동형 결실은 내인성 항체 생성의 완전한 저해를 초래한다. 이러한 생식계열 돌연변이체 마우스에서 인간 생식계열 면역글로불린 유전자 배열의 전달은 항원 시험감염 시 인간 항체의 생성을 초래할 것이다. 예를 들어, 문헌[Jakovovits et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 90:2551 (1993); Jakovovits et al., *Nature*, 362:255-258 (1993); Bruggermann et al., *Year in Immunol.*, 7:33(1993); 미국 특허 공개 제5,591,669 및 WO 97/17852] 참조.

[0292] 대안적으로, 파지 디스플레이 기법은 비면역화 공여자로부터의 면역글로불린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리로 부터 시험관내 인간 항-Siglec-9 항체 및 항체 단편을 생성하기 위해 사용될 수 있다. McCafferty et al., *Nature* 348:552-553(1990); Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.* 227: 381(1991). 본 기술에 따르면, 항체 V 도메인 유전자는 프레임내에서 섬질 박테리오파지, 예컨대 M13 또는 fd의 주요 또는 소량의 외피 단백질 내로 클로닝되고, 파지 입자의 표면 상에서 작용제 항체 단편으로서 나타난다. 섬질 입자는 파지 게놈의 단일 가닥 DNA 복제물을 포함하기 때문에, 항체의 작용성 특성에 기반한 선택은 또한 해당 선택을 나타내는 항체를 암호화하는 유전자의 선택을 초래한다. 따라서, 파지는 B-세포의 일부 특성을 모방한다. 파지 디스플레이는, 예를 들어, 문헌[Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., *Curr. Opin Struct. Biol.* 3:564-571(1993)]에서 검토되는 다양한 형식으로 수행될 수 있다. V-유전자 세그먼트의 몇몇 공급원은 파지 디스플레이에 대해 사용될 수 있다. 문헌[Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)]은 면역화된 마우스의 비장으로부터 유래된 V 유전자의 작은 무작위 조합 라이브러리로부터의 다양한 항-옥사졸론 항체를 단리시켰다. 비면역화된 인간 공여자로부터의 V 유전자의 레퍼토리가 구성될 수 있고, 다양한 항원(자가항원을 포함)에 대한 항체는 문헌[Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991), 또는 Griffith et al., *EMBO J.* 12:725-734(1993)]에 의해 기재된 기법에 따라 본질적으로 단리될 수 있다. 또한 미국 특허 제5,565,332호 및 제5,573,905호 참조. 추가적으로, 효모 디스플레이 기법은 시험관내 인간 항-Siglec-9 항체 및 항체 단편을 생성하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, WO 2009/036379; WO 2010/105256; WO 2012/009568; 미국 특허 제2009/0181855호; 미국 특허 제2010/0056386호; 및 문헌[Feldhaus and Siegel (2004) *J. Immunological Methods* 290:69-80]). 다른 실시형태에서, 리보솜 디스플레이 기법은 시험관내 인간 항-Siglec-9 항체 및 항체 단편을 생성하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Roberts and Szostak (1997) *Proc Natl Acad Sci* 94:12297-12302; Schaffitzel et al. (1999) *J. Immunological Methods* 231:119-135; Lipovsek and Plückthun (2004) *J. Immunological Methods* 290:51-67] 참조).

- [0293] 문헌[Cole et al., 및 Boerner et al.]의 기법은 또한 인간 항-Siglec-9 단일클론 항체의 제조를 위해 이용 가능하다(Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985) 및 Boerner et al., *J. Immunol.* 147(1):86-95(1991)). 유사하게, 인간 항-Siglec-9 항체는 유전자이식 동물, 내인성 면역글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 비활성화된 마우스 내로 인간 면역글로불린 좌위를 도입함으로써 생성될 수 있다. 시험감염 시, 유전자 재배열, 어셈블리 및 항체 레퍼토리를 포함하는 모든 측면에서 인간에서 보이는 것과 거의 유사한 인간 항체 생성이 관찰된다. 이 접근은, 예를 들어, 미국 특허 공개 제5,545,807호; 제5,545,806호, 제5,569,825호, 제5,625,126호, 제5,633,425호, 제5,661,016호에서 그리고 다음의 과학 간행물에서 기재된다: 문헌[Marks et al., *Bio/Technology* 10: 779-783(1992); Lonberg et al., *Nature* 368: 856-859(1994); Morrison, *Nature* 368: 812-13(1994), Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14: 845-51 (1996), Neuberger, *Nature Biotechnology* 14: 826(1996) 및 Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93(1995)].
- [0294] 최종적으로, 인간 항-Siglec-9 항체는 또한 활성화된 B-세포에 의해 시험관내에서 생성될 수 있다(미국 특허 제5,567,610호 및 제5,229,275호).
- [0295] (5)항체 단편
- [0296] 특정 실시형태에서 전체 항-Siglec-9 항체보다는 항-Siglec-9 항체 단편을 이용하는 것이 유리하다. 더 작은 단편 크기는 빠른 클리어런스 및 더 양호한 뇌 침투를 허용한다.
- [0297] 항체 단편의 생성을 위한 다양한 기법이 개발되었다. 전통적으로, 이들 단편은 무손상 항체의 단백질 분해를 통해 유래된다(예를 들어, 문헌[Morimoto et al., *J. Biochem. Biophys. Method.* 24:107-117 (1992); 및 Brennan et al., *Science* 229:81 (1985)] 참조). 그러나, 이들 단편은 이제 재조합 숙주 세포에 의해, 예를 들어, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 핵산을 이용하여 생성될 수 있다. Fab, Fv 및 scFv 항체 단편은 모두 이콜라이에서 발현되고, 매우 다량의 이들 단편의 간단한 생성을 허용한다. 항-Siglec-9 항체 단편은 또한 상기 논의한 바와 같은 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 대안적으로, Fab'-SH 단편은 이콜라이로부터 직접 회수될 수 있고, 화학적으로 결합되어 F(ab')₂ 단편을 형성할 수 있다(Carter et al., *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)). 다른 접근에 따르면, F(ab')₂ 단편은 재조합 숙주 세포 배양물로부터 직접적으로 단리될 수 있다. 생체내 반감기가 증가된 Fab 및 F(ab')₂ 항체 단편의 생성은 미국 특허 제5,869,046호에 기재되어 있다. 다른 실시형태에서, 선택된 항체는 단일쇄 Fv 단편(scFv)이다. W093/16185; 미국 특허 제5,571,894호 및 미국 특허 제5,587,458호 참조. 항-Siglec-9 항체 단편은 미국 특허 제5,641,870호에 기재된 바와 같은 "선형 항체"일 수 있다. 이러한 선형 항체 단편은 단일특이성 또는 이중특이성일 수 있다.
- [0298] (6)이중특이성 및 다중특이성 항체
- [0299] 이중 특이성 항체(BsAb)는 동일한 또는 다른 단백질(예를 들어, 하나 이상의 본 개시내용의 Siglec-9 단백질) 상의 항체를 포함하여, 적어도 2개의 상이한 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖는 항체이다. 대안적으로, BsAb의 일 부분은 표적 Siglec-9 항원에 결합하도록 아암(arm) 형성될 수 있고, 다른 부분은 제2 단백질에 결합하는 아암과 조합될 수 있다. 이러한 항체는 전장 항체 또는 항체 단편(예를 들어, F(ab')₂ 이중 특이성 항체)로부터 유래될 수 있다.
- [0300] 이중 특이성 항체의 제조 방법은 당업계에 공지되어 있다. 전장 이중 특이성 항체의 전통적인 생성은 2개의 면역글로불린 중쇄/경쇄 쌍의 공동발현에 기반하며, 여기서 2개의 쇠는 상이한 특이성을 가진다. 문헌[Millstein et al., *Nature*, 305:537-539(1983)]. 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 분류 때문에, 이들 하이브리도마(퀴드로마)는 10개의 상이한 항체 분자의 잠재적 혼합물을 생성하는데, 이 중 하나만이 정확한 이중특이성 구조를 가진다. 친화도 크로마토그래피 단계에 의해 보통 행해지는 정확한 모듈의 정제는 다소 어려우며, 생성물 수율은 낮다. 유사한 절차가 WO 93/08829에서 그리고 문헌[Traunecker et al., *EMBO J.*, 10:3655-3659(1991)]에서 개시된다.
- [0301] 상이한 접근에 따르면, 목적으로 하는 결합 특이성(항체-항원 조합 부위)을 갖는 항체 가변 도메인이 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 융합은 바람직하게는 힌지, C_H2, 및 C_H3 영역의 적어도 일부를 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인을 가진다. 융합 중 적어도 하나에 존재하는 경쇄 결합에 필요한 부위를 포함하는 제1 중쇄 불변 영역(C_H1)을 갖는 것이 바람직하다. 면역글로불린 중쇄 융합 및 원한다면, 면역글로불린 경쇄를 암호화하는 DNA는 별개의 발현 벡터 내로 삽입되고, 적합한 숙주 유기체 내로 공동형질감염된다. 이는 구성에서

사용되는 3개의 폴리펩타이드 쇄의 동일하지 않은 비가 최적의 수율을 제공할 때의 실시형태에서 3개의 폴리펩타이드 단편의 상호 비율을 조절함에 있어서의 큰 유연성을 제공한다. 그러나, 동일한 비로 적어도 2개의 폴리펩타이드 쇄의 발현이 고수율로 초래될 때 또는 상기 비가 특정 유의성이 없을 때 하나의 발현 벡터에서 2개 또는 모두 3개의 폴리펩타이드쇄에 대해 암호 서열을 삽입하는 것이 가능하다.

[0302] 본 접근의 바람직한 실시형태에서, 이중 특이성 항체는 하나의 아암에서 제1 결합 특이성을 갖는 혼성 면역글로불린 중쇄, 및 다른 아암에서 혼성 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍(제2 결합 특이성을 제공)으로 구성된다. 이중특이성 분자의 단지 절반에서 면역글로불린 경쇄의 존재가 용이한 분리 방법을 제공하기 때문에, 이 비대칭 구조가 원치않는 면역글로불린 쇄 조합으로부터 목적으로 하는 이중특이성 화합물의 분리를 용이하게 한다는 것이 발견되었다. 이 접근은 WO 94/04690에서 개시된다. 이중특이성 항체를 생성하는 추가적인 상세한 설명에 대해, 예를 들어, 문헌[Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121: 210(1986)] 참조.

[0303] WO 96/27011 또는 미국 특허 제5,731,168호에 기재된 다른 접근에 따르면, 항체 분자 쌍 사이의 계면은 재조합 세포 배양물로부터 회수된 이형이량체 백분율을 최대화하도록 조작될 수 있다. 바람직한 계면은 항체 불변 도메인의 C_H3 영역의 적어도 일부를 포함한다. 이 방법에서, 제1 항체 분자의 계면으로부터 하나 이상의 작은 아미노산 측쇄는 더 큰 측쇄(예를 들어, 타이로신 또는 트립토판)로 대체된다. 거대 측쇄(들)와 동일 또는 유사한 크기의 상보성 "캐비티"가 거대 측쇄를 작은 측쇄(예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌)으로 대체함으로써 제2 항체의 계면 상에서 생성된다. 이는 다른 원치않는 최종 생성물, 예컨대 동종이량체 이상으로 이형이량체 수율을 증가시키기 위한 메커니즘을 제공한다.

[0304] 항체 단편으로부터 이중 특이성 항체를 생성하기 위한 기법이 문헌에 기재되었다. 예를 들어, 이중 특이성 항체는 화학적 결합을 이용하여 제조될 수 있다. 문헌[Brennan et al., *Science* 229:81 (1985)]은 무손상 항체가 F(ab')₂ 단편을 생성하기 위해 단백질 분해적으로 절단되는 절차를 기재한다. 이들 단편은 인근의 다이티올을 안정화시키기 위해, 그리고 분자간 이황화물 형성을 방지하기 위해 다이티올 복합화제 아비산나트륨의 존재 하에서 환원된다. 이어서, 생성되는 Fab' 단편은 티오나이트로벤조에이트(TNB) 유도체로 전환된다. 이어서, Fab'-TNB 유도체 중 하나는 Fab'-TNB 유도체로 다시 전환되어 이중 특이성 항체를 형성한다. 생성된 이중 특이성 항체는 효소의 선택적 고정을 위한 제제로서 사용될 수 있다.

[0305] Fab' 단편은 이콜라이로부터 직접 회수될 수 있고, 화학적으로 결합되어 이중 특이성 항체를 형성할 수 있다. 문헌[Shalaby et al., *J. Exp. Med.* 175: 217-225 (1992)]은 완전히 인간화된 이중 특이성 항체 F(ab')₂ 분자의 생성을 기재한다. 각각의 Fab' 단편은 이콜라이로부터 분리되어 분비되고, 지시된 화학적 결합이 시험관내에서 처리되어 이중 특이성 항체를 형성한다. 이렇게 형성된 이중 특이성 항체는 ErbB2 수용체 및 정상 인간 T 세포를 과발현시키는 세포에 결합할 뿐만 아니라 인간 유방 종양 표적에 대한 인간 세포독성 림프구의 용혈 활성을 촉발시킬 수 있다.

[0306] 재조합 세포 배양물로부터 직접적으로 2가 항체 단편을 제조하고 분리시키기 위한 다양한 기법이 또한 기재되었다. 예를 들어, 2가 이형이량체는 류신 지퍼를 이용하여 생성되었다. 문헌[Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553(1992)]. Fos 및 Jun 단백질로부터의 류신 지퍼 펩타이드는 유전자 융합에 의해 두 상이한 항체의 Fab' 부분에 연결되었다. 항체 동종이량체는 힌지 영역에서 환원되어 단량체를 형성하고, 이어서, 재산화되어 항체 이형이량체를 형성한다. 문헌[Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993)]에 의해 기재된 "다이어바디" 기법은 이중특이성/2가 항체 단편에 대한 대안의 메커니즘을 제공하였다. 상기 단편은 동일한 쇄 상의 2개의 도메인 사이의 짝짓기를 허용하기에는 너무 짧은 링커에 의해 경쇄 가변 도메인(V_L)에 연결되는 중쇄 가변 도메인(V_H)을 포함한다. 따라서, 하나의 단편의 V_H 및 V_L 도메인은 다른 단편의 상보성 V_L 및 V_H 도메인과 짝지어 짐으로써 2개의 항원-결합 부위를 형성한다. 단일쇄 Fv (sFv) 이량체의 사용에 의한 이중특이성/2가 항체 단편을 생성하기 위한 다른 전략이 또한 보고되었다. 문헌[Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)] 참조.

[0307] 2초과의 결합가를 갖는 항체가 또한 상정된다. 예를 들어, 삼중 특이성 항체가 생성될 수 있다. 문헌[Tutt et al., *J. Immunol.* 147:60(1991)] 참조.

[0308] 예시적인 이중 특이성 항체는 주어진 분자(예를 들어, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질) 상에서 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 대안적으로, Siglec-9 신호전달 성분을 표적화하는 아암은 특정 단백질을 발현시키는 세포에 대해 세포 방어 메커니즘을 집중시키기 위해 백혈구, 예컨대 T 세포 수용체 분자(예를 들어, CD2, CD3, CD28 또는 B7), 또는 IgG(FcγR)에 대한 Fc 수용체, 예컨대 FcγRI(CD64), FcγRII(CD32) 및 FcγRIII(CD16)

상에서 촉발 분자에 결합하는 아암과 조합될 수 있다. 특정 단백질을 발현시키는 세포에 대해 세포독성제를 국소화하기 위해 이중 특이성 항체가 사용될 수 있다. 이러한 항체는 단백질-결합 아암 및 세포독성제 또는 방사성핵종 킬레이터, 예컨대 EOTUBE, DPTA, DOTA 또는 TETA에 결합하는 아암을 가진다. 관심 대사의 다른 이중 특이성 항체는 관심 대상의 단백질에 결합하고, 조직 인자(TF)에 추가로 결합한다.

[0309] (7)다가 항체

[0310] 다가 항체는 항체가 결합되는 항원을 발현시키는 세포에 의해 2가 항체보다 더 빠르게 내재화(및/또는 이화작용)될 수 있다. 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 또는 이의 항체 단편은 항체의 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산의 재조합 발현에 의해 용이하게 생성될 수 있는 3개 이상의 항원 결합 부위를 갖는 다가 항체(IgM 부류 이외의 항체)(예를 들어, 4가 항체)일 수 있다. 다가 항체는 이량체화 도메인 및 3개 이상의 항원 결합 부위를 포함할 수 있다. 바람직한 이량체화 도메인은 Fc 영역 또는 힌지 영역을 포함한다. 이 시나리오에서, 항체는 Fc 영역 및 Fc 영역에 대해 3개 이상의 항원 결합 부위 아미노-말단을 포함할 것이다. 본 명세서의 바람직한 다가 항체는 3 내지 약 8개, 그러나 바람직하게는 4개의 항원 결합 부위를 포함한다. 다가 항체는 적어도 하나의 폴리펩타이드쇄(및 바람직하게는 2개의 폴리펩타이드쇄)를 포함하되, 폴리펩타이드쇄 또는쇄는 2개 이상의 가변 도메인을 포함한다. 예를 들어, 폴리펩타이드쇄 또는쇄는 VD1-(X1)n-VD2-(X2)n-Fc를 포함할 수 있되, VD1은 제1 가변 도메인이고, VD2는 제2 가변 도메인이며, Fc는 Fc 영역의 하나의 폴리펩타이드쇄이고, X1 및 X2는 아미노산 또는 폴리펩타이드를 나타내며, n은 0 또는 1이다. 유사하게, 폴리펩타이드쇄 또는쇄는 V_H -C_H1-가요성 링커- V_H -C_H1-Fc 영역쇄; 또는 V_H -C_H1- V_H -C_H1-Fc 영역쇄를 포함할 수 있다. 본 명세서의 다가 항체는 바람직하게는 추가로 적어도 2개의(바람직하게는 4개의) 경쇄 가변 도메인 폴리펩타이드를 포함한다. 본 명세서의 다가 항체는, 예를 들어, 약 2개 내지 약 8개의 경쇄 가변 도메인 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 본 명세서에 상정된 경쇄 가변 도메인 폴리펩타이드는 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 선택적으로, 추가로 CL 도메인을 포함한다. 다가 항체는 Siglec-9 항원뿐만 아니라, 제한 없이, 추가적인 항원 A 베타 펩타이드, 항원 또는 알파 시뉴클레인 단백질 항원 또는, 타우 단백질 항원 또는, TDP-43 단백질 항원 또는, 프리온 단백질 항원 또는, 헌팅턴 단백질 항원, 또는 RAN, 번역 산물 항원(글리신-알라닌(GA), 글리신-프롤린(GP), 글리신-알기닌(GR), 프롤린-알라닌(PA) 또는 프롤린-알기닌(PR), 인슐린 수용체, 인슐린 유사 성장 인자 수용체, 트랜스페린 수용체, 또는 혈액 뇌 장벽을 가로지르는 항체 전달을 용이하게 하는 임의의 다른 항원으로 구성된 다이펩타이드 반복부(DDR 펩타이드)를 포함)을 인식할 수 있다.

[0311] (8)이형접합체 항체

[0312] 이형접합체 항체가 또한 본 개시내용의 범주 내이다. 이형접합체 항체는 2개의 공유 결합된 항체(예를 들어, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 또는 이의 항체 단편)로 구성된다. 예를 들어, 이형접합체에서 항체 중 하나는 아비딘에 결합되고, 다른 것은 바이오틴에 결합될 수 있다. 이러한 항체는, 예를 들어, 원치않는 세포에 면역계 세포를 표적화하도록 제한되었고(미국 특허 제4,676,980), HIV 감염을 치료하기 위해 사용되었다. 국제 특허 공개 WO 91/00360, WO 92/200373 및 유럽 특허 제0308936호. 가교제를 수반하는 것을 포함하는 합성 단백질 화학에서 공지된 방법을 이용하여 항체가 시험관내에서 제조될 수 있다는 것이 상정된다. 예를 들어, 면역독소는 이항화물 교환 반응을 이용하여 또는 티오에터 결합을 형성함으로써 구성될 수 있다. 이 목적을 위한 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-머캅토부티르이미데이트 및, 예를 들어, 미국 특허 제4,676,980호에 개시된 것을 포함한다. 임의의 편리한 가교 방법을 이용하여 이형접합체 항체가 생성될 수 있다. 적합한 가교제는 당업계에서 잘 공지되어 있고, 다수의 가교 기법에 따라 미국 특허 제4,676,980호에서 개시된다.

[0313] (9)효과기 작용 조작

[0314] 또한 효과기 작용을 변형시키기 위해 그리고/또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키기 위해 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 불변 영역 상의 Fc 수용체 결합 부위는 특정 Fc 수용체, 예컨대 FcγRI, FcγRII, 및/또는 FcγRIII에 대한 결합 친화도를 제거하거나 또는 감소시키기 위해 변형되거나 또는 돌연변이될 수 있다. 일부 실시형태에서, 효과기 작용은 항체의 (예를 들어, IgG의 CH2 도메인에서) Fc 영역의 N-글리코실화를 제거함으로써 손상된다. 일부 실시형태에서, 효과기 작용은 PCT WO 99/58572 및 문헌[Armour et al., *Molecular Immunology* 40: 585-593(2003); Reddy et al., *J. Immunology* 164:1925-1933(2000)]에 기재된 바와 같은 인간 IgG의 영역, 예컨대 233-236, 297, 및/또는 327-331을 변형시킴으로써 손상된다.

[0315] 항체의 혈청 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어, 미국 특허 제5,739,277호에 기재된 바와 같은 항체(특히,

항체 단편) 내로 구조(salvage) 수용체 결합 에피토프를 혼입할 수 있다. 본 명세서에 기재된 용어 "구조 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자의 생체내 혈청 반감기 증가를 초래하는 IgG 분자(예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, 또는 IgG₄)의 Fc 영역의 에피토프를 지칭한다.

[0316] (10)다른 아미노산 서열 변형

[0317] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체, 또는 이의 항체 단편의 아미노산 서열 변형이 또한 상정된다. 예를 들어, 항체 또는 항체 단편의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체 또는 항체 단편의 아미노산 서열 변이체는 항체 또는 항체 단편을 암호화하는 핵산 내로 적절한 뉴클레오타이드 변화를 도입함으로써, 또는 펩타이드 합성에 의해 제조된다. 이러한 변형은, 예를 들어, 항체의 아미노산 서열 내의 잔기로부터의 결실 및/또는 잔기 내로의 삽입 및/또는 잔기의 치환을 포함한다. 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합은 최종 작제물에 도달하도록 이루어지며, 단, 최종 작제물은 목적으로 하는 특징(즉, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질과 결합하거나 또는 물리적으로 상호작용하는 능력)을 갖는다. 아미노산 변화는 또한 항체의 변역 후 과정, 예컨대 글리코실 부위의 수 또는 위치의 변화를 변경시킬 수 있다.

[0318] 돌연변이유발을 위한 바람직한 위치인 항-Siglec-9 항체의 특정 잔기 또는 영역의 동정을 위한 유용한 방법은 문헌[Cunningham and Wells in *Science*, 244:1081-1085 (1989)]에 의해 기재된 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 여기서, 잔기 또는 표적 잔기의 그룹이 동정되고(예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys, 및 glu), 천연 또는 음으로 하전된 아미노산(가장 바람직하게는 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체되어 표적 항원과 아미노산의 상호작용에 영향을 미친다. 이어서, 치환에 대한 작용 민감성을 보여주는 해당 아미노산 위치는 치환 부위에서 또는 치환 부위에 대해 추가적인 또는 다른 변이체를 도입함으로써 개선된다. 따라서, 아미노산 서열 변화를 도입하기 위한 부위가 사전결정되지만, 특히 돌연변이 특성은 사전결정될 필요가 없다. 예를 들어, 주어진 부위에서 돌연변이 성능을 분석하기 위해, 알라닌 스캐닝 또는 무작위 돌연변이유발이 표적 코돈 또는 영역에서 수행되고, 발현된 항체 변이체는 목적으로 하는 활성에 대해 선별된다.

[0319] 아미노산 서열 삽입은 길이가 하나의 잔기로부터 1백개 이상의 잔기를 포함하는 폴리펩타이드의 범위로 아미노-("N") 및/또는 카복시-("C") 말단의 융합뿐만 아니라, 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단의 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 세포독성 폴리펩타이드에 융합된 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 또는 폴리펩타이드에 대한 항체의 N- 또는 C-말단에 대한 융합을 포함한다.

[0320] 다른 유형의 변이체는 아미노산 치환 변이체이다. 이들 변이체는 상이한 잔기로 대체되는 항체 분자에서 적어도 하나의 아미노산 잔기를 가진다. 치환 돌연변이유발을 위한 가장 큰 관심 대상의 부위는 초가변 영역을 포함하지만, FR 변경이 또한 상정된다. 보존적 치환은 표제 "바람직한 치환" 하에서 이하의 표 E에 나타낸다. 이러한 치환이 생물학적 활성에서 생물학적 활성의 변화를 초래한다면, 표 E에서 "예시적인 치환"으로 명명되거나 또는 아미노산 분류에 대해 이하에 추가로 기재하는 바와 같은 더 실질적인 변화가 도입될 수 있고, 생성물이 선별된다.

표 E: 아미노산 치환

본래의 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; asp, lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; 노르류신	leu
Leu (L)	노르류신; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; 노르류신	leu

[0321]

[0322]

항체의 생물학적 특성의 실질적인 변형은 (a) 예를 들어, 시트 또는 나선 입체배좌로서, 치환 영역에서 폴리펩타이드 골격의 구조, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 벌크를 유지함에 있어서 그들의 효과가 상당히 다른 치환을 선택함으로써 달성된다. 천연 유래 잔기는 통상적인 측쇄 특성에 기반하여 그룹들로 나뉘어진다:

[0323]

(1) 소수성: 노르류신, met, ala, val, leu, ile;

[0324]

(2) 중성 친수성: cys, ser, thr;

[0325]

(3) 산성: asp, glu;

[0326]

(4) 염기성: asn, gln, his, lys, arg;

[0327]

(5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: gly, pro; 및

[0328]

(6) 방향족: trp, tyr, phe.

[0329]

비보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류로 교환하는 것을 수반한다.

[0330]

분자의 산화적 안정성을 개선시키기 위해 그리고 비정상 가교를 방지하기 위해 항체의 적절한 입체배좌를 유지하는 데 수반되지 않는 임의의 잔기는 또한 일반적으로 세린으로 치환될 수 있다. 대조적으로, 시스테인 결합(들)은 그의 안정성을 개선시키기 위해 항체에 첨가될 수 있다(특히, 여기서 항체는 항체 단편, 예컨대 Fv 단편임).

[0331]

특히 바람직한 유형의 치환 변이체는 모 항체(예를 들어, 인간화된 또는 인간 항-Siglec-9 항체)의 하나 이상의 추가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다. 일반적으로, 추가적인 연구를 위해 선택된 얻어진 변이체(들)는 그들이 생성된 모 항체에 비해 개선된 생물학적 특성을 가질 것이다. 이러한 치환 변이체를 생성하기 위한 편리한 방법은 파지 디스플레이를 이용하는 친화도 성숙을 수반한다. 간략하게, 몇몇 추가변 영역 부위(예를 들어, 6 내지 7개 부위)는 각각의 부위에서 모든 가능한 아미노산 치환을 생성하도록 돌연변이된다. 이렇게 생성된 항체 변이체는 각각의 입자 내에서 패키징된 M13의 유전자 III 산물에 대한 융합으로서 섬질 파지 입자로부터 1가 방식으로 나타난다. 이어서, 파지-디스플레이된 변이체는 본 명세서에 개시된 바와 같은 그들의 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화도)에 대해 선별된다. 변형을 위해 후보 추가변 영역 부위를 동정하기 위해, 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발이 수행되어 항원 결합에 상당히 기여하는 추가변 영역 잔기를 동정할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 항체와 항원(예를 들어, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질) 사이의 접점을 동정하기 위해 항원-항체 복합체의 결정 구조를 분석하는 데 유리할 수 있다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃하는 잔기는 본 명세서에 상세히 기재된 기법에 따르는 치환에 대한 후보이다. 일단 이러한 변이체가 생성된다면, 변이체의 패널에 본 명세서에 기재된 바와 같은 선별이 실시되고, 하나 이상의 적절한 분석에서 우수한 특성을 갖는 항체는 추가 연구를

위해 선택될 수 있다.

- [0332] 항체의 다른 유형의 아미노산 변이체는 항체의 본래의 글리코실화 패턴을 변경한다. 변경은 항체에서 발견되는 하나 이상의 탄수화물 모이어티의 결실, 및/또는 항체에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위의 첨가를 의미한다.
- [0333] 항체의 글리코실화는 전형적으로 N-연결 또는 O-연결이다. N-연결은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 부착을 지칭한다. 트라이펩타이드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌(여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 아스파라긴 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 효소 부착에 대한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩타이드에서 이들 트라이펩타이드 서열 중 하나의 존재는 잠재적 글리코실화 부위를 생성한다. O-연결 글리코실화는, 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신이 또한 사용될 수 있지만, 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 자일로스 중 하나의 하이드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 트레오닌에 대한 부착을 지칭한다.
- [0334] 항체에 대한 글리코실화 부위의 첨가는 그것이 (N-연결 글리코실화 부위에 대해) 상기 기재한 트라이펩타이드 서열을 포함하도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성된다. 변경은 또한 (O-연결 글리코실화 부위에 대해) 본래의 항체의 서열에 대해 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 첨가 또는 치환에 의해 이루어질 수 있다.
- [0335] 항-IgE 항체의 아미노산 서열 변이체를 암호화하는 핵산 분자는 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 생성된다. 이들 방법은, (천연 유래 아미노산 서열 변이체의 경우에) 천연 공급원으로부터의 단리 또는 올리고뉴클레오타이드-매개(또는 부위 지정) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발, 및 초기 생성된 변이체 또는 항체의 비-변이체 형태(예를 들어, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체) 또는 항체 단편의 카세트 돌연변이유발에 의한 제조를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0336] (11)항체 접합체
- [0337] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체, 또는 이의 항체 단편은 검출 가능한 마커, 독소, 또는 치료제에 접합될 수 있다. 항체에 분자, 예컨대 검출 가능한 마커, 독소, 또는 치료제를 접합하기 위한 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법이 사용될 수 있다.
- [0338] 예를 들어, 약물 접합은 생물학적 활성 세포독성(항암) 페이로드 또는 약물의 특정 종양 마커(예를 들어, 이상적으로는 종양 세포에서 또는 종양 세포 상에서만 발견되는 단백질)를 특이적으로 표적화하는 항체에 대한 결합을 수반한다. 항체는 신체에서 이들 단백질 하향을 추적하고, 그들 자체를 암세포의 표면에 부착한다. 항체와 표적 단백질(항원) 사이의 생화학적 반응은 신호 종양에서 세포를 촉발하는데, 이는 세포독소와 함께 항체를 흡수하거나 또는 내재화한다. ADC가 내재화된 후에, 세포독성 약물이 방출되고, 암을 사멸한다. 이런 표적화에 기인하여, 이상적으로 약물은 더 낮은 부작용을 가지며, 다른 화학치료제보다 더 넓은 치료창을 제공한다. 항체에 접합하기 위한 기법은 개시되어 있고, 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Jane de Lartigue, OncLive July 5, 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; 및 Ducry et al., (2010). *Bioconjugate Chemistry* 21 (1): 5-13]) 참조.
- [0339] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 리신, 리신 A-쇄, 독소루비신, 다우노루비신, 메이탄시노이드, 탁솔, 브롬화에티듬, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 다이하이드록시 안트라신 다이온, 악티노마이신, 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소(PE) A, PE40, 아브린, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 쿠리신, 크로틴, 칼리키아마이신, 사포나리아 오피치날리스(*Saponaria officinalis*) 저해제, 글루코코르티코이드, 아우리스타틴, 아우로마이신, 이트름, 비스무스, 콤프레스타틴, 듀오카르마이신, 둘라스타틴, cc1065, 및 시스플라틴으로부터 선택된 독소에 접합될 수 있다.
- [0340] (12)기타 항체 변형
- [0341] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체, 또는 이의 항체 단편은 당업계에 공지되고 용이하게 이용 가능한 추가적인 비-단백질성 모이어티를 포함하도록 변형될 수 있다. 바람직하게는, 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체이다. 수용성 중합체의 비제한적 예는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-다이옥솔란, 폴리-1,3,6-트라이옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산(동종중합체 또는 무작위 공중합체 중 하나), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 동종중합체, 폴리프로필렌 옥사이드/

에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸화된 중합체(예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데하이드는 수 중에서의 그의 안정성에 기인하여 제조하는 데 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지 또는 비분지될 수 있다. 항체에 부착되는 중합체의 수는 다를 수 있고, 한 개 이상의 중합체가 부착된다면, 그들은 동일 또는 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화를 위해 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은, 개선될 항체의 특정 특성 또는 작용, 항체 유도체가 정해진 조건 등 하에서 요법에서 사용될지의 여부를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 고려사항에 기반하여 결정될 수 있다. 이러한 기법 및 다른 적합한 제형은 문헌[*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science (2000)]에 개시된다.

[0342] 결합 분석 및 기타 분석

[0343] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, ELISA, 표면 플라즈몬 공명 (SPR), 웨스턴 블롯 등과 같은 공지된 방법에 의해 항원 결합 활성에 대해 시험될 수 있다.

[0344] 일부 실시형태에서, 경쟁 분석은 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A, 및 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12, 및 17C2로부터 선택된 임의의 항체와 경쟁하는 항체를 동정하기 위해 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 이러한 경쟁 항체는 표 2, 표 3, 표 4A, 표 4B, 표 7A, 및 표 7B에 열거된 또는 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2로부터 선택된 임의의 항체에 의해 결합되는 동일한 에피토프(예를 들어, 선형 또는 입체배좌적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하기 위한 상세한 예시적인 방법은 문헌[Morris (1996) "Mapping Protocols", *Methods in Molecular Biology* vol. 66(Humana Press, Totowa, NJ)]에서 제공된다.

[0345] 예시적인 경쟁 분석에서, 세포 표면 상에서 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포는 Siglec-9에 결합하는 제1 표지 항체(예를 들어, 인간 또는 비-인간 영장류) 및 Siglec-9에 대한 결합을 위해 제1 항체와 경쟁하는 능력에 대해 시험 중인 제2 비표지 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이션된다. 제2 항체는 하이브리도마 상정액 중에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포는 제1 표지 항체를 포함하지만, 제2 비표지 항체는 포함하지 않는 용액 중에서 인큐베이션된다. Siglec-9에 대한 제1 항체의 결합에 허용적인 조건 하에서 인큐베이션 후에, 과량의 비결합 항체가 제거되고, 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포와 관련된 표지의 양이 측정된다. 고정된 Siglec-9 또는 Siglec-9를 발현시키는 세포와 관련된 표지의 양이 대조군 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소된다면, 제2 항체는 Siglec-9에 대한 결합에 대해 제1 항체와 경쟁한다는 것을 나타낸다. 문헌[Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)] 참조.

[0346] 핵산, 벡터 및 숙주 세포

[0347] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호에 기재된 바와 같은 재조합 방법 및 조성물을 이용하여 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 임의의 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항-Siglec-9 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열(예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 암호화할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터(예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 일부 실시형태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 또한 제공된다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 하기를 포함한다(예를 들어, 하기에 의해 형질도입되었다): (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 제2 벡터. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 진핵, 예를 들어 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 림프구 세포(예를 들어, YO, NS0, Sp20 세포)이다.

[0348] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 제조 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 항체의 발현에 적합한 조건 하에서 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 핵산을 포함하는 본 개시내용의 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체는 후속적으로 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 회수된다.

[0349] 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 재조합 생성에 대해, 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 핵산이 단리되고, 숙주 세포에서 추가적인 클로닝 및/또는 발현을 위해 하나 이상의 벡터 내로 삽입된다. 이러한 핵산은 통상적인 절차를 이용하여(예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에게 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클

레오타이드 프로브를 이용함으로써) 용이하게 분리되며, 서열분석된다.

- [0350] 본 명세서에 기재된 임의의 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체, 또는 이의 단편 폴리펩타이드(항체를 포함)를 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 적합한 벡터는, 클로닝 벡터 및 발현 벡터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 적합한 클로닝 벡터는 표준 기법에 따라 구성될 수 있거나, 또는 당업계에서 입수 가능한 매우 다수의 클로닝 벡터로부터 선택될 수 있다. 선택된 클로닝 벡터는 사용될 것으로 의도되는 숙주 세포에 따라 다를 수 있지만, 유용한 클로닝 벡터는 일반적으로 자가복제되는 능력을 가지고, 특정 제한 엔도뉴클레아제에 대한 단일 표적을 가질 수 있고/있거나 벡터를 포함하는 클로닝을 선택함에 있어서 사용될 수 있는 마커에 대한 유전자를 운반할 수 있다. 적합한 예는 플라스미드 및 박테리아 바이러스, 예를 들어, pUC18, pUC19, 블루스크립트(Bluescript)(예를 들어, pBS SK+) 및 그의 유도체, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, 파지 DNA, 및 서플 벡터, 예컨대 pSA3 및 pAT28을 포함한다. 이들 및 다수의 다른 클로닝 벡터는 상업적 공급업자, 예컨대 바이오라드(BioRad), 스트레이트젠(Stratagene) 및 인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수 가능하다.
- [0351] 발현 벡터는 일반적으로 본 개시내용의 핵산을 포함하는 복제 가능한 폴리뉴클레오타이드 작제물이다. 발현 벡터는 숙주 세포에서 에피솜으로서 또는 염색체 DNA의 통합 부분으로서 복제 가능할 수 있다. 적합한 발현 벡터는 플라스미드, 바이러스 벡터(아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스, 레트로바이러스, 코스미드, 및 PCT 공개 WO 87/04462에 개시된 발현 벡터(들)를 포함)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 벡터 성분은 다음의 신호 서열; 복제 기점; 하나 이상의 마커 유전자; 적합한 전사 제어 요소(예컨대, 프로모터, 인핸서 및 종결자) 중 하나 이상을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 발현(즉, 번역)을 위해, 또한 보통 하나 이상의 번역 제어 요소, 예컨대 리보솜 결합 부위, 번역 개시 부위 및 중단 코돈이 필요하다.
- [0352] 관심 대상의 핵산을 포함하는 벡터는 전기천공법, 염화칼슘, 염화루비듐, 인산칼슘, DEAE-텍스트란 또는 기타 물질을 사용하는 형질감염; 미립자 총(microprojectile bombardment); 리포펙션; 및 감염(예를 들어, 벡터가 감염제, 예컨대 백시니아 바이러스인 경우)을 포함하는 임의의 다수의 적절한 수단에 의해 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 벡터 또는 폴리뉴클레오타이드를 도입하는 선택은 종종 숙주 세포의 특징에 따라 다를 것이다. 일부 실시형태에서, 상기 벡터는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 암호화하는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함하는 핵산을 포함한다.
- [0353] 항체-암호화 벡터의 클로닝 또는 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 특히 글리코실화 및 Fc 효과기 작용이 필요하지 않을 때 박테리아에서 생성될 수 있다. 박테리아에서 항체 단편 및 폴리펩타이드(예를 들어, 미국 특허 공개 제5,648,237호, 제5,789,199호, 및 제5,840,523호; 및 문헌[Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254], 이콜라이에서 항체 단편의 발현을 설명). 발현 후에, 항체는 가용성 분획에서 박테리아 세포에서 박테리아 세포 페이스트로부터 분리될 수 있고, 추가로 정제될 수 있다.
- [0354] 원핵생물에 추가로, 진핵 미생물, 예컨대 섬질 진균 또는 효모는 또한 부분적으로 또는 완전한 인간 글리코실화 패턴을 갖는 항체의 생성을 초래하는 글리코실화 경로가 "인간화된" 진균 및 효모 균주를 포함하는 항체-암호화 벡터에 대한 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다(예를 들어, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414(2004); 및 Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)).
- [0355] 글리코실화된 항체의 발현을 위한 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체(무척추동물 및 척추동물)로부터 유래될 수 있다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 특히 스포도페라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포의 형질감염을 위해 곤충 세포와 함께 사용될 수 있는 수많은 바큘로바이러스 균주가 동정되었다. 식물 세포 배양물은 또한 숙주(예를 들어, 미국 특허 공개 제5,959,177호, 제6,040,498호, 제6,420,548호, 제7,125,978호 및 제6,417,429호, 유전자식 식물에서 항체를 생성하기 위한 플랜티바디즈(PLANTIBODIES(상표명) 기법))로서 이용될 수 있다.
- [0356] 척추동물 세포는 또한 숙주로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 현탁액 중에서 성장하는 데 적합한 포유류 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유류 숙주 세포주의 다른 예는 SV40(COS-7)에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 계통; 인간 배아 신장 계통(예를 들어, 문헌[Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59(1977)])에 기재된 바와 같은 293 또는 293 세포; 새끼 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르톨리 세포(문헌[Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)]에서 기재된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 그린 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포(HELA); 개 신장 세포(MDCK; 버팔로 래트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐 세포(W138); 인간 간 세포(Hep G2); 마우스 유방 종양(MMT 060562); 예를 들어, 문헌[Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)]에서 기재되는 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유류

숙주 세포주는 DHFR- CHO 세포(Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216(1980)); 및 골수종 세포주, 예컨대 Y0, NS0 및 Sp2/0를 포함하는, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포를 포함한다. 항체 생성에 적합한 특정 포유류 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)] 참조.

[0357] **Siglec-9 활성**

[0358] *PI3K 활성화*

[0359] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현된 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 PI3K 활성화를 유도할 수 있다.

[0360] PI3K는 포스포티딜이노시톨(PtdIns)의 이노시톨 고리의 3-위치 하이드록실기를 인산화할 수 있는 관련된 세포내 신호 전달도입 키나제의 패밀리이다. PI3K 패밀리는 1차 구조, 조절 및 시험관내 지질 기질 특이성에 기반하여 3가지의 상이한 부류(클래스 I, 클래스 II 및 클래스 III)로 나뉘어진다.

[0361] 활성화된 PI3K는 PtdIns3P, PtdIns(3,4)P2, PtdIns(3,5)P2 및 PtdIns(3,4,5)P3을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다양한 3-인산화 포스포이노시타이드를 생성한다. 이들 3-인산화된 포스포이노시타이드는 신호전달 단백질이 다양한 세포막에 동원되는 메커니즘에서 작용한다. 이들 신호전달 단백질은 PX 도메인, 플렉스트린 상동 도메인(PH 도메인) 및 FYVE 도메인을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 도메인을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 포스포이노시타이드-결합 도메인을 포함한다. PI3K 활성화를 결정하기 위한 당업계에서 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다.

[0362] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골괴절증, 및 암(방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 헤르페스, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함), 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닝기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 PI3K 활성화의 감소된 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0363] *사이토카인의 조절된 발현*

[0364] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포 표면 상에서 발현된 Siglec-9에 대한 결합 후에 뇌에서 전염증성 매개체를 조절할 수 있다(예를 들어, 증가하거나 또는 감소시킨다). 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 사이토카인(예를 들어, 전염증성 매개체)의 발현을 조절하고/하거나 세포에서 발현된 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 항-염증 매개체의 발현을 감소시킨다.

[0365] 염증은 해로운 자극, 예컨대 병원균, 손상된 세포 및 자극물에 대한 혈관 조직의 복잡한 생물학적 반응의 부분이다. 급성 염증의 분류적 징후는 통증, 발열, 발적 및 종창이다. 염증은 손상 부위를 제한함으로써 또는 면역계의 세포를 동원하고 활성화시키는 것에 의해 감염을 클리어함으로써 유기체를 보호하는 면역반응이다. 염증 반응은 유기체에 대해 손상을 야기하는 것을 피하기 위해 그의 지속기간 및 중증도에서 단단히 조절되고 제한된다. 염증은 급성 또는 만성으로서 분류될 수 있다. 급성 염증은 선천성 면역반응에 의해 유발되는데, 이는 초기에 유해한 자극을 인식하고, 혈액으로부터 손상 조직 내로 백혈구를 동원한다. 사이토카인 및 케모카인 방출을 포함하는 생화학적 사건의 캐스케이드는 국소 혈관계, 면역계 및 손상 조직 내의 다양한 세포와 연루된 염증 반응을 전파한다. 만성 염증은 연장되고, 지속적이는데, 이는 염증 반응에 참여하는 면역 세포 유형에서 진행

성 이동을 야기한다. 만성 염증은 염증 과정의 결과로서 조직의 진행성 파괴 및 섬유증을 특징으로 한다.

[0366]

본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-염증 매개체는 염증 반응을 감소시키거나, 저해하거나 또는 비활성화시키는 메커니즘에서 직접적으로 또는 간접적으로(예를 들어, 항염증 신호전달 경로에 의해) 연루된 단백질이다. 항-염증 매개체를 동정하고 특성규명하기 위한 당업계에 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다. 항-염증 매개체의 예는 TNF-알파 또는 IL-6에 대한 사이토카인, 예컨대 IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, IFN-알파, TGF-베타, IL-1Ra, G-CSF 및 가용성 수용체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 전염증성 매개체의 예는 사이토카인, 예컨대 FN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리의 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1 및 MIP-1-베타를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0367]

일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 사이토카인, 예컨대 IL-1b, IL-8 및 TNF-a의 발현을 조절(예를 들어, 증가 또는 감소)할 수 있다. 특정 실시형태에서, 사이토카인의 조절된 발현은 대식세포, 호중구, 자연살해(NK) 세포, 수지상 세포, 단핵구, 파골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼 세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포에서 생긴다. 조절된 발현은 유전자 발현의 증가, 전사 발현의 증가, 또는 단백질 발현의 증가를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 유전자, 전사체(예를 들어, mRNA) 및/또는 단백질 발현을 결정하기 위한 당업계에 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 노던 블롯 분석은 사이토카인 유전자 발현 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있고, RT-PCR은 사이토카인 전사 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있으며, 웨스턴 블롯 분석은 사이토카인 단백질 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0368]

본 명세서에 사용되는 바와 같은, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체로 치료되는 대상의 하나 이상의 세포에서 그의 발현이 Siglec-9 제제로 치료되지 않는 대응하는 대상의 하나 이상의 세포에서 발현되는 동일한 사이토카인의 발현에 비해 조절된다면, 사이토카인은 조절된 발현을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상의 하나 이상의 세포에서의 사이토카인 발현에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 적어도 150%, 적어도 160%, 적어도 170%, 적어도 180%, 적어도 190% 또는 적어도 200%만큼 대상의 하나 이상의 세포에서 사이토카인 발현을 조절할 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상의 하나 이상의 세포에서의 사이토카인 발현에 비해, 적어도 1.5배, 적어도 1.6배, 적어도 1.7배, 적어도 1.8배, 적어도 1.9배, 적어도 2.0배, 적어도 2.1배, 적어도 2.15배, 적어도 2.2배, 적어도 2.25배, 적어도 2.3배, 적어도 2.35배, 적어도 2.4배, 적어도 2.45배, 적어도 2.5배, 적어도 2.55배, 적어도 3.0배, 적어도 3.5배, 적어도 4.0배, 적어도 4.5배, 적어도 5.0배, 적어도 5.5배, 적어도 6.0배, 적어도 6.5배, 적어도 7.0배, 적어도 7.5배, 적어도 8.0배, 적어도 8.5배, 적어도 9.0배, 적어도 9.5배 또는 적어도 10배만큼 대상체의 하나 이상의 세포의 사이토카인 발현을 조절한다.

[0369]

일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형

HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 전염증성 매개체의 비정상 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유용하다.

[0370] 전염증성 매개체의 조절된 발현

[0371] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현된 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 전염증성 매개체의 발현을 조절(예를 들어, 증가 또는 감소)할 수 있다.

[0372] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 전염증성 매개체는 염증 반응을 유도하거나, 활성화시키거나, 촉진하거나 또는 달리 증가시키는 메커니즘에서 직접적으로 또는 간접적으로(예를 들어, 전염증성 신호전달 경로에 의해) 연루된 단백질이다. 전염증성 매개체를 동정하고 특정규명하기 위해 당업계에 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다.

[0373] 전염증성 매개체의 예는 사이토카인, 예컨대 I형 및 II형 인터페론, IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, IL-20 패밀리를 구성원, IL-33, LIF, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18 및 CRP를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0374] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 전염증성 매개체, 예컨대 I형 및 II형 인터페론, FN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리를 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1 및 MIP-1-베타의 기능성 발현 및/또는 분비를 조절할 수 있다. 특정 실시형태에서, 전염증성 매개체의 조절된 발현은 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼 세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포에서 생긴다. 조절된 발현은 조절된 유전자 발현, 조절된 전사 발현 또는 조절된 단백질 발현을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 유전자, 전사체(예를 들어, mRNA) 및/또는 단백질 발현을 결정하기 위한 당업계에 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 노던 블롯 분석은 전염증성 매개체 유전자 발현 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있고, RT-PCR은 전염증성 매개체 전사 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있고, 웨스턴 블롯 분석은 전염증성 매개체 단백질 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0375] 특정 실시형태에서, 전염증성 매개체는 염증성 사이토카인을 포함한다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 하나 이상의 염증성 사이토카인의 분비를 조절할 수 있다. 분비가 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체에 의해 조절될 수 있는 염증성 사이토카인의 예는, 예컨대 I형 및 II형 인터페론, FN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리를 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, CRP, IL-33, MCP-1, 및 MIP-1-베타를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0376] 특정 실시형태에서, 전염증성 매개체는 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질, 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체를 포함한다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질, 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체의 발현을 조절할 수 있다. 발현이 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체에 의해 조절될 수 있는 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질, 및/또는 면역 세포 상에서 발현된 수용체의 예는 CD86, CD80, CD83, C1qa, C1qb, C1qc, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및 PYCARD를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0377] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체로 치료되는 대상의 하나 이상의 세포에서의 발현이 작용제 항-Siglec-9 항체로 치료되지 않는 대응하는 대상의 하나 이상의 세포에서 발현되는 동일한 전염증성 매개체의 발현에 비해 조절(예를 들어, 증가 또는 감소)된다면, 전염증성 매개체는 조절된 발현을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 예를 들어, 항-Siglec-9 항체로 치료되지 않는 대응하는 대상체의 하나 이상의 세포에서의 전염증성 매개체 발현에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 적어도 150%, 적어도 160%, 적어도 170%, 적어도 180%, 적어도 190% 또는 적어도 200%만큼 대상체의 하나 이상의 세포에서 전염증성 매개체 발현을 조절할 수 있다. 다른 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, 항-Siglec-9 항체로 치료되지 않는 대응하는 대상체의 하나 이상의 세포에서의 전염증성 매개체

발현에 비해 적어도 1.5배, 적어도 1.6배, 적어도 1.7배, 적어도 1.8배, 적어도 1.9배, 적어도 2.0배, 적어도 2.1배, 적어도 2.15배, 적어도 2.2배, 적어도 2.25배, 적어도 2.3배, 적어도 2.35배, 적어도 2.4배, 적어도 2.45배, 적어도 2.5배, 적어도 2.55배, 적어도 3.0배, 적어도 3.5배, 적어도 4.0배, 적어도 4.5배, 적어도 5.0배, 적어도 5.5배, 적어도 6.0배, 적어도 6.5배, 적어도 7.0배, 적어도 7.5배, 적어도 8.0배, 적어도 8.5배, 적어도 9.0배, 적어도 9.5배 또는 적어도 10배만큼 대상체의 하나 이상의 세포에서 전염증성 매개체 발현을 조절할 수 있다.

[0378] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 일부 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진진, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 전염증성 매개체의 비정상 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유용할 수 있다.

[0379] *ERK 인산화*

[0380] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현된 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 세포의 신호-조절 키나제 (ERK) 인산화를 유도할 수 있다.

[0381] 세포외-신호-조절 키나제(ERK)는, 예를 들어, 감수분열, 유사분열 및 분화된 세포에서 분열 작용의 조절에 수반된 크게 발현된 단백질 키나제 세포내 신호전달 키나제이다. 다양한 자극, 예컨대 성장 인자, 사이토카인, 바이러스 감염, 이형삼량체 G 단백질-결합 수용체에 대한 리간드, 형질전환제, 및 발암물질은 ERK 경로를 활성화시킨다. ERK의 인산화는 그들의 키나제 활성의 활성화를 야기한다.

[0382] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진진, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 암(방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함), 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 ERK 인산화의 감소된 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0383] *Syk 인산화*

[0384] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현된 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 비장 타이로신 키나제(Syk) 인산화를 유도할 수 있다.

- [0385] 가장 타이로신 키나제(Syk)는 몇몇 기질을 인산화시켜서, 세포의 활성화 및 염증 과정을 야기하는 신호전달 복합체의 형성을 용이하게 함으로써 Siglec-9의 하류에서 작용하는 세포내 신호전달 분자이다.
- [0386] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진진, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 암(방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함), 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닝기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 Syk 인산화의 감소된 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.
- [0387] *Siglec-9 인산화*
- [0388] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현되는 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 Src 패밀리 타이로신 키나제, 예컨대 Src, Syk, Fyn, Fgr, Lck, Hck, Blk, Lyn 및 Frk에 의한 Tyr-433 및 Tyr-456의 Siglec-9 인산화를 일시적으로 유도할 수 있다.
- [0389] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진진, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 암(방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함), 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닝기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 Siglec-9 인산화의 감소된 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.
- [0390] *ITAM 모티프 포함 수용체의 인산화*
- [0391] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현되는 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 TREM1, TREM2, Sirp 베타, FcγR, DAP10 및 DAP12와 같은 ITAM 모티프-포함 수용체의 인산화를 유도할 수 있다.
- [0392] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진진, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상,

나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골괴세포병, 및 암(방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함), 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 ITAM 모티프-포함 수용체의 인산화의 감소된 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0393] C-C 케모카인 수용체 7의 조절된 발현

[0394] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현되는 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)의 발현을 조절할 수 있다. 조절된(예를 들어, 증가 또는 감소된) 발현은 유전자 발현에서의 조절, 전사 발현에서의 조절 또는 단백질 발현에서의 조절을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 유전자, 전사체(예를 들어, mRNA) 및/또는 단백질 발현을 결정하기 위한 당업계에서 공지된 임의의 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 노던 블롯 분석은 항-염증 매개체 유전자 발현 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있고, RT-PCR 은 항-염증 매개체 전사 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있으며, 웨스턴 블롯 분석은 항-염증 매개체 단백질 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0395] C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)은 G 단백질-결합 수용체 패밀리의 구성원이다. CCR7은 다양한 림프구 조직에서 발현되며, B 세포 및 T 세포를 활성화시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, CCR7은 2차 림프 기관, 예컨대 림프절에 대한 기억 T 세포의 이동을 조절할 수 있다. 다른 실시형태에서, CCR7은 수지상 세포 성숙을 자극할 수 있다. CCR7은 케모카인(C-C 모티프) 리간드 CCL19/ELC 및 CCL21에 결합할 수 있는 수용체 단백질이다.

[0396] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체로 치료되는 대상의 하나 이상의 세포에서 그의 발현이 Siglec-9 제제로 치료되지 않는 대응하는 대상의 하나 이상의 세포에서 발현되는 CCR7의 발현에 비해 조절된다면, CCR7은 조절된(예를 들어, 증가된 또는 감소된) 발현을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료되지 않는 대응하는 대상의 하나 이상의 세포에서의 CCR7 발현에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 적어도 150%, 적어도 160%, 적어도 170%, 적어도 180%, 적어도 190% 또는 적어도 200%만큼 대상의 하나 이상의 세포에서 CCR7 발현을 조절할 수 있다. 다른 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료되지 않는 대응하는 대상의 하나 이상의 세포에서의 CCR7 발현에 비해, 적어도 1.5배, 적어도 1.6배, 적어도 1.7배, 적어도 1.8배, 적어도 1.9배, 적어도 2.0배, 적어도 2.1배, 적어도 2.15배, 적어도 2.2배, 적어도 2.25배, 적어도 2.3배, 적어도 2.35배, 적어도 2.4배, 적어도 2.45배, 적어도 2.5배, 적어도 2.55배, 적어도 3.0배, 적어도 3.5배, 적어도 4.0배, 적어도 4.5배, 적어도 5.0배, 적어도 5.5배, 적어도 6.0배, 적어도 6.5배, 적어도 7.0배, 적어도 7.5배, 적어도 8.0배, 적어도 8.5배, 적어도 9.0배, 적어도 9.5배 또는 적어도 10배만큼 대상체의 하나 이상의 세포의 CCR7 발현을 조절한다.

[0397] 일부 실시형태에서, CCR7의 증가된 발현은 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 및/또는 미세아교세포에서 일어난다. CCR7의 증가된 발현은 케모카인 CCL19 및 CCL21을 발현시키는 세포에 대해 미세아교세포 주화성을 유도할 수 있다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 CCL19 및 CCL21 발현 세포에 대해 미세아교세포 주화성을 유도할 수 있다.

[0398] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진진, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피

질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 CCR7의 비정상 수준과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유용하다.

[0399] 항원-특이적 T 세포 증식을 유도하는 골수-유래 수지상 세포의 능력의 향상 또는 정규화

[0400] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현되는 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 항원-특이적 T 세포 증식을 유도하는 골수-유래 수지상 세포의 능력을 향상시키고/시키거나 정규화할 수 있다.

[0401] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 예를 들어, 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상체의 하나 이상의 골수-유래 수지상 세포에서 항원-특이적 T 세포 증식을 유도하는 골수-유래 수지상 세포의 능력에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 적어도 150%, 적어도 160%, 적어도 170%, 적어도 180%, 적어도 190% 또는 적어도 200%만큼 대상의 하나 이상의 골수-유래 수지상 세포에서 항원-특이적 T 세포를 유도하는 골수-유래 수지상 세포의 능력을 향상시키고/시키거나 정규화할 수 있다. 다른 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 길항제 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상체의 하나 이상의 골수-유래 수지상 세포에서 항원-특이적 T 세포 증식을 유도하는 골수-유래 수지상 세포의 능력에 비해 적어도 1.5배, 적어도 1.6배, 적어도 1.7배, 적어도 1.8배, 적어도 1.9배, 적어도 2.0배, 적어도 2.1배, 적어도 2.15배, 적어도 2.2배, 적어도 2.25배, 적어도 2.3배, 적어도 2.35배, 적어도 2.4배, 적어도 2.45배, 적어도 2.5배, 적어도 2.55배, 적어도 3.0배, 적어도 3.5배, 적어도 4.0배, 적어도 4.5배, 적어도 5.0배, 적어도 5.5배, 적어도 6.0배, 적어도 6.5배, 적어도 7.0배, 적어도 7.5배, 적어도 8.0배, 적어도 8.5배, 적어도 9.0배, 적어도 9.5배 또는 적어도 10배만큼 대상체의 하나 이상의 골수-유래 수지상 세포에서 항원-특이적 T 세포 증식을 유도하는 골수-유래 수지상 세포의 능력을 향상시키고/시키거나 정규화시킬 수 있다.

[0402] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅팅병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진진, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 항원-특이적 T 세포 증식을 유도하는 골수-유래 수지상 세포의 감소된 또는 조절이상 능력과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

- [0403] *과골세포 생성*
- [0404] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포에서 발현되는 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 과골세포 생성을 유도하고/하거나 과골세포형성 속도를 증가시킬 수 있다.
- [0405] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 과골세포는 그의 무기염화된 기질을 제거함으로써 그리고 유기체 뼈(예를 들어, 뼈 재흡수)를 파괴함으로써 뼈 조직을 제거할 수 있는 뼈 세포의 유형이다. 과골세포는 골수 계통의 세포의 융합에 의해 형성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 과골세포는 타르타르산 내성산 포스파타제(TRAP) 및 카텝신 K의 고발현을 특징으로 할 수 있다.
- [0406] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 길항제 항-Siglec-9 항체로 치료된 대상체에서의 과골세포형성 속도가 Siglec-9 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상체에서의 과골세포형성 속도보다 더 크다면, 과골세포형성 속도는 증가될 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료받지 않은 대응하는 대상체에서의 과골세포형성 속도에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 적어도 150%, 적어도 160%, 적어도 170%, 적어도 180%, 적어도 190% 또는 적어도 200%만큼 대상체에서의 과골세포형성 속도를 증가시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료받지 않은 대응하는 대상체에서의 과골세포형성 속도에 비해 적어도 1.5배, 적어도 1.6배, 적어도 1.7배, 적어도 1.8배, 적어도 1.9배, 적어도 2.0배, 적어도 2.1배, 적어도 2.15배, 적어도 2.2배, 적어도 2.25배, 적어도 2.3배, 적어도 2.35배, 적어도 2.4배, 적어도 2.45배, 적어도 2.5배, 적어도 2.55배, 적어도 3.0배, 적어도 3.5배, 적어도 4.0배, 적어도 4.5배, 적어도 5.0배, 적어도 5.5배, 적어도 6.0배, 적어도 6.5배, 적어도 7.0배, 적어도 7.5배, 적어도 8.0배, 적어도 8.5배, 적어도 9.0배, 적어도 9.5배 또는 적어도 10배만큼 대상체에서 과골세포형성 속도를 증가시킬 수 있다.
- [0407] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체로 처리한 대상체에서의 과골세포형성 속도가 Siglec-9 제제로 치료받지 않은 대응하는 대상체에서의 과골세포형성 속도보다 더 작다면, 과골세포형성 속도는 감소될 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체는 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료받지 않은 대응하는 대상체에서의 과골세포형성 속도에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 적어도 150%, 적어도 160%, 적어도 170%, 적어도 180%, 적어도 190% 또는 적어도 200%만큼 대상체에서의 과골세포형성 속도를 감소시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료받지 않은 대응하는 대상체에서의 과골세포형성 속도에 비해 적어도 1.5배, 적어도 1.6배, 적어도 1.7배, 적어도 1.8배, 적어도 1.9배, 적어도 2.0배, 적어도 2.1배, 적어도 2.15배, 적어도 2.2배, 적어도 2.25배, 적어도 2.3배, 적어도 2.35배, 적어도 2.4배, 적어도 2.45배, 적어도 2.5배, 적어도 2.55배, 적어도 3.0배, 적어도 3.5배, 적어도 4.0배, 적어도 4.5배, 적어도 5.0배, 적어도 5.5배, 적어도 6.0배, 적어도 6.5배, 적어도 7.0배, 적어도 7.5배, 적어도 8.0배, 적어도 8.5배, 적어도 9.0배, 적어도 9.5배 또는 적어도 10배만큼 대상체에서 과골세포형성 속도를 감소시킬 수 있다.
- [0408] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 골밀도의 병리학 적 감소와 관련된 골다공증 및 골밀도의 병리학 적 증가와 관련된 골다공증 질환을 포함하는 비정상적 뼈 형성 및 유지와 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.
- [0409] *Siglec-9-발현 세포의 증식 및 생존*
- [0410] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포 상에서 발현된 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 호중구, 과골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼 세포, T 세포 및 미세아교세포의 증식, 생존 및/또는 작용을 증가시킬 수 있다.

- [0411] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 본 개시내용의 대식세포는 M1 대식세포, 활성화된 M1 대식세포 및 M2 대식세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 본 개시내용의 호중구는 M1 호중구, 활성화된 M1 호중구 및 M2 호중구를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 본 개시내용의 자연살해(NK) 세포는 M1 NK 세포, 활성화된 M1 NK 세포 및 M2 NK 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 본 개시내용의 미세아교세포는 M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0412] 미세아교세포는 뇌 및 척수의 체류 대식세포인 신경아교세포의 유형이고, 따라서, 중추신경계(CNS)에서 활성 면역 방어의 처음의 그리고 주된 형태로서 작용한다. 미세아교세포는 뇌 내의 총 신경아교세포 집단의 20%를 구성한다. 미세아교세포는 플라크, 손상된 뉴런 및 감염체에 대해 CNS를 끊임없이 포집한다. 뇌 및 척수는 대부분의 병원균이 약한 신경 조직에 도달하는 것을 방지하는 혈액-뇌 장벽으로서 알려진 일련의 내피 세포에 의해 신체의 나머지에서부터 분리된다는 점에서 "면역 특권" 기관으로 고려된다. 감염체가 뇌에 직접 도입되거나 또는 혈액-뇌 장벽을 가로지르는 경우에, 미세아교세포는 그들이 민감한 신경조직을 손상시키기 전에 염증을 제한하고 감염체를 파괴하도록 빠르게 반응하여야 한다. 신체의 나머지에서부터의 항체의 비가동물에 기인하여(소수의 항체는 혈액 뇌 장벽을 가로지르기에 충분히 작음), 미세아교세포는 이물질을 인식하고, 그들을 삼키며, 항원-제시 세포 활성화 T 세포로서 작용할 수 있어야 한다. 이 과정이 잠재적으로 치명적인 손상을 방지하기 위해 빠르게 행해져야 하기 때문에, 미세아교세포는 CNS에서의 심지어 작은 병리적 변화에 대해서도 극도로 민감하다. 그들은 세포의 칼륨의 심지어 작은 변화에 대해서도 반응하는 고유 칼륨 채널을 가짐으로써 부분적으로 이런 민감성을 달성한다.
- [0413] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 수지상 세포, 단핵구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 및/또는 미세아교세포에 대한 CD80, CD83 및/또는 CD86의 발현을 증가시킬 수 있다.
- [0414] Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체로 치료된 대상체에서의 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 파골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼세포, 및/또는 미세아교세포의 증식 속도, 생존 및/또는 작용이 Siglec-9 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상체에서 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 파골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 증식 속도, 생존 및/또는 작용보다 크다면, 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 단핵구, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 증식 속도, 생존 및/또는 작용은 증가된 발현을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상체에서의 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 파골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 증식속도, 생존 및/또는 작용에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 100%, 적어도 110%, 적어도 115%, 적어도 120%, 적어도 125%, 적어도 130%, 적어도 135%, 적어도 140%, 적어도 145%, 적어도 150%, 적어도 160%, 적어도 170%, 적어도 180%, 적어도 190% 또는 적어도 200%만큼 대상체에서 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 파골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 증식 속도, 생존 및/또는 작용을 증가시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는, 예를 들어, Siglec-9 제제로 치료되지 않은 대응하는 대상체에서의 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 파골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 증식 속도, 생존 및/또는 작용에 비해 적어도 1.5배, 적어도 1.6배, 적어도 1.7배, 적어도 1.8배, 적어도 1.9배, 적어도 2.0배, 적어도 2.1배, 적어도 2.15배, 적어도 2.2배, 적어도 2.25배, 적어도 2.3배, 적어도 2.35배, 적어도 2.4배, 적어도 2.45배, 적어도 2.5배, 적어도 2.55배, 적어도 3.0배, 적어도 3.5배, 적어도 4.0배, 적어도 4.5배, 적어도 5.0배, 적어도 5.5배, 적어도 6.0배, 적어도 6.5배, 적어도 7.0배, 적어도 7.5배, 적어도 8.0배, 적어도 8.5배, 적어도 9.0배, 적어도 9.5배 또는 적어도 10배만큼, 대상체에서의 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 파골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 증식 속도, 생존 및/또는 작용을 증가시킬 수 있다.
- [0415] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피

질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저글밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 심유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 수지상 세포, 호중구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 단핵구, 과골세포, 피부의 랑게르한스 세포, 쿠퍼세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 증식, 생존, 증가된 세포자멸사 및/또는 작용의 감소와 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 감소시키거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0416] 클리어런스 및 식세포작용

[0417] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 뉴런의 세포자멸사, 신경계의 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 신경계의 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 또는 종양 세포 중 하나 이상의 세포에서 발현되는 Siglec-9 단백질에 대한 결합 후에 클리어런스 및/또는 식세포작용을 유도할 수 있다. 특정 실시형태에서, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅틴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이노인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔솔린, 케라토피테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 질환-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0418] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 또는 다른 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스, 질환-원인 핵산 클리어런스 및 종양 세포 클리어런스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 클리어런스 중 하나 이상의 유형을 유도할 수 있다.

[0419] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 다른 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 및/또는 종양 세포 중 하나 이상의 식세포작용을 유도할 수 있다.

[0420] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 대식세포종식자극인자(M-CSF)의 감소된 수준의 조건 하에서 호중구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 단핵구, 및/또는 미세아교세포에 의한 식세포작용을 증가시킬 수 있다.

[0421] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅틴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 제양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저글밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전

림선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV, 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 세포자멸사 뉴런, 신경계의 신경 조직 파편, 신경계의 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 이를 치료하는 데 유리하다.

[0422] *Siglec-9-의존적 유전자 발현*

[0423] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9-의존적 유전자의 활성화 및/또는 발현을 감소시킬 수 있고, 면역계를 활성화시키는 신호전달 캐스케이드와 관련된 유전자 발현, 예컨대 ITAM 포함 수용체, 패턴 인식 수용체와 관련된, Toll-유사 수용체의, 손상-관련 분자 패턴(DAMP) 수용체, 예컨대 전사 인자의 활성화된 T 세포(NFAT) 패밀리와 핵 인자의 하나 이상의 전사 인자의 유전자 발현을 증가시킨다.

[0424] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펠트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 고수준의 Siglec-9-의존적 유전자와 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0425] *T 세포의 Siglec-9-의존적 활성화*

[0426] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 세포독성 T 세포 헬퍼 T 세포 또는 둘 다의 활성을 증가시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암과 같은 고형 종양을 포함하는 종양을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 세포독성 T 세포 헬퍼 T 세포, 또는 둘 다의 감소된 활성과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0427] *호중구의 Siglec-9-의존적 저해*

[0428] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체는 호중구의 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암과 같은 고형 종양을 포함하는 종양을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 자연 살해 세포, 호중구 또는 둘 다의 활성의 감소된 활성과 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0429] *자연살해(NK) 세포에 의한 Siglec-9-의존적 향상된 세포 사멸*

[0430] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체는 NK 세포의 사멸 활성을 증가시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항

제 항-Siglec-9 항체는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암과 같은 고형 종양을 포함하는 종양을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 자연 살해 세포, 호중구 또는 둘 다의 감소된 활성화와 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0431] 종양-관련 면역 세포의 Siglec-9-의존적 저해

[0432] 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체는 활성을 감소시키고/시키거나, 증식을 감소시키고/시키거나, 생존을 감소시키고/시키거나, 작용성을 감소시키고/시키거나, 종양 또는 림프 기관(예를 들어, 비장 및 림프절)에 대한 침윤을 감소시키고/시키거나 T-조절 세포 또는 저해 종양-포매 면역억제자 수지상 세포 또는, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 또는, 골수-유래 억제자 세포의 세포자멸사를 촉진시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 작용제 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9를 발현시키지 않는 고형 종양, 예컨대 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 갑상선암, 및 혈액 Siglec-9를 발현시키는 종양, 예컨대 백혈병 세포를 포함하는 종양을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 유형의 면역 억제자 세포의 활성화와 관련된 병태 및/또는 질환을 예방하거나, 이의 위험을 낮추거나 또는 치료하는 데 유리하다.

[0433] 약제학적 조성물

[0434] Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 항-Siglec-9 항체와 같은 제제를 적절한 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제와 조합함으로써 치료적 투여를 위한 다양한 제형 내에 혼입될 수 있고, 고체, 반고체, 액체 또는 기체 형태로 제제로 제형화될 수 있다. 이러한 제형의 예는 정제, 캡슐, 분말, 과립, 연고, 용액, 좌약, 주사, 흡입제, 젤, 미소구체 및 에어로졸을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 약제학적 조성물은 목적으로 하는 제형에 따라서 동물 또는 인간 투여를 위한 약제학적 조성물을 제형화하기 위해 통상적으로 사용되는 비히클린, 약제학적으로-허용 가능한, 비-독성 담체의 희석제를 포함할 수 있다. 조성물의 생물학적 활성에 영향을 미치지 않도록 희석제가 선택된다. 이러한 희석제의 예는 증류수, 완충수, 생리식염수, PBS, 링거액, 텍스트로스 용액, 및 헵스 용액을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 개시내용의 약제학적 조성물 또는 제형은 다른 담체, 애주번트, 또는 비-독성, 비치료적, 비면역원성 안정제, 부형제 등을 추가로 포함할 수 있다. 조성물은 또한 생리학적 조건에 근접하도록 추가적인 물질, 예컨대 pH 조절제 및 완충제, 독성 조절제, 습윤제 및 세정제를 포함할 수 있다.

[0435] 본 개시내용의 약제학적 조성물은 또한, 예를 들어, 임의의 다양한 안정제, 예컨대 항산화제를 포함할 수 있다. 약제학적 조성물이 폴리펩타이드를 포함할 때, 폴리펩타이드는 폴리펩타이드의 생체내 안정성을 향상시키는 다양한 잘 공지된 화합물과 복합체화될 수 있거나, 또는 다르게는 그의 약학적 특성을 향상시킨다(예를 들어, 폴리펩타이드의 반감기를 감소시키고, 그의 독성을 감소시키며, 용해도 또는 흡수를 향상시킨다). 이러한 변형 또는 복합체화제의 예는 황산염, 글루콘산염, 시트르산염 및 인산염을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 조성물의 폴리펩타이드는 또한 그들의 생체내 속성을 향상시키는 분자와 복합체화될 수 있다. 이러한 분자는, 탄수화물, 폴리아민, 아미노산, 다른 펩타이드, 이온(예를 들어, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 망간) 및 지질을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0436] 다양한 유형의 투여에 적합한 제형의 추가적인 예는 문헌[Remington's *Pharmaceutical Sciences*, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985)]에서 찾을 수 있다. 약물 전달을 위한 방법의 간략한 검토를 위해, 문헌[Langer, *Science* 249:1527-1533(1990)]을 참조한다.

[0437] 경구 투여를 위해, 활성 성분은 고체 투약 형태, 예컨대 캡슐, 정제 및 분말로 또는 액체 투약 형태, 예컨대 엘릭시르, 시럽 및 현탁액으로 투여될 수 있다. 활성 성분(들)은 비활성 성분 및 분말 담체, 예컨대 글루코스, 락토스, 수크로스, 만니톨, 전분, 셀룰로스 또는 셀룰로스 유도체, 스테아르산마그네슘, 스테아르산, 사카린 나트륨, 활석, 탄산마그네슘과 함께 젤라틴 캡슐에 캡슐화될 수 있다. 바람직한 색, 맛, 안정성, 완충 능력, 분산 또는 다른 알려진 바람직한 특징을 제공하기 위해 첨가될 수 있는 추가적인 비활성 성분의 예는 적색 산화철, 실리카겔, 라우릴황산나트륨, 이산화티타늄 및 식용 백색 잉크이다. 압축 정제를 제조하기 위해 유사한 희석제가 사용될 수 있다. 몇 시간의 기간에 걸쳐 의학의 지속적인 방출을 제공하기 위해 지속 방출 제품으로서 정제와 캡슐이 둘 다 제조될 수 있다. 압축 정제는 임의의 불쾌한 맛을 가리기 위해 그리고 대기로부터 정제를 보호하기 위해 당 코팅 또는 필름 코팅될 수 있거나, 또는 위장관에서의 선택적 붕괴에 대해 장용 코팅될 수 있다. 경구 투여를 위한 액체 투약 형태는 환자 수용을 증가시키기 위해 색 및 맛을 포함할 수 있다.

- [0438] 비경구 투여에 적합한 제형은 수성 및 비수성, 등장성 멸균 주사용액을 포함하는데, 이는 항산화제, 완충제, 정균제, 및 의도된 수용자의 혈액과 등장성인 제형을 제공하는 용질, 및 현탁제, 가용화제, 증점제, 안정제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 현탁액을 함유할 수 있다.
- [0439] 약제학적 조성물을 제형화하기 위해 사용되는 성분은 바람직하게는 고순도이며, 잠재적으로 유해한 오염물질(예를 들어, 적어도 국가 식품(National Food: NF) 등급, 일반적으로 적어도 분석 등급, 및 더 전형적으로는 적어도 약제 등급)이 실질적으로 없다. 게다가, 생체내 사용을 위해 의도된 조성물은 보통 멸균이다. 주어진 화합물이 사용 전에 합성되어야 하는 정도로, 얻어진 생성물은 전형적으로 합성 또는 정제 과정 동안 존재할 수 있는 임의의 잠재적으로 독성인 제제, 특히 임의의 내독소가 실질적으로 없다. 비경구 투여를 위한 조성물은 또한 멸균이고, 실질적으로 등장성이며, GMP 조건 하에서 제조된다.
- [0440] 제형은 뇌 또는 중추신경계에서 체류 및 안정화를 위해 최적화될 수 있다. 제제가 두개골 구획 내로 투여될 때, 제제는 구획 내에 보유되며, 확산되지 않거나 또는 다르게는 혈액 뇌 장벽을 가로지르지 않는 것이 바람직하다. 안정화 기법은 분자량의 증가를 달성하기 위해 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알킬아마이드, 중성 단백질 담체 등과 같은 기에 대한 가교, 다량체화 또는 연결을 포함한다.
- [0441] 체류를 증가시키기 위한 다른 전략은 생분해성 또는 생부식성 이식물에서 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 제제의 폐색을 포함한다. 치료적 활성제의 방출 속도는 중합체 기질을 통한 수송 속도, 및 이식물의 생분해에 의해 제어된다. 중합체 장벽을 통한 약물의 수송은 또한 화합물 용해도, 중합체 친수성, 중합체 가교 정도, 중합체 장벽을 약물에 대해 더 침투성으로 만들기 위해 물 흡수 시 중합체의 확장, 이식물의 기하구조 등에 의해 영향받을 것이다. 이식물은 이식 부위로서 선택된 영역의 크기 및 형상에 비례한 치수를 가진다. 이식물은 입자, 시트, 패치, 플라크, 섬유, 마이크로캡슐 등일 수 있고, 삽입의 선택 부위에 적합한 임의의 크기 또는 형상을 가질 수 있다.
- [0442] 이식물은 단일체일 수 있으며, 즉, 중합체 기질을 통해 균일하게 분포되거나 또는 캡슐화된 활성제를 가지며, 여기서, 활성제의 저장소는 중합체 기질에 의해 캡슐화된다. 사용될 중합체 조성물의 선택은 투여 부위, 요망되는 치료 기간, 환자 내약성, 치료될 질환의 특성 등에 따라 다를 것이다. 중합체의 특징은 이식 부위에서의 생분해성, 관심 대상의 제제와의 양립 가능성, 캡슐화의 용이함, 생리적 환경에서의 반감기를 포함할 것이다.
- [0443] 사용될 수 있는 생분해성 중합체 조성물은 분해될 때 단량체를 포함하는 생리적으로 허용 가능한 분해 생성물을 초래하는 유기 에스터 또는 에터일 수 있다. 무수물, 아마이드, 오쏘에스터 등은 단독으로 또는 다른 단량체와 조합하여 용도를 발견할 수 있다. 중합체는 축합 중합체일 것이다. 중합체는 가교되거나 또는 비가교될 수 있다. 하이드록시지방족 카복실산, 동중- 또는 공중합체 및 다당류의 중합체에 특히 관심이 있다. 관심 대상의 폴리에스터 중에 D-락트산, L-락트산, 라세미 락트산, 글리콜산, 폴리카프로락톤 및 조합물의 중합체가 포함된다. L-락테이트 또는 D-락테이트를 사용함으로써, 중합체를 서서히 생분해시키는 것이 달성되는 한편, 분해는 라세미체에 의해 실질적으로 향상된다. 글리콜산과 락트산의 공중합체는 특히 관심이 있으며, 생분해 속도는 글리콜산 대 락트산의 비에 의해 제어된다. 가장 빠르게 분해되는 공중합체는 거의 동일한 양의 글리콜산 및 락트산을 가지며, 여기서 동중합체는 분해에 대해 더 저항성이다. 글리콜산 대 락트산의 비는 또한 이식물의 취성에 영향을 미치는데, 여기서 더 가요성의 이식물이 더 큰 기하구조에 대해 바람직할 수 있다. 관심 대상의 다당류 중에 알긴산칼슘, 작용화된 셀룰로스가 있으며, 특히 카복시메틸셀룰로스 에스터는 수용성이며, 분자량이 약 5kD 내지 500kD 등인 것을 특징으로 한다. 생분해성 하이드로겔이 또한 본 개시내용의 이식물에서 사용될 수 있다. 하이드로겔은 전형적으로 공중합체 물질이며, 액체를 흡수하는 능력을 특징으로 한다. 사용될 수 있는 예시적인 생분해성 하이드로겔은 문헌[Heller in: Hydrogels in Medicine and Pharmacy, N. A. Peppas ed., Vol. III, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp 137-149]에 기재되어 있다.
- [0444] *약제학적 투약량*
- [0445] 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 함유하는 본 개시내용의 약제학적 조성물은 공지된 방법, 예컨대 일정 시간의 기간에 걸쳐 볼루스로서 또는 연속 주입에 의한 정맥내 투여, 근육내, 복강내, 뇌척수액내, 두개내, 척수관, 피하, 관절내, 활액내, 척추강내, 경구, 국소 또는 흡수 경로에 따라 Siglec-9 제제에 의한 치료가 필요한 개체, 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있다.
- [0446] 본 개시내용의 약제학적 조성물의 투약량 및 목적으로 하는 약물 농도는 생각되는 특정 용도에 따라 다를 것이다. 적절한 투약량 또는 투여 경로의 결정은 당업자의 기술 내에서 용이하다. 동물 실험은 인간 요법에 대한 유효 용량의 결정을 위한 신뢰 가능한 가이드를 제공한다. 유효 용량의 중간 규모 조정은 문헌[Mordenti, J. and

Chappell, W. "Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In *Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp.42-46]에 기재된 원칙에 따라 수행될 수 있다.

- [0447] 임의의 Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 임의의 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 생체내 투여를 위해, 정상 투약량은 투여 경로에 따라서 약 10 ng/kg 내지 약 100mg/kg 또는 그 이상의 개체의 체중/일, 바람직하게는 약 1mg/kg/일 내지 10mg/kg/일로 다를 수 있다. 치료될 질환, 장애 또는 병태의 중증도에 따라서 며칠 또는 그 이상에 걸쳐 반복된 투여를 위해, 치료는 증상의 목적으로 하는 억제제가 달성될 때까지 지속된다.
- [0448] 예시적인 투약 요법은 2mg/kg의 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체의 초기 용량 다음에 격주로 약 1mg/kg의 1주 유지 용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 의사가 달성하기를 바라는 약동학적 붕괴 패턴에 따라서 다른 투약 요법이 유용할 수 있다. 예를 들어, 개체에게 1주에 1 내지 21회의 투약이 본 명세서에서 상정된다. 특정 실시형태에서, 약 3 μ g/kg 내지 약 2mg/kg(예컨대, 약 3 μ g/kg, 약 10 μ g/kg, 약 30 μ g/kg, 약 100 μ g/kg, 약 300 μ g/kg, 약 1mg/kg, 및 약 2/mg/kg) 범위의 투약량이 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 투약 빈도는 1일당 3회, 1일당 2회, 1일당 1회, 격일에 1회, 1주 1회, 2주에 1회, 4주마다 1회, 5주마다 1회, 6주마다 1회, 7주마다 1회, 8주마다 1회, 9주마다 1회, 10주마다 1회 또는 1개월에 1회, 2개월마다 1회, 3개월마다 1회 또는 더 길다. 요법의 진행은 통상적인 기법 및 분석에 의해 용이하게 모니터링된다. 투여되는 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 포함하는 투약 요법은 사용되는 용량과 독립적으로 시간에 따라 변할 수 있다.
- [0449] 특정 Siglec-9 제제, 예컨대 특정 항-Siglec-9 항체에 대한 투약량은 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체의 하나 이상의 투여가 제공된 개체에서 경험적으로 결정될 수 있다. 개체에게 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체의 증분적 용량이 제공된다. Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체의 효능을 평가하기 위해, 본 개시내용의 임의의 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 발작, 망막이영양증, 외상성 뇌 손상, 척수손상, 장기간 우울증, 아테롬성 동맥 경화증 혈관 질환 및 정상 노화의 바람직하지 않은 증상)의 증상이 모니터링될 수 있다.
- [0450] Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체의 투여는, 예를 들어, 수용자의 생리적 조건, 투여 목적이 치료적인지 또는 예방적인지의 여부, 및 당업자에게 공지된 다른 인자에 따라서 연속적이거나 또는 간헐적일 수 있다. Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체의 투여는 사전 선택된 일정 시간에 걸쳐 본질적으로 연속적일 수 있거나 또는 일련의 간격이 있는 용량일 수 있다.
- [0451] 특정 투약량 및 전달 방법에 관한 가이드는 문헌에 제공된다; 예를 들어, 미국 특허 공개 제4,657,760호; 제 5,206,344호; 또는 제5,225,212호를 참조. 상이한 제형이 상이한 치료 및 상이한 장애에 대해 유효하다는 것, 그리고 특정 기관 또는 조직을 치료하도록 의도되는 투여는 상기 특정 기관 또는 조직으로부터 다른 기관 또는 조직까지 상이한 방식으로 전달을 필요로 할 수 있다는 것은 본 개시내용의 범주 내에 있다. 게다가, 투약량은 하나 이상의 별개의 투여에 의해, 또는 연속적 주입에 의해 투여될 수 있다. 병태에 따라 며칠 또는 더 장기간에 걸쳐 반복된 투여를 위해, 치료는 질환 증상의 목적으로 하는 억제제가 일어날 때까지 지속된다. 그러나, 다른 투약 요법이 유용할 수 있다. 이 요법의 진행은 통상적인 기법 및 분석에 의해 용이하게 모니터링된다.
- [0452] **치료적 용도**
- [0453] 본 개시내용의 추가적인 양상은 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해) 하기 위해 개체에게 치료적 유효량의 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여함으로써 이러한 치료가 필요한 개체에서, 본 개시내용의 Siglec-9 단백질의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해), Src 패밀리의 타이로신 키나제, 예컨대 Syk, LCK, FYM 및/또는 ZAP70에 의한 Tyr-433 및 Tyr-456의 하나 이상의 인산화에 대응; 타이로신-특이적 단백질 포스파타제 SHP1 및 SHP2의 동원 및 이에 대한 결합; 다이아미니-1에 대한 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자로서 작용하는 PLC-감마1의 동원 및 이에 대한 결합; SH2-도메인 포함 단백질(예를 들어, Crk1)의 동원 및 이에 대한 결합; 비장 타이로신 키나제 Syk의 동원 및 이에 대한 결합; SH3-SH2-SH3 성장 인자 수용체-결합 단백질 2(Grb2)의 동원 및 이에 대한 결합; 다중 SH2-함유 단백질의 동원 및 이에 대한 결합; 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 발현 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해)(선택적으로 여기서, 하나 이상의 항-염증성 사이토카인은 FN- α 4, IFN-베타, IL-1 β , IL-1 α 와, TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리의 구성원, LIF, IFN-감마, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-33, MCP-1 및 MIP-1-베타로부터 선택됨); 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과립세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 전염증성 사이토카인의 발현 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 발현을 조절(예를

들어, 활성화 또는 저해)(선택적으로 여기서, 하나 이상의 항-염증성 사이토카인은 TNF, IFN-베타1a, IFN-베타1b 또는 IL-6에 대해 IL-4, IL-10, IL-13, IL-35, IL-16, TGF-베타, IL-1Ra, G-CSF 및 가용성 수용체로부터 선택됨); 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구 및 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 하나 이상의 항-염증성 사이토카인의 발현 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); C1qa, C1qb, C1qc, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및 PYCARD로부터 선택된 하나 이상의 단백질의 발현 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 세포의 신호-조절 키나제(ERK) 인산화의 활성화; 하나 이상의 세포 단백질 상에서 타이로신 인산화를 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해)(선택적으로, 여기서 하나 이상의 세포 단백질은 ZAP-70을 포함하고, 타이로신 인산화는 ZAP-70의 Tyr-319 상에서 생김); C-C 케모카인 수용체 7(CCR7)의 발현 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); CCL19-발현 및 CCL21-발현 세포에 대한 미세아교세포 주화성의 활성화; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포, M2 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구 및 M2 NK 세포로부터 선택된 하나 이상의 세포에 의해 유도된 T 세포 증식의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 과골세포 생성의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해), 과골세포형성 속도의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해), 또는 둘 다; 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 생존 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 증식 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 이동 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 작용 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, M1 대식세포, M1 호중구, M1 NK 세포, 활성화된 M1 대식세포, 활성화된 M1 호중구, 활성화된 M1 NK 세포, M2 대식세포, M2 호중구, M2 NK 세포, 단핵구, 과골세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 과립구, 호중구, 미세아교세포, M1 미세아교세포, 활성화된 M1 미세아교세포 및 M2 미세아교세포로부터 선택된 하나 이상의 세포의 성숙 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 세포자멸사 뉴런 클리어런스, 신경 조직 파편 클리어런스, 기능장애 시냅스 클리어런스, 비-신경 조직 파편 클리어런스, 박테리아 클리어런스, 기타 이물질 클리어런스, 질환-원인 단백질 클리어런스, 질환-원인 펩타이드 클리어런스 및 중앙 세포 클리어런스로부터 선택된 한 가지 이상의 유형의 클리어런스의 활성화; (선택적으로 여기서 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅턴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨 이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 겔술린, 케라토피테린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드로부터 선택되고, 중앙 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 및 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 기능장애 시냅스, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 질환-원인 단백질, 질환-원인 펩타이드, 질환-원인 핵산 또는 중앙 세포 중 하나 이상의 식세포작용의 활성화; (선택적으로 여기서 질환

-원인 핵산은 안티센스 GGCCCC(G2C4) 반복부-확장 RNA이고, 질환-원인 단백질은 아밀로이드 베타, 올리고머 아밀로이드 베타, 아밀로이드 베타 플라크, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 이의 단편, 타우, IAPP, 알파-시뉴클레인, TDP-43, FUS 단백질, C9orf72(염색체 9 오픈 리딩 프레임 72), c9RAN 단백질, 프리온 단백질, PrPSc, 헌팅턴, 칼시토닌, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 아탁신, 아탁신 1, 아탁신 2, 아탁신 3, 아탁신 7, 아탁신 8, 아탁신 10, 루이소체, 심방나트륨이뇨인자, 체도 아밀로이드 폴리펩타이드, 인슐린, 아포지방단백질 AI, 혈청 아밀로이드 A, 메딘, 프로락틴, 트랜스타이레틴, 라이소자임, 베타 2 마이크로글로불린, 켈슬린, 케라토에피텔린, 시스타틴, 면역글로불린 경쇄 AL, S-IBM 단백질, 반복부-관련 비-ATG(RAN) 번역 산물, 다이펩타이드 반복부(DPR) 펩타이드, 글리신-알라닌(GA) 반복부 펩타이드, 글리신-프롤린(GP) 반복부 펩타이드, 글리신-알기닌(GR) 반복부 펩타이드, 프롤린-알라닌(PA) 반복부 펩타이드, 유비퀴틴 및 프롤린-알기닌(PR) 반복부 펩타이드이며, 종양 세포는 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 또는 갑상선암으로부터 선택된 암으로부터 유래됨); 종양 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합의 저해; 호중구, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포, 대식세포 및 NK 세포로부터 선택된 세포 상에서 Siglec-9 리간드에 대한 결합 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에 의한 종양 세포 사멸의 활성화; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 증식 활성의 활성화; 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상의 항-종양 세포 전이 활성의 활성화; 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해)(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM 모티프 포함 수용체는 TREM1, TREM2, Sirp 베타, FcγR, DAP10 및 DAP12로부터 선택됨); 하나 이상의 패턴 인식 수용체(PRR)의 신호전달의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해)(선택적으로 여기서, 하나 이상의 PRR은 병원균-관련 분자 패턴(PAMP)을 동정하는 수용체, 손상-관련 분자 패턴(DAMP)을 동정하는 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택됨); 모티프 D/Ex₀₋₂YxxL/IX₆₋₈YxxL/I (서열번호 252)를 포함하는 하나 이상의 수용체의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 하나 이상의 톨-유사 수용체에 의한 신호전달의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); JAK-STAT 신호전달 경로의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 활성화된 B 세포의 핵 인자 카파-경쇄 인헨서(NFκB)의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); ITAM 모티프 포함 수용체의 인산화; 하나 이상의 염증 수용체 발현의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해)(선택적으로 여기서 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 수용체는 CD86, C1qa, C1qB, C1qC, C1s, C1R, C4, C2, C3, ITGB2, HMOX1, LAT2, CASP1, CSTA, VSIG4, MS4A4A, C3AR1, GPX1, TyroBP, ALOX5AP, ITGAM, SLC7A7, CD4, ITGAX 및/또는 PYCARD를 포함하며, 하나 이상의 염증 수용체, 상보체 캐스케이드의 단백질 및/또는 수용체는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 호중구, T 세포, T 헬퍼 세포 또는 세포독성 T 세포 중 하나 이상에서 발현됨); 하나 이상의 Siglec-9-의존적 유전자 발현의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해); 파괴된 Siglec-9-의존적 유전자 발현의 정상화; 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자 발현의 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해)(선택적으로 여기서, 하나 이상의 ITAM-의존적 유전자는 활성화된 T 세포(NFAT) 전사 인자의 핵 인자에 의해 활성화됨); 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 작용성 구조; 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 감소; 종양에서, 말초 혈액에서 또는 다른 림프구 기관에서 종양-축진 골수성/과립구 면역-억제 세포 수의 증가; 골수성-유래 억제자 세포의 종양-축진 활성의 향상; 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-축진성 사이토카인의 발현 증가(선택적으로 여기서, 종양-축진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10; 종양-축진성 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가임); 골수성-유래 억제자 세포의 종양-축진 활성의 향상(MDSC); 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; NK 세포의 종양 사멸 잠재력의 감소; 면역반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 감소; 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; 종양 용적의 증가; 종양 성장 속도의 증가; 전이의 증가; 종양 재발 속도의 증가; 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 한 가지 이상의 면역-요법의 효능 감소(선택적으로 여기서, 한 가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1 수용체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된 한 가지 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역요법 또는 한 가지 이상의 암 백신임); PLCγ/PKC/칼슘 가동의 저해; 및/또는 PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저

해를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절(예를 들어, 활성화 또는 저해) 하는 방법을 제공한다.

[0454] 본 명세서에 개시하는 바와 같이, Siglec-9에 결합하거나, Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 이들의 임의의 조합인 Siglec-9 본 개시내용의 제제는 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장 질환, 췌양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV, 및/또는 헤모필루스 인플루엔자를 예방하거나, 위험을 감소시키거나 또는 치료하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질, Siglec 면역접합체, 항체, 안티센스 분자, siRNAs, 소분자 저해제, 단백질 및 펩타이드로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제는 작용제 항체이다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제는 비활성 항체이다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제는 길항제 항체이다.

[0455] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 치료적 유효량의 본 개시내용의 제제를 이러한 치료가 필요한 개체에게 투여함으로써 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장 질환, 췌양성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 암, 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV, 및/또는 헤모필루스 인플루엔자를 예방하거나, 이들의 위험을 감소시키거나 또는 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질, Siglec 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질, 및 펩타이드로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제제는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체이다.

[0456] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 치료적 유효량의 본 개시내용의 제제를 이러한 치료가 필요한 개체에게 투여함으로써 암을 예방하거나, 암의 위험을 감소시키거나 또는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질, Siglec 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질, 및 펩타이드로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 제제는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 질환, 장애 또는 손상은 암이고, 상기

제제는 (a) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 억제자 호중구, 종양-관련 억제자 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 증식, 성숙, 이동, 분화 및/또는 작용성을 촉진시키는 것; (b) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 억제자 호중구, 종양-관련 억제자 NK 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤을 향상시키는 것; (c) 종양 내, 말초혈액 또는 다른 림프 기관 내 종양-축진 골수성/과립구 면역-억제 세포 수의 증가; (d) 골수성-유래 억제자 세포 (MDSC)의 종양 축진 활성 향상; (e) 종양 내 또는 말초 혈액 내 종양-축진 사이토카인 발현을 증가(선택적으로 종양-축진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10임); (f) 종양-축진 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가; (g) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; (h) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; (i) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; (j) NK 세포의 종양 사멸 잠재력 감소; (k) 면역반응을 향상시키는 잠재력을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 감소; (l) 종양 용적의 증가; (m) 종양 성장 속도의 증가; (n) 전이의 증가; (o) 종양 재발 속도의 증가; (p) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 하나 이상의 면역 요법의 효능 감소(예컨대, 한 가지 이상의 면역-요법은 PD1/PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, TREM1, TREM2, CD39, CD73, CSF-1 및 이들의 임의의 조합 또는 암 백신으로부터 선택된 하나 이상의 표적 단백질을 표적화하는 면역요법임); (q) PLC γ /PKC/칼슘 가동의 저해; 및 (r) PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해로부터 선택된 하나 이상의 Siglec-9 활성을 저해한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 질환, 장애 또는 손상은 암이고, 상기 제제는 (a) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 비-종양원성 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 증식, 성숙, 이동, 분화 및/또는 기능의 촉진; (b) 면역억제자 수지상 세포, 면역억제자 대식세포, 면역억제자 호중구, 비-종양원성 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포 및 조절 T 세포 중 하나 이상의 종양 내로의 침윤 향상; (c) 종양에서, 말초 혈액 또는 다른 림프구 기관에서 종양-축진성 골수/과립구 면역-억제 세포 및/또는 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 증가; (d) 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포 및/또는 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포 활성의 종양-축진 활성 향상; (e) 종양에서 또는 말초 혈액에서 종양-축진 사이토카인의 발현 증가(선택적으로, 종양-축진 사이토카인은 TGF-베타 또는 IL-10임); (f) 종양-축진 FoxP3+ 조절 T 림프구의 종양 침윤 증가; (g) 종양 사멸 가능성을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 활성화 감소; (h) 종양 사멸 가능성을 갖는 종양-특이적 T 림프구의 침윤 감소; (i) 종양 사멸 잠재력을 갖는 종양-특이적 NK 세포의 침윤 감소; (j) NK 세포의 종양 사멸 잠재력 감소; (k) 면역 반응을 향상시키기 위한 가능성을 갖는 종양-특이적 B 림프구의 침윤 감소; (l) 종양 용적 증가; (m) 종양 성장 속도 증가; (n) 전이 증가; (o) 종양 재발 속도 증가; (p) 하나 이상의 PD-1 리간드의 발현 증가; (q) 항-종양 T 세포 반응을 조절하는 하나 이상의 면역 요법의 또는 한 가지 이상의 암 백신의 효능 감소(선택적으로, 하나 이상의 면역 요법은 CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, KIR, GAL9, CD2, CD5, CD39, CD73, CD30, TIGIT, VISTA, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG, DR-5, TREM1, TREM2, CSF-1 수용체 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 단백질을 표적화하는 면역 요법임); (r) PLC γ /PKC/칼슘 가동의 저해; (s) PI3K/Akt, Ras/MAPK 신호전달의 저해; 및 (t) 1종 이상의 화학치료제의 효능 감소 (선택적으로 화학치료제 중 하나 이상은 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁술(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이토산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)), 및 이들의 임의의 조합임)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 Siglec-9 활성을 저해한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 (a) 종양 침윤성 CD3⁺ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포에서 Siglec-9의 세포 수준의 감소(선택적으로, 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 CD14⁺ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소 (선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (g) 하나 이

상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소; (l) 종양 용적의 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아테노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함; (o) 하나 이상의 화학치료제의 효능 증가(선택적으로 1종 이상의 화학치료제는 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드 (사이토산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합임); (p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가); 및 (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해); 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 Siglec-9-발현 면역억제자 골수성 세포 및/또는 CD14-발현 세포의 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 질환, 장애 또는 손상은 암이며, 제제는 (a) 종양 침윤성 $CD3^{+}$ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 $CD14^{+}$ 골수성 세포에서 Siglec-9의 세포 수준 감소(선택적으로 비-종양원성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소; (l) 종양 용적의 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아테노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함; (o) 하나 이상의 화학치료제 효능의 증가(선택적으로, 화학치료제 중 하나 이상은 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드 (사이토산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합임); (p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가); 및 (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해); 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 Siglec-9-발현 면역억제자 골수성 세포 및/또는 CD14-발현 세포의 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 제제는 (a) 종양 침윤성 $CD3^{+}$ T 세포 수의 증가; (b) 비-종양원성 $CD14^{+}$ 골수성 세포에서 Siglec-9의 세포 수준의 감소(선택적으로, 비-종양원성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 비-종양원성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (c) 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포 수의 감소(선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 종양 침윤성 세포이거나 또는 선택적으로 상기 비-종양형성 $CD14^{+}$ 골수성 세포는 혈액 중에 존재함); (d) 하나 이상의 세포에서 PD-L1 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (e) 하나 이상의 세포에서 PD-L2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (f) 하나 이상의 세포에서 B7-H2 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양원성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (g) 하나 이상의 세포에서 B7-H3 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임);

포(MDSC)임); (h) 하나 이상의 세포에서 CD200R 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임); (i) 하나 이상의 세포에서 CD163 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (j) 하나 이상의 세포에서 CD206 수준의 감소(선택적으로 상기 하나 이상의 세포는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)임)); (k) 고형 종양의 종양 성장 속도의 감소; (l) 종양 용적의 감소; (m) 하나 이상의 PD-1 저해제의 효능 증가; (n) 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법의 효능 증가(선택적으로 상기 하나 이상의 관문 저해제 요법 및/또는 면역-조절 요법은 CTLA4, 아데노신 경로, PD-L1, PD-L2, OX40, TIM3, LAG3, 또는 이들의 임의의 조합 중 하나 이상을 표적화함; (o) 하나 이상의 화학치료제의 효능 증가(선택적으로 1종 이상의 화학치료제는 겐시타빈, 카페시타빈, 안트라사이클린, 독소루비신(아드리아마이신(등록상표)), 에피루비신(엘렌스(등록상표)), 탁산, 파클리탁셀(탁솔(등록상표)), 도세탁셀(탁소텔(등록상표)), 5-플루오로유라실(5-FU), 사이클로포스파마이드(사이토산(등록상표)), 카보플라틴(파라플라틴(등록상표)) 및 이들의 임의의 조합임); (p) 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 존재 하에 T 세포 증식의 증가); 및 (q) 분화, 생존, 및/또는 비-종양형성 골수-유래 억제자 세포(MDSC)의 하나 이상의 작용 저해); 및 (r) 화학적 또는 방사성 독소에 접합될 때 고형 종양 및 관련된 혈관에서 Siglec-9-발현 면역억제자 골수성 세포 및/또는 CD14-발현 세포의 사멸로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성을 나타낸다.

[0457] 본 명세서에 개시하는 바와 같이, 본 개시내용의 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 또한 하나 이상의 면역 세포(예를 들어, 선천성 면역 세포 또는 적응성 면역 세포)의 생존 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하고/하거나 촉진시키기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 개체에게 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키거나, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하거나, 또는 둘 다인 치료적 유효량의 본 개시내용의 제제를 투여함으로써 이러한 치료가 필요한 개체에서 하나 이상의 면역 세포의 생존, 성숙, 작용성, 이동 또는 증식을 유도하거나 또는 촉진시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질, Siglec 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질, 및 펩타이드로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제제는 단리된 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 면역 세포는 수지상 세포, 대식세포, 호중구, NK 세포, 미세아교세포, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0458] 본 개시내용의 다른 양상은 Siglec-9에 결합하거나 또는 상호작용하는 제제에 대해 반응성의 평가가 필요한 대상체의 반응성을 평가하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 a. 대상체에게 항-Siglec-9 항체를 투여하기 전에 대상체로부터 얻은 혈액 샘플에서 비-종양원성 골수성 세포 상의 CD45⁺ 및 CD14⁺의 발현 수준을 측정하는 단계; b. 대상체에게 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계; 및 c. 항-Siglec-9 항체의 투여 후에 대상체로부터 얻은 혈액에서 비-종양성 골수성 세포 상의 CD45⁺ 및 CD14⁺의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하되, 항-Siglec-9 항체의 투여 후 비-종양원성 골수성 세포 상의 CD45⁺ CD14⁺ 수준의 감소는 대상체가 제제에 대해 반응성이라는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 반응성을 평가하는 방법은 하나 이상의 추가적인 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 임의의 앞의 실시형태와 조합될 수 있는 일부 실시형태에서, 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 가용성 Siglec 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질, Siglec 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질, 및 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 샘플, 예컨대 혈액 샘플을 얻기 위한 임의의 적합한 방법이 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 반응성을 평가하는 방법은 하나 이상의 추가적인 치료적 유효량의 제제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 제제는 항체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, Siglec-9 면역접합체, 가용성 Siglec 수용체, Siglec-Fc 융합 단백질, Siglec 면역접합체, 안티센스 모듈, siRNA, 소분자 저해제, 단백질, 및 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제제는 단리된 항-Siglec-9 항체 또는 항-Siglec-9 항체 접합체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다.

[0459] 일부 실시형태에서, 제제는 작용제 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 초기에 작용제로서 작용하고, 이어서, 장기간 길항제 항체로서 작용할 수 있는 본 개시내용의 일시적인 작용제 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 비활성 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 제제는 길항제 항-Siglec-9 항체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세포(예를 들어, 세포 표면, 세포내, 또는 총) 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 분해를 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-

Siglec-9 항체는 Siglec-9의 절단을 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 내재화를 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9의 세딩을 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 발현의 하향조절을 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용(예를 들어, 결합)을 저해한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 일시적으로 활성화하고, 이어서, Siglec-9의 분해를 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 일시적으로 활성화하고, 이어서, Siglec-9의 절단을 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 일시적으로 활성화하고, 이어서, Siglec-9의 내재화를 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 일시적으로 활성화하고, 이어서, Siglec-9의 세딩을 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 일시적으로 활성화하고, 이어서, Siglec-9 발현의 하향조절을 유도한다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 일시적으로 활성화하고, 이어서, Siglec-9의 감소된 발현을 유도한다. 특정 실시형태에서, 개체는 Siglec-9 변이체 대립유전자를 가진다.

[0460] 본 명세서에 개시하는 바와 같이, Siglec-9, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체에 결합하거나 또는 상호 작용하는 본 개시내용의 제제는 추가로 조절 T 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 종양-포매 면역억제자 호중구, 종양-포매 면역억제자 NK 세포, 골수성 유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포, 및/또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 조절 T 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 종양-포매 면역억제자 호중구, 종양-포매 면역억제자 NK 세포, 골수-유래 억제자 세포, 종양-관련 대식세포, 종양-관련 호중구, 종양-관련 NK 세포, 급성 골수성 백혈병(AML) 세포, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 세포, 또는 만성 골수성 백혈병(CML) 세포의 활성화, 작용성 또는 생존의 감소가 필요한 개체에서 Siglec-9와 결합하거나 또는 상호작용과 결합하거나 또는 상호작용하는 치료적 유효량의 제제를 개체에게 투여함으로써 이들 세포의 활성화, 작용성 또는 생존을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 제제는 항체, 길항제 항체, 비활성 항체, 작용제 항체, Siglec-9 리간드, Siglec-9 리간드 작용제 단편, Siglec-9 면역접합체, Siglec-9 리간드 모방체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 Siglec-Fc 융합 단백질, 및 소분자 화합물로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제제는 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체 또는 항-Siglec-9 항체 접합체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체 접합체는 검출 가능한 마커, 독소, 또는 치료제에 접합된 항-Siglec-9 항체를 포함한다.

[0461] 본 명세서에 개시하는 바와 같이, Siglec-9, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체에 결합하거나 또는 상호 작용하는 본 개시내용의 제제는 적혈구, 박테리아 세포, 세포자멸사 세포, 신경 세포, 신경아교 세포, 미세아교 세포, 성상세포, 종양 세포, 바이러스, 수지상 세포, 베타 아밀로이드 플라크에 결합된 Siglec-9 리간드, 타우 단백질 엉킴에 결합된 Siglec-9 리간드, 질환-원인 단백질 상의 Siglec-9 리간드, 질환-원인 펩타이드 상의 Siglec-9 리간드, 대식세포, 호중구, 자연 살해 세포, 단핵구, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, B 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 골수-유래 억제자 세포, 및/또는 조절 T 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 시험관내 또는 생체내에서 하나 이상의 세포 상의 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 하나 이상의 세포 상의 Siglec-9의 세포 수준의 감소가 필요한 개체에서, Siglec-9와 결합하거나 또는 상호작용하는 치료적 유효량의 제제를 개체에게 투여함으로써 Siglec-9의 세포 수준을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 제제는 항체, 길항제 항체, 비활성 항체, 작용제 항체, Siglec-9 리간드, Siglec-9 리간드 작용제 단편, Siglec-9 면역접합체, Siglec-9 리간드 모방체, 가용성 Siglec-9 수용체, Siglec-9-Fc 융합 단백질, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 가용성 Siglec 수용체, 하나 이상의 Siglec-9 리간드에 결합하는 Siglec-Fc 융합 단백질, 및 소분자 화합물로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제제는 본 개시내용의 단리된 항-Siglec-9 항체 또는 항-Siglec-9 항체 접합체이다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체 접합체는 검출 가능한 마커, 독소, 또는 치료제에 접합된 항-Siglec-9 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 세포는 적혈구, 박테리아 세포, 세포자멸사 세포, 신경 세포, 신경아교세포, 미세아교세포, 성상세포, 종양 세포, 바이러스, 수지상 세포, 베타 아밀로이드 플라크에 결합되는 Siglec-9 리간드, 타우 단백질 엉킴에 결합되는 Siglec-9 리간드, 질환-원인 단백질 상의 Siglec-9 리간드, 질환-원인 펩타이드 상의 Siglec-9 리간드, 대식세포, 호중구, 자연 살해 세포, 단핵구, T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, B 세포, 종양-포매 면역억제자 수지상 세포, 종양-포매 면역억제자 대식세포, 골수-유래 억제자 세포, 조절 T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0462] Siglec-9의 세포 수준은, 제한 없이, Siglec-9의 세포 표면 수준, Siglec-9의 세포내 수준 및 Siglec-9의 총

수준을 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준의 감소는 Siglec-9의 세포 표면 수준의 감소를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 그것이 본 명세서에 기재된 또는 당업계에 공지된 임의의 시험관내 세포 기반 분석 또는 적합한 생체내 모델에 의해 측정하여, Siglec-9의 세포 표면 수준에서 21% 이상의 감소를 유도한다면 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준의 감소는 Siglec-9의 세포내 수준의 감소를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 그것이 임의의 시험관내 세포-기반 분석 또는 본 명세서에 기재된 또는 당업계에 공지된 적합한 생체내 모델에 의해 측정하여 Siglec-9의 세포내 수준의 21% 이상의 감소를 유도한다면, Siglec-9의 세포 내 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준의 감소는 Siglec-9의 총 수준의 감소를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 항-Siglec-9 항체는, 그것이 임의의 시험관내 세포-기반 분석 또는 본 명세서에 기재된 또는 당업계에 공지된 적합한 생체내 모델에 의해 측정하여 Siglec-9의 총 수준의 21% 이상의 감소를 유도한다면, Siglec-9의 총 수준을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 항-Siglec-9 항체는 Siglec-9 분해, Siglec-9 절단, Siglec-9 내재화, Siglec-9 웨딩, 및/또는 Siglec-9 발현의 하향조절을 유도한다. 일부 실시형태에서, Siglec-9의 세포 수준은 1차 세포(예를 들어, 수지상 세포, 골수-유래 수지상 세포, 단핵구, 미세아교세포 및 대식세포) 상에서 또는 시험관내 세포 분석을 이용하는 세포주 상에서 측정된다.

[0463] 일부 실시형태에서 개체는 Siglec-9의 이형접합 변이체를 가진다.

[0464] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 상기 방법은 추가로 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체 또는 이중특이성 항-Siglec-9 항체, 패턴 인식 수용체에 결합하는 항체, Toll-유사 수용체에 결합하는 항체, 손상-관련 분자 패턴(DAMP) 수용체에 항체, 및/또는 사이토카인에 결합하는 항체 또는 인터류킨에 대한 항체의 공동투여의 수반할 수 있다).

[0465] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 상기 방법은 개체에게 저해 관문 모듈, 및/또는 한 가지 이상의 표준 또는 연구 항암 요법에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-PD-L2 항체, 항-PD-1 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 및 항-HVEM 항체, 항-B- 및 T-림프구 감쇠기(BTLA) 항체, 항-살해 저해 수용체(KIR) 항체, 항-GAL9 항체, 항-TIM-1 항체, 항-TIM3 항체, 항-TIM-4 항체, 항-A2AR 항체, 항-CD39 항체, 항-CD73 항체, 항-LAG-3 항체, 항-포스파티딜세린 항체, 항-CD27 항체, 항-CD30 항체, 항-TNF α 항체, 항-CD33 항체, 항-Siglec-5 항체, 항-Siglec-7 항체, 항-Siglec-11 항체, 길항제 항-TREM1 항체, 길항제 항-TREM2 항체, 항-TIGIT 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD2 항체, 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 한 가지 이상의 표준 또는 연구 항암 요법은 방사선요법, 세포독성 화학요법, 표적화된 요법, 이마티닙 요법, 트라스트주맙 요법, 에타너셉트 요법, 입양 세포 전달(ACT) 요법, 키메라 항원 수용체 T 세포 전달(CAR-T) 요법, 백신 요법, 및 사이토카인 요법으로부터 선택된다.

[0466] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 상기 방법은 개체에게 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-CCL2 항체, 항-CSF-1 항체, 항-IL-2 항체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0467] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 상기 방법은 개체에게 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체는 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체는 작용제 항-CD40 항체, 작용제 항-OX40 항체, 작용제 항-ICOS 항체, 작용제 항-CD28 항체, 작용제 항-TREM1 항체, 작용제 항-TREM2 항체, 작용제 항-CD137/4-1BB 항체, 작용제 항-CD27 항체, 작용제 항-글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질 GITR 항체, 작용제 항-CD30 항체, 작용제 항-BTLA 항체, 작용제 항-HVEM 항체, 작용제 항-CD2 항체, 작용제 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0468] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 상기 방법은 개체에게 적어도 하나의 자극 사이토카인을 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 자극 사이토카인은 Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 자극 사이토카인은 FN- α 4, IFN- β IL-1 β TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18,

IL-23, CXCL10, IL-33, MCP-1, MIP-1-베타 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0469] 치매

[0470] 치매는 정상 노화로부터 예상될 수 있는 것 이상으로 이전에 손상되지 않은 사람에서 전반적 인지 능력의 심각한 손실로서 존재하는 비-특이적 증후군(즉, 일련의 징후 및 증상)이다. 치매는 독특한 전반적 뇌 손상의 결과로서 정적일 수 있다. 대안적으로, 치매는 신체 내 손상 또는 질환에 기인하여 장기간 쇠퇴를 야기하는 진행성일 수 있다. 치매는 노인병 집단에서 훨씬 더 흔하지만, 이는 또한 65세 이전에 생길 수 있다. 치매에 의해 영향받는 인지 영역은, 기억, 주의 범위, 언어 및 문제 해결을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일반적으로, 증상은 개체가 치매로 진단되기 전에 적어도 6개월동안 존재하여야 한다.

[0471] 예시적인 치매 형태는, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 의미론적 치매 및 루이소체 치매를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0472] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 치매를 예방하고/하거나 치매의 위험을 감소시키고/시키거나 치매를 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 치매를 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.

[0473] 전두측두엽 치매

[0474] 전두측두엽 치매(FTD)는 뇌의 전두엽의 진행성 악화로부터 초래되는 병태이다. 시간에 따라, 악화는 측두엽으로 진행될 수 있다. 유병률이 알츠하이머병(AD) 다음인, FTD는 초로기 치매 사례의 20%를 차지한다. FTD의 임상 특징은 기억 손상, 행동이상, 인격변화 및 언어 손상을 포함한다(Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24:186-194(2008); Neary, D., et al., Neurology 51:1546-1554(1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58:1615-1621 (2002)).

[0475] FTD 사례의 실질적인 부분은 상염색체 우성 방식으로 유전되지만, 하나의 패밀리에서조차, 증상은 거동 장애를 갖는 FTC로부터, 1차 진행성 실어증까지, 피질-기저 신경절퇴화까지의 범위로 확장될 수 있다. 대부분의 신경퇴행성 질환과 같이 FTD는 병에 걸린 뇌에서 특정 단백질 응집물의 병리학적 존재를 특징으로 할 수 있다. 조직학적으로, FTD의 첫 번째 설명은 신경섬유매듭 또는 피크소체에서 과인산화된 타우 단백질의 신경세포내 축적의 존재를 인식하였다. 단백질 Tau와 관련된 미세소관에 대한 원인 역할은 몇몇 패밀리에서 타우 단백질을 암호화하는 유전자에서 돌연변이의 동정에 의해 뒷받침되었다(Hutton, M., et al., Nature 393:702-705 (1998)). 그러나, 대다수의 FTD 뇌는 초인산화된 Tau의 축적을 나타내지 않지만, 유비퀴틴(Ub) 및 TAR DNA 결합 단백질(TDP43)에 대한 면역반응성을 나타낸다(Neumann, M., et al., Arch. Neurol. 64:1388-1394(2007)). Ub 포함의 대다수의 해당 FTD 사례(FTD-U)는 프로그래놀린(Progranulin) 유전자에서 돌연변이를 운반하는 것으로 나타났다.

[0476] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 FTD를 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 FTD를 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.

[0477] 알츠하이머병

[0478] 알츠하이머병(AD)은 가장 통상적인 치매 형태이다. 상기 질환에 대한 치료법은 없으며, 그것이 진행됨에 따라 악화되고, 종국적으로 사망에 이르게 된다. 가장 흔하게는, AD는 65세 초과인 사람에서 진단된다. 그러나, 덜-우세한 초기 개시 알츠하이머는 훨씬 더 빨리 일어날 수 있다.

[0479] 알츠하이머병의 통상적인 증상은 거동 증상, 예컨대 최근 사건 기억의 어려움; 인지 증상, 착란상태, 이노성 및 공격성, 기분의 두드러진 변화, 언어 곤란 및 장기간 기억 상실을 포함한다. 질환이 진행됨에 따라 신체 기능은 상실되고, 궁극적으로 사망을 야기한다. 알츠하이머병은 완전히 명확하게 되기 전에 알려지지 않은 그리고 가변적 양의 시간에 대해 진행되고, 수년 동안 진단되지 않고 진행될 수 있다.

[0480] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 알츠하이머병을 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 알츠하이머병을 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.

- [0481] 파킨슨병
- [0482] 특발성 또는 원발성 파킨슨증, 운동기능감퇴경직 증후군(HRS) 또는 전신마비로서 지칭될 수 있는 파킨슨병은 운동계 제어에 영향을 미치는 신경퇴행성 뇌 장애이다. 뇌에서 도파민-생성 세포의 진행성 사멸은 파킨슨병의 주요 증상을 야기한다. 가장 흔하게는, 파킨슨병은 50세 이상의 사람에서 진단된다. 파킨슨병은 대부분의 사람에서 특발성(알려진 원인 없음)이다. 그러나, 유전적 인자는 또한 질환에서 어떤 역할을 한다.
- [0483] 파킨슨병의 증상은 손, 팔, 다리, 턱 및 안면의 떨림, 사지 및 몸통의 근경직, 움직임 둔화(운동완서), 자세 불안정, 보행 장애, 신경정신병적 문제, 말하기 또는 거동의 변화, 우울증, 불안, 통증, 정신병, 치매, 환각 및 수면 문제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0484] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 파킨슨병을 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 파킨슨병을 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.
- [0485] 근위축성 측삭경화증(ALS)
- [0486] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, 근위축성 측삭경화증(ALS) 또는, 운동 뉴런 질환 또는 루게릭병은 상호 호환적으로 사용되고, 빠르게 진행성인 쇠약, 근위축증 및 갑작스런 경련, 근경직, 말하기의 곤란함(구음 장애), 연하의 곤란(연하곤란) 및 호흡의 곤란함(호흡곤란)을 특징으로 하는 다양한 병인을 갖는 쇠약성 질환을 지칭한다.
- [0487] 프로그래놀린은 ALS에서 어떤 역할을 하며(Schymick, JC et al., (2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry.;78:754-6) TDP-43과 같은 단백질을 야기하는 ALS에 의해 원인이 되는 손상을 또한 보호한다(Laird, AS et al., (2010). PLoS ONE 5: e13368)는 것이 나타났다. 또한 프로-NGF는 회소돌기신경교 및 척수 손상 후 피질척수 뉴런의 p75 매개 사멸을 유도한다는 것이 입증되었다(Beatty et al., Neuron (2002),36, pp. 375-386; Giehl et al, Proc. Natl. Acad. Sci USA (2004),101, pp6226-30).
- [0488] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 ALS를 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 근위축성 측삭경화증을 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.
- [0489] 헌팅턴병
- [0490] 헌팅턴병(HD)은 헌팅턴 유전자(HTT)에서 상염색체 우성 돌연변이에 의해 야기되는 유전 신경퇴행성 질환이다. 헌팅턴 유전자 내의 사이토카인-아데닌-구아닌(CAG) 삼중 반복부의 확장은 유전자에 의해 암호화된 헌팅턴 단백질(Htt)의 돌연변이 형태의 생성을 초래한다. 이 돌연변이 헌팅턴 단백질(mHtt)은 독성이고, 뉴런 사멸에 기여한다. 헌팅턴병의 증상은 그들이 임의의 연령에 나타날 수 있다고 해도, 가장 흔하게는 35 내지 44세에 나타난다.
- [0491] 헌팅턴병의 증상은 운동 제어 문제, 격동, 무작위 움직임(무도병), 비정상적 안구 운동, 손상된 균형, 발작, 씹는 것의 곤란함, 연하의 곤란함, 인지 문제, 말하기의 변화, 기억 손상, 사고의 곤란함, 불면, 피로, 치매, 성격의 변화, 우울, 불안 및 강박 행동을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0492] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 헌팅턴병(HD)을 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 헌팅턴병을 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.
- [0493] 타우병증
- [0494] 타우병증 또는 타우병은 뇌에서의 미세소관-관련 단백질 타우의 응집에 의해 야기되는 신경퇴행성 질환의 부류이다. 알츠하이머병(AD)은 가장 잘 알려진 타우병증이고, 불용성 신경섬유매듭(NFT)의 형태로 뉴런 내에서 타우 단백질의 축적을 수반한다. 다른 타우병증 및 장애는 진행성 핵상안근 마비, 권투선수 치매(크롬산 외상성 뇌병증), 전두측두엽 치매 및 염색체 17에 관련된 파킨슨증, 리티코-보딕 질환(Lytico-Bodig disease)(팜의 파킨슨-치매 복합), 매듭-우세 치매, 신경절교종 및 신경절신경종, 수막혈관종증, 아급성 경화성 범뇌염,

납중독증, 결정성 경화증, 할러포르텐-스파츠병, 지질갈색소증, 픽병, 피저기질퇴화, 은친화성 입자병(AGD), 헌팅턴병 및 전두측두엽 퇴화를 포함한다.

[0495] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 타우병증을 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 타우병증을 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.

[0496] 다발성 경화증

[0497] 다발성 경화증(MS)은 또한 파종 경화증 또는 다발 경화증으로서 지칭될 수 있다. MS는 뇌 및 척수의 액손 주위의 지방 미엘린초가 손상되어, 탈수초화 및 흥터뿐만 아니라 광범위한 징후 및 증상을 야기하는 염증 질환이다. MS는 서로 효과적으로 상호 연락하는 뇌 및 척수에서의 신경 세포의 능력에 영향을 미친다. 신경 세포는 활동전위로 불리는 전기 신호를 미엘린으로 불리는 절연 물질 내에 포함된 액손으로 불리는 긴 섬유 아래로 보냄으로써 상호 연락한다. MS에서, 신체 자신의 면역계는 미엘린을 공격하고 손상시킨다. 미엘린이 손상될 때, 액손은 더 이상 신호를 효과적으로 전도할 수 없다. MS 개시는 보통 젊은 성인에서 생기며, 여성에서 더 흔하다.

[0498] MS의 증상은 감각의 변화, 예컨대 민감성 또는 아민감의 상실; 따끔따끔함 또는 무감각, 예컨대 감각저하 및 손발저림; 근력저하; 간헐성 경련; 근경련; 이동의 곤란함; 협응 및 균형의 곤란함, 예컨대 운동실조; 말하기의 곤란함, 예컨대 구음 장애, 연하의 어려움, 예컨대 연하곤란; 시각적 문제, 예컨대 안진, 눈섬광 및 복시를 포함하는 시신경염; 피로; 급성 또는 만성 통증; 및 방광 및 장 문제; 다양한 정도의 인지 손상; 우울증 또는 불안정한 분위기의 감정 증상; 보통의 주위 온도보다 더 고온에 대한 노출에 기인하는 현존하는 증상의 악화인 우토프(Uthoff) 현상; 및 목을 구부릴 때 등 아래쪽으로 진행되는 전기적 감각인 레미트 사인(Lhermitte's sign)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0499] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 다발성 경화증을 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, Siglec-9 제제, 예컨대 항-Siglec-9 항체를 투여하는 것은 다발성 경화증을 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 조절할 수 있다.

[0500] 암

[0501] 본 개시내용의 추가적인 양상은 암의 예방, 암 위험의 감소, 암 치료가 필요한 개체에게 치료적 유효량의 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 단리된 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여함으로써 암을 예방하거나, 암 위험을 감소시키거나, 암을 치료하는 방법을 제공한다. 임의의 본 개시내용의 단리된 항체는 이들 방법에서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 단리된 항체는 본 개시내용의 작용제 항체이다. 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 본 개시내용의 길항제 항체이다. 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 본 개시내용의 비활성 항체이다. 다른 실시형태에서, 단리된 항체는 본 개시내용의 항체 접합체이다.

[0502] 본 명세서에 개시하는 바와 같이, 종양 미세환경은 T 림프구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 및 골수성/과립구 계통의 세포를 포함하는 이종성 면역 침윤물을 함유하는 것으로 알려져 있다. 종양 내 T-조절 세포, 종양-포매 면역억제자 골수성 세포, 및/또는 M2-대식세포, M2-호중구, 및/또는 M2-NK 세포의 존재 및 활성은 불량한 예후와 관련된다. 대조적으로, 세포독성 T 세포의 존재 및 활성은 암 치료에 유리하다. 세포독성 T 세포의 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 향상시키고, 다양한 면역억제자 세포의 수 및 활성을 감소시키는 요법은 상당한 치료적 이점을 제공하는 것으로 예상된다. 정맥의 전임상 연구는 면역억제자 세포(예를 들어, CSF1/CSF1R 차단 항체)를 표적화하는 약물과 세포독성 T 세포를 활성화하는 면역 관문 차단 항체 사이의 상승효과를 나타내었는데, 이는 세포 유형을 둘 다 조작하는 것이 개개 요법이 불량하게 효과적인 종양 모델에서 효능을 나타낸다는 것을 나타낸다(Zhu Y; Cancer Res. 2014Sep15; 74(18):5057-69). 따라서, 일부 실시형태에서, 골수성 세포, T 세포의 서브세트, 및 종양-관련 면역 세포 상에서 발현되는 Siglec-9의 차단은 유리한 항-종양 면역반응을 자극하여, 치료적 항-종양 면역반응을 초래할 수 있다.

[0503] 일부 실시형태에서, 암을 갖는 개체에서 암을 예방하거나, 암의 위험을 감소시키거나 또는 암을 치료하기 위한 방법은 추가로 개체에게 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 포함한다. 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 항체의 예는 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-PD-L2 항체, 항-PD-1 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 및 항-HVEM 항체, 항-B- 및 T-림프구 감쇠기(BTLA) 항체, 항-살해 저해 수용체(KIR) 항체, 항-GAL9 항체, 항-TIM-1 항체, 항-TIM3 항체, 항-TIM-4 항체, 항-A2AR 항체, 항-CD39 항

체, 항-CD73 항체, 항-LAG-3 항체, 항-포스파티딜세린 항체, 항-CD27 항체, 항-CD30 항체, 항-TNF α 항체, 항-CD33 항체, 항-Siglec-5 항체, 항-Siglec-7 항체, 항-Siglec-11 항체, 길항제 항-TREM1 항체, 길항제 항-TREM2 항체, 항-TIGIT 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD2 항체, 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다.

[0504] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 예방되거나 또는 치료되는 암은 편평 세포암(예를 들어, 상피 편평 세포암), 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평세포암종을 포함하는 폐암, 복막암, 간 세포암, 위암 또는 위장암(위장관암을 포함) 및 위장관 기질 암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간 암, 방광암, 요로암, 간세포암, 유방암, 결장암, 직장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁암종, 침샘 암종, 신장 또는 신세포암, 전립선암, 음문암, 갑상선암, 간세포 암종, 항문 암종, 음경 암종, 흑색종, 표재 확산 흑색종, 악성 검정 사마귀 흑색종, 말단 흑색점 흑색종, 결절성 흑색종, 다발성 골수종 및 B 세포 림프종; 만성 림프구성 백혈병(CLL); 급성 림프아구 백혈병(ALL); 모발세포 백혈병; 만성 골수아구성 백혈병; 및 이식후 림프증식성 질환 (PTLD)뿐만 아니라 모종증과 관련된 비정상 혈관 증식, 부종(예컨대, 뇌 종양과 관련), 메이그 증후군, 뇌뿐만 아니라 두경부 암, 및 관련된 전이를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 암은 결장직장암이다. 일부 실시형태에서, 암은 비-소세포 폐암, 교모세포종, 신경아세포종, 신세포 암종, 방광암, 난소암, 흑색종, 유방암종, 위암 및 간세포 암종으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 암은 삼중-음성 유방 암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 초기암 또는 후기암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 암은 원발성 종양일 수 있다. 일부 실시형태에서, 암은 임의의 상기 유형의 암으로부터 유래된 제2 부위에서의 전이성 종양일 수 있다.

[0505] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대, 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체는 방광암 유방암, 결장 및 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종 및 갑상선암을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 암을 예방하거나, 암의 위험을 감소시키거나 또는 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0506] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 개체에게 치료적 유효량의 본 개시내용의 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체를 투여함으로써 암을 갖는 개체에서 암을 예방하거나, 암의 위험을 감소시키거나 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[0507] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 추가로 개체에게 저해성 면역 관문 분자, 및/또는 다른 표준 또는 연구 항-암 요법에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 저해 관문 분자에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-PD-L2 항체, 항-PD-1 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 및 항-HVEM 항체, 항-B- 및 T-림프구 감쇠기(BTLA) 항체, 항-살해 저해 수용체(KIR) 항체, 항-GAL9 항체, 항-TIM-1 항체, 항-TIM3 항체, 항-TIM-4 항체, 항-A2AR 항체, 항-CD39 항체, 항-CD73 항체, 항-LAG-3 항체, 항-포스파티딜세린 항체, 항-CD27 항체, 항-CD30 항체, 항-TNF α 항체, 항-CD33 항체, 항-Siglec-5 항체, 항-Siglec-7 항체, 항-Siglec-11 항체, 길항제 항-TREM1 항체, 길항제 항-TREM2 항체, 항-TIGIT 항체, 항-VISTA 항체, 항-CD2 항체, 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 표준 또는 연구 항암 요법은 방사선요법, 세포독성 화학요법, 표적화된 요법, 이마티닙(글리벡(Gleevec)(등록상표)), 트라스투주맙(허셉틴(Herceptin)(등록상표)), 입양 세포 전달(ACT), 키메라 항원 수용체 T 세포 전달(CAR-T), 백신 요법, 및 사이토카인 요법으로부터 선택된 하나 이상의 요법이다.

[0508] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 추가로 개체에게 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 항-CCL2 항체, 항-CSF-1 항체, 항-IL-2 항체, 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0509] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 추가로 개체에게 자극 면역 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체는 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체는 작용제 항-CD40 항체, 작용제 항-OX40 항체,

작용제 항-ICOS 항체, 작용제 항-CD28 항체, 작용제 항-TREM1 항체, 작용제 항-TREM2 항체, 작용제 항-CD137/4-1BB 항체, 작용제 항-CD27 항체, 작용제 항-글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 단백질 GTR 항체, 작용제 항-CD30 항체, 작용제 항-BTLA 항체, 작용제 항-HVEM 항체, 작용제 항-CD2 항체, 작용제 항-CD5 항체 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0510] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 추가로 개체에게 적어도 하나의 자극 사이토카인을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 자극 사이토카인은 Siglec-9 제제, 예컨대 본 개시내용의 항-Siglec-9 항체와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 자극 사이토카인은 FN- α 4, IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, CRP, IL-20 패밀리 구성원, LIF, IFN- γ , OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, CXCL10, IL-33, MCP-1, MIP-1-베타 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.

[0511] 키트/제조 물품

[0512] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 Siglec-9 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체) 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 키트 및/또는 제조물품을 제공한다. 본 개시내용의 키트 및/또는 제조물품은 본 개시내용의 정제된 항체를 포함하는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트 및/또는 제조물품은 본 개시내용의 방법에 따른 사용을 위한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 이들 설명서는 개시내용의 임의의 방법에 따라 치매, 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 혼합형 치매, 크로이츠펔트-야콥병, 정상뇌압수두증, 근위축성 측삭경화증, 헌팅턴병, 타우병증, 나수-하코라병, 뇌졸중, 급성 외상, 만성 외상, 루푸스, 급성 및 만성 대장염, 류마티스 관절염, 상처 치유, 크론병, 염증성 장질환, 췌장성 대장염, 비만, 말라리아, 본태성진전, 중추신경계 루푸스, 베체트병, 파킨슨병, 루이소체 치매, 다계통 위축증, 샤이-드래거 증후군, 진행성 핵상안근 마비, 대뇌 피질 기저핵 변성, 급성 파종뇌척수염, 육아종성 장애, 유육종증, 노화 질환, 발작, 척수손상, 외상성 뇌 손상, 나이 관련 황반변성, 녹내장, 망막색소변성증, 망막 변성, 호흡기 감염, 패혈증, 눈 감염, 전신 감염, 루푸스, 관절염, 다발성 경화증, 저골밀도, 골다공증, 골형성, 골화석증, 골파제트병, 및 방광암, 뇌암, 유방암, 결장암, 직장암, 자궁내막암, 신장암, 신세포암, 신우암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨 림프종, 췌장암, 전립선암, 난소암, 섬유육종, 급성 림프아구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 다발성 골수종, 진성 적혈구 증가증, 본태성 혈소판 증가증, 원발성 또는 특발성 골수섬유증, 원발성 또는 특발성 골수경화증, 골수-유래 종양, Siglec-9를 발현시키는 종양, 갑상선암을 포함하는 암, 감염, CNS 헤르페스, 기생충 감염, 트리파노소마 감염, 크루지 감염, 슈도모나스 에루기노사 감염, 리슈마니아 도노반 감염, 그룹 B 스트렙토코커스 감염, 캄필로박터 제주니 감염, 네이세리아 메닌기디티스 감염, I형 HIV 및 헤모필루스 인플루엔자로부터 선택된 질환, 장애 또는 손상을 갖는 개체에서 상기 질환, 장애 또는 손상을 예방하거나, 이의 위험을 감소시키거나 또는 이를 치료하기 위한 본 개시내용의 Siglec-9 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)의 투여의 설명을 포함한다.

[0513] 일부 실시형태에서, 설명서는, 예를 들어 개체에서, 조직 샘플에서 또는 세포에서 Siglec-9 단백질을 검출하는 방법의 설명을 포함한다. 키트 및/또는 제조물품 상기 개체가 질환 및 질환의 병기를 갖는지의 여부를 동정하는 것에 기반하여 치료에 적합한 개체를 선택하는 설명을 추가로 포함할 수 있다.

[0514] 일부 실시형태에서, 키트 및/또는 제조물품은 본 개시내용의 다른 항체(예를 들어, 저해 관문 모듈에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체, 저해 사이토카인에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체, 및/또는 자극 관문 단백질에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 작용제 항체) 및/또는 적어도 하나의 자극 사이토카인을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트 및/또는 제조물품은 본 개시내용의 Siglec-9 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)와 조합하여 항체 및/또는 자극 사이토카인을 이용하기 위한 설명서, 항체 및/또는 자극 사이토카인과 조합한 본 개시내용의 Siglec-9 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)를 이용하기 위한 설명서, 또는 본 개시내용의 Siglec-9 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체) 및 본 개시내용의 임의의 방법에 따른 항체 및/또는 자극 사이토카인을 이용하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다.

[0515] 설명서는 일반적으로 의도된 치료를 위한 투약량, 투약 스케줄 및 투여 경로를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지(예를 들어, 다회 용량 패키지) 또는 하위-단위 용량일 수 있다. 본 개시내용의 키트 및/또는 제조물품에서 공급되는 설명서는 전형적으로 라벨 또는 포장 삽입물(예를 들어, 키트 내에 포함된 종이 시트) 상에 기재된 설명서이지만, 기계로 판독 가능한 설명서(예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크 상에서 운반되는 설명서)가 또한 허용 가능하다.

[0516] 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물이, 예를 들어, 본 개시내용의 질환을 치료하기 위해 사용된다는 것을

나타낸다. 설명서는 본 명세서에 기재된 임의의 방법을 실행하기 위해 제공될 수 있다.

[0517] 본 개시내용의 키트 및/또는 제조물품은 적합한 패키징에 있다. 적합한 패키징은 바이알, 보틀, 병, 가요성 패키징(예를 들어, 밀봉된 마일러(Mylar) 또는 비닐백) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 또한 특정 장치, 예컨대 흡입기, 비강 투여 장치(예를 들어, 분무기) 또는 주입 장치, 예컨대 미니펌프와 조합하여 사용하기 위한 포장에 상정된다. 키트 및/또는 제조물품은 멸균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어 용기는 피하 주사 바늘에 의해 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백(bag) 또는 바이알일 수 있다). 용기는 또한 멸균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어 용기는 피하 주사 바늘에 의해 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 조성물 중의 적어도 하나의 활성제는 본 개시내용의 Siglec-9 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)이다. 용기는 제2의 추가로 약제학적 활성제를 포함할 수 있다.

[0518] 키트 및/또는 제조물품은 선택적으로 추가적인 성분, 예컨대 완충제 및 해석적 정보를 제공할 수 있다. 정상적으로는, 키트는 용기 및 용기 상의 또는 용기와 관련된 라벨 또는 포장 삽입물(들)을 포함한다.

[0519] 진단 용도

[0520] Siglec-9 본 개시내용의 제제, 예컨대 본 개시내용의 단리된 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)는 또한 진단적 효용을 가진다. 따라서 본 개시내용은 개체에서 또는 개체로부터 유래된 조직 샘플에서 진단적 목적을 위해 Siglec-9 단백질의 검출과 같은 본 개시내용의 항체 또는 이의 작용성 단편을 이용하는 방법을 제공한다.

[0521] 일부 실시형태에서, 개체는 인간이다. 일부 실시형태에서, 개체는 본 개시내용의 질환, 장애 또는 손상으로 고통받거나 또는 질환, 장애 또는 손상이 발생할 위험에 있는 인간 환자이다. 일부 실시형태에서, 진단 방법은 생물학적 샘플, 예컨대 생검 표본, 조직 또는 세포에서 Siglec-9 단백질을 검출하는 단계를 수반한다. A 본 개시내용의 Siglec-9 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)는 생물학적 샘플과 접촉되고, 항원-결합 항체가 검출된다. 예를 들어, 생검 표본은 질환-관련 세포를 검출하기 위해 그리고/또는 정량화하기 위해 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체로 염색될 수 있다. 검출 방법은 항원-결합 항체의 정량화를 수반할 수 있다. 생물학적 샘플에서 항체 검출은 면역형광 현미경, 면역세포화학, 면역조직화학, ELISA, FACS 분석, 면역침전, 또는 마이크로-양전자 방출 단층촬영술을 포함하는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 일어날 수 있다. 특정 실시형태에서, 항체는, 예를 들어 ^{18}F 로 방사성표지되고, 후속적으로 마이크로-양전자 방출 단층촬영술 분석을 이용하여 검출된다. 항체-결합은 또한 비-침습적 기법, 예컨대 양전자 방출 단층촬영술(PET), X-선 컴퓨터 단층촬영술, 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영술(SPECT), 컴퓨터 단층촬영술(CT), 및 컴퓨터 축 단층촬영술(CAT)에 의해 환자에서 정량화될 수 있다.

[0522] 다른 실시형태에서, 본 개시내용의 단리된 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)는, 예를 들어, 전임상 질환 모델(예를 들어, 비-인간 질환 모델)로부터 취한 뇌 표본에서 미세아교세포를 검출하기 위해 그리고/또는 정량화하기 위해 사용될 수 있다. 이렇게 해서, 본 개시내용의 단리된 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-Siglec-9 항체)는 대조군에 비해 신경계 질환 또는 손상, 예컨대 전두측두엽 치매, 알츠하이머병, 혈관성 치매, 발작, 망막이영양증, 아테롬성 동맥 경화증 혈관 질환, 나수-하코라병 또는 다발성 경화증에 대한 모델에서 치료 후에 치료적 반응을 평가하는 데 유용할 수 있다.

[0523] 본 개시내용은 다음의 실시예를 참고로 하여 더 완전하게 이해될 것이다. 그러나, 그들은 본 개시내용의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 개시내용 전체적으로 모든 인용은 본 명세서에 명확하게 참고로 포함된다.

[0524] 실시예

[0525] 실시예 1: 항-Siglec-9 항체의 생성, 동정 및 특성규명

[0526] 도입

[0527] 인간 Siglec-9의 아미노산 서열은 이하의 서열번호 1에서 제시된다. 인간 Siglec-9는 서열번호 1의 아미노산 잔기 1-17에 위치한 신호 서열, 서열번호 1의 아미노산 잔기 20-140에 위치한 세포외 면역글로불린-유사 가변-유형(IgV) 도메인, 서열번호 1의 아미노산 잔기 146-229 및 236-336에 위치한 2개의 Ig-유사 C2-유형 도메인, 서열번호 1의 아미노산 잔기 348-370에 위치한 막관통 도메인, 서열번호 1의 아미노산 잔기 431-436에 위치한 ITIM 모티프 1, 및 서열번호 1의 아미노산 잔기 454-459에 위치한 SLAM-유사 모티프를 포함한다. Siglec-9 상동체를 이용하는 인간 Siglec-9의 정렬을 도 1a에 나타낸다.

[0528] Siglec-9 아미노산 서열 (서열번호 1):

Siglec-9 아미노산 서열 (서열번호 1):

10	20	30	40	50
MLLLLLPLW	GRERAEGQTS	KLLTMQSSVT	VQEGLCVHVP	CSFSYPSHGW
60	70	80	90	100
IYPGPVVHGY	WFREGANTDQ	DAPVATNNPA	RAVWEETRDR	FHLLGDPHTK
110	120	130	140	150
NCTLSIRDAR	RSDAGRYFFR	MEKGSIKWNY	KHHRLSVNVT	ALTHRPNILI
160	170	180	190	200
PGTLESGCPQ	NLTCSVPWAC	EQGTTPPMISW	IGTSVSPLDP	STTRSSVLTL
210	220	230	240	250
IPQPQDHGTS	LTCQVTFPGA	SVTTNKTVHL	NVSYPQNLT	MTVFQGDGTV
260	270	280	290	300
STVLGNGSSL	SLPEGQSLRL	VCAVDAVDSN	PPARLSLSWR	GLTLCPSQPS
310	320	330	340	350
NPGVLELPWV	HLRDAAEFTC	RAQNPLGSQQ	VYLNVSLSQSK	ATSGVTQGVV
360	370	380	390	400
GGAGATALVF	LSFCVIFVVV	RSCRKKSARP	AAGVGDGTIE	DANAVRGSAS
410	420	430	440	450
QGPLETEPWAE	DSPPDQPPPA	SARSSVGEGE	LQYASLSFQM	VKPWDSRGQE
460				
ATDTEYSEIK	IHR			

[0529]

[0530] 다음의 실시예의 목적은 수지상 세포, 단핵구, 대식세포, 호중구, NK 세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포의 유리한 효과를 향상시키는 Siglec-9-결합 항체(예를 들어, 길항적 항체, Siglec-9 특이적 항체)를 생성하는 것이다. 마우스 하이브리도마 기법, 파지 디스플레이 기법 및 효모 디스플레이 기법을 이용하여 Siglec-9의 세포의 도메인, 특히 IgV 도메인(서열번호 1의 아미노산 잔기 20 내지 140)에 결합하는 항체를 생성한다. 항체를 동정하고, 이어서 다음의 실시예에서 기재하는 바와 같이 세포에서 그리고 동물 생체내에서 Siglec-9에 대한 결합에 대해 Siglec-9 리간드와 경쟁하는 능력, Siglec-9 하향조절을 유도하는 능력, Siglec-9 탈감작을 유도하는 능력, Siglec-9 분해를 유도하는 능력, 라이소좀에 대한 Siglec-9 표적화를 유도하는 능력, Siglec-9 절단을 유도하는 능력, Siglec-9 신호전달 및/또는 하나 이상의 작용을 조절하는 능력에 대해 선별하였다. Siglec-9에 의해 결합된 예시적인 리간드를 도 2 및 도 3에 도시한다.

[0531] 예를 들어, Siglec-9의 IgV 도메인(아미노산 잔기 20-140)을 표적화하는 항-Siglec-9 항체가 선택된다. IgV 도메인은 시알산 표적에 결합하고, 이 결합은 항체에 의해 차단될 수 있다. 따라서, 아미노산 잔기 20 내지 140는 하나 이상의 내인성 표적(예를 들어, 리간드)에 대한 Siglec-9의 결합을 차단하는 항체에 대한 Siglec-9 펩타이드 표적에 대응한다.

[0532] 인간 Siglec-9 단백질 내의 유용한 부위를 동정하기 위한 다른 접근은 IgV 도메인 내에서 일반적으로 발견되는 Siglec-9m에 비해 Siglec-9m에 존재하지 않는 항체 표적화 부위를 선택하는 것에 의한다. Siglec-9m은 아밀로리드 베타 펩타이드의 클리어언스를 저해할 수 없다. 유용한 항체를 동정하기 위한 다른 접근은 단핵구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, 미세아교세포, 및/또는 T 세포의 세포 표면 상의 Siglec-9의 수준을 감소시키는 항체를 선택하는 것이다.

[0533] 본 명세서에 기재된 바와 같은, 9개의 항-Siglec-9 항체를 동정하고, 특성규명하였다.

[0534] 결과

[0535] 항-Siglec-9 항체 생성

[0536] 면역화 절차

[0537] 빠른 프라이밍 방법: 다음의 절차를 이용하여 4마리의 50-일령 암컷 BALB/c 마우스를 면역화시켰다. 인간 Siglec-9 항원을 함유하지만, 애주번트는 함유하지 않는 일련의 피하 주사를 19일의 기간에 걸쳐 제공하였다. 마우스를 랩 프로덕츠(Lab Products)로부터의 통기 랙 시스템(rack system)에 수용하였다. 모두 4마리의 마우스를 제19일에 안락사시키고 나서, 림프구를 하이브리도마 세포주 생성을 위해 채취하였다.

[0538] 표준 방법: 다음의 절차를 이용하여 4마리의 50-일령 암컷 BALB/c 또는 NZB/W 마우스를 면역화시켰다. 마우스를 랩 프로덕츠(Lab Products)로부터의 통기 랙 시스템(rack system)에 수용하였다. 마우스에 마우스 당 25 μ g 단백질 항원(마우스 당 총 용적 125 μ l)으로 CpG-ODN 애주번트에서 혼합한 인간 Siglec-9 항원으로 3주마다 복강내로 주사하였다. 두 번째 부스트의 7일 후에 복제정맥 절개에 의해 시험 방혈을 행하였다. 융합을 위한 최고로 2마

리의 반응성 마우스를 결정하기 위해 간접 ELISA 분석에 의해 시험 방혈(면역 혈청)을 시험하였다. 융합 전에 역가를 평가하기 위해 부스트 7일 후에 마우스는 제3 및 제4 부스트 및 다른 시험 방혈을 필요로 할 수 있다. 항체 역가가 충분히 높을 때, 최고의 2마리의 응답 마우스에 측면 꼬리 정맥을 통해 최종 정맥내 부스트를 제공한다. IV 부스트의 4일 후에, 융합을 위해 마우스를 안락사 시켰다. 비장을 채취하고 나서, 비장으로부터 분리된 림프구를 하이브리도마를 생성하기 위한 융합 과정에서 사용하였다.

[0539] 하이브리도마 연구

[0540] 림프구를 분리시키고 나서, 표준 로슈 프로토콜(Roche Protocol)에 따라 폴리-에틸렌 글리콜(PEG 1500)의 존재 하에 묶인 SP2/0 골수종 세포와 융합시켰다. 단일-단계 클로닝 방법(HAT 선택)을 이용하여 융합 세포를 배양시켰다. 이 방법은 하이브리도마 선택 및 클로닝을 1 단계로 합하기 위해 반고체 메틸 셀룰로스에 HAT 선택 배지를 사용한다. 반고체 배지 상의 단일클론 콜로니를 형성하기 위해 단일 세포-유래 하이브리도마를 성장시킨다. 융합 사건의 10일 후에, 얻어진 하이브리도마 클론 중 948개를 96웰 조직 배양 플레이트에 옮기고 나서, 중간-log 성장에 도달될 때까지(5일) 배지를 포함하는 HT에서 성장시켰다.

[0541] 하이브리도마 선별

[0542] 948개의 하이브리도마로부터의 조직 배양 상청액을 선별 항원(1차 선별) 상의 간접적 ELISA에 의해 시험하였고, 염소 항-IgG/IgM(H&L)-HRP 2차를 이용하여 IgG와 IgM 항체 둘 다에 대해 프로빙하고 나서, TMB 기질을 이용하여 연구하였다. 이 분석에서 0.2 OD 초과와 클론을 다음 시험 라운드에 대해 취하였다. 분비를 확인하기 위해 선별 항원 상에서 그리고 비-특이적 또는 "점착성" mAb를 제거하고, 위양성을 제외하기 위해 부적절한 항원(인간 트랜스페린) 상에서 양성 배양물을 재시험하였다. 관심 대상의 모든 클론은 그들이 IgG 또는 IgM 아이소타입인지의 여부를 결정하기 위해 항체 트래핑 ELISA에 의해 아이소타입화하였다.

[0543] 하이브리도마 세포 배양물

[0544] 관심 대상의 하이브리도마 세포주를 96웰 플레이트에 대한 전달 후 32일 동안 24웰 배양물 플레이트에서 유지하였다. 이는 안정성 기간으로서 언급되며, 클론이 안정하게 그리고 분비성으로 남아있는지의 여부를 시험한다. 이 안정성 기간 시간 동안 일시적으로 냉동시킨 세포주 보존이 -80°C 저장 동안(생존 가능한 6개월) 관심 대상의 모든 클론으로 이루어졌다. 선별 및 특이성에 대해 이 시간 기간 동안 하이브리도마를 주기적으로 시험하였다.

[0545] 서브클로닝

[0546] 상부 하이브리도마 세포주(클론)를 서브클로닝하여 단일클론성을 보장하였다. 단일-단계 클로닝 시스템을 이용하여 다시 모 클론을 플레이트링함으로써 서브클로닝을 수행하였다. 24 내지 90개의 서브클론을 96-웰 배양 플레이트에 옮겼다. 간접 ELISA 및 항체 트래핑 ELISA에 의해 서브클론을 선별하였다. 배양물에서 확장을 위해 각각의 모체에 대한 상부 서브클론을 취하였다. 50% 미만의 임의의 모체 클론은 제2 라운드의 서브클로닝을 수행하였다.

[0547] 이어서, Siglec-9 결합에 대해 항체를 선별하였다. 리간드 결합을 차단시키는 능력 및 다중 세포 유형에서 Siglec-9의 표면 수준을 감소시키는 능력에 대해 인간 Siglec-9에 대한 결합에 대해 양성인 항체를 시험하였다. 6가지의 Siglec-9 항체를 동정하였다. 빈(bin) 및 아이소타입 범주를 표 1에 열거한다.

표 1

항-Siglec-9 항체

Ab ID	빈	Ab 아이소타입
2D4	1	mIgG1
2D5	5	mIgG1
5B1	4	mIgG1
6B2	3	mIgG1/2b*
6D8	3	mIgG2b
7H12	5	mIgG1/2a*

[0548]

[0549] 항체 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 서열

[0550] 표준 기법을 이용하여, 생성된 항체의 경쇄 가변 및 중쇄 가변 도메인을 암호화하는 아미노산 서열을 결정하였

다. 항체의 EU 또는 카바트 경쇄 HVR 서열을 표 2에 제시한다. 항체의 EU 또는 카바트 중쇄 HVR 서열을 표 3에 제시한다. 항체의 EU 또는 카바트 경쇄 프레임워크(FR) 서열을 표 4A에 제시한다. 항체의 EU 또는 카바트 중쇄 프레임워크(FR) 서열을 표 4B에 제시한다.

표 2

항-Siglec-9 항체의 EU 또는 카바트 경쇄 HVR 서열

Ab	HVR L1	HVR L2	HVR L3
2D4	RASQEISGYLG (서열번호 6)	STSTLDS (서열번호 10)	LQYASYPPT (서열번호 14)
2D5	KSSQSLLDSDGKTYLN (서열번호 7)	LVCKLDS (서열번호 11)	WQGFTHFPQT (서열번호 15)
5B1	KSSQSLLYTNGKTYLN (서열번호 8)	LVSKLES (서열번호 12)	LQATHFPLT (서열번호 16)
6D8	HTTRGIYWYKG (서열번호 9)	CARNNEG (서열번호 13)	AQFYQFPWT (서열번호 17)
7H12	KSSQSLLYTNGKTYLN (서열번호 8)	LVSKLES (서열번호 12)	LQAPHFPLT (서열번호 18)
5C6	SSSQSLVHNSGNTYLH (서열번호 172)	KVSNRFS (서열번호 174)	SQNTHVPLT (서열번호 176)
12B12	RASENVDSYGISFMH (서열번호 173)	RASNLES (서열번호 175)	QOSNEDPWT (서열번호 177)
17C2	SSSQSLVHNSGNTYLH (서열번호 172)	KVSNRFS (서열번호 174)	SQNTHVPLT (서열번호 176)

[0551]

표 3

항-Siglec-9 항체의 EU 또는 카바트 중쇄 HVR 서열

Ab	HVR H1	HVR H2	HVR H3
2D4	FTFSNYAMS (서열번호 19)	VATINNGGSYTYYS (서열번호 22)	VRRDYGTSDFDY (서열번호 26)
2D5	YAFSSYWMN (서열번호 20)	IGRIYPRDGDITNYN (서열번호 23)	ARWLLRFAY (서열번호 27)
5B1	YTFTSYWMH (서열번호 21)	IGEINPRDGVSN CN (서열번호 24)	TIWEDYFDY (서열번호 28)
6D8	YTFTSYWMH (서열번호 21)	IGEIDPSDSYTYYN (서열번호 25)	AAYYSNYVRAY (서열번호 29)
7H12	YTFTSYWMH (서열번호 21)	IGEINPRDGVSN CN (서열번호 24)	TIWEDYFDY (서열번호 28)
5C6	GYTFIDYNIH (서열번호 178)	YTPYNGDTG (서열번호 180)	GNLYYYAMDY (서열번호 182)
12B12	GFTEFSNYGMS (서열번호 179)	TINSNGGRTY (서열번호 181)	YYRYDSYAMDY (서열번호 183)
17C2	GYTFIDYNIH (서열번호 178)	YTPYNGDTG (서열번호 180)	GNLYYYAMDY (서열번호 182)

[0552]

표 4A: 항-Siglec-9 항체의 EU 또는 카바트 경쇄 프레임워크 서열

Ab	VL FR1	VL FR2	VL FR3	VL FR4
2D4	DIQMTQSPSSLSA SLGERVSLTC (서열번호 30)	WLQKPDGTIKRLIF (서열번호 35)	GVPKRFSGSRGSDYSLT ISSLESEDFADYYC (서열번호 39)	FGGGTKLEIK (서열번호 44)
2D5	DVVMQTQPLTLS VTIGQPASISC (서열번호 31)	WLLQRPQGSPKRLIY (서열번호 36)	GVPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGVIYC (서열번호 40)	FGGGTKLEIK (서열번호 44)
5B1	NVVMQTQPLTLS VTLGQPASISC (서열번호 32)	WLLQRPQGSPKLLIY (서열번호 37)	GVPDRFSGSGSGTDFTL KINRVEAEDLGVIYC (서열번호 41)	FGAGTKLELK (서열번호 45)
6D8	DIQKPQSPFYMC VSGGETISISS (서열번호 33)	GSAEKPEKPFKLEIY (서열번호 38)	GAPSRFSGRSGSGTDFTL INRGESEDCAEIYC (서열번호 42)	FGGGTKLEIK (서열번호 44)
7H12	NVZMTQPLTLS VTLGQPASISC (서열번호 34)	WLLQRPQGSPKLLIY (서열번호 37)	GVPDRFSGSGSGTDFTL KINRVEAEDLGVIYC (서열번호 43)	FGGGTKLEMK (서열번호 46)
5C6	DVVMQTQPLSLP VSLGDQVSISS (서열번호 184)	WYLKSGQSPKLLIY (서열번호 186)	GVPDRFRSGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGVIYC (서열번호 188)	FGAGTKLELK (서열번호 45)
12B12	DIVLTQSPASLAV SLGQRATISC (서열번호 185)	WYQQKPGQPPKLLIY (서열번호 187)	GIPARFSGSGSRITDFTL NPVEADDVATYYC (서열번호 189)	FGGGTKLEIK (서열번호 44)
17C2	DVVMQTQPLSLP VSLGDQVSISS (서열번호 184)	WYLKSGQSPKLLIY (서열번호 186)	GVPDRFRSGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGVIYC (서열번호 188)	FGAGTKLELK (서열번호 45)

[0553]

표 4B: 항-Siglec-9 항체의 EU 또는 카바트 중쇄 프레임워크 서열

Ab	VH FR1	VH FR2	VH FR3	VH FR4
2D4	EVKLVESGGALV KPGGSLKLSCAA SG (서열번호 47)	WVRQTPEKRLWE (서열번호 51)	DSVKGRFAISRDNANT LYLQMSNLRSEDALYY C (서열번호 54)	WGQGTTLTVS S (서열번호 58)
2D5	QVQLQQSGPELV KPGASVKISCKAS G (서열번호 48)	WVKQRPGKGLEW (서열번호 52)	GKFKGKATLTADKSSST AYMQLSSLTSEDSAVYF C (서열번호 55)	WGQGTTLTVS A (서열번호 59)
5B1	QVQLQQSGAEVV KPGASVKLSCKA FG (서열번호 49)	WVKQRPGKGLEW (서열번호 53)	EKFTSKATLTVDTSNT AYMQLNNLTSEDSAVY YC (서열번호 56)	WGQGTTLTVS T (서열번호 60)
6D8	VQLQQSGAELVK PGASVKLSCKAS G (서열번호 50)	WVKQRPGKGLEW (서열번호 53)	QKFKGKATLTVDKSSST AYMQLSSLTSEDSAVYY C (서열번호 57)	WGQGTTLTVS A (서열번호 59)
7H12	QVQLQQSGAEVV KPGASVKLSCKA FG (서열번호 49)	WVKQRPGKGLEW (서열번호 53)	EKFTSKATLTVDTSNT AYMQLNNLTSEDSAVY YC (서열번호 56)	WGQGTTLTVS T (서열번호 60)
5C6	EVQLQQSGPELV KPGASVRISCKAS (서열번호 190)	WVKQSQGSLEWIG (서열번호 192)	YNQKFQNKATLTVDNNS STAYMELRSLTSEDSAV YYCAN (서열번호 194)	WGQGTSTVTS S (서열번호 196)
12B12	EVQLVESGGGLV QPGGSLKLSCAA S (서열번호 191)	WVRQILDKRLELVA (서열번호 193)	YPDSVKGRFTISRDNAN NTLYLQMSLRLSEDTAI YYCVT (서열번호 195)	WGQGTSTVTS S (서열번호 196)
17C2	EVQLQQSGPELV KPGASVRISCKAS (서열번호 190)	WVKQSQGSLEWIG (서열번호 192)	YNQKFQNKATLTVDNNS STAYMELRSLTSEDSAV YYCAN (서열번호 194)	WGQGTSTVTS S (서열번호 196)

Siglec-9 항체 결합의 특성규명

Siglec-9 항체의 초기 특성규명은 인간 1차 단핵구, 인간 1차 대식세포, 인간 1차 수지상 세포, 인간 1차 호중구 및 인간 1차 자연살해(NK) 세포 상에서 발현된 Siglec-9에 결합하는 그들의 능력을 결정하는 것을 수반하였다. 세포를 채취하고 나서, 96 웰 플레이트에서 10^6 /ml로 플레이팅하고, 얼음에서 2% FBS, 2mM EDTA 및 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ Mab 및 Fc 차단 시약을 함유하는 100ul PBS 중에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 2회 세척하고 나서, 얼음 상에서 30분 동안 2% FBS, 2mM EDTA 및 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ PE-접합 2차 항체를 함유하는 $100\mu\text{l}$ PBS에서 인큐베이션시켰다. 세포를 차가운 PBS 중에서 2회 세척하고 나서, BD FACS 칸토(Canto) 상의 유세포분석에 의해 분석하였다. 데이터 분석 및 MFI 값의 계산을 플로우조(FlowJo)(트리스타(TreeStar)) 소프트웨어 버전 10.0.7을 이용하여 수행하였다.

FACS 염색 분석은 Siglec-9이 인간 1차 단핵구, 대식세포, 수지상 세포, 호중구 및 NK 세포를 포함하는 1차 골수성 및 림프구 세포 상에서 발현된다는 것을 나타낸다(도 4).

표 5는 Siglec-9를 발현시키는 인간 1차 세포에 대한 항체 결합을 보여준다. Siglec-9 항체에 의해 결합되는 세포 유형에 대한 양성 결합% 및 평균 형광 강도(MFI) 값을 표 5에 열거한다. 결합을 아이소타입 대조군에 비교한다. 항체는 인간 1차 단핵구, 인간 1차 수지상 세포 및 인간 1차 대식세포에 결합한다. 표 5에서, "완충제"는 상기 기재한 PBS 완충제만으로 처리된 세포를 지칭하고; "2차 Ab"는 PE-접합 2차 항체만으로 처리된 세포를 지칭하며; "mIgG1", "mIgG2a" 및 "mIgG2b"는 아이소타입 대조군 항체를 지칭한다. 도 5는 인간 1차 수지상 세포에 대한 항체 결합을 입증한다.

표 5

인간 1 차 세포에 대한 Siglec-9 항체 결합

항체	단핵구		수지상 세포		대식세포	
	양성%	MFI	양성%	MFI	양성%	MFI
2D4	95.0	538	99.3	757	99.10	849
2D5	9.1	145	34.2	252	93.20	692
5B1	75.9	310	97.8	646	98.70	621
6B2	93.6	430	69.2	412	99.00	932
6D8	29.6	198	27.6	197	93.50	473
7H12	38.3	216	60.5	331	94.80	467
대조군						
Buffer	0.1	63	1.62	67.4	0.39	74
2 차 Ab	2.6	105	7.05	90.1	3.58	153
mIgG1	2.6	104	12.3	132	3.01	115
mIgG2a	3.5	127	8.45	121	22.60	164
mIgG2b	4.0	145	26.4	319	12.60	180

각각의 항-Siglec-9 항체의 결합 친화도는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 분석에 의해 그들의 K_D 를 측정함으로써 결

정하였다. 비아코어(BiaCore) T200 기기 상에서 25° C에서 10 Hz의 속도로 SPR 데이터를 수집하였다. 비아코어 T200 평가 소프트웨어, 버전 2.0을 이용하여 데이터 분석을 수행하였다. HBS-EP+(100mM HEPES, 1.5 M NaCl, 30mM EDTA, 0.5% v/v 계면활성제 P20, pH 7.4)를 실행 완충제로서 그리고 시약의 제조를 위해 사용하였다.

[0561] Siglec-9에 대한 마우스-유래 항체(25nM)를 항-마우스 IgG와 함께 고정된 CM5 센서칩(GE 헬스케어(GE Healthcare)) 상에서 포획하였다(60초 접촉 시간, 30 μ l/분 유속, 0초 안정화 시간). 이어서, 히스티딘-태그된 인간 Siglec-9(노보프로테인(NovoProtein))을 포획된 항-Siglec-9 표면에 걸쳐 유동하였다(120초 접촉 시간, 30 μ l/분 유속, 300초 해리 시간). 항원 농도는 초기 선별로부터 얻은 정보에 따라서 5nM 내지 100nM의 범위였다. 2회 중복하여 단일-농도 시험을 수행하였고, 블랭크에 의해 (0nM 항원) 샘플을 팔호로 묶었다. 10mM 글리신-HCl, pH 1.7를 이용하여 주기 사이에서 칩 표면을 재생하였다(60초 접촉 시간, 30 μ l/분 유속, 60초 안정화 시간). 블랭크 유동 세포 상에서 수행한 측정으로부터의 반응 차이로서 얻어진 SPR 신호를 얻었다.

[0562] 각각의 항체에 대해 결합 및 해리 속도 상수(각각 k_a 및 k_d)를 추출하기 위해 1:1 상호작용 모델을 이용하여 단일-농도 역학 분석(Canziani, *et al.* (2004) Analytical Biochemistry 325:301-307)을 수행하였다. k_d/k_a 비로부터 친화도 상수(K_D)를 계산하였다. 본 발명자들은 다중-농도 접근(사용한 항원의 5가지 농도, + 1개의 블랭크)과 함께 단일 농도 분석을 검증하였다.

[0563] 결과를 표 6A.에서 열거한다. 도 6a는 항체 친화도를 도시하는 SPR 센소그램을 나타낸다.

표 6A: Siglec-9 항체 친화도

항체	mAb nM	Siglec-9 nM	K_D
2D4	25	25	0.3 nM
2D5	25	100	5.1 nM
5B1	25	100	2.7 nM
6B2	25	200	6.5 nM
6D8	25	200	6.7 nM
7H12	25	200	9.0 nM

[0564]

[0565] 항-Siglec-9 항체 2D4, 5C6 및 12B12의 결합 친화도를 포르테바이오 옥텟 RED96 시스템을 이용하여 그들의 K_D 를 측정함으로써 결정하였고, 모든 단계를 PBS 중의 0.25% 카세인 중에서 수행하였다. 항-마우스 IgG Fc 포획(AMC) 바이오센서 칩 상에서 항체를 포획하였고, 이 후에, 기준을 60초 동안 실행하였다. 3.13nM 내지 50nM 범위의 His-태그 Siglec 9 항원의 연속 희석물 중에서 15분 결합 단계를 수행하였고, 이 후에 60분에 걸쳐 해리를 측정하였다. k_d/k_a 비로부터 친화도 상수(K_D)를 계산하였다.

[0566] 포르테바이오 옥텟 RED96 결과를 표 6B에 열거한다. 도 6b는 항체 친화도를 도시하는 센소그램을 나타낸다.

표 6B: Siglec-9 항체 친화도

항체	분석	K_a (1/Ms)	k_d (1/S)	K_D (nM)
2D4	1	7.55E+04	1.22E-05	1.62E-10
2D4	2	7.52E+04	2.21E-05	2.94E-10
2D4	평균	7.54E+04	1.72E-05	0.23 nM
5C6	1	2.31E+05	1.23E-04	5.32E-10
5C6	2	2.09E+05	1.16E-04	5.57E-10
5C6	평균	2.20E+05	1.20E-04	0.54 nM
12B12	1	1.17E+05	7.45E-05	6.39E-10
12B12	2	1.12E+05	9.85E-05	8.79E-10
12B12	평균	1.14E+05	8.65E-05	0.76 nM

[0567]

[0568] 항체 인간화

[0569] 인간 투여에서 면역원성을 방지하기 위해 서열 및 구조적 관계를 통해 인간 항체와 가장 유사한 상이한 종에서 생성된 항체를 형질전환시키기 위해 항체 인간화를 사용한다. 상이한 종으로부터의 항체는 인간 항체 프레임워크 상에 비-인간 항체의 특이성 결정 영역(SDR)의 접합을 허용하는 특징적 서열 및 구조적 특징을 공유한다. 이는 비-인간 항체 특이성의 체류를 초래한다. 인간화 과정은 프레임워크 영역 및 SDR을 포함하는 비인간 항체 서열 및 특징의 동정을 수반한다. 다음의 기준을 사용하여 항체를 인간화한다: 1) 비-인간과 공지된 인간 항체 사이의 프레임워크 영역에서의 유사성%, 2) 비-인간과 공지된 인간 항체 사이의 SDR에서의 길이 유사성, 3) 인간

항체의 프레임워크 영역을 생성하기 위해 사용한 유전자, 및 4) 인간화에서 그리고 치료제로서 인간 항체 프레임워크의 이전의 용도. 프레임워크 영역 및 SDR 길이의 유사성은 중요한데, 차이가 항체의 특이성을 변경시킬 수 있는 항체에서의 구조적 차이를 생성할 수 있기 때문이다. 인간 항체의 프레임워크를 생성하기 위해 사용되는 특정 유전자는 항체의 안정성 또는 특이성에 대해 유리하거나 또는 해로운 것으로 알려져 있고, 따라서 선택적으로 사용되거나 또는 회피된다. 마지막으로, 양호한 반감기에 의해 잘 용인되는 인간 치료에서 사용되는 것을 포함하는 이전에 성공적인 인간화 프레임워크는 장래의 성공적인 인간화를 위한 후보일 가능성이 있다.

[0570]

표 7A 및 표 7B에 나타내는 바와 같이, 10개의 인간화된 경쇄 및 10개의 인간화된 중쇄 가변 영역 서열을 각각의 항체 2D4, 2D5, 5B1, 6D8 및 7H12에 대해 동정하였고; 3개의 경쇄 가변 영역 서열 및 4개의 중쇄 가변 영역 서열을 항체 5C6에 대해 동정하였으며; 3개의 경쇄 가변 영역 서열 및 2개의 중쇄 가변 영역 서열을 항체 12B12에 대해 동정하였다. **표 7A 및 표 7B**에서 볼드체 글자는 HVR 서열을 나타낸다.

표 7A: 인간화된 경쇄 가변 영역

항체 변이체	인간화된 서열
항체 2D4	2D4
야생형	DIQMTQSPSSLSASLGERVSLT CRASQEISGYLGWLQKPKDGTIKRLIFSTSTLDSG V PKR FGSGSGSDYSLTISSLESEDFADYY CLQYASYPPTFGGGTKLEIK (서열번호 61)
2D4V1-9	DIQLTQSPSFLSASVGDRTTIT CRASQEISGYLGWYQKPGKAPKLLIYSTSTLDSG VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 62)
2D4V1-39	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTIT CRASQEISGYLGWYQKPGKAPKLLIYSTSTLDSG VPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 63)
2D4V1-5	DIQMTQSPSTLSASVGDRTTIT CRASQEISGYLGWYQKPGKAPKLLIYSTSTLDSG VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 64)
2D4V1-33	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTIT CRASQEISGYLGWYQKPGKAPKLLIYSTSTLDSG VPSRFGSGSGTDFTFITISLQPEDATYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 65)
2D4V3-15	EIVMTQSPATLSVSPGERATL SCRASQEISGYLGWYQKPGQAPRLLIYSTSTLDSG IPARFGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 66)
2D4V3-11	EIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQEISGYLGWYQKPGQAPRLLIYSTSTLDSGI PARFGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 67)
2D4V3-20	EIVLTQSPGTLSPGERATL SCRASQEISGYLGWYQKPGQAPRLLIYSTSTLDSGI PDRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 68)
2D4V2-30	DVVMTQSPSLPVTLGQPASIS CRASQEISGYLGWFQQRPGQSPRRLIYSTSTLDSG VPDRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 69)
2D4V4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CRASQEISGYLGWYQKPGQPPKLLIYSTSTLDSG VPDRFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 70)
2D4V2-28	DIVMTQSPSLPVTGPGEPAIS CRASQEISGYLGWYQKPGQSPQLLIYSTSTLDSGV PDRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYY CLQYASYPPTFGQGTKVEIK (서열번호 71)
항체 2D5	2D5
야생형	DVVMTQTPLTSLVTIGQPASIS CKSSQSLLSDGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLV CKLDSG VPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYY CWQGTHTFPQTFGGGTKLEIK (서열번호 72)
2D5V2-30	DVVMTQSPSLPVTLGQPASIS CKSSQSLLSDGKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYLV CKLDSG VPDRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYY CWQGTHTFPQTFGQGTKVEIK (서열번호 73)
2D5V2-28	DIVMTQSPSLPVTGPGEPAIS CKSSQSLLSDGKTYLNWYQKPGQSPQLLIYLV CKLDSG VPDRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYY CWQGTHTFPQTFGQGTKVEIK (서열번호 74)
2D5V4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSLLSDGKTYLNWYQKPGQPPKLLIYLV CKLDSG VPDRFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CWQGTHTFPQTFGQGTKVEIK (서열번호 75)
2D5V1-5	DIQMTQSPSTLSASVGDRTTIT CKSSQSLLSDGKTYLNWYQKPGKAPKLLIYLV CKLDSG VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYY CWQGTHTFPQTFGQGTKVEIK (서열번호 76)

[0571]

항제 변이체	인간화된 서열
2D5V1-39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSSQSLLSDGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV CKLD SGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC WQGTHFPQ TFGQGTKVEIK (서열 번호 77)
2D5V1-9	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCKSSQSLLSDGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV CKLD SGVP SRFS GSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC WQGTHFPQ TFGQGTKVEIK (서열 번호 78)
2D5V1-33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSSQSLLSDGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV CKLD SGVP SRFS GSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYC WQGTHFPQ TFGQGTKVEIK (서열 번호 79)
2D5V3-11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLLSDGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV CKLD SGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC WQGTHFPQ TFGQGTKVEIK (서열 번호 80)
2D5V3-15	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCCKSSQSLLSDGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV CKLD SGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC WQGTHFPQ TFGQGTKVEIK (서열 번호 81)
2D5V3-20	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCCKSSQSLLSDGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV CKLD SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC WQGTHFPQ TFGQGTKVEIK (서열 번호 82)
항제 5B1	5B1
야생형	NVVMQTPTLTLSTLTGQPASISCKSSQSLLYTNGKTYLNWLLQRPQGSPKLLIYLV SKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGYYC LQATHFPL TFGAGTKLELK (서열 번호 83)
5B1V2-30	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYTNGKTYLNWFQRPQGSPRLLIYLV SKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 84)
5B1V2-28	DIVMTQSPSLPVTTPGEPASISCKSSQSLLYTNGKTYLNWYLQKPGQSPQLLIYLV KLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 85)
5B1V4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGQPPLLIYLV SKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 86)
5B1V1-5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVP SRFS GSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 87)
5B1V1-39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 88)
5B1V1-9	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVP SRFS GSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 89)
5B1V1-33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVP SRFS GSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 90)
5B1V3-11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV KLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 91)
5B1V3-15	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV KLESGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 92)
5B1V3-20	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV KLESGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC LQATHFPL TFGQGTKVEIK (서열 번호 93)
항제 6D8	6D8

[0572]

항체 변이체	인간화된 서열
야생형	DIQKPQSPFYMCVSGGETISSHTTTRGIYWYKGGSAEKPEKPFKLEIYCARNNEG GAPSRFSGRSGTDFSLTINRGESEDCAEYYCAQFYQFPWTFGGGKLEIK (서열번호 94)
6D8V1-33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHTTRGIYWYKGGWYQKPGKAPKLLIYCARNGE GGVPSRFSGSGSGTDFITISLQPEDATYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 95)
6D8V1-9	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCHTTRGIYWYKGGWYQKPGKAPKLLIYCARNGE GGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 96)
6D8V1-39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHTTRGIYWYKGGWYQKPGKAPKLLIYCARNGE GGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 97)
6D8V3-11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHTTRGIYWYKGGWYQKPGQAPRLLIYCARNGE GGIPARFSGSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 98)
6D8V1-5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCHTTRGIYWYKGGWYQKPGKAPKLLIYCARNGE GGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAVYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 99)
6D8V3-15	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCHTTRGIYWYKGGWYQKPGQAPRLLIYCARNGE GGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 100)
6D8V3-20	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHTTRGIYWYKGGWYQKPGQAPRLLIYCARNGE GGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 101)
6D8V2-28	DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCHTTRGIYWYKGGWYQKPGQSPQLLIYCARNNEG GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 102)
6D8V4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCHTTRGIYWYKGGWYQKPGQPPKLLIYCARNGE GGVDPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDEVAVYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 103)
6D8V2-30	DVVMQSPSLSPVTLGQPASISCHTTRGIYWYKGGWYQKPGQSPRRLIYCARNGE GGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCAQFYQFPWTFGQGTKVEIK (서열번호 104)
항체 7H12	항체 7H12
야생형	NVZMTQTPLTSLVTLGQPASISCKSSQSLLYTNGKTYLNWLLQRPQSPKLLIYLV SKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGYYFCLQAPHFPLTFGGGKLEMK (서열번호 105)
7H12V2-30	DVVMQSPSLSPVTLGQPASISCKSSQSLLYTNGKTYLNWFQRPQSPRRLIYLV SKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYFCLQAPHFPLTFGQGTKVEIK (서열번호 106)
7H12V2-28	DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQKPGQSPQLLIYLV KLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYFCLQAPHFPLTFGQGTKVEIK (서열번호 107)
7H12V4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQKPGQPPKLLIYLV SKLESGVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDEVAVYYFCLQAPHFPLTFGQGTKVEIK (서열번호 108)
7H12V1-5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAVYYFCLQAPHFPLTFGQGTKVEIK (서열번호 109)
7H12V1-9	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYFCLQAPHFPLTFGQGTKVEIK (서열번호 110)
7H12V1-33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVPSRFSGSGSGTDFITISLQPEDATYYFCLQAPHFPLTFGQGTKVEIK (서열번호 111)

[0573]

항체 변이체	인간화된 서열
7H12V1-39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGKAPKLLIYLV SKLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQAPHFPLTFGGQGTKVEIK (서열번호 112)
7H12V3-11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV KLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCLQAPHFPLTFGGQGTKVEIK (서열번호 113)
7H12V3-15	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV SKLESGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCLQAPHFPLTFGGQGTKVEIK (서열번호 114)
7H12V3-20	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCCKSSQSLLYTNGKTYLNWYQQKPGQAPRLLIYLV KLESGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCLQAPHFPLTFGGQGTKVEIK (서열번호 115)
항체 5C6	항체 5C6
야생형	DVVMQTQPLSLPVSLGDQVSISSSSQSLVHSNGNTYLHWYQKSGQSPKLLIYKV SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQNTHVPLTFGAGTKLEIK (서열번호 197)
5C6-L1	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCSQSLVHSNGNTYLHWYQQRPGQSPRLLIYKV SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCSQNTHVPLTFGGQGTKLEIK (서열번호 198)
5C6-L2	DVVMQTQSPSLPVTLGQPVSISSCSQSLVHSNGNTYLHWYQQRPGQSPRLLIYKV SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCSQNTHVPLTFGGQGTKLEIK (서열번호 199)
5C6-L3	DVVMQTQSPSLPVTLGQPVSISSCSQSLVHSNGNTYLHWYQQRPGQSPRLLIYKV SNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCSQNTHVPLTFGGQGTKLEIK (서열번호 200)
항체 12B12	항체 12B12
야생형	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASENVDSYGISFMHWYQQKPGQPPKLLIYRAS NLESGIPARFSGSGSGTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPWTFGGGQTKLEIK (서열번호 201)
12B12-L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENVDSYGISFMHWYQQKPGKAPKLLIYRAS NLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPWTFGGQGTKLEIK (서열번호 202)
12B12-L2	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENVDSYGISFMHWYQQKPGKAPKLLIYRAS LESGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPWTFGGQGTKLEIK (서열번호 203)
12B12-L3	DIQLTQSPSSLSASVGDRATITCRASENVDSYGISFMHWYQQKPGKAPKLLIYRAS LESGIPSRFSGSGSGTDFTLTISVQPEDFATYYCQQSNEDPWTFGGQGTKLEIK (서열번호 204)

[0574]

표 7B: 인간화된 중쇄 가변 영역

항체 변이체	인간화된 서열
항체 2D4	2D4
야생형	EVKLVESGGALVKPGGSLKLSAASGFTFSNYAMSWVRQTPEKRLEWVATINNG GSYTYYSDSVKGRFAISRDNKNTLYLQMSNLRSEDALYYCVRRDYGTSDFDY WGQGTLTVSS (서열번호 116)
2D4V3-23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATINNG GSYTYYSDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRDYGTSDFDY WGQGTLTVSS (서열번호 117)
2D4V3-7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATINNG GSYTYYSDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRDYGTSDFDY WGQGTLTVSS (서열번호 118)
2D4V3-30	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATINNG GSYTYYSDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRDYGTSDFDY WGQGTLTVSS (서열번호 119)
2D4V3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATINNG GSYTYYSDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRDYGTSDFDY WGQGTLTVSS (서열번호 120)
2D4V1-46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSNYAMSWVRQAPGQGLEWVATINNG GSYTYYSQKFQGRVTMTTRDTSTVYMESSLRSEDATVYYCVRRDYGTSDFDY WGQGTLTVSS (서열번호 121)
2D4V1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFSNYAMSWVRQAPGQGLEWVATINNG GSYTYYSQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYCVRRDYGTSDFDYW GQGTLTVSS (서열번호 122)
2D4V5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGFTFSNYAMSWVRQMPGKGLEWVATINNG GSYTYYSQSFQGVVITISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCVRRDYGTSDFDYW GQGTLTVSS (서열번호 123)
2D4V4-59	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGFTFSNYAMSWIRQPPGKGLEWVATINNGGS YTYYSPLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCVRRDYGTSDFDYWGQ GTLTVSS (서열번호 124)
2D4V3-15	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATINNG GSYTYYSAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRRDYGTSDFDY WGQGTLTVSS (서열번호 125)
2D4V4-39	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGFTFSNYAMSWIRQPPGKGLEWVATINNGGS YTYYSPLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCVRRDYGTSDFDYWGQ GTLTVSS (서열번호 126)
항체 2D5	2D5
야생형	QVQLQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSYWMNWVKRPGKGLEWIGRIYPR DGDITNNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARWLLRFAYWGQ GTLTVSSA (서열번호 127)
2D5V5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFSSYWMNWVRQMPGKGLEWIGRIYPR DGDITNPNPSFQGVVITISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWLLRFAYWGQ GTLTVSS (서열번호 128)
2D5V1-46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIYPR RDGDITNNGKQFQGRVTMTTRDTSTVYMESSLRSEDATVYYCARWLLRFAYW GQGTLTVSS (서열번호 129)
2D5V1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIYPR DGDITNNGKQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARWLLRFAYWGQ GTLTVSS (서열번호 130)
2D5V3-23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWIGRIYPR DGDITNNDVSKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWLLRFAYWG QGTLTVSS (서열번호 131)
2D5V3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWIGRIYPR DGDITNNDVSKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWLLRFAYWG QGTLTVSS (서열번호 132)

[0575]

항제 변이체	인간화된 서열
2D5V3-7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWIGRIYPR DGDITNYNDSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWLLRFAYWG QGTLVTVSS (서열번호 133)
2D5V3-30	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWIGRIYPR DGDITNYNDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWLLRFAYWG QGTLVTVSS (서열번호 134)
2D5V4-59	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYAFSSYWMNWVRQPPGKGLEWIGRIYPRD GDTNYPNLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARWLLRFAYWGQGT LTVTVSS (서열번호 135)
2D5V3-15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFSSYWMNWVRQAPGKGLEWIGRIYPR DGDITNYPNAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARWLLRFAYWGQ GTLVTVSS (서열번호 136)
2D5V4-30-4	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYAFSSYWMNWVRQPPGKGLEWIGRIYPRD GDTNYPNLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARWLLRFAYWGQGT LTVTVSS (서열번호 137)
항제 5B1	5B1
야생형	QVQLQQSGAEVVKPGASVKLSCKAFGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGEINPR DGVSNCKNEKFTSKATLTVDTSNTAYMQLNLTSEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLTVST (서열번호 138)
5B1V1-46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEINP RDGVSNCKNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCTIWEDYFDYWG QGTLVTVSS (서열번호 139)
5B1V5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYWMHWVRQMPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNPFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCTIWEDYFDYWGQ TLTVTVSS (서열번호 140)
5B1V1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEINPR DGVSNCKNQKFQGRVTITADESTSTAYMESSLRSEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ TLTVTVSS (서열번호 141)
5B1V3-7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 142)
5B1V3-30	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 143)
5B1V3-23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 144)
5B1V3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 145)
5B1V4-59	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYTFTSYWMHWVRQPPGKGLEWIGEINPRD GVSNCKNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTIWEDYFDYWGQGT LTVTVSS (서열번호 146)
5B1V3-15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 147)
5B1V4-39	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYTFTSYWMHWVRQPPGKGLEWIGEINPRD GVSNCKNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTIWEDYFDYWGQGT LTVTVSS (서열번호 148)
항제 6D8	6D8
야생형	VQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGIDPSD SYTYYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDNAVYYCAAYYSNYVRAYWG QGTLVTVSA (서열번호 149)

[0576]

항제 변이체	인간화된 서열
6D8V1-46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEDPS DSYTYYNQKFQGRVTMRDTSSTVYMELSSLRSEDNAVYYCAAYYSNYVRAYW QGTLVTVSS (서열번호 150)
6D8V5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTFTSYWMHWVRQMPGKGLEWIGEDPS DSYTYYNPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAAYYSNYVRAYWG QGTLVTVSS (서열번호 151)
6D8V3-7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEDPS DSYTYYNDSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDNAVYYCAAYYSNYVRAYW QGTLVTVSS (서열번호 152)
6D8V3-23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEDPS DSYTYYNDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCAAYYSNYVRAYW QGTLVTVSS (서열번호 153)
6D8V3-30	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEDPS DSYTYYNDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCAAYYSNYVRAYW QGTLVTVSS (서열번호 154)
6D8V3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEDPS DSYTYYNDSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDNAVYYCAAYYSNYVRAYW QGTLVTVSS (서열번호 155)
6D8V1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEDPS DSYTYYNQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAAYYSNYVRAYWG QGTLVTVSS (서열번호 156)
6D8V4-59	QVQLQESGGPGLVKPSETLSLTCTVSGYFTFTSYWMHWIRQPPGKGLEWIGEDPSDS YTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADNAVYYCAAYYSNYVRAYWGQG TLVTVSS (서열번호 157)
6D8V3-15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEDPS DSYTYYNAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDNAVYYCAAYYSNYVRAYW QGTLVTVSS (서열번호 158)
6D8V4-30-4	QVQLQESGGPGLVKPSQTLSTCTVSGYFTFTSYWMHWIRQPPGKGLEWIGEDPSDS YTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADNAVYYCAAYYSNYVRAYWGQG TLVTVSS (서열번호 159)
항제 7H12	항제 7H12
야생형	QVQLQQSGAEVVKPGASVKLSCKAFGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGEINPR DGVSNCKEFTSKATLTVDTSNTAYMQLNLTSEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLTVST (서열번호 160)
7H12V1-46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEINP RDGVSNCKNKFQGRVTMRDTSSTVYMELSSLRSEDNAVYYCTIWEDYFDYWG QGTLVTVSS (서열번호 161)
7H12V5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTFTSYWMHWVRQMPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCTIWEDYFDYWGQ TLVTVSS (서열번호 162)
7H12V1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEINPR DGVSNCKNKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ TLVTVSS (서열번호 163)
7H12V3-7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 164)
7H12V3-30	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 165)
7H12V3-23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 166)
7H12V3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEINPR DGVSNCKNDSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDNAVYYCTIWEDYFDYWGQ GTLVTVSS (서열번호 167)

[0577]

항체 변이체	인간화된 서열
7H12V4-59	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGY FTFSYWMH WIRQPPGKGLEWIG INPRD GVSN CNP SLKSR VTISVDT SKNQ FLKLSSVTAADTAVYYCT TIWEDYFDY WGQGT LVTVSS (서열번호 168)
7H12V3-15	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGY FTFSYWMH WVRQAPGKGLEWIG INPR DGVSN CNP APVKGR FTISRDDSKNTLYLQMN SLK TEDTAVYYCT TIWEDYFDY WGQ GTLVTVSS (서열번호 169)
7H12V4-39	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGY FTFSYWMH WIRQPPGKGLEWIG INPRDG VSN CNP SLKSR VTISVDT SKNQ FLKLSSVTAADTAVYYCT TIWEDYFDY WGQGT LVTVSS (서열번호 170)
항체 5C6	항체 5C6
야생형	EVQLQQSGPELVKPGASV RI SC KASGYFTFDY NIHWV Q SGQSGLEWIGYI YPYNG DTGYN QKFQ NKAT LTVDNSS TA Y MEL RL TS EDSAVYYCANGNYLYYY AMDY WGQGT SV TVSS (서열번호 205)
5C6-H1	QVQLVQSGAEV K KPGASV K V SC KASGY FTFDY NIHWV R QAPGQGLEW M G YI PPY NGDTG YAQKLQGRV TMT DTST TA Y MEL RL RS DDTAVYYCARGNYLYYY AM DY WGQGT L VTVSS (서열번호 206)
5C6-H2	QVQLVQSGAEV K KPGASV K V SC KASGY FTFDY NIHWV R QAPGQGLEW M G YI PPY NGDTG YAQKLQGRV TMT VD T ST TA Y MEL RL RS DDTAVYYCANGNYLYYY AM DY WGQGT L VTVSS (서열번호 207)
5C6-H3	QVQLVQSGAEV K KPGASV K IS CKASGYFTFDY NIHWV R QAPGQGLEWIGYI PPYN GDTG YAQKFQGRAT MT VD T ST TA Y MEL RL RS DDTAVYYCANGNYLYYY AM DY WGQGT L VTVSS (서열번호 208)
5C6-H4	QVQLVQSGAEV K KPGASV K IS CKASGYFTFDY NIHWV R QAPGQGLEWIGYI PPYN GDTG YAQKFQGRAT MT VD N ST TA Y MEL RL RS DDTAVYYCANGNYLYYY AM DY WGQGT L VTVSS (서열번호 209)
항체 12B12	항체 12B12
야생형	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GF T FSNY GMSWVRQILD K R LE L VAT INS NG GRTYY PDSV KGR FTISRDN AK N TL YLQ M SS LR SEDTAIYYCV TY RYDSY AM DY W GQGT SV TVSS (서열번호 210)
12B12-H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GF T FSNY GMSWVRQAPGKGLEW V STINS NG GRTYY ADSV KGR FTISRDN SK N TL YLQ M NS LR AE D TA V YY CA KY RY DSY AM DY W WGQGT L VTVSS (서열번호 211)
12B12-H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GF T FSNY GMSWVRQAPGKGLE L VATINS NG GRTYY ADSV KGR FTISRDN SK N TL YLQ M NS LR AE D TA V YYCV TY RYDSY AM DY W WGQGT L VTVSS (서열번호 212)

[0578]

[0579]

항체 5C6의 인간화

[0580]

뮤린 항-Siglec-9 항체 5C6(S9-5C6.3)의 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL) 서열을 공지된 인간 생식계열 서열의 라이브러리과 비교하였다. 사용한 데이터베이스는 IMGT 인간 VH 유전자(F+ORF, 273개의 생식계열 서열) 및 IMGT 인간 VL과 유전자(F+ORF, 74개의 생식계열 서열)이다.

[0581]

5C6 항체 VL에 대해, 인간 생식계열 IGKV2-30(대립유전자 1)을 엑셉터 서열로서 선택하고, 인간 경쇄 IGKJ2(대립유전자 1) 결합 영역(IGKJ 유전자)를 *IMGT*(등록상표) 국제 면역유전자 정보 시스템(*the international ImMunoGeneTics information system*)(등록상표)에서 편집한 인간 결합 영역으로부터 선택하였다(도 6b). 5C6 항체 VH에 대해, 인간 생식계열 IGHV1-18(대립유전자 1)을 엑셉터 서열로서 선택하고, 인간 중쇄 IGHJ4(대립유전자 1) 결합 영역(IGHJ 유전자)를 *IMGT*(등록상표) 국제 면역유전자 정보 시스템(*the international ImMunoGeneTics information system*)(등록상표)에서 편집한 인간 결합 영역으로부터 선택하였다(도 6d). 항체 VL 및 VH에 대한 상보성 결정 영역(CDR)을 AbM 정의(*AbM* 항체 모델링 소프트웨어)에 따라 정하였다.

[0582]

대응하는 모 뮤린 서열에 대한 인간 생식계열 프레임워크(즉, VH 및 VL에서의 비-CDR 잔기) 위치의 변경은 인간화된 항체의 결합을 최적화하는 데 필요할 수 있다. 각각의 인간화된 서열에 대한 잠재적 변화를 도 6c 및 도 6d에서 주목한다. 도 6b 및 도 6d는 항-Siglec-9 항체 5C6(5C6.3)의 인간화된 형태의 서열을 나타낸다.

[0583]

CDR-L1 내 항체 5C6의 VL 도메인에서, Asp30c-Gly30d-Asn30d-Thr30e는 위치 30c-30d에서 Asn 다음에 아이소아스파르테이트 형성 둘 다에서 결정을 위한 높은 잠재력을 가진다. 이 부위에서 번역후 변형은 표적에 대한 항체의 결합에 영향을 미칠 수 있었다. 모 마우스 항체는 번역후 변형 수준을 결정하도록 분석될 수 있다(도 6b). 대안적으로 항체 5C6는 인간화될 수 있고, 이어서, 최종 단계에서, 결합이 유지되는지를 결정하기 위해 NG는, 예를 들어, SG, QG 또는 AG로 변형될 수 있으며; 별개로, NT는, 예를 들어, QT 또는 ST로 변경될 수 있다. CDR-L2에서, Asn53는 서열 및 입체배좌에 기반하여 탈아미드화에 대한 낮은 전위를 가지고, 이런 번역후 변형의 낮은 수준을 나타낼 수 있다(도 6b). CDR-L3에서, Asn91는 서열 및 입체배좌에 기반하여 탈아미드화에 대한 낮은 전위를 가지고, 이런 번역후 변형의 중간 수준을 나타낼 수 있다(도 6b). 상기에 기반한 변이체 VL 서열을 표 7A에 열거한다.

[0584]

항체 5C6(5C6.3)의 VH 도메인에서, CDR-H1 내 Asn33 및 Asn 96은 서열 및 입체배좌에 기반하여 탈아미드화에 대해 낮은 잠재력을 가지고, 낮은 수준의 번역후 변형을 나타낼 수 있다(도 6d). CDR-H2에서, Asn54-Gly55는 탈

아마이드는 탈아마이드 다음에 아이소아스파르테이트 형성에 대한 낮은/중간 잠재력을 가진다(도 6d). 이 부위에서 번역후 변형은 표적에 대한 항체의 결합에 영향을 미칠 수 있다. 모 마우스 항체는 번역후 변형 수준을 결정하도록 분석될 수 있다. 대안적으로 5C6은 인간화될 수 있고, 이어서, 최종 NG에서 결합이 유지되는지를 결정하기 위해, 예를 들어 QG로 변경될 수 있다. 상기 변이체 VH 서열은 표 7B에서 열거된다.

[0585] 항체 12B12의 인간화

[0586] 무린 항-Siglec-9 항체 12B12(S9-12B12.2)의 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL) 서열을 공지된 인간 생식계열 서열의 라이브러리와 비교하였다. 사용한 데이터베이스는 IMGT 인간 VH 유전자(F+ORF, 273개의 생식계열 서열) 및 IMGT 인간 VL카과 유전자(F+ORF, 74개의 생식계열 서열)이다.

[0587] 12B12 항체 VL에 대해, 인간 생식계열 IGKV1-39(대립유전자 1)을 엑셉터 서열로서 선택하고, 인간 경쇄 IGKJ2(대립유전자 1) 결합 영역(IGKJ 유전자)를 IMGT(등록상표) 국제 번역유전자 정보 시스템(the international ImmunoGeneTics information system)(등록상표)에서 편집한 인간 결합 영역으로부터 선택하였다(도 6e). 12B12 항체 VH에 대해, 인간 생식계열 IGHV3-23(대립유전자 4)을 엑셉터 서열로서 선택하고, 인간 중쇄 IGHJ4(대립유전자 1) 결합 영역(IGHJ 유전자)를 IMGT(등록상표) 국제 번역유전자 정보 시스템(the international ImmunoGeneTics information system)(등록상표)에서 편집한 인간 결합 영역으로부터 선택하였다(도 6f). 항체 VL 및 VH에 대한 상보성 결정 영역(CDR)을 AbM 정의(AbM 항체 모델링 소프트웨어)에 따라 정하였다.

[0588] 대응하는 모 무린 서열에 대한 인간 생식계열 프레임워크(즉, VH 및 VL에서의 비-CDR 잔기) 위치의 변경은 인간화된 항체의 결합을 최적화하는 데 필요할 수 있다. 각각의 인간화된 서열에 대한 잠재적 변화를 도 6e 및 도 6f에서 주목한다. 도 6e 및 도 6f는 항-Siglec-9 항체 12B12(12B12.2)의 인간화된 형태 서열을 나타낸다.

[0589] 항체 12B12의 VL 도메인에서, CDR-L1 내의 Asn29, Asn53 및 Asn92는 서열 및 입체배좌에 기반하여 탈아마이드화에 대한 낮은 전위를 가지고, 이런 번역후 변형의 낮은 수준을 나타낼 수 있다(도 6e). CDR-L3에서, Trp96은 적어도 부분적으로 용매-노출될 가능성이 있고, 따라서 스트레스 조건 하에서 산화를 겪을 수 있다(도 6e). 상기에 기반한 변이체 VL 서열을 표 7A에 열거한다.

[0590] 항체 12B12(12B12.2)의 VH 도메인에서, CDR-H1내 Asn31은 서열 및 입체배좌에 기반하여 탈아마이드화에 대해 낮은 잠재력을 가지고, 낮은 수준의 번역후 변형을 나타낼 수 있는 반면, CDR-H1 내 Asn52는 서열 및 입체배좌에 기반하여 탈아마이드화에 대해 낮은 잠재력을 가지고, 낮은 수준의 번역후 변형을 나타낼 수 있다(도 6f). CDR-H2에서, Asn53-Gly54-Gly55는 탈아마이드화 다음에 아이소아스파르테이트 형성을 위한 중간/높은 퍼텐셜을 가진다(도 6e). 이 부위에서 번역후 변형은 표적에 대한 항체의 결합에 영향을 미칠 수 있다. 모 마우스 항체는 번역후 변형 수준을 결정하도록 분석될 수 있다. 대안적으로 항체 12B12는 인간화될 수 있고, 최종 단계에서 결합이 유지되는지를 결정하기 위해, NGG는, 예를 들어, QGG 또는 AGG로 변경될 수 있다. 상기 변이체 VH 서열은 표 7B에서 열거된다.

[0591] 실시예 2: Siglec-9 항체의 에피토프 맵핑

[0592] Siglec-9 항체를 전체 인간 Siglec-9에 걸쳐 있는 15 또는 25-량체 펩타이드에 결합하는 그들의 능력에 대해 시험하였다. Siglec-9 항체를 또한 그들의 Siglec-9 결합 영역을 결정함으로써 기준 Siglec-9 항체와 비교하였다.

[0593] 방법

[0594] 선형 15-량체 펩타이드를 14개의 잔기 중복을 갖는 인간 Siglec-9(서열번호 1)에 기반하여 합성하였다. 추가로, 선형 25-량체 펩타이드를 단일 잔기 이동을 갖는 인간 Siglec-9의 서열(서열번호 1)에 기반하여 합성하였다. 각각의 합성된 펩타이드에 대한 Siglec-9 항체의 결합을 ELISA 기반 방법에서 시험하였다. 이 분석에서, 펩타이드 어레이를 1차 항체 용액(4℃에서 밤새)과 함께 인큐베이션시켰다. 세척 후에, 펩타이드 어레이를 항체 페록시다제 접합체(SBA, cat. nr. 2010-05)의 1/1000 희석물과 함께 25℃에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 세척 후에, 페록시다제 기질 2,2'-아지노-다이-3-에틸벤즈티아졸린 설포네이트(ABTS) 및 2μl/ml의 3% H₂O₂를 첨가하였다. 1시간 후에, 색상 전개를 측정하였다. 색상 전개를 전하결합소자(charge coupled device: CCD) 카메라 및 화상처리 시스템을 이용하여 정량화하였다.

[0595] 항체의 에피토프 비닝(binning)을 표준 샌드위치 형식 비닝 분석을 이용하여 Forte Bio Octet Red384 시스템(캘리포니아주 먼로파크에 소재한 팔 포르테 바이오 코퍼레이션(Pall Forte Bio Corporation)) 상에서 수행하였다(문헌[Estep et al, (2013) MAbs 5(2):270-8] 참조). 대조군 항-표적 IgG를 AHQ 센서 상에 부하하고 나서, 센서 상의 비점유 Fc-결합 부위를 부적절한 인간 IgG1 항체로 차단하였다. 이어서, 센서를 100nM 표적 항원에 노

출시시키고, 이어서, 제2 항-표적 항체에 노출시켰다. 포르테바이오(ForteBio') 데이터 분석 소프트웨어 7.0을 이용하여 데이터를 처리하였다. 항원 결합 후에 제2 항체에 의한 추가적인 결합은 비점유 에피토프(비-경쟁자)를 나타내는 반면, 결합은 에피토프 차단(경쟁자)을 나타내지 않는다.

[0596] 대안적으로, 표적 모듈의 에피토프를 재구성하기 위해, 루프 및 조합 펩타이드의 라이브러리를 합성하였다. 등록상표가 붙은 친수성 중합체 제형과 접합시킨 다음에 다이사이클로헥실카보다이미드(DCC)와 함께 *N*-하이드록시벤조트라이아졸(HOBt)을 이용하는 *t*-부틸옥시카본일-헥사메틸렌다이아민(BocHMDA)과의 반응 및 트라이플루오로아세트산(TFA)을 이용하는 Boc-기의 후속적 절단에 의해 아미노 작용화된 폴리프로필렌 지지체를 얻었다. 표준 Fmoc-펩타이드 합성을 사용하여 관례적으로 변형된 JANUS 액체 조절 스테이션(퍼킨 엘머(Perkin Elmer))에 의해 아미노-작용화된 고체 지지체 상의 펩타이드를 합성하였다.

[0597] 펩스캔(Pepscan)의 등록상표인 스캐폴드 상에 화학적으로 연결된 펩타이드(Chemically Linked Peptides on Scaffold: CLIPS) 기법을 이용하여 구조적 모방체의 합성을 행하였다. CLIPS 기법은 펩타이드를 단일 루프 및 이중 루프 내로 구조화하도록 허용한다. CLIPS 주형을 시스테인 잔기에 결합시킨다. 펩타이드 내 다중 시스테인의 측쇄를 1 또는 2개의 CLIPS 주형에 결합시킨다. 예를 들어, mP2 CLIPS (2,6-비스(브로모메틸)피리딘)의 0.5mM 용액을 중탄산암모늄(20mM, pH 7.8)/아세트나이트릴(1:3(v/v)) 중에 용해시킨다. 이 용액을 펩타이드 어레이 상에 첨가한다. CLIPS 주형을 펩타이드 어레이의 고체상 결합 펩타이드(3 μ l 웰을 갖는 455 웰 플레이트)에서 존재하는 2개의 시스테인의 측쇄에 결합할 것이다. 30 내지 60분 동안 용액 중에서 펩타이드 어레이를 부드럽게 진탕시키는 한편, 용액 중에서 완전히 뒤덮는다. 최종적으로, 펩타이드 어레이를 과량의 H₂O로 광범위하게 세척하고, 70°C에서 30분 동안 PBS(pH 7.2) 중의 1 % SDS/0.1 % β 머캅토에탄올을 함유하는 파괴-완충제 중에서 음과 처리하여, 다른 45분 동안 H₂O 중에서 음과 처리하였다. 이제 3개의 시스테인을 이용하는 것을 제외하고 유사한 방식으로, 펩타이드를 운반하는 T3 CLIPS(2,4,6-트리스(브로모메틸)피리딘)을 생성하였다.

[0598] 루프 펩타이드: 길이 17의 제한된 펩타이드. 위치 2 내지 16은 표적 서열로부터 유래된 15-량체이다. 천연 Cys 잔기를 아세트아미도메틸기(ACM)에 의해 보호한다. 위치 1 및 17은 mP2 CLIPS 모이어티에 의해 연결되는 Cys이다. 조합 펩타이드(불연속 모방체): 길이 33의 제한된 펩타이드. 위치 2 내지 16 및 18 내지 32는 ACM에 의해 보호된 천연 Cys 잔기를 갖는 표적 서열로부터 유래된 15량체 펩타이드이다. 위치 1, 17 및 33은 T3 CLIPS 모이어티에 의해 연결된 Cys이다.

[0599] 각각의 합성된 펩타이드에 대한 항체의 결합을 펩스캔(PEPSCAN)-기반 ELISA에서 시험한다. 펩타이드 어레이를 시험 항체 및 차단 용액(예를 들어, 4% 말 혈청, PBS/1% 트윈80(Tween80) 중의 5% 오발부민(w/v))의 실험적으로 최적화된 농도로 구성된 시험 항체 용액과 함께 인큐베이션시킨다. 펩타이드 어레이를 4°C에서 밤새 시험 항체 용액과 함께 인큐베이션시킨다. 세척 완충제(1×PBS, 0.05% 트윈80)를 이용하는 광범위 세척 후에, 펩타이드 어레이를 25°C에서 1시간 동안 적절한 항체 페록시다제 접합체의 1/1000 희석물과 함께 인큐베이션시킨다. 세척 완충제를 이용하는 세척 후에, 페록시다제 기질 2,2'-아지노-다이-3-에틸벤즈티아졸린 설포네이트(ABTS) 및 2 μ l/ml의 3% H₂O₂를 첨가한다. 1시간 후에, 색상 전개를 측정한다. 색상 전개를 전하결합소자(CCD) 카메라 및 화상 처리 시스템을 이용하여 정량화한다.

[0600] 결과

[0601] 3개의 항-Siglec-9 항체에 대해 Siglec-9 결합 영역을 결정하였다. 결합 영역을 표 8A에 열거한다.

표 8A: Siglec-9 항체 결합 영역

항체	Siglec-9 결합 영역	서열번호 1의 아미노산 영역
6B2	107RDARRSDAGR115	107-115
7H12		
2D4	185VSPLDPSTTR194	185-194
2D5	62FREGANTDQDAPVAT76 및 86ETDRDRFH92	62-76 및 86-92
5B1	86ETDRDRFHLLGD96 및 105IRDARRSDAGR116	86-96 및 105-116
6B2		

[0602]

[0603] 표 8A에 나타내는 바와 같이, 항체 6B2, 7H12, 2D5 및 5B1은 Siglec-9의 세포외 IgV 도메인 내에서 펩타이드에 대해 배타적으로 강한 결합을 나타내었다. 표 8A에 나타내는 바와 같이, 항체 6B2 및 7H12에 의해 인식되는 펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 잔기 107-115에 대응하고, 하기 아미노산 서열을 가진다:RDARRSDAGR. 항체 2D5에 의해 인식되는 펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 잔기 62-76 및 86-92에 대응하고, 하기의 아미노산 서열을 가진다: FREGANTDQDAPVAT 및 ETRDRFH. 항체 5B1 및 6B2에 의해 인식되는 펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 잔

기 86-96 및 105-116에 대응하고, ETRDRFHLLGD 및 IRDARRSDAGR의 아미노산 서열을 가진다.

[0604] **표 8A**에서 추가로 나타내는 바와 같이, 항체 2D4는 Siglec-9의 세포외 Ig-유사 C2-유형 내의 펩타이드에 대해 배타적으로 강한 결합을 나타내었다. **표 8A**에 나타내는 바와 같이, 항체 2D4에 의해 인식되는 펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 잔기 185-194에 대응하고, VSPLDPSTTR의 아미노산 서열을 가진다.

[0605] **작용성 맵핑**

[0606] siglec-9 단백질에 대한 알라닌-스캐닝 라이브러리를 이용하여 항-siglec-9 항체의 사전 돌연변이 유발 에피토프 맵핑을 수행하였다. C-말단의 V5 에피토프 태그를 암호화하는 siglec-9 발현 작제물에 고처리율 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발(문헌[Davidson and Doranz, 2014 Immunology 143, 13-20]에서 약술)을 실시하여 종합적 돌연변이 라이브러리를 생성하였다. siglec-9 세포외 도메인을 나타내는 각각의 잔기는 대부분 알라닌으로 돌연변이된 반면, 알라닌 코돈은 세린으로 돌연변이되었다.

[0607] 384-웰에 배열한 siglec-9 돌연변이 라이브러리 클론을 HEK-293T 세포로 개개로 형질감염시키고 나서, 22시간 동안 발현시켰다. 항체는 Fab를 생성하도록 분해되었고, 이 후에, 세포를 10% 정상 염소 혈청(NGS)(미주리주 세인트 루이스에 소재한 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)) 중에서 희석시킨 Fab와 함께 인큐베이션시켰다. 검출의 선형 범위 내에서 신호를 보장하기 위해 야생형 siglec-9를 발현시키는 세포에 대한 독립적 면역형광 적정 곡선을 이용하여 라이브러리 선별 전에, 1차 Fab 농도를 결정하였다. 10% NGS 중의 7.5µg/ml AlexaFluor488-접합 2차 항체(켄셀메니아주 웨스트그루브에 소재한 잭슨 면역노리서치 래버러토리즈(Jackson ImmunoResearch Laboratories))를 이용하여 Fab를 검출하였다. PBS +/-를 이용하여 세포를 2회 세척하고 나서, 0.1% BSA(미주리주 세인트루이스에 소재한 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich))를 이용하여 셀스트리퍼(Cellstripper)(버지니아주 매너서스에 소재한 셀그로(Cellgro)) 중에서 재현탁시켰다. 일부 경우에, 증가된 pH, 증가된 온도 및 증가된 해리 시간을 포함하는 더 높은 엄격 조건을 사용하였다. 인텔리사이트(Intellicyt) 고처리율 유세포분석기(HTFC, 뉴멕시코주 앨버커키에 소재한 인텔리사이트)를 이용하여 평균 세포 형광을 검출하였다. 모의(mock)-형질감염 대조군으로부터 신호를 차감함으로써, 그리고 야생형 Siglec-9-형질감염 대조군으로부터 신호를 정규화 시킴으로써 야생형 Siglec-9 단백질 반응성에 비해 각각의 돌연변이체 클론에 대한 Fab 반응성을 계산하였다.

[0608] 그들이 시험 Fab의 반응성을 뒷받침하지 않지만, 상업적으로 입수 가능한 기준 Mab MAB1139(R&D 시스템즈, 카탈로그 번호: 191240), 또는 추가적인 항-Siglec-9 Fab의 반응성을 뒷받침한다면, Fab 에피토프에 대해 중요한 것으로 임상 클론 내의 돌연변이된 잔기를 동정하였다. 이 반대-선별 전략은 국소적으로 미스폴딩되거나 또는 발현 결합을 갖는 Siglec-9 돌연변이체의 배제를 용이하게 하였다.

[0609] **도 1b**는 선별에서 동정되는 모든 중요한 잔기에 대해 평균 결합 반응성 및 범위를 도식화한다. 1차 중요 잔기를 잔기로서 동정하였으며, 여기서, 돌연변이는 시험 항체 결합에 대해 음성이지만(WT에 대한 결합의 30% 미만) 대조군 항체에 대해 양성이었다(80% WT 초과). **도 1C 내지 도 1E**는 항-Siglec-9 항체 2D4, 5C6 및 12B12에 대해 적색 구체로서 중요한 잔기를 나타내는 Siglec-9의 결정 구조 모델을 도식화한다(PDB ID 2ZG2; Zhuravleva et al., 2008). 항체 결합에 대해 중요한 아미노산 잔기를 **표 8B**에 열거한다.

표 8B: 항-Siglec-9 항체 결합에 수반된 잔기

항체	중요한 Siglec-7 잔기
2D4 Fab	D ₁₈₉ ; P ₁₉₀ ; 및 R ₁₉₄
12B12 Fab	H ₄₈ ; W ₅₀ ; I ₅₁ ; Y ₅₂ ; 및 I ₁₂₆
5C6 Fab	L ₂₂ ; H ₄₈ ; W ₅₀ ; I ₅₁ ; Y ₅₂ ; 및 K ₁₂₃

[0610]

[0611] **표 8B**에 나타내는 바와 같이, 항체 2D4에 의한 결합에 연루된 중요한 Siglec-9 잔기는 서열번호 1의 아미노산 잔기 D₁₈₉, P₁₉₀ 및 R₁₉₄에 대응된다. 항체 12B12에 의해 결합에 연루된 중요한 Siglec-9 잔기는 서열번호 1의 아미노산 잔기 H₄₈, W₅₀, I₅₁, Y₅₂ 및 I₁₂₆에 대응되었다. 항체 5C6에 의해 결합에 연루된 중요한 Siglec-9 잔기는 서열번호 1의 아미노산 잔기 L₂₂, H₄₈, W₅₀, I₅₁, Y₅₂ 및 K₁₂₃에 대응되었다.

[0612] 실시예 3: 시험관내 및 생체내 Siglec-9의 세포 표면 수준의 Siglec-9 항체-유도 감소

[0613] *Siglec-9의 시험관내 발현*

[0614] 다음의 실시예의 목적은 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 단핵구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, T 세포, 및/또는 미세아교세포 상에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키는지의 여부를

시험하는 것이다.

[0615] 급성 단핵구성 백혈병 세포주 THP-1뿐만 아니라 인간 1차 단핵구, 말소 혈액 단핵구로부터 유래된 인간 1차 수지상 세포(DC), 인간 1차 대식세포 및 인간 1차 미세아교세포 상의 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키는 Siglec-9 항체의 능력을 평가하였다. ml 당 200,000개 세포로 24-웰 플레이트에서 또는 10% 하이클론(Hyclone) FBS, 2mM 글루타민, 페니실린/스트렙토마이신 및 비-필수 아미노산으로 보충한 2ml의 RPMI 중의 500,000개 세포로 6-웰 접시에서 세포 샘플을 플레이팅하였다. Siglec-9 항체 또는 대조군 아이소타입을 1.0 μ g/ml로 첨가하고 나서, 24시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 5% CO₂와 함께 인큐베이션시켰다.

[0616] 수용체 역학을 평가하기 위해, 항체를 1시간 동안 세포에 결합시키고, 세척하고 나서, Siglec-9의 표면 수준을 24시간 및 48시간 후에 결정하였다.

[0617] 세포 표면 수용체 발현을 FACS 분석에 의해 검출하였다. 세포를 항-Siglec-9-FITC 클론 HIM3-4뿐만 아니라 대조군 표면 마커(U937: Siglec-5, 인간 단핵구: CD14, 인간 수지상 세포: CD11c, 인간 대식세포: CD11b)와 함께 암실에서 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. FACS 완충제(PBS +2% FBS, 2mM EDTA) 중에서 세포를 2X 세척하고 나서, BD FACS 칸토 상에서 유세포 분석을 수행하였다. 트리스타 플로우조(TreeStar FlowJo) 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다. 각각의 형광단에 대해 MFI 값을 이용하여 항체의 부재 하에 수용체 발현%로서 데이터를 계산하였다.

[0618] 표 9A 및 표 9B는 인간 세포로부터의 Siglec-9 세포 표면 수준의 결과를 도시한다. 표 9A 및 표 9B에서, "Ab 없음"은 항체로 처리하지 않은 세포를 지칭하고; "mIgG1", "mIgG2a"; 및 "mIgG2b"는 아이소타입 대조군 항체를 지칭한다.

표 9A: Siglec-9 항체는 인간 세포주에서 그리고 인간 1차 세포에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킨다

Ab	Siglec-9 표면 발현%					
	THP-1 세포		단핵구		DCs	
	Siglec-9%	대조군%	Siglec-9%	대조군%	Siglec-9%	대조군%
2D4	56.2	96.0	5.4	60.3	16.6	93.2
2D5	81.1	95.0	84.4	81.8	94.3	102.2
5B1	61.6	91.1	31.2	62.4	39.2	98.1
6B2	60.3	95.6	16.9	62.6	27.4	88.2
6D8	62.6	96.7	42.2	68.7	60.2	90.3
7H12	68.9	92.8	48.4	72.9	66.2	90.6
No Ab	100	100	100	100	100	100
mIgG1	100	99.5	100.5	97.8	96.5	100.3
mIgG2a	95.9	95.9	101.1	95.2	98.6	96.6
mIgG2b	98.0	96.0	98.9	103.7	93.4	93.5

[0619] 표 9B: Siglec-9 항체는 인간 1차 세포에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킨다

Ab	Siglec-9 표면 발현%			
	대식세포		미세아교세포	
	Siglec-9%	대조군%	Siglec-9%	대조군%
2D4	14.0	70.3	12.8	91.9
2D5	94.6	77.6	90.6	89.3
5B1	24.8	67.7	27.5	102.6
6B2	17.6	64.9	25.8	105.3
6D8	21.3	68.7	45.4	95.3
7H12	34.2	67.5	54.7	88.8
No Ab	100	100	100	100
mIgG1	99.3	95.3	90.3	85.6
mIgG2a	97.8	100.7	91.2	90.1
mIgG2b	97.2	93.9	91.7	85.7

[0620] 표 9A 및 표 9B에서 나타내는 바와 같이, 대다수의 항체는 다양한 유형의 인간 세포 상에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킬 수 있었다. 그러나, Siglec-9의 80% 이상의 세포 표면 발현 수준의 역치값을 이용하여, 항체 2D5가 임의의 시험한 인간 항체의 세포 상에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키지 않는다는 것이 발견되었다.

[0622] 도 7a 내지 도 7E는 대다수의 항체가 THP-1 세포(도 7a), 인간 1차 단핵구(도 7b), 인간 1차 수지상 세포(도 7c), 인간 1차 대식세포(도 7d), 인간 1차 수지상 세포(도 7e) 상의 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킬 수 있다는 것을 추가로 보여준다. 도 7F는 인간 1차 수지상 세포 상의 Siglec-9의 표면 수준이 Siglec-9 항체 2D4

및 6B2로 처리될 때 농도-의존적 방식으로 감소된다는 것을 입증한다.

[0623] 추가적으로, 시험관내 표면 Siglec-9 하향조절 연구를 수행하며, 이때 Siglec-9 항체 5C6, 12B12 및 17C2, 및 아이소타입 대조군 항체(mIgG2a)를 2배로 적정하였다. 1차 인간 대식세포를 채취하고 나서, 상기 기재한 바와 같이 플레이팅하였다. 결합을 평가하기 위해 Siglec-9 항체를 1nM 내지 0.001 μ g/ml의 농도 범위로 10배 적정하였다. 항체를 연속희석시키고, 상기 기재한 바와 같이 세포와 함께 인큐베이션시켰다. 도 7I에서 나타내는 바와 같이, 항-Siglec-9 항체 5C6, 12B12 및 17C2는 1차 인간 대식세포 상에서 Siglec-9의 세포 표면 발현을 하향조절할 수 있었다. 대조군 수용체 CD11b의 세포 표면 발현은 Siglec-9 항체에 의한 처리에 의해 영향받지 않았다(도 7J).

[0624] *Siglec-9의 생체내 발현*

[0625] 생체내 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키는 Siglec-9 항체의 능력을 시험하기 위해, 인간화된 NSG 마우스(hu-NSG)를 이용하였다. Hu-NSG 마우스는 인간 CD34+ 조혈모세포로 생착된 NOD-scid IL2R γ null(null) 마우스이다. 암컷 Hu-NSG 마우스를 Jax로부터 구입하고 나서 인간 세포와 함께 생착 후 15주에 이용하였다. 마우스는 제 0일에 40mg/kg 항-Siglec-9 항체 2D4 또는 아이소타입 대조군 마우스 IgG1 항체(클론 MOPC-21)의 복강내 주사를 받았다. 제1일에, 혈액 샘플을 마우스로부터 해파린 내로 회수하고 나서, FACS 분석을 위해 처리하였다. 간략하게, 혈액 샘플을 빙랭 ACK 용해 완충제에서 5분 동안 처음 인큐베이션시켜 적혈구를 용해시키고, 이어서, 차가운 PBS를 이용하여 광범위하게 세척하였다. 이 절차를 2회 반복하였다. 이어서, 세포를 Fc 차단 용액의 존재 하에 얼음 상에서 항-인간-CD45-Pe-Cy7, 항-마우스-CD45-APC-Cy7, 항-인간-CD3-PerCP-Cy5.5, 항-인간-CD14-FITC, 항-인간-CD11c-PB, 항-Siglec-9-APC, 항-CD33-PE 및 생존도 다이(viability dye)(라이프 테크놀로지스, 카탈로그 번호 L34957)의 존재 하에 30분 동안 FACS 완충제(PBS +2% FBS, 2mM EDTA) 중에서 인큐베이션시키고, 차가운 FACS 완충제를 이용하여 2회 세척하였다. 이어서, 4% PFA-고정 샘플을 획득하였다. BD FACS 칸토(상표명) II 세포계산기(백톤 디킨슨(Becton Dickinson)) 상에서 데이터를 획득하고 나서, 플로우조 소프트웨어를 이용하여 분석하였다. Siglec 9 및 대조군 수용체 CD33의 발현 수준을 항체 처리 후 -제7일, 제1일, 제7일, 제14일 및 제21일에 hCD45+, hCD14+ 세포 집단에서 결정하였다.

[0626] 도 7G 내지 도 7H에서 나타내는 바와 같이, 항-Siglec-9 항체 2D4에 의한 처리는 대조군 mIgG1 항체 치료에 비해 처리된 hu-NSG 마우스의 말초 혈액 세포에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킬 수 있었다. Siglec-9 발현은 항체 처리 후 1일만큼 빨리 대략 80%까지 감소되었다(도 7G). 비교로서, 관련없는 표면 수용체 CD33의 세포 표면 발현은 mIgG1 대조군 항체에 의한 처리 후 CD33의 세포 표면 수준에 비해 항-Siglec-9 항체 처리 후 상당히 감소되지 않았다(도 7H).

[0627] 도 7k 내지 도 7n에서 나타내는 바와 같이, 항-Siglec-9 항체 2D4에 의한 처리는 대조군 아이소타입 MOPC21 항체 치료에 비해 처리된 hu-NSG 마우스의 말초 혈액 세포에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킬 수 있었다. Siglec-9 발현은 항체 2D4에 의한 항체 처리 후 1일만큼 빨리 대략 80%까지 감소되었다(도 7L). Siglec-9 발현의 이런 감소는 처리 후 21일 동안 지속되었다(도 7k 및 도 7L). 비교로서, 관련없는 표면 수용체 CD33의 세포 표면 발현은 mIgG1 대조군 항체에 의한 처리 후 CD33의 세포 표면 수준에 비해 항-Siglec-9 항체 처리 후 상당히 감소되지 않았다(도 7k 및 도 7M).

[0628] 이들 결과는 인간화된 마우스를 이용할 때, Siglec-9 항체가 생체내 Siglec-9와 맞물리고, 인간 면역 세포 상의 Siglec-9를 작용적으로 하향조절한다는 것을 입증한다. 상기 결과는 추가로 Siglec-9 항체 2D4가 인간화된 마우스 내로 주사될 때, 마우스의 혈액에서 순환하는 말초 hCD45⁺ hCD14⁺ 골수 세포 상의 Siglec-9에 맞물린다는 것을 입증한다. Siglec-9의 항체 맞물림은 Siglec-9에 대해 수용체 하향조절을 특이적으로 야기하며, 대조군 수용체인 CD33에 대해서는 그렇지 않다. 2D4 항체의 단일 주사 후에, 인간 단핵구 상에서 발현된 Siglec-9의 80%는 처리 후 1일에 하향조절된다. 수용체 상실은 항체 2D4의 단일 처리에 의한 처리 후 21일 동안 지속된다.

[0629] *TREM2의 발현에 대한 Siglec-9 항체의 효과*

[0630] TREM2 발현을 조절하기 위한 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키는 Siglec-9 항체의 능력을 시험하기 위해, GM-CSF 및 IL-4에 의해 분화된 인간 단핵구-유래 수지상 세포를 제6일에 채취하였고, 1.0 μ g/ml 항-Siglec-9 항체 2D4, 아이소타입 대조군 항체와 함께 밤새 24웰 접시에서 웰 당 500,000개 세포로 플레이팅하거나 또는 비처리로 남겨두었다. 다음날 FACS 분석에 의해 CD11c, TREM2 및 Siglec-9에 대한 세포 표면 수용체 발현을 검출하였다. 얼음 상에서 20분 동안 바이오틴일화된 항-TREM2 항체 10A9와 함께 세포를 인큐베이션시켰다. 1회 세척 후에, 암실에서 얼음 상에서 30분 동안 세포를 APC 접합된 스트렙타비딘(BD 바이오사이언시스, 1:150 희석), 항

-Siglec-9-PE 클론 K8(바이오레전드) 및 항-CD11c-PECy7(BD 바이오사이언시즈)와 함께 FACS 완충제 중에서 인큐베이션시켰다. FACS 완충제(PBS +2% FBS, 2mM EDTA) 중에서 세포를 3X 세척하고 나서, BD FACS 칸토 상에서 유세포 분석을 수행하였다. 트리스타 플로우조(TreeStar FlowJo) 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다. 각각의 형광단에 대해 MFI 값을 이용하여 항체의 부재 하에 수용체 발현%로서 데이터를 계산하였다.

[0631] 도 7o 및 도 7p에 나타난 바와 같이, Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킬 수 있는 항-Siglec-9 항체 2D4는 TREM2 발현에 영향을 미치지 않았다.

[0632] TREM2에서 기능상실 돌연변이는 나수-하코라병, 전두측두엽 치매 및 알츠하이머병을 포함하는 중증의 신경변성과 관련되었다. ITIM-함유 Siglec 수용체의 조절은 TREM2 발현에 영향을 미칠 수 있는 것으로 여겨진다. 따라서, 인간 면역 세포 상의 TREM2 발현을 감소시키지 않는 항-Siglec-9 항체는 긍정적인 치료적 결과에 대해 중요할 수 있다. 도 7o 및 도 7p의 결과는 세포 표면 수준 Siglec-9를 강하게 감소시키는 항-Siglec-9 항체 클론 2D4가 인간 수지상 세포 상에서 TREM2 발현을 감소시키지 않는다는 것을 보여준다.

[0633] 실시예 4: Siglec-9 항체는 인간 Siglec-9에 대한 결합에 대해 Siglec-9 리간드와 경쟁하는지 여부의 결정

[0634] 다음의 실시예의 목적은 항-Siglec-9 항체가 Siglec-9 상의 리간드-결합 부위를 인식하고, 세포 상에서 Siglec-9 수용체 상의 리간드 결합과 경쟁하는지의 여부를 시험하는 것이다.

[0635] Siglec-9 항체가 시알산 리간드에 대한 결합을 차단하는지의 여부를 결정하기 위해, Siglec-9에 우세하게 결합하는 시알산 리간드를 강하게 발현시키는 U937 세포를 FACS-기반 프로토콜에서 이용하였다. 간략하게, 96-웰 둥근 바닥 플레이트 내 결합 완충제(0.25% BSA 및 1mM CaCl₂와 함께 PBS) 중의 얼음 상에서 20분 동안 25µg/ml Siglec-9-Fc(R&D 시스템즈, 카탈로그 번호 1139-SL-050)와 25µg/ml Siglec-9 항체를 사전 결합시켰다. 항-인간 CD64 항체(10µg/ml, 애피메트릭스 카탈로그 번호 16-0649-85 클론 10.1)로 사전 차단시킨 U937 세포를 각각의 웰에 첨가하고 나서, 45분 동안 얼음 상에서 인큐베이션시켰다. 세포를 펠렛화하고 나서, 30분 동안 결합 완충제 중에서 1:2000으로 염소 항-인간 IgG-PE(사우던바이오테크(SouthernBiotech) 카탈로그 번호 2040-09) 2차 항체에서 재현탁시켰다. 이어서, 세포를 3회 세척하고 나서, BD FACS 칸토 상에서 유세포분석에 의해 분석하였다. 플로우조 버전 10.0.6(트리스타) 상에서 데이터를 분석하였다.

[0636] 리간드 경쟁 분석의 결과를 표 10에서 도시한다. 표 10에서, "Siglec-9-Fc"는 Siglec-9-Fc만으로 처리한 세포를 지칭하고; "아이소타입"은 아이소타입 대조군 항체를 지칭하며; "2차 Ab"는 PE-결합 2차 항체로만 처리한 세포를 지칭한다.

표 10

Siglec-9 항체는 U937 세포에 대한 Siglec-9-Fc 결합을 차단하지 않는다	
항체	Siglec-9-Fc 결합%
2D4	99.2
2D5	97.8
5B1	97.8
6B2	97.8
6D8	97.8
7H12	97.8
Siglec-9-Fc	100
아이소타입	0.021
2차 Ab	0

[0638] 표 10에서 나타내는 바와 같이, Siglec-9 항체는 U937 세포에 대한 Siglec-9-Fc 결합을 차단할 수 없었는데, 따라서 항체는 Siglec-9 상의 리간드-결합에 대한 결합과 경쟁하지 않으며, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하지 않는다(즉, Siglec-9에 대한 리간드 결합을 차단하지 않는다)는 것을 나타낸다.

[0639] 별개의 실험에서, U937 세포를 배양시키고, 실험 분석 전 몇 회 계대시켰다. 트립신 또는 EDTA를 이용하여 U937 세포를 채취하고 나서, U-바닥 96-웰 플레이트에서 웰 당 대략 100,000개로 플레이팅하였다. 결합 완충제(PBS +0.25%BSA 및 1mM CaCl₂) 중에서 세포를 1X 세척하고 나서, 100µl 결합 완충제 중에서 세포를 재현탁시켰다. 별

개의 96-웰 플레이트에서, Siglec-9-Fc를 항-Siglec-9 항체 2D4, 5C6, 12B12, 17C2 또는 아이소타입 대조군과 함께 사전인큐베이션시켰다. Siglec-9-Fc 용합 단백질을 50 μ g/ml의 저장 농도에서 저장하였고, rhIgG1-Fc는 음성 대조군으로서 작용하고, 0.5 μ g/웰에 대해 10 μ l 저장액/웰을 사용하였다. Siglec-9 항체를 PBS 중의 1.0mg/ml 저장액으로 4℃에서 저장하였고, 1.0 μ g/웰 총 항체에 대해 1 μ l/웰을 사용하였다. Fc 용합 + 항체를 동일한 웰에 첨가하였고, 얼음 상에서 10분 동안 결합시켰다. Fc+/-mab를 U937 세포에 옮기고 나서, 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 100ul 결합 완충제와 함께 1X로 세척하고 나서, 1200rpm에서 5분 동안 펠렛화하였다. 2차 마우스 항-인간 1:2000 PE와 함께 100 μ l/웰 결합 완충제 중에서 세포를 재현탁시키고, 얼음 상에서 30분 동안 2차 항체와 함께 인큐베이션시키고 나서, 결합 완충제로 2X 세척하였다. FACSCanto(BD) 상에서 PE 신호 검출을 위한 FACS 분석을 수행하였고, MFI에 비해 플로우조(트리스타)를 이용하여 데이터를 분석하였다.

[0640] 도 7q에서 나타내는 바와 같이, Siglec-9 항체 5C6, 12B12 및 17C2는 U937 세포에 의해 발현되는 내인성 시알산 리간드에 대한 수용체 결합을 차단할 수 있었다. 표 10의 결과와 일치되게, 항체 2D4는 리간드 결합을 차단할 수 없었고, 대신에 리간드-수용체 상호작용을 향상시키는 것으로 나타났다(도 7q). 상기 결과는 리간드 차단이 ITIM 신호전달을 방지하고, Siglec-9 수용체 기능을 저해하기 위한 한 가지 접근일 수 있다는 것을 나타낸다.

[0641] 실시예 5: Siglec-9 항체 작용 연구의 요약.

[0642] 표 11은 상기 실시예 3 및 4에 기재한 세포 표면 발현 및 리간드 결합 연구의 결과를 요약한다. 표 11에 나타내는 바와 같이, 3가지 일반적 부류의 Siglec-9 항체가 있다. 한 가지 부류의 항체는 Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하는 일 없이 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시킨다. 항체의 이런 부류의 항체는 2D4, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12를 포함한다.

[0643] 항체의 제2 부류는 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키지 않고, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해하지 않는다. 항체의 이런 부류의 항체는 2D5를 포함한다.

[0644] 제3 부류의 항체는 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시키고, Siglec-9와 하나 이상의 Siglec-9 리간드 사이의 상호작용을 저해한다. 항체의 이런 부류의 항체는 5C6, 12B12 및 17C2를 포함한다.

표 11

[0645]

Siglec-9 항체 작용성 연구		
항체	Siglec-9 세포 표면 발현 구조	리간드 결합의 차단
2D4	X	
2D5		
5B1	X	
6B2	X	
6D8	X	
7H12	X	
5C6	X	X
12B12	X	X
17C2	X	X

[0646] 실시예 6: 수지상 세포 상의 Siglec-9에 대한 리간드 결합은 T 세포 증식 및 식세포작용을 저해한다

[0647] 인간 수지상 세포(DC)는 GM-CSF 및 IL-4에 의해 말초 혈액 단핵구로부터 분화시키고, 5일 동안 배양시켰다. 미숙(현탁액) DC를 채취하고 나서, 12웰 접시에서 ml 당 200,000개 세포의 밀도로 플레이팅하였다. TNFa(50 μ g/ml), IL-1b(50 μ g/ml), IL-6(150ng/ml), 및 프로스타글란딘 E2(1 μ g/ml)의 사이토카인 콕테일을 이용하여 24시간 동안 DC를 활성화시켰다. LIN, CD11c, HLA-DR, CD86 및 CD83(BD 바이오사이언시즈)에 대해 상업적으로 입수 가능한 항체를 이용하는 유세포분석에 의해 수지상 세포 성숙을 결정하였다. 동종이계 단리된 T 세포와 함께 공동 배양 직전에, 활성화된 DC를 시알리다제 처리하거나 또는 무혈청 배지에서 비브리오 콜레라(*Vibrio cholera*)로부터의 100mU/ml 뉴라미니다제를 이용하여 37℃에서 2시간 동안 비처리로 남겨두었다. 혈청-함유 배지의 첨가에 의해 효소적 활성을 중단시키고, 세포를 펠렛화하고 나서, 완전 배지에서 재현탁시켰다. 시알리다제 활성화되거나, 비처리 활성화되거나 또는 비활성화된 DC를 동종이계 CFSE 표지 T 세포와 1:10의 비로 공동 배양시켰다. CD3/CD28 다이날(Dyna1) 비드를 양성 대조군으로서 T 세포 단독에 첨가하였다. 5일 후에 BD FACS 칸토 상에서

CFSE 회석에 의해 T 세포를 측정하였다.

[0648] 도 8 및 도 9는 수지상 상의 시알산이 혼합된 림프구 반응(MLR) 동안 T 세포 증식을 제한한다는 것을 나타낸다. 도 9는 저해 리간드를 정상적으로 발현시키는 DC가 저수준의 T 세포 증식(좌측 패널)을 유도하는 한편, DC 상의 저해 리간드의 제거가 T 세포 증식(우측 패널)을 증가시킨다는 것을 나타낸다.

[0649] 도 8 및 도 9에서 나타내는 바와 같이, 활성화된 DC로부터의 시알산의 효소적 제거는 비처리 활성화된 DC에 비교할 때 T 세포 증식을 증가시켰다. 이들 결과는 DC 상에 존재하는 시알산이 동종이계 DC와 함께 공동배양시킬 때 T 세포 증식을 제한하는 억제적 방식으로 T 세포 상에서 작용한다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 T 세포 또는 수지상 세포 상의 Siglec-9를 차단하는 항체가 T 세포 및/또는 수지상 세포 작용성을 향상시킨다는 것을 나타낸다. CD3/CD28 다이날(Dynal) 비드를 양성 대조군으로서 사용하였다. 더 나아가, 이들 결과는 DC 또는 임의의 다른 세포 또는 생물학적 공급원과의 시알산 상호작용 차단이 T 세포 작용을 증가시킬 수 있다는 것을 나타낸다.

[0650] 실시예 7: 염증 조건은 골수성 세포에서 Siglec-9 시알산 리간드 발현을 유도한다

[0651] 인간 수지상 세포(DC)는 GM-CSF 및 IL-4에 의해 말초 혈액 단핵구로부터 분화시키고, 5일 동안 배양시켰다. 미숙 인간 DC를 제5일에 채취하고 나서, B16, 루이스 폐, MC38 종양 상청액 또는 10ng/ml LPS로부터의 멸균 여과 상청액과 함께 공동배양시켰다. 24시간 후에, 직접적으로 접합된 Siglec-9-PE 항체에 의한 유세포분석에 의해 Siglec-9 발현을 결정하였다. 인간 IgG1-Fc에 용해된 50 μ g/ml 가용성 Siglec-9와 함께 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션에 의해 시알산 리간드 발현을 평가하고 나서, IgG1-Fc 단독을 인간 Fc 차단의 존재 하에 음성 대조군으로서 사용하였다. 세척 단계 및 PE에 접합된 항-인간 2차와 함께 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션시킨 후에, 세포 상의 시알산에 대한 가용성 수용체의 결합을 검출하였다. BD FACS 칸토 상에서 유세포분석을 수행하였다.

[0652] 1차 대식세포를 유발하기 위해, 말초 인간 혈액 샘플로부터의 인간 단핵구를 분리시키고, 직접 사용하거나 또는 5일 동안 50 μ g/ml M-CSF를 이용하여 대식세포로 분화시켰다. 염증성 사이토카인 생성에서 Siglec-9의 역할을 결정하기 위해, 인간 대식세포를 다양한 염증 매개체와 함께 배양시키고, 사이토카인 수준을 배양 상청액에서 측정하였다. 인간 대식세포를 생성하기 위해, 말초 인간 혈액 샘플로부터의 단핵구를 분리시키고, 직접적으로 또는 50 μ g/ml M-CSF를 이용하여 대식세포로 또는 100 μ g/ml GM-CSF 및 100 μ g/ml IL-4를 이용하여 수지상 세포로 5일 동안 분화시켰다. 세포를 5일 동안 배양시키고, PBS 중의 1mM EDTA를 이용하여 부착 세포를 탈착시켰다. 10⁵ 개 세포/웰로 96웰 플레이트 상에서 세포를 플레이팅하고 나서, 4시간 동안 37℃에서 부착시켰다. 이어서, 0.01 내지 100ng/ml(LPS) 또는 0.01 내지 100 μ g/ml(자이모산(zymosan)) 범위의 농도에서 TLR 작용제 LPS(살모넬라 아보르투스 에퀴(*Salmonella abortus equi*)) 또는 자이모산(사카로마이세스 세레비시아(*Saccharomyces cerevisiae*))를 이용하여 세포를 자극한다. 대안적으로, 10ng/ml의 사이토카인 IL-4 또는 50ng/ml의 IFN- γ 의 존재 하에서 대식세포를 배양시켰다. 자극 후 24 또는 48시간에 세포 배양물 상청액을 수집하고 나서, TNF α , IL-6, IL-10 및 MCP-1 사이토카인의 수준을 제조업자의 프로토콜에 따라 혈구계산 비드 어레이 염증 키트(Cytometric Bead Array Inflammation Kit)(BD)를 이용함으로써 측정한다. 염증 매개체 LPS 또는 자이모산을 이용하여 자극한 대식세포는 Siglec-9 길항적 항체로 또는 저해 글리콜 리간드를 제거하는 효소로 처리할 때 더 많은 염증성 사이토카인 TNF α , IL-6, IL-10 및 MCP-1을 분비하는 것으로 예상된다.

[0653] 도 10A 및 도 10B는 Siglec-9 발현이 종양 상청액에 대한 노출 후에 인간 수지상 세포 상에서 유지된다는 것을 나타낸다. 도 10C 및 도 10D는 종양 상청액이 시알산(Siglec-9 리간드)의 발현을 증가시킨다는 것을 나타낸다. 도 10E 및 도 10F는 Siglec-9 발현이 LPS-유도 염증 동안 인간 수지상 세포 상에서 유지된다는 것을 나타낸다. 도 10G 및 도 10H는 LPS-유도 염증이 시알산(Siglec-9 리간드)의 발현을 증가시킨다는 것을 나타낸다.

[0654] 이들 결과는 염증 조건 및 종양 환경이 Siglec-9와 시알산 리간드 둘 다의 상향조절을 야기한다는 것을 나타낸다. 결과는 또한 증가된 Siglec-9 기능이 인간 1차 수지상 세포를 면역억제할 수 있다는 것을 입증한다. 이들 결과는 하향조절 또는 차단 항체에 의한 Siglec-9의 저해가 면역억제된 골수성-유래 또는 종양-관련 골수성 세포를 해제할 있고, 면역 작용을 회복시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 추가로 골수성 세포 상에서 Siglec-9를 차단하는 항체가 골수성 세포 작용성을 향상시킨다는 것을 나타낸다.

[0655] 실시예 8: 시알리다제 처리를 이용하는 수지상 세포에 의한 증가된 이콜라이 식세포작용

[0656] 다음의 실시예의 목적은 길항적 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 세포자멸사 뉴런의 식세포작용, 신경 조직 파편, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 및 질환-원인 단백질, 예컨대 A 베타

펩타이드, 알파 시뉴클레인 단백질, 타우 단백질, TDP-43 단백질, 프리온 단백질, 헌팅턴 단백질, RAN, 번역 산물 항원(골수성 계통, 예컨대 단핵구, 수지상 세포 대식세포 및 미세아교세포로부터의 세포에서 글리신-알라닌(GA), 글리신-프롤린(GP), 글리신-알기닌(GR), 프롤린-알라닌(PA) 또는 프롤린-알기닌(PR)으로 구성된 다이펩타이드 반복부(DPR 펩타이드)를 포함)을 유도하는지의 여부를 시험하는 것이다. 이중 특이성 항체는 Siglec-9 항원 및, CD3, A 베타 펩타이드, 항원 또는 알파 시뉴클레인 단백질 항원 또는, 타우 단백질 항원 또는, TDP-43 단백질 항원 또는, 프리온 단백질 항원 또는, 헌팅턴 단백질 항원, 또는 RAN, 번역 산물 항원(글리신-알라닌(GA), 글리신-프롤린(GP), 글리신-알기닌(GR), 프롤린-알라닌(PA), 또는 프롤린-알기닌(PR)으로 구성된 다이펩타이드 반복부, (DPR 펩타이드)를 포함)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 제2 항원을 인식하는 항체일 수 있다.

[0657] 말초 인간 혈액 샘플로부터의 단핵구를 로세트셋(RosetteSep)(상표명) 단핵구 단리 항체 칩(스텝셀 테크놀로지(StemCell Technologies))를 이용하여 단리시키고 나서, GM-CSF 및 IL-4(펩로테크(PeproTech))를 이용하여 수지상 세포로 분화시키고, 5일 동안 배양시켰다. 10% 소태아 혈청(하이클론)을 함유하는 RPMI 배지(인비트로젠)에서 배양 접시 상에서 세포를 플레이팅하고 나서, 37°C에서 5% CO₂에서 배양시켰다. 비부착 세포를 수집하고 나서, 식세포작용 실험을 위해 사용하였다.

[0658] 박테리아 식세포작용 분석을 수행하기 위해, 수지상 세포를 채취하고 나서, 사이토카인 없이 2시간 동안 96웰 편평 바닥 플레이트에서 플레이팅하였다. pHrodo-표지한 이콜라이 생체입자(BioParticle)를 제조업자의 프로토콜에 따라 재현탁시키고 나서, 비브리오 콜레라로부터의 0.2U/ml 또는 0.4U/ml 시알리다제, 또는 PBS 단독으로 2.5시간 동안 37°C에서 처리하였다. 생체입자를 세척하고 나서, RPMI에서 재현탁시키고, 20μg/웰에 첨가하였다. 수지상 세포 및 이콜라이 세포를 혼합하고 나서, 펠렛화하고, 37°C에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 사이토칼라신 D를 10 μM로 대조군 웰에 첨가하였다. FACS 분석 직전에, 세포를 얼음에 옮기고 나서, 4°C에서 FACS 완충제에서 2X 세척하였다. pHrodo-표지 이콜라이 식세포작용을 BD FACS 칸토 상의 유세포분석에 의해 PE 채널에서 검출하였다.

[0659] 도 11은 시알리다제 처리가 이콜라이의 수지상 세포-매개 식세포작용을 증가시켰다는 것을 나타낸다. 이들 결과는, 예를 들어, Siglec-9의 세포 표면 발현을 감소시키고/시키거나 Siglec-9에 대한 하나 이상의 Siglec-9 리간드의 결합을 저해하는 길항적 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 또한 식세포작용을 유도하거나 또는 달리 증가시키기 위해 사용될 수 있다는 것을 나타낸다.

[0660] 실시예 9: 알츠하이머병 환자의 뇌 절편에서 Siglec-9 리간드의 증가된 발현

[0661] 바이오틴일화된 Siglec-9-Fc(R&D)에 의한 면역조직화학에 의해 정상 및 알츠하이머병(AD) 환자의 뇌에서 시알산 리간드 발현을 검출하였다. 제조업자의 설명서에 따라 Siglec-9-Fc 단백질을 EZ-연결 실포-NHS-바이오틴(써모 사이언티픽)을 이용하여 바이오틴일화시켰다. 밤새 인큐베이션시킨 것을 제외하고, IHC 절차를 진탕기 상에서 수행하였다. 샘플을 PBS 중의 10% MeOH, 3% H₂O₂에서 15분 동안 인큐베이션시킨 후에, 4% 혈청을 이용하여 PBS 중에서 3회 세척하였다. 다음에, 샘플을 PBS 중의 0.2% 트리톤(상표명)-X100, 4% 혈청, 0.019% L-라이신 중에서 30분 동안 인큐베이션시킨 후에, 1시간 동안 1차 항체에서, 그 다음에 4% 혈청과 함께 PBS 중에서 4 °C에서 밤새 인큐베이션시켰다. 다음날 샘플을 1시간 동안 진탕기 상에 위치시킨 다음, 3회 세척하고, 이어서, 샘플을 ABC 완충제 중에서 1시간 동안 인큐베이션시키고 나서, 3회 세척하였다. 벡터 DAB 페록시다제 키트를 이용하여 샘플을 개발하고 나서, 3회 세척하고, 탈수시키고 나서, 칼라 카메라(200X 배율)를 갖는 니콘(Nikon) 90i 현미경을 이용하여 영상화하였다. 니콘(Nikon) 요소 BR 영상 분석 소프트웨어를 이용하여 정량화를 수행하였다.

[0662] 도 12는 2명의AD 환자(공여자 1 및 공여자 2)로부터의 뇌 절편에서 시알산 Siglec-9 리간드가 상향조절된다는 것을 나타낸다. 5 AD 및 5 비-AD 인간 뇌로부터의 데이터는 일원 ANOVA, p=0.0159에 의한 Siglec-9 시알산 리간드의 발현의 통계학적으로 유의한 증가를 나타낸다(도 12).

[0663] 이들 결과는 세포 표면으로부터 Siglec-9를 제거하거나 또는 증가된 리간드 상호작용을 차단하는 항체가 뇌에서 미세아교세포 또는 다른 골수성 세포 상에서 저해 Siglec-9-의존적 신호전달을 해제하고, 이들 세포에 대해 정상 기능을 회복하며, 알츠하이머병에 대해 유리한 효과를 가진다는 것을 나타낸다.

[0664] 실시예 10: 암세포에서 Siglec-9 리간드의 증가된 발현

[0665] 시험관내 연구

[0666] 마우스 흑색종(B16), 루이스 폐 종양 세포, 또는 결장 암종(MC38)을 배양시키고 나서, 얼음 상에서 50μg/ml

Siglec-9-Fc 또는 IgG1-Fc 대조군과 함께 30분 동안 인큐베이션시켜 이들 세포 유형에 대한 Siglec-9 결합 시알산 리간드 발현 수준을 결정하였다. 0.25% BSA, 1mM CaCl₂와 함께 PBS 중에서 결합 상호작용을 수행하였다. Siglec-9 수용체 결합을 검출하기 위해, 비결합 Siglec-9-Fc를 세척한 후에 염소 항-인간 Fc-PE 2차 항체를 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 결합 완충제에서 3회 세척하고 나서, BD FACS 칸토 상에서 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0667] **도 13**은 저해 Siglec-9 리간드의 발현이 흑색종 세포, 폐 종양 세포 및 결장암 세포에서 배경 이상으로 적어도 20배 증가된다는 것을 나타낸다. 이론에 의해 구속되는 일 없이, 이들 종양 세포 상의 저해제 시알산 리간드 발현의 동정은 암세포가 면역 인식 및 클리어런스를 피하는 기여 메커니즘을 나타낸다. 종양 세포 상의 시알산 리간드는 골수성 및 림프구 면역 세포 상에서 발현된 Siglec-9를 통한 면역억제 상호작용을 매개할 수 있다. 이들 결과는 세포 표면으로부터 Siglec-9를 제거하거나 또는 증가된 리간드 상호작용을 차단하는 항체가 면역계에 대한 종양의 저해 효과를 완화시키고, 암 요법을 향상시킬 수 있다는 것을 나타낸다.

[0668] 생체내 연구

[0669] 4주령의 암컷 타코닉(Taconic) NOG 마우스는 정맥내 주사에 의한 인간 태아 간 CD34⁺ 세포(100,000개 세포/마우스) 생착 대략 24시간 전에 골수를 제거하였다. 면역 세포의 재구성을 말초 혈액의 유세포분석에 의해 모니터링하였다. 생착 12주 후에, 챔피언(Champion) 종양접합 흑색종 모델을 피하로 이식하였다. 대략 8 내지 10주 후에, 종양이 150 내지 200mm³의 크기에 도달되었을 때, 혈액, 비장 및 종양을 채취하고 나서, BD FACS 칸토 상의 유세포 분석에 의한 분석에 대해 처리하였다. 유세포분석을 수행하여 인간(hCD45⁺) 면역계의 상이한 구획에서의 Siglec-9의 발현을 결정하였다. 구체적으로는, 발현을 CD3⁺ T 세포, CD14⁺ 단핵구/대식세포 및 기타CD3-CD14- 인간 면역 세포에서 분석하였다. 데이터를 트리스타에 의한 플로우조 소프트웨어 버전 10.0.6을 이용하여 분석하였다.

[0670] **도 14**에서 도시한 바와 같이, 상기 결과는 Siglec-9가 인간화된 마우스의 이식된 흑색종 종양 내 말초 혈액, 비장 및 종양 침윤성 면역 세포에서 발현된다는 것을 나타낸다. 중요하게는, Siglec-9는 인간 면역 세포 침윤성 흑색종 종양에서 상당히 상향조절된다. 이는 Siglec-9 항체의 치료 능력을 평가하기 위한 이러한 마우스 모델의 적절성을 입증한다.

[0671] 실시예 11: 길항적 및/또는 이중특이성 Siglec-9 항체에 의한 골수성 세포 내 항-염증성 사이토카인 IL-10의 감소

[0672] 이 실시예의 목적은 세포자멸사 세포와 함께 공동배양함으로써, 또는 유사한 자극에 의해, 길항적 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체에 의한 처리 및 100ng/ml LPS(시그마(Sigma))에 의한 자극 후에 골수-유래 골수성 세포가 항-염증성 사이토카인 IL-10 및 다른 항-염증 매개체의 감소를 나타내는지의 여부를 시험하는 것이다.

[0673] 앞서 기재한 바와 같이 인간 골수성 전구체 세포의 단리를 수행한다. 5일 후에 배지를 바꾸고, 세포를 추가 10 내지 11일 동안 배양시킨다. 24시간 후에 상청액을 수집하고 나서, 세포로부터 방출된 IL-10 및 다른 항-염증성 사이토카인 수준을 제조업자의 IL-10 ELISA(알앤디 시스템즈)에 의해 결정한다(JEM (2005), 201; 647-657; 및 PLoS Medicine (2004), 4 | Issue 4 | e124).

[0674] 실시예 12: 길항적 및/또는 이중특이성 Siglec-9 항체에 의해 골수성 계통으로부터의 세포에서 식세포작용의 유도

[0675] 실시예의 목적은 길항적 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 세포자멸사 뉴런의 식세포작용, 신경 조직 파편, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질, 및 질환-원인 단백질, 예컨대 A 베타 펩타이드, 알파 시뉴클레인 단백질, 타우 단백질, TDP-43 단백질, 프리온 단백질, 헌팅턴 단백질, RAN, 번역 산물 항원(골수성 계통, 예컨대 단핵구, 수지상 세포 대식세포 및 미세아교세포로부터의 세포에서 글리신-알라닌(GA), 글리신-프롤린(GP), 글리신-알기닌(GR), 프롤린-알라닌(PA) 또는 프롤린-알기닌(PR)으로 구성된 다이펩타이드 반복부(DPR 펩타이드)를 포함)을 유도하는지의 여부를 시험하는 것이다. 이중 특이성 항체는 Siglec-9 항원 및, A 베타 펩타이드, 항원 또는 알파 시뉴클레인 단백질 항원 또는, 타우 단백질 항원 또는, TDP-43 단백질 항원 또는, 프리온 단백질 항원 또는, 헌팅턴 단백질 항원, 또는 RAN, 번역 산물 항원(글리신-알라닌(GA), 글리신-프롤린(GP), 글리신-알기닌(GR), 프롤린-알라닌(PA), 또는 프롤린-알기닌(PR)으로 구성된 다이펩타이드 반복

부, (DPR 펩타이드)를 포함)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 제2 항원을 인식하는 항체일 수 있다.

- [0676] 로세트셉(RosetteSep) 단핵구 단리 항체 칩(스템셀 테크놀로지스(StemCell Technologies))을 이용하여 말초 인간 혈액 샘플로부터의 단핵구를 단리시키고, 50 μ g/ml M-CSF(켄프로테크)를 이용하여 5일 동안 대식세포, 호중구 및 NK 세포로 분화시켰다. 10% 소태아 혈청 (하이클론)을 함유하는 RPMI 배지(인비트로젠)에서 배양 접시 상에서 세포를 플레이팅하고 나서, 37 $^{\circ}$ C에서 5% CO₂에서 배양시킨다. 부드럽게 긁어냄으로써 부착 세포를 수집하고 나서, 식세포작용 실험을 위해 사용하였다.
- [0677] 문헌[Etemad et al., *J I* (2012), 및 Ohgidani et al., *Scientific Reports* (2014)]에 기재된 프로토콜에 따라 1% 페니실린/스트렙토마이신, 10ng/ml GM-CSF, 10ng/ml M-CSF, 10ng/ml 베타-NGF, 100ng/ml CCL-2, 100ng/ml IL-3와 함께 무혈청 RPMI에서 배양에 의해 인간 미세아교세포를 말초 혈액 단핵구로부터 제조하였다. 작게 구분된 형태가 나타날 때 제7일 내지 제10일에 세포를 채취하였다.
- [0678] 식세포작용 분석을 수행하기 위해, 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포를 세포자멸사 뉴런, 신경 조직 파편, 비-신경 조직 파편, 박테리아, 기타 이물질 및 질환-원인 단백질과 함께 배양시킨다. 5 내지 10일 동안 뉴런을 배양시키고, 이어서, 오카다산을 최종 농도 30nM로 3시간 동안 첨가하여 세포자멸사를 유도한다. 신경세포막을 셀트래커(CellTracker) CM-DiI 막 염료(몰레큘러 프로브(Molecular Probes))로 표지하였다. 인큐베이션 후에, 세포자멸사 뉴런 또는 식세포작용의 다른 표적을 2회 세척하고 나서, 효과기/표적 비 1:20으로 형질도입된 미세아교세포에 첨가한다. 세포자멸사 뉴런의 첨가 후 1시간 및 24시간에, 식세포작용된 뉴런 세포막을 갖는 미세아교세포의 수를 공초점 형광 현미경(레이카(Leica)) 하에 계수화한다. 세포자멸사 세포를 60의 배율로 3개의 상이한 영역에서 계수화한다. 식세포작용의 양을 유세포분석기에 의해 확인한다. 게다가, 세포자멸사 뉴런 첨가 후 24, 48 또는 72시간에, 세포를 수집하고 나서, 사이토카인의 RT-PCR에 대해 사용한다.
- [0679] 마이크로스피어 비드 또는 박테리아 식세포작용 분석을 수행하기 위해, 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포를 항-Siglec-9 작용제 항체로 처리한다. 세포를 채취하고 나서, 사이토카인 없이 2시간 동안 96웰 편평 바닥 플레이트에서 플레이팅하였다. pHrodo-표지한 이콜라이 생체입자(BioParticle)를 제조업자의 프로토콜에 따라 재현탁시키고 나서, 비브리오 콜레라로부터의 0.2 U/ml 또는 0.4 U/ml 시알리다제, 또는 PBS 단독으로 2.5시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 처리한다. 생체입자를 세척하고 나서, RPMI에서 재현탁시키고, 20 μ g/웰에 첨가한다. 세포 및 이콜라이 세포를 혼합하고 나서, 펠렛화하고, 37 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 사이토칼라신 D를 10 μ M로 대조군 웰에 첨가한다. FACS 분석 직전에, 세포를 얼음에 옮기고 나서, 4 $^{\circ}$ C에서 FACS 완충제에서 2X 세척한다. pHrodo-표지 이콜라이 식세포작용을 BD FACS 칸토 상의 유세포분석에 의해 PE 채널에서 검출한다.
- [0680] 24시간 후에, 1.00 μ m의 적색 형광 마이크로스피어 비드(플루오레스브라이트 폴리크로마틱 레드 마이크로스피어즈(Fluoresbrite Polychromatic Red Microspheres); 폴리사이언스 인코포레이티드(Polysciences Inc.))를 1 시간 동안 첨가한다. 미세아교세포에 의한 마이크로스피어 비드의 식세포작용을 형광 현미경에 의해 분석한다. 더 나아가, 미세아교세포를 배양 플레이트로부터 수집하고 나서, 유세포분석기에 의해 분석한다. 식세포 작용 비드를 갖는 미세아교세포의 백분율을 결정한다. 식세포작용이 실험에 따라 다르기 때문에, 식세포작용의 상대적 변화를 또한 결정한다. 데이터를 작용제 항체와 함께 배양시킨 미세아교세포와 대조군 항체 사이의 식세포작용의 상대적 변화로서 나타낸다.
- [0681] 염증 유전자 전사체의 분석에 대한 RT-PCR을 수행하기 위해, 미세아교세포를 Siglec-9 벡터 또는 GFP1 대조군 벡터와 함께 형질도입한다. 이어서, 세포를 접시 상에서 배양시키고 나서, 항-Siglec-9 작용제 항체로 처리한다. 24, 48 및 72시간 후에, RNA를 RNeasy 미니 키트(퀵아젠(QIAGEN))을 이용하여 미세아교세포로부터 단리시킨다. 또한 sh-Siglec-9 RNA, sh-대조군 RNA, wSiglec-9, GFP2, mtDAP12-GFP 및 GFP1 벡터와 함께 형질도입한 미세아교세포로부터 RNA를 수집하고 나서, 48시간 동안 세포자멸사 뉴런과 함께 공동배양시킨다.
- [0682] 이어서, RNA의 역전사를 수행한다. ABI 프리즘 5700 서열 검출 시스템(퍼킨엘머(PerkinElmer)) 상에서 SYBR 그린(Green)에 의한 정량적 RT-PCR을 수행한다. 샘플 정규화를 위해 GAPDH의 증폭을 사용한다. 증폭 프로토콜은 GeneAmp 5700 서열 검출 시스템 소프트웨어(버전 1.3)에 따랐다. GAPDH, TNF-알파, IL-1, NOS2 및 TGF-베타 전사체의 검출을 위해, 200nM의 최종 농도에서 다음의 정방향 및 역방향 프라이머를 사용하였다:

GAPDH 정방향 프라이머 : 5'-CTCCACTCACGGCAAATTCAA-3' (서열번호 241),
 및 GAPDH 역방향 프라이머: 5'-GATGACAAGCTTCCCATTCTCG-3' (서열번호 242);
 TNF- α 정방향 프라이머 : 5'-CCGTCAGCCGATTTGCTATCT-3' (서열번호 243), 및
 TNF- α 역방향 프라이머: 5'-ACGGCAGAGAGGAGGTTGACTT-3' (서열번호 244);
 IL-1 α 정방향 프라이머 : 5'-ACAA- CAAAAAAGCCTCGTGCTG-3' (서열번호 245),
 및 IL-1 α 역방향 프라이머: 5'-CCATTGAGGTGGAGAGCTTTCA-3' (서열번호 246);
 NOS2 정방향 프라이머 : 5'-GGCAAACCCAAGGTCTACGTTC-3' (서열번호 247),
 NOS2 역방향 프라이머: 5'-TACCTCATTGGCCAGCTGCTT-3' (서열번호 248); 및
 TGF- β 1 정방향 프라이머 : 5'-AGGACCTGGGTTGGAAGTGG-3' (서열번호 249), 및
 TGF- β 1 역방향 프라이머: 5'-AGTTGGCATGGTAGCCCTTG-3' (서열번호 250).

[0683]

[0684]

아밀로이드 식세포작용 분석을 수행하기 위해, 하이라이트플루오르(HiLyteFluor)(상표명) 647(아나스펙(Anaspec))-A베타-(1-40)을 트리스/EDTA(pH 8.2) 중에서 20mM로 재현탁시키고, 이어서, 3일 동안 37°C에서 암실에서 인큐베이션시켜서 응집을 촉진시켰다. 응집된 형광 표지된 베타 펩타이드의 첨가 전에, 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포를 낮은 혈청(인슐린으로 보충한 0.5% FBS), LPS(50ng/ml), IFN γ (100 단위/ml) 및 항-Siglec-9 길항적 항체에서 24시간 동안 전처리한다. 100nM 응집된 하이라이트플루오르(HiLyteFluor)(상표명) 647-Ab-(1-40)의 첨가 후 5시간에 유세포측정 분석에 의해 Siglec-9의 아밀로이드 식세포작용 및 표면 발현을 결정한다(문헌[ASN NEURO (2010) 2(3): 157-170]). 다른 질환-원인 단백질의 식세포작용을 유사한 방식으로 수행한다.

[0685]

실시예 13: 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체에 의한 SYK 및/또는 ERK 활성화의 저해

[0686]

이 실시예의 목적은 작용성 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 Syk 및 ERK 활성화를 유도하는지의 여부를 시험하는 것이다.

[0687]

미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포를 작용성 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체에 1시간 동안 노출시킨다. 자극 후에, 웨스턴 블롯 분석을 위한 환원 샘플 완충제 중에서 세포를 용해시킨다. 웨스턴 블롯 분석에 의해 항-포스포-Syk 또는 ERK 및 항-Syk 또는 ERK 항체를 각각 이용하는 면역-검출에 의해(둘 다 세포 신호전달 기법으로부터) ERK의 인산화 및 Syk 및/또는 ERK의 총량을 결정한다(JEM (2005), 201, 647-657).

[0688]

실시예 14: Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체는 Syk 인산화를 유도한다

[0689]

비장 타이로신 키나제(Syk)는 몇몇 기질을 인산화시켜서, 세포의 활성화 및 염증 과정을 야기하는 신호전달 복합체의 형성을 용이하게 함으로써 Siglec-9의 하류에서 작용하는 세포내 신호전달 분자이다. 인간 대식세포, 인간 호중구, 인간 NK 세포 및 인간 1차 수지상 세포를 배양시킴으로써, 그리고 세포 추출물에서 Syk 단백질의 인산화 상태를 측정함으로써 Syk 활성화를 유도하기 위한 작용제 Siglec-9 항체의 능력을 결정한다.

[0690]

인간 1차 수지상 세포를 1% 혈청 RPMI에서 4시간 동안 기아상태로 만들고, 이어서, PBS-EDTA를 이용하여 조직 배양물 접시로부터 제거하고 나서, PBS로 세척하고, 계수화한다. 세포를 전장 작용제 Siglec-9 항체, 또는 대조군 항체로 15분 동안 얼음 상에서 코팅시킨다. 차가운 PBS를 이용하는 세척 후에, 세포를 염소 항-인간 IgG의 존재 하에 표시한 일정 기간 동안 37°C에서 인큐베이션시킨다. 자극 후에, 세포를 용해 완충제(1% v/v NP-40%, 50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1.5mM MgCl₂, 10% 글리세롤, + 프로테아제 및 포스파타제 억제제)를 이용하여 용해시킨 다음 16,000g에서 10분 동안 4°C에서 원심분리시켜 불용성 물질을 제거하였다. 이어서, 용해물을 항-Syk Ab(인간 DC에 대해 4D10, 산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology))를 이용하여 면역침전시킨다. 침전된 단백질을 SDS-PAGE에 의해 분획화하고, PVDF 막에 옮기고 나서, 항-포스포타이로신 Ab(4G10, 밀리포어)를 이용하여 프로빙한다. 모든 기질이 적절하게 면역침전된다는 것을 확인하기 위해, 면역블롯을 항-Syk(노부스 바이올로지컬(Novus Biological)), 인간 DC에 대해)를 이용하여 재프로빙한다. 기재한 바와 같이(예를 들어, 문헌[Peng et al., (2010) Sci Signal., 3(122): ra38]) 향상된 화학발광(ECL) 시스템(GE 헬스케어)을 이용하여 시각화를 수행한다.

[0691]

실시예 15: 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체에 의한 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포

및 수지상 세포에서의 CCR7의 유도 및 CCL19 및 CCL21을 향한 이동

- [0692] 본 실시예의 목적은 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 및 수지상 세포에서 CCR7을 유도하고 CCL19 및 CCL21을 향해 이동하는지의 여부를 시험하는 것이다.
- [0693] 미세아교세포, 대식세포 또는 수지상 세포를 작용성 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9/DAP12 이중특이성 항체와 함께, 또는 대조군 항체와 함께 배양시킨다. 72시간 후에 세포를 수집하고 나서, CCR7 특이적 항체로 면역표지하고 나서, 유세포분석에 의해 분석한다.
- [0694] 증가된 CCR7 발현의 임의의 작용성 결과를 결정하기 위해, 주화성 분석을 수행한다. 길항적 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9/DAP12 이중 특이성 항체와 함께 Siglec-9를 통해 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포를 자극하고 나서, 2-챔버 시스템에 넣었다. 케모카인 리간드 CCL19 및 CCL21를 향해 이동하는 미세아교세포의 수를 정량화한다(JEM (2005), 201, 647-657).
- [0695] 주화성 분석을 위해, 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포를 길항적 항-Siglec-9 항체 또는 Siglec-9 이중 특이성 항체에 노출시키고 나서, $1\mu\text{g}/\text{ml}$ LPS로 처리한다. 하부 챔버에서 $100\text{ng}/\text{ml}$ CCL19 또는 CCL21(둘 다 펩프로테크사(PeproTech))와 함께 $450\mu\text{l}$ 배지를 포함하는 트랜스웰 시스템($3\mu\text{m}$ 기공 필터; 밀리포어)의 상부 챔버 내로 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포를 옮긴다. 1시간의 인큐베이션 기간 후에, 하부 챔버로 이동된 미세아교세포 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포의 수를 현미경에 의해 3개의 독립적 영역에서 계수화한다(JEM (2005), 201, 647-657).
- [0696] 실시예 16: 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체에 의한 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 및 수지상 세포에서의 F-액틴의 유도
- [0697] 본 실시예의 목적은 길항적 항-Siglec-9 항체, 또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 및 수지상 세포에서 F-액틴을 유도하는지의 여부를 시험하는 것이다.
- [0698] Siglec-9로 형질도입되거나 또는 Siglec-9를 발현시키는 미세아교세포, 대식세포, 호중구, NK 세포 또는 수지상 세포 및 관심 대상의 다른 세포를 첨가하여 플레이트를 배양시키고, 이어서, 길항적 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중특이성 항체, 또는 대조군 항체에 노출시킨다. 세포를 고정시키고 나서, 차단시키고, 이어서, 1시간 후에 알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 546-접합 팔로이딘(몰레큘러 프로브)으로 염색하고, 형광 염료를 이용하여 F-액틴을 표지한다. 40x 대물 렌즈(레이카)를 갖는 공초점 레이저 주사 현미경에 의해 영상을 수집한다. (JEM (2005), 201, 647-657).
- [0699] 실시예 17: 파골세포 생성의 유도 및 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체에 의한 파골세포형성의 증가된 속도
- [0700] 본 실시예의 목적은 길항적 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체가 파골세포 생성을 유도하고 파골세포형성 속도를 증가시키는지의 여부를 시험하는 것이다.
- [0701] 인간 단핵구 유래 단핵구/대식세포를 RPMI-1640 배지(메디아테크(Mediatech)), 또는 10% FBS (아틀란틱 바이올로지스(Atlantic Biologics), 미국 조지아주 애틀랜타에 소재) 및 페니실린-스트렙토마이신-글루타민(메디아테크(Mediatech))로 보충한 다른 적절한 배지에서 유지한다. 10% FBS, 페니실린-스트렙토마이신-글루타민, $50\text{ng}/\text{ml}$ RANKL, 및 $20\text{ng}/\text{ml}$ M-CSF로 보충한 알파-MEM 배지에서 3000개 세포/웰로 96-웰 플레이트에서 세포를 파종한다. 배지를 3일마다 바꾸고, 항-Siglec-9 길항적 항체에 노출시키고 나서, 다핵 (적어도 3개의 핵) TRACP⁺ 파골세포의 수를 계수화하고, 광학 현미경으로 스코어링한다. 복잡성 및 크기를 결정하기 위해, 파골세포를 핵의 수에 의해 계수화한다(10개 초과 또는 3 내지 10개의 핵). 이미지 J 소프트웨어(NIH)를 이용함으로써 파골세포의 표면적을 또한 측정한다. 추가로, 파골세포 유전자의 발현 수준을 결정한다. TRIzol 시약(인비트로젠)을 이용하여 상이한 시점에 파골세포형성 배양물로부터 총 RNA를 추출한다. 슈퍼스크립트 III(SuperScript III) 키트(인비트로젠)를 이용하는 제1 가닥 cDNA 합성 후에, 실시간 정량적 PCR 반응을 Nfatc1, Acp5, Ctsk, Calcr 및 Ccnd1에 대해 수행한다. 표적 mRNA 발현의 상대적 정량화를 계산하고 나서, 사이클로필린의 발현에 대해 정규화하고, (사이클로필린의 표적 유전자/mRNA의 mRNA) 3×10^6 으로서 표현한다. (J. OF BONE AND MINERAL RESEARCH (2006), 21, 237-245; J Immunol 2012; 188:2612-2621).
- [0702] 대안적으로, 대식세포, 호중구 또는 NK 세포를 3중 웰에서 플레이트 상에 파종하고 나서, RANKL, M-CSF로, 그리고 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체, 또는 아이소타입-매칭 대조군 단일클론 항체로

처리하였다. 거대 다핵 세포가 보일 때까지 배지를 3일마다 교체한다. 배양물에서 3 내지 5일 후에, PBS 중의 3.7% 폼알데하이드로 10분 동안 세포를 고정시킨다. 이어서, 플레이트를 PBS 중에서 2회 세척하고 나서, 50% 아세톤 및 50% 에탄올 용액 중에서 30초 동안 인큐베이션시키고, PBS로 세척하였다. 시그마(Sigma)(제품 435)로부터의 키트를 이용하여 타르타르산염-내성 산 포스포타제(TRAP)에 대해 세포를 염색한다. 이어서, 다핵(2개 초과)의 핵), TRAP-양성 세포를 기재한 바와 같은 광학 현미경에 의해 계수화한다(예를 들어, 문헌[Peng et al., (2010) Sci Signal., 3(122): ra38]).

[0703] 실시예 18: 전체 동물에서 EAE 및 쿠프리존으로부터의 생체내 보호

[0704] 성인 7 내지 9주령 암컷 C57BL/6 마우스(찰스 리버 래버러토리즈(Charles River Laboratories)로부터 얻음)를 불완전 프로인트 애주번트(디프코(Difco)) 중에서 100 μ g의 미엘린 회소돌기신경교 당단백질 펩타이드 35-55(아미노산 MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK(서열번호 251); 세크랩(SeqLab)) 및 1 mg의 마이코박테리움 투베르쿨로시스(Mycobacterium tuberculosis) H37 Ra(디프코)를 함유하는 200 μ l의 접종물로 양 방향으로 꼬리 아래 부분에 주사한다. 백일해 독소(200 ng; 리스트 바이올로지컬 래버러토리즈(List Bio-logical Laboratories))를 제0일에 그리고 면역화 후 제2일에 주사한다. 다음과 같이 임상 징후를 스코어링한다: 0, 임상 징후 없음; 1, 완전히 축 처진 꼬리; 2, 완전히 축 처진 꼬리 및 비정상적 보행; 3, 하나의 뒷다리 마비; 4, 완전한 뒷다리 마비; 및 5, 앞다리 및 뒷다리 마비 또는 빈사 상태. 제14일에 질환 개시(임상 스코어 1 이상)를 갖는 마우스만을 실험을 위해 사용한다. 작용성 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체를 첫 번째 임상 증상일에 또는 임의의 요망되는 시간에 EAE-질환 마우스에서 복강내로 또는 정맥내로 주사한다(PLoS Med (2007) 4(4): e124).

[0705] 어린 또는 늙은 야생형(WT) 마우스에 4, 6 또는 12주 동안 0.2 % 쿠프리존(CPZ) 분말 옥살 비스(사이클로헥실리덴하이드라자이드)(시그마-알드리치(Sigma-Aldrich))를 함유하는 표준 식이요법(할란(Harlan))을 공급한다. 조직학적 및 면역조직화학적 분석을 위해, 4% 파라폼알데하이드(PFA)에 의한 마우스 관류 후에 뇌를 제거하고, 24 시간 동안 4% PFA 중에서 고정시키고 나서, 24 내지 48시간 동안 30% 수크로스 중에서 침지시킨다. 미엘린 온전성 및 손상뿐만 아니라 세포 증식을 평가하기 위해, 염증 절편 또는 마우스 뇌를 항-MBP(1:100; 압캠(Abcam), ab7349), -dMBP (1:2000; 밀리포어, ab5864), - β APP (1:100; 인비트로젠, 51-2700), -SMI-31 (1:1000; 코반스(Covance), smi-31R), -Iba1 (1:600; Wako, 019-19741), -BrdU (1:250; Abcam, ab1893), -GFAP (1:200; 인비트로젠, 13-0300), -iNOS (1:100; BD 파밍겐(BD Pharmingen), 610329), -LPL(1:400, Dr. G. 올리브크로나(Olivecrona)) 및 -MHC II(1:100; BD 파밍겐, 553549)로 염색한다. 항체의 거동 효과에 대해, 마우스를 투명한 폴리스타이렌 동봉물 및 컴퓨터화된 포토빔 기기를 이용하여 보행 활성화에 대해 분석한다. 시간 소모, 이동 거리 및 등장을 포함하는 감정 지표와 함께 일반적 활동 변수(총 보행, 곧추서기)를 분석한다. 균형(레지(ledge) 및 플랫폼), 힘(반전된 스크린), 협응(기동 및 경사진 스크린) 및 움직임의 개시(보행 개시)를 평가하기 위한 일련의 감각운동 검사를 수행한다. 로타로드(rotarod) 프로토콜을 이용하여 운동 협응 및 균형을 연구한다(Cantoni et al., Acta Neuropathol (2015)129(3):429-47).

[0706] 실시예 19: 외상성 뇌 손상의 확립된 동물 모델에서 길항적 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 용도의 특성규명

[0707] 외상성 뇌 손상의 확립된 동물 모델에서 길항적 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 효용을 시험한다(Tanaka, Y et al. (2013) Neuroscience 231 49-60). 보통의 마우스, 또는 박테리아 인공 염색체 하에서 또는 골수성 프로모터 하에서 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스를 사용할 수 있다. 예를 들어, 미세아교세포 및 성상세포의 활성화를 유도하는 외상성 뇌 손상 모델을 사용한다. 8 또는 9주령의 수컷 C57BL/6J WT 마우스를 사용한다(찰스 리버 래버러토리즈(Charles River Laboratories) 또는 잭슨 래버러토리즈(Jackson Laboratories)로부터 구입). 멸균 식염수 중에 용해시킨 염화자일라진(8mg/kg) 및 클로랄 수화물(300 mg/kg)의 복강내 투여에 의해 마우스를 마취시키고, 후속적으로 정위 장치(일본 도쿄에 소재한 나리시지(Narishige))에 위치시켰다. 두피를 절개하고, 머리뼈를 노출시킨다. 두개골로부터 골막을 제거하고, 치과용 드릴을 이용하여 대뇌반구 위로 구멍을 뚫고 나서, 바늘끝으로 경막을 제거한다. 외경이 0.5mm 인 스테인레스 강 캐놀라를 사용하여 우측 반구에서 세로 방향의 자창을 만든다. 캐놀라를 1.3mm 옆쪽 내지 중간에 그리고 브레그마(bregma)에 대해 1mm 뒤쪽에 위치시키고, 틱이 2mm 깊이에 도달될 때까지 뇌에 도입한다. 이어서, 캐놀라를 2 mm 꼬리 모양으로(브레그마 3mm) 이동시키고, 그 다음에 그의 처음 위치에 대해 2mm 뒤쪽으로 부리 모양으로 이동시킨다. 최종적으로, 뇌로부터 캐놀라를 제거하고 나서, 두개골 상처를 봉합한다. 이어서, 마우스를 표준 프로토콜에 따라 길항적 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체로 처리하고, 이어서, 조직학 및 면역형광 염색 및 거동 검사에 의해 분석한다. 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는

AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.

- [0708] 실시예 20: 독소-유도 손상 후 신경-염증 및 뉴런 상실 모델에서 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 용도의 특성규명
- [0709] 독소-유도 손상 후 신경-염증 및 뉴런 상실 모델에서 작용성 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 효용을 시험한다(Martens, LH et al., (2012) The Journal of Clinical Investigation, 122, 3955). 3개월령 보통의 마우스를 2일 동안 1일 당 MPTP (1-메틸-4-페닐-1,2,3,6-테트라하이드로피리딘)의 4회 복강내 주사(4 μ g/g 체중)(시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)) 또는 PBS로 처리한다. 마우스를 표준 프로토콜에 따라 작용성 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체로 처리하고, 이어서, 기재한 바와 같이 흑색질 치밀부에서(SNpc) 도파민 뉴런 및 미세아교세포를 정량화하기 위해 입체학적 계수화를 이용하여 분석하였다. 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0710] 실시예 21: 노화, 발작, 척수손상, 망막이영양증, 전두측두엽 치매 및 알츠하이머병의 동물 모델에서 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 용도의 특성규명
- [0711] 앞서 기재한 바와 같이 노화, 발작, 척수손상, 망막이영양증, 전두측두엽 치매, 헌팅턴병, 파킨슨병 근위축성 측삭경화증 및 알츠하이머병에 대한 동물 모델에서 길항적 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 효용을 시험한다(예를 들어, 문헌[Beattie, MS et al., (2002) Neuron 36, 375-386; Volosin, M et al., (2006) J. Neurosci. 26, 7756-7766; Nykjaer, A et al., (2005) Curr. Opin. Neurobiol. 15, 49-57; Jansen, P et al., (2007) Nat. Neurosci. 10, 1449-1457; Volosin, M et al., (2008) J. Neurosci. 28, 9870-9879; Fahnstock, M et al., (2001) Mol. Cell Neurosci. 18, 210-220; Nakamura, K et al., (2007) Cell Death. Differ. 14, 1552-1554; Yune, T et al., (2007) Brain Res. 1183, 32-42; Wei, Y et al., (2007) Neurosci. Lett. 429, 169-174; Provenzano, MJ et al., (2008) Laryngoscope 118, 87-93; Nykjaer, A et al., (2004) Nature 427, 843-848; Harrington, AW et al., (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101, 6226-6230; Teng, HK et al., (2005) J. Neurosci. 25, 5455-5463; Jansen, P et al., (2007) Nat. Neurosci. 10, 1449-1457; Volosin, M et al., (2008) J. Neurosci. 28, 9870-9879; Fan, YJ et al., (2008) Eur. J. Neurosci. 27, 2380-2390; Al-Shawi, R et al., (2008) Eur. J. Neurosci. 27, 2103-2114; 및 Yano, H et al., (2009) J. Neurosci. 29, 14790-14802] 참조). 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0712] 실시예 22: 감염 모델에서 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 용도의 특성규명
- [0713] 길항적 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 효용을 감염 모델에서 시험한다. 예를 들어, 정상 마우스에서 리스테리아 모노사이토게네스 또는 다른 감염을 앞서 기재한 바와 같이 사용할 수 있다(예를 들어, 문헌[Yin, F et al., (2009) J. Exp. Med. 207, 117-128] 참조). 보통의 마우스, 또는 박테리아 인공 염색체 하에서 또는 골수성 프로모터 하에서 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스를 사용할 수 있다.
- [0714] 실시예 23: 염증 질환 모델에서 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 용도의 특성규명
- [0715] 길항적 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체의 치료적 효용을 염증 질환 모델에서 시험한다. 예를 들어, 류마티스 관절염 또는 다른 염증 질환의 확립된 모델(Mizoguchi (2012) Prog Mol Biol Transl Sci., 105:263-320; 및 Asquith et al., (2009) Eur J Immunol. 39:2040-4). 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0716] 실시예 24: Siglec-9 및 하류의 신호전달 분자의 인산화를 유도하거나 또는 저해하는 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체에 대한 선별.
- [0717] BS-EDTA를 이용하여 조직 배양 접시로부터 세포(J774, RAW 264.7, BMM 세포, 인간 1차 단핵구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, T 세포, 미세아교세포 또는 파골세포)를 제거하고, PBS로 세척하고 나서, 계수화한다. 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체와 함께 또는 아이소타입-매칭 대조군 항체와 함께 세

포를 얼음 상에서 또는 다른 조건 하에서 20분 동안 $1\mu\text{g}/10^6$ 개 세포로 인큐베이션시킨다. 세포를 빙랭 방사면역 침전 분석(RIPA) 완충제 중에서 20분 동안 용해시킨 다음, $16,000g$ 에서 10분 동안 4°C 에서 원심분리시켜 불용성 물질을 제거한다. 얻어진 상청액에 표시 항체(DAP12, ERK 또는 AKT) 및 단백질 A- 또는 단백질 G-아가로스(시그마)와의 면역침전 반응을 실시한다. RIPA 완충제를 이용하여 비드를 광범위하게 세척하고 나서, 단백질을 SDS-폴리아크릴아마이드 겔 전기영동 (SDS-PAGE)에 의해 분리시킨다. 이어서, 단백질을 웨스턴 블롯팅에 의해 나이트로셀룰로소막에 옮기고 나서, 적절한 항체(인산화된 타이로신 또는 DAP12, ERK, Syk, LCK, FYN, C-Cbl, VAV 또는 AKT의 인산화된 형태를 특이적으로 인식하는 항체)와 함께 인큐베이션시키고, 기재한 바와 같이 향상된 화학발광(ECL) 시스템(피어스(Pierce))을 이용하여 시각화한다(예를 들어, 문헌[Peng et al., (2010) Sci Signal., 3(122): ra38]).

[0718] 실시예 25: 칼슘 유동을 유도하거나 또는 저해하는 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체에 대한 선별

[0719] BMM 세포를 HEPES-함유 완충제 [20mM HEPES (pH 7.3), 120mM NaCl, 1mM CaCl, 1mM MgCl, 5mM KCl, 글루코스(1 mg/ml), 소 혈청 알부민(1mg/ml)]로 2회 세척한 다음에 0.05% 플루로닉(Pluronic) F-127(인비트로젠) 및 $1\mu\text{M}$ Indo-1 AM(인비트로젠) 중에서 20분 동안 37°C 에서 인큐베이션시킨다. HEPES 완충제를 이용하여 세포를 2회 세척하고, 이어서, 항-Siglec-9 항체 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체($16\mu\text{g}/\text{ml}$)로 또는 대조군 항체($16\mu\text{g}/\text{ml}$)로 자극하고 나서, 분광광도계(PTL 포톤 테크놀로지 인터네셔널(PTL Photon Technology International))에 의해 모니터링하였다. 제조업자의 설명서에 따라 Indo-1 형광 방출을 칼슘(Ca^{2+})으로 전환한다(예를 들어, 문헌[Peng et al., (2010) Sci Signal., 3(122): ra38]).

[0720] 실시예 26: Siglec-9은 대식세포, 호중구, NK 세포 및 수지상 세포의 생존을 증가시킨다

[0721] 세포 생존에서 Siglec-9의 역할을 평가하기 위해, 인간 또는 마우스 대식세포, 호중구, NK 세포, 미세아교세포, T 세포 및 수지상 세포를 염증 매개체의 존재 하에 배양시키고, 세포 생존을 측정한다.

[0722] 차가운 PBS를 이용하여 경골 및 태퇴부 골수 세포를 플러싱함으로써 Siglec-9-발현 또는 WT 마우스로부터의 무린 골수 전구체 세포를 얻는다. PBS를 이용하는 1회 세척 후에, ACK 용해 완충제(론자(Lonza))를 이용하여 적혈구를 용해시키고 나서, PBS로 2회 세척하고, 대식세포, 호중구 또는 NK 세포를 생성하기 위해 표시한 양의 $50\text{ng}/\text{ml}$ M-CSF와 함께, 또는 수지상 세포를 생성하기 위해 $10\text{ng}/\text{ml}$ GM-CSF와 함께 완전 RPMI 배지(10% FCS, 페니실린/스트렙토마이신, Gln, neAA)에서 0.5×10^6 개 세포/ ml 로 현탁시켰다. M2-유형 대식세포에 대해, $10\text{ng}/\text{ml}$ IL-4를 배양 세포에 첨가한다. M1-유형 대식세포에 대해, $50\text{ng}/\text{ml}$ IFN을 첨가한다. 일부 실험에서 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ - $0.01\text{ng}/\text{ml}$ 의 농도 범위에서 제5일에 세포 배양물에 LPS 또는 자이모산을 첨가한다. 펩프로테크로부터 재조합 사이토카인을 구입한다.

[0723] 골수-유래 대식세포, 호중구 또는 NK 세포의 생존도를 분석하기 위해, 세포를 상기와 같이 제조하고 나서, MCSF에서 배양시킨다. 비조직 배양 처리 플레이트에서, 96-웰 플레이트에서 $10^5/200\mu\text{l}$ 로(루시퍼라제 기반 분석을 이용하는 생존도 분석을 위해) 또는 6-웰 플레이트에서 $0.5 \times 10^6/1\text{ml}$ 에서(트리판 블루 배제 세포 계수) 세포를 플레이트팅한다. 신선한 M-CSF를 함유하는 배지를 제3일에 첨가한다. 표시한 시점에, 세포를 3mM EDTA를 갖는 플레이트로부터 부드럽게 탈착시키고 나서, 브루커(Burker) 챔버를 이용하여 계수화한다. 살아있는 세포의 FACS 분석을 위해, 6일 동안 $50\text{ng}/\text{ml}$ MCSF(+MCSF)에서 또는 4일 동안 $50\text{ng}/\text{ml}$ MCSF에서 대식세포를 배양시킨 후, 추가 36시간 동안 MCSF를 제거한다(-MCSF). CD11b 항체 및 DAPI를 이용하여 세포를 염색한다. 루시퍼라제 생존도 분석을 위해, 성장 인자 GMCSF (수지상 세포), MCSF (M1 대식세포), 또는 MCSF+IL-4(M2 대식세포)의 등급화된 농도에서 배양의 제5일에 세포 생존도를 측정한다. ToxGlo 시약(프로메가)와 함께 세포를 직접 인큐베이션시키고 나서, 루시퍼라제 활성(발광)을 결정한다. 염증 매개체 IFN, LPS 또는 자이모산의 존재 하에 배양시킨 살아있는 대식세포의 FACS 분석을 위해, 제5일에 세포를 수집하고 나서, CD11b 항체 및 DAPI를 이용하여 염색한다.

[0724] 실시예 27: Siglec-9은 대식세포, 호중구 또는 NK 세포 상에서 염증 세포 표면 마커의 발현을 증가시킨다

[0725] 염증 마커 발현에서 Siglec-9의 역할을 결정하기 위해, 대식세포, 호중구 및 NK 세포를 다양한 염증 매개체와 함께 배양시키고, 표면 마커(예를 들어, CD86 및 CD206)의 발현을 Siglec-9 항체의 존재 또는 부재 하에 측정한다.

[0726] 대식세포, 호중구 및 NK 세포를 플레이트팅하고 나서, 4시간 동안 37°C 에서 부착시키고, TLR 작용제 LPS(살모넬라

아보르투스 에퀴(*Salmonella abortus equi*) 및 자이모산(사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*))를 0.01-100ng/ml (LPS) 또는 0.01 내지 10 μ g/ml(자이모산) 범위의 농도에 첨가한다. 대안적으로, 대식세포, 호중구 및 NK 세포를 사이토카인 IL-4(10ng/ml) 또는 IFN(0.5 내지 50ng/ml)의 존재 하에 배양시킨다. CD86 및 CD206의 FACS 분석을 BD FACS 칸토 상에서 48 시간 후에 수행한다. 데이터 분석을 플로우조(트리스타) 소프트웨어 버전 10.0.7을 이용하여 수행하였다.

[0727] 실시예 28: Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 항암 효과의 분석

[0728] 보통의 마우스, 또는 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스의 8주(+/- 2주)령의 10마리 C57B16/NTac 마우스 그룹에 피하로 100ul PBS 중에서 현탁시킨 종양 세포(예를 들어, 1x10⁵ 내지 1x10⁶ 개의 MC38, 루이스 폐 또는 B16 세포)에 의해 시험감염시킨다. 이식 전에 아이소플루란을 이용하여 동물을 마취시킨다. 제2일에 시작해서, 마우스 그룹에 각각의 길항적 항-Siglec-9 항체 200 μ g으로 4회 용량에 대해 3일마다 i.p.로 주사한다. 제4일에 시작해서 종양 성장을 측정하기 위해 2주마다 캘리퍼를 이용하여 종양 성장을 모니터링한다. 실험의 종점은 2000mm³의 종양 용적 또는 60일이다. 종양 성장 및 생존%는 결과 측정이다. 감소된 종양을 취하고, 성장 속도, 감소된 수의 종양 침윤성 면역 억제자 대식세포, 호중구, 및/또는 NK 세포, 및 종양 내로 증가된 효과기 T 세포 유입은 항-Siglec-9 항체를 차단하는 항암 효과를 나타낸다.

[0729] 인간 IL-3, 인간 GM-CSF, 인간 IL-6, 인간 IL-2를 발현시키고, 인간 태아, 태아 간, 말초 혈액 또는 다른 공급원으로부터의 인간 면역 세포를 파종한 면역결핍 마우스 또는 면역결핍 유전자이식 마우스를 또한 이러한 연구를 위해 사용할 수 있다(Ito M et al., (2008) Curr Top Microbiol Immunol.;324:53-76; Ito R., et al., (2012) Cellular & Molecular Immunology 9, 208-214; Brehm et al., (2010) Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 17(2): 120-125; Zhou et al., (2013) Cancer Letters. 344,13-19). 이러한 마우스를 세포주 종양 또는 모-유래 인간 종양 이종이식물과 함께 사용할 수 있다(Siolas et al., (2013) Cancer Res.; 73(17): 5315-5319).

[0730] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.

[0731] 실시예 29: Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체를 저해 관문 단백질 또는 저해 사이토카인/케모카인에 대한 항체 및 그들의 수용체와 조합하는 조합 요법의 상가적 항종양 효과의 분석

[0732] 8주(+/- 2주)령의 15마리 C57B16/NTac 마우스의 그룹을 실시예 28에 기재한 바와 같이 종양 세포로 피하로 시험 감염시킨다. 이식 전에 아이소플루란을 이용하여 동물을 마취시킨다. 제2일에 시작해서, 마우스에 제3일, 제6일 및 제9일에 200ug 항-Siglec-9 항체 단독으로 또는 관문 단백질(예를 들어, 항-PDL1 mAb 클론 10F.9G2 및/또는 항-CTLA4 mAb 클론 UC10-4F10-11)에 대한 항체와 조합하여 4회 용량에 대해 3일마다 i.p.로 주사한다. 처리군은 항-Siglec-9; 항-CTLA4; 항-PDL1; 항-Siglec-9+항-CTLA4; 항-Siglec-9+항-PDL1; 및 아이소타입 대조군을 포함한다. 제4일에 시작해서 종양 성장을 측정하기 위해 2주마다 캘리퍼를 이용하여 종양 성장을 모니터링한다. 실험의 종점은 2000mm³의 종양 용적 또는 60일이다. 종양 성장 및 생존%는 결과 측정이다. 조합요법에 의한 종양 성장의 감소 및 생존% 증가는 항-Siglec-9 항체가 항-관문 항체에 의한 상가적 또는 상승적 치료 효과를 가진다는 것을 나타낸다. 관문 분자에 대한 길항적 항체는 PDL1, PDL2, PD1, CTLA4, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, CD39, CD73, TIGIT, VISTA, A2AR, LAG-3 및 포스포티딜 세린에 대한 항체를 포함한다. 저해 사이토카인에 대한 길항제 항체는 CCL2, CSF-1 및 IL-2에 대한 항체를 포함한다. 인간 IL-3, 인간 GM-CSF, 인간 IL-6, 인간 IL-2를 발현시키고, 인간 태아, 태아 간, 말초 혈액 또는 다른 공급원으로부터의 인간 면역 세포를 파종한 면역결핍 마우스 또는 면역결핍 유전자이식 마우스를 또한 이러한 연구를 위해 사용할 수 있다(Ito M et al., (2008) Curr Top Microbiol Immunol.;324:53-76; Ito R., et al., (2012) Cellular & Molecular Immunology 9, 208-214; Brehm et al., (2010) Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 17(2): 120-125; Zhou et al., (2013) Cancer Letters. 344,13-19). 이러한 마우스를 세포주 종양 또는 모-유래 인간 종양 이종이식물과 함께 사용할 수 있다(Siolas et al., (2013) Cancer Res.; 73(17): 5315-5319).

[0733] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.

- [0734] 실시예 30: Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체를 자극 관문 단백질을 활성화시키는 항체와 조합하는 조합요법의 상가적 항-종양 효과의 분석
- [0735] 8주(+/- 2주)령의 15마리 C57B16/NTac 마우스의 그룹을 실시예 28에 기재한 바와 같이 종양 세포로 피하로 시험 감염시킨다. 이식 전에 아이소플루란을 이용하여 동물을 마취시킨다. 제2일에 시작해서, 마우스에 제3일, 제6일 및 제9일에 200 μ g 항-Siglec-9 항체 단독으로 또는 자극 관문 단백질(예를 들어, OX40 또는 ICOS mAb)를 활성화시키는 작용적 항체와 조합하여 4회 용량에 대해 3일마다 i.p.로 주사한다. 제4일에 시작해서 종양 성장을 측정하기 위해 2주마다 캘리퍼를 이용하여 종양 성장을 모니터링한다. 실험의 종점은 2000mm³의 종양 용적 또는 60일이다. 종양 성장 및 생존%는 결과 측정이다. 조합요법에 의한 종양 성장의 감소 및 생존% 증가는 항-Siglec-9 항체가 자극 관문 항체에 의한 상가적 또는 상승적 치료 효과를 가진다는 것을 나타낸다. 자극 관문 항체는 CD28, ICOS, CD137, CD27, CD40 및 GITR에 대한 작용적/자극 항체를 포함한다.
- [0736] 인간 IL-3, 인간 GM-CSF, 인간 IL-6, 인간 IL2를 발현시키고, 인간 태아, 태아 간, 말초 혈액 또는 다른 공급원으로부터의 인간 면역 세포를 과중한 면역결핍 마우스 또는 면역결핍 유전자이식 마우스를 또한 이러한 연구를 위해 사용할 수 있다(Ito M et al., (2008) Curr Top Microbiol Immunol.;324:53-76; Ito R., et al., (2012) Cellular & Molecular Immunology 9, 208-214; Brehm et al., (2010) Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 17(2): 120-125; Zhou et al., (2013) Cancer Letters. 344,13-19). 이러한 마우스를 세포주 종양 또는 모-유래 인간 종양 이종이식물과 함께 사용할 수 있다(Siolas et al., (2013) Cancer Res.; 73(17): 5315-5319).
- [0737] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 인간 Siglec-9 cDNA를 보유하는 렌티바이러스 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0738] 실시예 31: Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체를 자극 사이토카인과 조합하는 조합요법의 상가적 항-종양 효과의 분석
- [0739] 8주(+/- 2주)령의 15마리 C57B16/NTac 마우스의 그룹을 실시예 28에 기재한 바와 같이 종양 세포로 피하로 시험 감염시킨다. 이식 전에 아이소플루란을 이용하여 동물을 마취시킨다. 제2일에 시작해서, 마우스에 200 μ g의 항-Siglec-9 항체를 단독으로 또는 자극 사이토카인(예를 들어, IL-12, IFN- α)과 조합하여 4회 용량에 대해 3일마다 i.p.로 주사한다. 제4일에 시작해서 종양 성장을 측정하기 위해 2주마다 캘리퍼를 이용하여 종양 성장을 모니터링한다. 실험의 종점은 2000mm³의 종양 용적 또는 60일이다. 종양 성장 및 생존%는 결과 측정이다. 조합요법에 의한 종양 성장의 감소 및 생존% 증가는 항-Siglec-9 항체가 면역-자극 사이토카인에 의한 상가적 또는 상승적 치료 효과를 가진다는 것을 나타낸다. 자극 사이토카인은 IFN- α /b, IL-2, IL-12, IL-18, GM-CSF 및 G-CSF를 포함한다.
- [0740] 인간 IL-3, 인간 GM-CSF, 인간 IL-6, 인간 IL2를 발현시키고, 인간 태아, 태아 간, 말초 혈액 또는 다른 공급원으로부터의 인간 면역 세포를 과중한 면역결핍 마우스 또는 면역결핍 유전자이식 마우스를 또한 이러한 연구를 위해 사용할 수 있다(Ito M et al., (2008) Curr Top Microbiol Immunol.;324:53-76; Ito R., et al., (2012) Cellular & Molecular Immunology 9, 208-214; Brehm et al., (2010) Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 17(2): 120-125; Zhou et al., (2013) Cancer Letters. 344,13-19). 이러한 마우스를 세포주 종양 또는 모-유래 인간 종양 이종이식물과 함께 사용할 수 있다(Siolas et al., (2013) Cancer Res.; 73(17): 5315-5319).
- [0741] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0742] 실시예 32: 선천성 면역 세포의 생존도를 자극하기 위한 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체 Fab의 능력 분석
- [0743] 플레이트 결합되고, 가교된 항-Siglec-9 항체 Fab 단편의 작용제 작용성을 선천성 면역 세포(예를 들어, 대식세포, 호중구 및 NK 세포)에서 평가한다.
- [0744] 대식세포, 호중구 및 NK 세포를 M-CSF의 존재 하에 배양시키고 나서, 플레이트 결합된 Siglec-9 항체 Fab, 및 세포 생존도를 측정한다.
- [0745] 인간 단핵구로부터 유래된 대식세포, 호중구, NK 세포 및 DC뿐만 아니라 인간 단핵구로부터 유래된 T 세포 및 인간 미세아교세포를 12.5nM 또는 100nM의 가교된 Siglec-9 Fab로 사전 코팅한 비-조직-배양 처리 96-웰 플레이트

트 상에 플레이팅한다. 10ng/ml M-CSF의 존재 하에 48시간 동안 세포를 배양시킨다. 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)(등록상표) 키트(프로메가(Promega))를 이용하여 생존도 분석을 수행한다. GEN5 2.04 소프트웨어를 이용하는 바이오텍 시너지 마이크로플레이트 판독기(BioTek Synergy Microplate Reader)에 의해 플레이트를 판독한다.

[0746] 실시예 33: NFAT-의존적 유전자를 조절하기 위한 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 능력 분석

[0747] NFAT-의존적 유전자를 활성화시키는 길항적 항-Siglec-9 항체의 능력은 NFAT (활성화된 T 세포의 핵 인자) 프로모터의 제어 하에서 루시퍼라제 리포터 유전자를 이용하여 평가한다.

[0748] 공동 수용체 DAP12 및 그의 리간드 결합 상대 TREM2를 포함하는 ITAM 모티프를 발현시키는 마우스 T 림프구 BW5147.G.1.4(ATCC(등록상표) TIB48(상표명))로부터 유래된 세포주를 인간 Siglec-9로, 그리고 시그널 렌티(Cignal Lenti) NFAT-루시퍼라제 바이러스(쿼자젠)로 감염시킨다. 루시퍼라제 신호전달을 플레이트 결합 항-TREM2 항체에 의해 활성화시킨다. 전장 및 Fab 단편 항-Siglec-9 항체를 TREM2 항체와 함께 공동 플레이팅하거나 또는 용액 중에 적용한다. 플레이트 결합을 위해, 항체를 조직-배양물 처리한 깨끗한 바닥 백색 96웰 플레이트(100ul/웰) 상에서, 밤새 4°C에서 DPBS 중에서 10μg/ml로 적용한다. DPBS를 이용하여 웰을 3회 린스하고 나서, 후속적으로 1% 혈청을 갖는 배지에서 100,000개 세포/웰로 플레이팅한다. 신호전달을 위한 양성 대조군으로서, PMA(0.05μg/ml) 및 이노마이신(0.25 μM)을 함께 첨가한다. 세포를 6시간 동안 인큐베이션시키고 나서, 각각의 웰에 원-글로(ONE-Glo)(상표명) 시약(프로메가)을 각각의 웰에 첨가함으로써 그리고 플레이트 진탕기 상에서 실온에서 3분 동안 인큐베이션시킴으로써 루시퍼라제 활성을 측정한다. 바이오텍 플레이트 판독기를 이용하여 루시퍼라제 신호를 측정한다.

[0749] 실시예 34: Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 항-뇌졸중 효과 분석

[0750] 중대뇌동맥(MCAO)의 일시적 폐색 - 인간 뇌졸중과 밀접하게 유사한 모델을 사용하여 마우스에서 뇌경색을 유도한다. 우측의 통상적인 경동맥의 절개를 통해 모노필라멘트(70SPRe, 미국에 소재한 독콜 코포레이션(Doccol Corp))을 내부 경동맥 내로 도입한다. 중대뇌동맥을 30분 동안 폐색시킨다(재관류 시간의 범위(6시간, 12시간, 24시간, 2일, 7일 및 28일)). 12시간 및 7일에 모의 동물을 이용하여 수술 효과를 제어한다. 모의 동물은 중대뇌동맥의 폐색 없이 동일한 수술 절차를 겪는다. 길항적 항-Siglec-9 항체 또는 대조군 항체로 처리한 MCAO 동물을 경색 용적측정, 급성 염증 반응(12시간 재관류), 전염증성 사이토카인 TNFα, IL-1α 및 IL-1β의 전사, 미세아교세포 활성화(CD68, Iba1), 케모카인 CCL2의 전사(MCP1), CCL3(MIP1α 및 케모카인 수용체 CX3CR1 및 CD3-양성 T 세포의 침윤을 위해 시험한다(Sieber et al., (2013) PLoS ONE 8(1):e52982.doi:10.1371/journal.pone.0052982)). 이러한 실험을 보통의 마우스에서 또는 대안적으로 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 수행할 수 있다.

[0751] 실시예 35: 항-Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 항-알츠하이머병 효과의 분석

[0752] 알츠하이머병(AD)의 발생을 지연시키거나, 예방하거나 또는 반전시키는 길항적 항-Siglec-9 항체의 능력을 평가하기 위해, 5X FAD 마우스를 사용한다. 5X FAD 마우스는 2개의 FAD 돌연변이(M146L 및 L286V)를 보유하는 인간 PS1과 함께 스웨덴(K670N, M671L), 플로리다(I716V), 및 런던(V717I) 가족성 알츠하이머병(FAD) 돌연변이를 갖는 돌연변이체 인간 APP(695)를 과발현시킨다. 이식유전자를 둘 다 마우스 Thy1 프로모터에 의해 조절하여 뇌 상에서 과발현을 유도하고, AD의 주요 특징을 요약한다. 작용성 항-Siglec-9 항체로 또는 대조군 항체로 처리한 마우스를 면역조직화학을 이용하여 그리고 조직 추출물의 ELISA에 의해 A 베타 플라크 부하에 대해 시험한다. 그들을 뇌에서 미세아교세포 수에 대해, 그리고 모리스 수중 미로(Morris Water maze), 공간 학습 및 기억 작업, 방사상 수중 미로(Radial Arm Water Maze), 공간 학습 및 기억 작업, Y 미로(공간 인지의 측정으로서 자발적 변형을 정량화), 오픈 필드에서의 신규성 선호도, 학습 및 기억을 평가하기 위한 조작적 학습 및 공포 조건화를 이용하는 인자의 감소에 대해 추가로 시험한다(mousebiology.org website; Wang et al., (2015) Cell. pii: S0092-8674(15)00127-0). 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.

[0753] 실시예 36: 호흡기 감염에서 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 보호 효과 분석

[0754] 박테리아 호흡기 감염을 지연시키거나, 예방하거나 또는 치료하기 위한 길항제 Siglec-9 항체의 능력을 평가하기 위해, 스트렙토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*)를 이용하는 C57Bl6 마우스의 시험감염을 수반하

는 전임상 마우스 모델을 사용한다. 이 모델은 기재한 바와 같은 105 CFU 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 3(ATCC 6303)의 비강내(i.n.) 투여를 수반한다(예를 들어, 문헌[Sharif O et al, 2014 *PLoS Pathog.* 2014 Jun; 10(6): e1004167; 및 Schabbauer G et al, 2010 *J Immunol* 185: 468-476] 참조). 이 모델에서 대략 90% WT C57B16 마우스는 감염 후 6일 내에 감염으로 인해 사망한다.

[0755] 10 내지 15마리 마우스/그룹을 스트렙토코커스 뉴모니에로 시험감염시키고, 동시에 제0일로부터 시작해서 격일 마다 길항제 항-Siglec-9 항체로 처리한다. 항-Siglec-9 항체의 첫 번째 용량을 스트렙토코커스 뉴모니에에 의한 시험감염 3시간 전에 투여한다. 사망 사건을 확인하기 위해 15일 동안 매일 마우스를 모니터링한다. 박테리아 시험감염으로 살아있는 마우스의 %를 결정한다.

[0756] 별개의 실험에서, 혈액 중의 그리고 폐에서 박테리아 부하의 수 및 사이토카인 발현을 또한 결정한다. 감염 후 24 또는 48시간에 혈액을 EDTA-함유관에서 수집하고 나서, 혈장 중의 박테리아 CFU를 열거하기 위해 한천 플레이트 상에 플레이팅한다. ELISA에 의한 사이토카인 분석을 위해 혈장을 -20℃에 저장한다. 폐를 채취하고 나서, 균질화시키고, 한천 플레이트 상에 플레이팅하여 박테리아 CFU를 열거하거나, 용해 완충제 중에서 30분 동안 인큐베이션시키고, 상청액을 사이토카인 측정에 대해 분석한다.

[0757] 별개의 실험에서, 박테리아 감염 후 40시간에 폐를 수집하고 나서, 10% 포말린 중에서 고정시키고, H&E 병리 분석을 위해 파라핀 중에서 포매시킨다.

[0758] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.

[0759] 실시예 37: 패혈증에서 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 보호 효과 분석

[0760] 패혈증을 지연시키거나, 예방하거나 또는 치료하기 위한 길항제 Siglec-9 항체의 능력을 평가하기 위해, LPS를 이용하는 C57B16 마우스의 전신 시험감염을 수반하는 전임상 마우스를 사용한다. 이 모델은 기재한 바와 같이 37mg/ml LPS의 복강내(i.p.) 투여를 수반한다(예를 들어, 문헌[Gawish R et al, 2014 *FASEB J*] 참조). 이 모델에서, 95% 초과와 WT C57B16 마우스는 LPS 주사 후 40시간 내에 감염으로 사망한다.

[0761] 마우스의 코호트를 LPS로 시험감염시키고, 동시에 제0일에 시작해서 매일 길항제 항-Siglec-9 항체로 처리한다. 항-Siglec-9 항체의 첫 번째 용량을 LPS에 의한 시험감염 3시간 전에 투여한다. 낮동안에 대략 4시간 마다 마우스를 모니터링하여 사망 사건을 확인한다. LPS 시험감염으로 생존한 마우스의 백분율을 결정한다.

[0762] 별개의 실험에서, 복부 세척액(peritoneal lavage fluid: PLF)을 수집한다. ELISA에 의한 사이토카인 분석을 위해 상청액을 -20℃에 저장하고; 펠렛화된 세포를 계수화하여 복막강에서 동원된 염증 세포를 정량화한다. 유사한 연구를 수행하여 다른 감염 모델에서 Siglec-9 항체의 효능을 시험할 수 있다(예를 들어, 문헌[Sun et al., (2013) *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 17;54(5):3451-62] 참조).

[0763] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.

[0764] 실시예 38: 급성 및 만성 대장염에서 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 보호 효과 분석

[0765] 대장염을 지연시키거나, 예방하거나 또는 치료하기 위한 길항제 Siglec-9 항체의 능력을 평가하기 위해, 급성 또는 만성 대장염의 전임상 마우스 모델을 사용한다. DSS-유도 대장염에 대해, 마우스는 임의로 8일 동안 음용수 중의 3% DSS를 받는다. TNBS-유도 대장염에 대해, 마우스를 마취시키고, 20% 에탄올 중의 3mg TNBS(vol/vol) 또는 대조군으로서 비히클 단독의 직장내 주사를 이용하여 처리한다. 만성 대장염 모델에 대해, 모든 마우스를 5일 동안 2% DSS의 3주기, 다음에 10일 회복 기간으로 처리한다. 기재한 바와 같이, 모든 모델에 대해, 체중감소, 대변 점조도, 및 배설물 잠혈의 존재를 매일 모니터링하고, 질환 활성 지표를 계산하기 위해 사용한다(예를 들어, 문헌[Correale C, 2013, *Gastroenterology*, February 2013, pp. 346-356.e3] 참조).

[0766] 마우스의 코호트를 제0일에 시작해서 매일 길항제 항-Siglec-9 항체로 처리하고, DSS 또는 TNBS 투여를 실시한다. 기재한 바와 같이, 마우스를 매일 모니터링하고, 체중감소, 대변 점조도 및 배설물 잠혈의 존재에 대해 확인하기 위해 매일 모니터링하고, 질환 활성 지표를 계산하기 위해 사용하였다(예를 들어, 문헌[S. Vetrano, *Gastroenterology*, 135 (2008), pp. 173-184] 참조).

- [0767] 별개의 실험에서, 점막 손상의 내시경 및 조직학적 영상을 수집하여 염증 세포 침윤 및 점막 손상을 수집한다. 크론병, 염증성 장질환 및 궤양성 대장염을 포함하는 다른 자가면역 모델에서 Siglec-9 항체의 이점을 시험하기 위해 유사한 연구를 수행할 수 있다(예를 들어, 문헌[Low et al., (2013) *Drug Des Devel Ther.*; 7: 1341-1357; 및 Sollid et al., (2008) *PLoS Med* 5(9): e198] 참조).
- [0768] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0769] 실시예 39: 상처 치유에서 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 보호 효과 분석
- [0770] 손상 후 결장 상처 회복을 증가시키기 위한 작용성 항-Siglec-9 항체의 능력을 평가하기 위해, 결장에서 생검 손상의 마우스 모델을 사용한다. 이 모델에서, 외부 조각 시스(sheath)를 갖는 내시경을 중간 하강하는 결장에 삽입하고, 점막을 항문-직장 접합부에 대해 살핀다. 이어서, 3 프렌치(French) 직경을 갖는 가요성 생검 포셉(forcep)을 이용하여 전체 점막 및 점막하조직의 단일 전층 면적을 제거하여, 고유근육층의 침투를 피한다. 각각의 마우스는 결장의 후방측을 따라서 3 내지 5개 부위에서 생검 손상된다(예를 들어, 문헌[Seno H, 2008, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jan 6; 106(1): 256-261] 참조).
- [0771] 생검 2 또는 3 일 후에 마우스의 코호트를 작용제 항-Siglec-9 항체로 처리한다. 15일 동안 매일 마우스를 모니터링하여, 병변의 표면적을 측정함으로써 체중감소 및 상처 치유를 확인한다.
- [0772] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0773] 실시예 40: 망막 변성에서 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 보호 효과 분석
- [0774] AMD는 외부 망막층의 퇴행성 질환이다. 염증, 특히 염증성 사이토카인 및 대식세포, 호중구, 및/또는 NK 세포는 AMD 질환 진행에 기여하는 것으로 생각된다.
- [0775] AMD 병변에 근접한 대식세포, 호중구 및 NK 세포의 존재를 드루젠, 브루크막(Bruch's membrane), 맥락막 및 망막에서 보고한다. 대식세포, 호중구 및 NK 세포는 조직 인자(TF) 및 혈관표피성장인자(VEGF)를 방출하는데, 이는 맥락막 신생혈관을 나타내는 환자에서 새로운 혈관 형성의 확장을 촉발한다.
- [0776] 대식세포의 유형은 연령에 따른 황반 맥락막 변화가 존재하는데, 이는 젊은이 눈에 비해 노인 눈에서 M2 대식세포, 호중구 및 NK 세포의 상승된 수준을 나타낸다. 그러나, 진행된 AMD 황반은 유사한 연령의 정상 검시 눈에 비해 더 높은 M1 내지 M2 비를 가진다(예를 들어, 문헌[Cao X et al., (2011), *Pathol Int* 61(9): pp528-35] 참조). 이는 AMD 진행의 후기 개시에서 눈에서의 고전적 M1 대식세포 활성화 간의 연결을 시사한다.
- [0777] 망막 미세아교세포는 또한 내부 망막에 정상적으로 존재하는 조직-체류 대식세포이다. 손상 사건에서, 미세아교세포를 활성화시키고, 염증의 매개체로서 작용할 수 있다. 활성화된 미세아교세포를 AMD 조직 샘플에서 검출하고 나서, AMD 발병을 야기하는 처리된 염증의 한 가지 잠재적 기여자로서 제안하였다(Gupta et al., (2003) *Exp Eye Res.*, 76(4):463-71.). AMD를 예방하거나, 지연시키거나 또는 반전시키기 위한 Siglec-9 항체의 능력을 하나 이상의 AMD 모델에서 시험한다(예를 들어, 문헌[Pennesi et al., (2012) *Mol Aspects Med.*; 33(4): 487-509] 참조).
- [0778] 전체 염증 대식세포, 호중구 및 NK 세포(M1 및/또는 활성화된 미세아교세포)를 AMD 질환 진행과 상관 관계가 있는 것으로 보고되며, 따라서 길항제 Siglec-9 항체에 대한 치료적 표적을 나타낸다. 녹내장 및 유전적 형태 또는 망막 변성, 예컨대 망막색소변성증에서 유사한 치료적 이점을 달성할 수 있다.
- [0779] 녹내장에서 망막 신경절세포 변성을 예방하거나, 지연시키거나 또는 반전시키기 위한 Siglec-9 항체의 능력을 녹내장 모델에서 시험한다(문헌[E1-Danaf et al., (2015) *J Neurosci.* 11;35(6):2329-43] 참조). 마찬가지로, 유전적으로 유도된 망막 변성 및 망막색소변성증에서 REM2의 치료적 이점을 문헌[Chang et al., (2002) *Vision Res.*; 42(4):517-25, 및 "Degeneration Rat Model Resource Availability of P23H and S334ter Mutant Rhodopsin Transgenic Rats and RCS Inbred and RCS Congenic Strains of Rats," MM LaVail, June 30, 2011]에 기재한 바와 같이 시험한다.
- [0780] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를

발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.

- [0781] 실시예 41: 지방형성 및 식이요법-유도 비만에서 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 보호 효과의 분석
- [0782] 지방형성 및 비만에서 Siglec-9 항체의 효과를 시험하기 위해, 고지방 식이요법(HFD)의 마우스 모델을 사용한다 (예를 들어, 문헌[Park et al., (2015) *Diabetes*. 64(1):117-27] 참조).
- [0783] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0784] 실시예 42: 골다공증에서 길항적 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 보호 효과 분석
- [0785] 뼈는 칼슘 항상성 및 구조적 필요를 지지하기 위해 지속적으로 리모델링되는 동적 기관이다. 파골세포는 뼈의 유기성분과 무기성분 둘 다의 제거를 초래하는 세포이다. 파골세포는 대식세포 계통에서 조혈성 전구체로부터 유래되며, NF κ B 리간드의 종양 괴사 인자 패밀리의 사이토카인 수용체 활성화에 반응하여 분화된다. 파골세포, 즉, 단지 골-재흡수 세포는 골다공증 및 골다공증의 발병에 대해 중심이 된다(Novack et al., (2008) *Annual Rev Pathol.*, 3:457-84).
- [0786] 골다공증은 증가된 골절 위험을 야기할 수 있는 골량 및 골밀도의 감소를 특징으로 하는 진행성 골질환이다. 이는 대부분 골전환이 가속화될 때, 파골세포와 조골세포 둘 다 활성이 증가됨에 따라 폐경 후 처음 몇 년에 나타난다. 재흡수 및 합성 과정의 불균형 때문에, 그러나, 순효과는 대체로 섬유주인 골 소실이다. 따라서, 골다공증에서 가장 우세한 골절 부위는 손목, 대퇴경부, 및 척추체인데, 이때 섬유주 구조는 전반적인 골 강도에 대해 중요하다.
- [0787] 감소된 파골세포 작용은 DAP12 ITAM 신호전달 어댑터가 없고, 파골세포-유사 세포 분화의 상당한 결함을 초래하는 동물 모델에서 관찰되는 바와 같이 증가된 골량 및 골수 공간의 제거에 의해 골다공증을 초래한다(Koga, et al., (2004) *Nature* 428: 758-763).
- [0788] 따라서, 본 개시내용의 길항제 항-Siglec-9 항체의 투여는 골다공증을 예방하고/하거나 위험을 감소시키고/시키거나 치료할 수 있다. 일부 실시형태에서, 작용제 항-Siglec-9 항체의 투여는 골다공증(예를 들어, DAP12 인산화, Syk 활성화, 및 파골세포로의 가속화된 분화)을 갖는 개체에서 하나 이상의 Siglec-9 활성을 유도할 수 있다(Peng et al (2010). *Sci Signal*. 2010 18;3 122; 및 Humphrey et al., (2006) *J Bone Miner Res.*, 21(2):237-45).
- [0789] 또한 박테리아 인공 염색체로부터의 또는 골수성 프로모터에 의해 유발된 cDNA로부터의 인간 Siglec-9 유전자를 발현시키는 마우스에서 또는 hSiglec-9 cDNA를 보유하는 렌티 또는 AAV 바이러스로 형질도입한 마우스에서 이러한 실험을 수행할 수 있다.
- [0790] 실시예 43: SHP1, SHP2 및 다른 신호전달 분자에 대한 Siglec-9의 결합을 조절하는 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 능력 분석
- [0791] PBS-EDTA를 이용하여 조직 배양 접시로부터 인간 1차 단핵구, 대식세포, 호중구, NK 세포, 수지상 세포, T 세포, 미세아교세포 또는 파골세포를 제거하고, PBS로 세척하고 나서, 계수화한다. 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체와 함께 또는 아이소타입-매칭 대조군 항체와 함께 세포를 얼음 상에서 또는 다른 조건 하에서 20분 동안 1 μ g/10⁶ 개 세포로 인큐베이션시킨다. 세포를 빙랭 방사면역침전 분석(RIPA) 완충제 중에서 20분 동안 용해시킨 다음, 16,000g에서 10분 동안 4°C에서 원심분리시켜 불용성 물질을 제거한다. 얻어진 상층액에 표시 항체(SHP1, SHP2, c-Cbl., Vav, Syk, Lck, Fyn, Grb2, PLC- γ , TLR 유사 수용체, DAMP 수용체, 패턴 인식 수용체) 및 단백질 A- 또는 단백질 G-아가로스(시그마)와의 면역침전 반응을 실시한다. RIPA 완충제를 이용하여 비드를 광범위하게 세척하고 나서, 단백질을 SDS-폴리아크릴아마이드 겔 전기영동 (SDS-PAGE)에 의해 분리시킨다. 이어서, 단백질을 웨스턴 블롯팅에 의해 나이트로셀룰로소막에 옮기고 나서, 적절한 Siglec-9 항체와 함께 인큐베이션시키고, 기재한 바와 같이 향상된 화학발광(ECL) 시스템(피어스(Pierce))을 이용하여 시각화한다(예를 들어, 문헌[Peng et al., (2010) *Sci Signal.*, 3(122): ra38]). 대안적으로, 항-Siglec-9 및/또는 Siglec-9 이중 특이성 항체와 함께 또는 아이소타입-매칭 대조군 항체와 함께 세포를 얼음 상에서 또는 다른 조건 하에서 20분 동안 1 μ g/106개 세포로 인큐베이션시킨다. 세포를 빙랭 방사면역침전 분석(RIPA) 완충제 중에서 20분 동안 용해시킨 다음, 16,000 g에서 10분 동안 4°C에서 원심분리시켜 불용성 물질을 제거한다. 얻어진

상청액에 제2 Siglec-9 항체와의 면역침전 반응을 실시한다. 이어서, 웨스턴 블롯팅에 의해 단백질을 나이트로 셀룰로스 막에 옮기고 나서, 표시된 항체(SHP1, SHP2, c-Cbl., Vav, Syk, Lck, Fyn, Grb2, PLC-감마. Toll 유사 수용체, DAMP 수용체 및 패턴 인식 수용체)와 함께 인큐베이션시켰다.

[0792] 실시예 44: NFAT-의존적 유전자를 조절하기 위한 Siglec-9 항체 및/또는 이중 특이성 항체의 능력 분석

[0793] 로세트셉(RosetteSep) 인간 NK 세포 농축 각테일(스템셀 테크놀로지스(STEMCELL Technologies))를 이용하여 인간 혈액으로부터 자연 살해 세포를 분리시킨다. 10% 하이클론(Hyclone) 소태아 혈청(GE 헬스케어), 2% 헤페스, 2% 글루타맥스(GlutaMAX), 2% 페니실린-스트렙토마이신, 2% 피루브산나트륨 및 2% MEM 비필수 아미노산(라이프 테크놀로지스)로 부충한 RPMI 1640(메디아테크(Mediatech)) 중에서 분리된 세포를 배양시킨다. NK 세포를 24-웰 플레이트에서 25ng/ml IL-2 (R&D) 및 25ng/ml IL-21(페프로테크(PeproTech))과 함께 1×10^6 개 세포/웰로 플레이트팅하고, 5% CO₂와 함께 7일 동안 37°C에서 인큐베이션시켰다. NK 세포를 분리 시 그리고 7일 동안 APC 항-인간 CD56(바이올레전드(Biolegend)) PE-Cy7 항-인간 CD3(바이올레전드) 및 V500 마우스 항-인간 CD16(BD 바이오사이언시즈)과 함께 표현형화한다.

[0794] 배양 7일 후에, NK 세포를 채취하고 나서, 1×10^6 개 세포/ml로 재현탁시킨다. NK 효과기 세포를 12:1, 4:1, 2:1, 0.5:1의 효과기:표적비로 그리고 96-웰 U-바닥 플레이트 내 효과기 단독 대조군 웰에 대해 120,000개 세포에서 플레이트팅한다. 세포를 원심분리시키고, 100μl 배지에서 재현탁시킨다(50 ul 100% EtOH 및 50 μl 배지를 100% 사멸로서 작용하도록 양성 대조군 웰에 첨가한다). 10μg/ml Siglec-7 항체/mIgG1 아이소타입 대조군을 첨가하고 나서, 혼합하고, 20분 동안 인큐베이션시켰다. 효과기 단독 대조군 웰을 제외하고 10,000개의 CFSE-표지 K562 표적 세포를 각각의 웰에 첨가한다. 플레이트를 1500 rpm에서 1분 동안 원심분리시키고, 37°C에서 5% CO₂와 함께 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 후에, 세포를 50μl NucBlue 고정 세포 레디프로브(ReadyProbes) 시약(라이프 테크놀로지스(Life Technologies))으로 염색하고 나서, 5분 동안 빛으로부터 보호하여 RT에서 인큐베이션시키고, FACS 칸토(Canto)(BD 바이오사이언시즈(Biosciences)) 상에서 즉시 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0795] 실시예 45: Siglec-9 항체 비닝의 분석

[0796] 로세트셉(RosetteSep)(상표명)인간 단핵구 농축 각테일(스템셀 테크놀로지스, 캐나다 밴쿠버에 소재)을 이용하여 인간 혈액 샘플로부터 단핵구를 분리시켰다. 10% 하이클론(Hyclone)(상표명) FBS(GE 헬스케어 라이프 사이언시즈), 20mM HEPES, 4mM GlutaMAX, 200U/ml 페니실린-스트렙토마이신, 2mM 피루브산나트륨 및 2% MEM NEAA(라이프 테크놀로지스)로 보충한 RPMI 1640(메디아테크(Mediatech))에서 분리된 세포를 배양시켰다. T150 조직 배양 플라스크에서 8% 인간 혈청(시그마-알드리치) 및 50ng/ml 제조한 인간 M-CSF(페프로테크(PeproTech))와 함께 1×10^6 개 세포/ml로 세포를 플레이트팅하고, 37°C에서 5% CO₂와 함께 5일 동안 인큐베이션시켰다.

[0797] 제5일에, 부착 단핵구-유래 대식세포를 채취하고 나서, 96-웰 U-바닥 비-TC 처리 플레이트에서 100,000개 세포/웰로 플레이트팅하였다. 5μg/ml 정제된 Siglec-9 항체를 1% BSA 및 2mM EDTA와 함께 PBS 중에서 인간 Fc 수용체 결합 저해제(eBioscience)의 존재 하에 세포와 함께 인큐베이션시켰다. 샘플을 30분 동안 얼음 상에서 인큐베이션시키고, 완충제 중에서 2X 세척하였다. 직접 형광단 접합 Siglec-9 항체를 5μg/ml로 첨가하고 나서, 30분 동안 얼음 상에서 인큐베이션시킨 다음, 완충제 중에서 2회 인큐베이션시켰다. 결합된 Siglec-9 항체의, 아이소타입의 존재 하의 또는 비처리된 세포 표면 수용체에 결합하는 접합된 Siglec-9 항체 클론의 능력을 iQue Screener(IntelliCyt) 상에서 유세포분석에 의해 결정하고 나서, 클론의 경쟁을 결정하기 위해 플로우조 소프트웨어(트리스타)로 분석하였다. 사용한 접합된 항-Siglec-9 항체는 E10286(BD 바이오사이언시즈), K8(바이올레전드) 및 191240(R&D 시스템즈)이었다. 사용한 결합된 항-Siglec-9 항체는: 2D4, 2D5, 5B1, 6B2, 6D8, 7H12, 5C6, 12B12 및 17C2였다.

[0798] 결과를 표 12에 도시한다.

표 12

[0799]

Siglec-9 항체 비닝					
	빈 1	빈 2	빈 3	빈 4	빈 5
	E10286과 경쟁	K8과 경쟁	191240과 경쟁	E10286, K8 및 191240과 경쟁	임의의 시험 항체와 경쟁하지 않음

Ab	2D4	5C6	6B2	5B1	2D5
		12B12	6D8		7H12
		17C2	5C6		
			17C2		

[0800] 결과는 Siglec-9 항체 5C6, 12B12 및 17C2가 항체 2D4, 2D5, 5B1 및 7H12로부터의 별개의 빈에 있다는 것을 나타낸다. 결과는 **실시예 1**의 결과와 일치한다.

[0801] **실시예 46: 항-Siglec-9 및 항-PD1 항체 조합 치료의 생체내 효과**

[0802] CTG-0202 환자-유래 흑색종 종양을 인간화된 마우스에 대한 이식 전에 사전 연구 동물에서 처음 계대시켰다. 종양이 저장 동물에서 1 내지 1.5 cm³에 도달되었을 때, 사전 연구 동물 내로 재이식을 위해 그들을 채취하였다. 사전 연구 동물에 한쪽으로 좌측 옆구리에 종양 단편을 이식하였다. CTG-0202 흑색종 종양을 6회 계대에서 사용하였다.

[0803] 태아 간-유래 CD34⁺ 조혈세포를 이용하여 면역손상된 암컷 마우스(타코닉 NOG(Taconic NOG))를 인간화시킨다. 12-시간 명암 주기로 68 내지 74°F(20 내지 23°C) 및 30 내지 70% 습도에서 개개 HEPA 통기 우리(이노케이지(등록상표) IVC, 이노바이브 USA(Innovive USA))에서 방사선조사한 페이퍼휘스트(papertwist)가 풍부한 1/8"옥수수자루 잠자리(쉬퍼드(Sheperd)) 상에 마우스를 수용하였다. 마우스에 물을 임의로 공급하였고(역삼투압, 2ppm Cl₂), 방사선조사된 시험 설치류 식이요법(테클라드(Teklad) 2919)은 19% 단백질, 9% 지방 및 4% 섬유질로 이루어진다. 48마리의 인간화된 마우스를 이식하고 나서, 이식 후 7 내지 10일에 시작해서 각각의 실험에 대해 사전 연구 종양 용적을 기록하였다. 종양의 용적이 대략 80 내지 200mm³에 도달되었을 때, 마우스를 종양 용적에 따라 처리군 또는 투약을 위해 사용될 대조군으로 매칭하였고, 투약을 제0일에 개시하였다. 대조군 단일클론 항체(그룹 1)와 조합하여, 또는 항-Siglec-9 항체 2D4(그룹 2)와 조합하여 시험군에 항-PD-1 항체 키트루다(등록상표)(렘브롤리주맵)를 투여하였다. **표 13** 및 **도 15a**는 투약 스케줄, 투약량 및 투여 경로를 도시한다.

표 13

[0804]

Siglec-9 항체 2D4의 생체내 암 효능 연구를 위한 항체 투약 스케줄 및 투여 경로						
그룹	n	항체 처리	용량 용적(mg/kg)	ROA	스케줄	용량의 총 수
1	8	키트루다	5/2.5	IP	q5dx6	6
		CTR mAb	40	IP	q5dx6	6
2	8	키트루다	5/2.5	IP	q5dx6	6
		2D4	40	IP	q5dx6	6

[0805] **표 13**에서, "n"은 각각의 처리군에서 마우스의 수를 지칭하고; "CTR mAb"는 아이소타입 대조군 항체를 지칭하며; "2D4"는 항-Siglec-9 항체 2D4를 지칭하고; "ROA"는 투여 경로를 지칭하며; "IP"는 복강내를 지칭하고; "q5dx6"은 총 6회 용량 동안 5일마다의 투여의 투약 스케줄을 지칭한다.

[0806] 제0일에 시작해서, 마우스를 매일 관찰하고, 디지털 스케일을 이용하여 매주 2회 칭량하였다. 디지털 캘리퍼에 의해 매주 2회 종양 치수를 측정하고, 개개 및 평균 추정 종양 용적(평균 TV ± SEM)을 포함하는 데이터를 각각의 그룹에 대해 보고하였다. 하기 식(1)을 이용하여 종양 용적을 계산하였다: TV= 폭² x 길이 x 0.52. 제28일에 대조군의 평균 종양 용적이 1500mm³에 도달되었을 때 연구를 수행하였다.

[0807] 연구 종결 시, 채취한 종양을 밤새 얼음팩 상의 배지로 운반하고, 다음날에 처리하였다. 30분 동안 37°C에서 콜라게나제를 이용하여 종양 샘플을 처리하였다. 셀 스트레이너를 통해 샘플을 해리시키고, PBS 중의 2% FBS 중에서 재현탁시켰다. ACK 용해 완충제를 이용하여 전혈 샘플 중의 적혈구를 용해시키고, 이어서, 세포를 PBS 중의 2% FBS 중에서 2회 세척하였다. 혈구계를 이용하여 세포를 계수화하고, 얼음 상에서 30분 동안 플루오로크롬-접합 항체를 이용하여 1백만개의 세포를 염색하고, 이어서, PBS 중의 2% FBS로 세척하였다. 세포를 PBS 중의 4% 파라폼알데하이드로 고정시켰다. 모든 염색 세포를 FACS 칸도(BD 바이오사이언시즈) 상에서 분석하고 나서, 플로우조 소프트웨어(트리스타)를 이용하여 데이터를 분석하였다. 종양-침윤성 면역 세포를 동정하기 위해, 표준 절차에 따라 hCD45, hCD3, hCD4, hCD8 및 hCD14 항체를 사용하여 집단 상에서 개폐하였다.

- [0808] 도 15B 및 도 15C에서 나타난 바와 같이, Siglec-9 항체 2D4 및 항-PD-1 항체 키트루다(등록상표)(캄브롤리주맵)에 의한 조합 치료는 인간 면역 줄기 세포 및 환자-유래 이중이식 CTG-0202 흑색종 종양이 접합된 마우스 종양 모델에서 말초 혈액 hCD45⁺ CD14⁺ 골수성 세포에서 Siglec-9의 세포 표면 수준을 감소시켰다. 2D4 처리는 세포 표면 CD33 수준에 영향을 미치지 않았다. 세포-표면 Siglec-9 수준의 유사한 감소가 또한 종양내 hCD45⁺ CD14⁺ 골수성 세포 상에서 관찰되었다.
- [0809] 도 15D에 나타난 바와 같이, Siglec-9 항체 2D4와 항-PD-1 항체 키트루다(등록상표)(캄브롤리주맵)에 의한 조합 치료는 인간 면역 줄기 세포 및 환자-유래 이중이식 CTG-0202 흑색종 종양이 접합된 마우스 종양 모델에서 말초 혈액 hCD45⁺ CD14⁺ 골수성 세포 백분율을 감소시켰다.
- [0810] 도 15E에 나타난 바와 같이, Siglec-9 항체 2D4와 항-PD-1 항체 키트루다(등록상표)(캄브롤리주맵)에 의한 조합 치료는 인간 면역 줄기 세포 및 환자-유래 이중이식 CTG-0202 흑색종 종양이 접합된 마우스 종양 모델에서 말초 혈액 hCD45⁺ CD3⁺ T 세포 백분율을 증가시켰다.
- [0811] 도 15F에 나타난 바와 같이, Siglec-9 항체 2D4와 항-PD-1 항체 키트루다(등록상표)(캄브롤리주맵)에 의한 조합 치료는 인간 면역 줄기 세포 및 환자-유래 이중이식 CTG-0202 흑색종 종양이 접합된 마우스 종양 모델에서 종양 침윤성 hCD45⁺ CD14⁺ 골수성 세포 수를 감소시켰다.
- [0812] 도 15G에 나타난 바와 같이, Siglec-9 항체 2D4와 항-PD-1 항체 키트루다(등록상표)(캄브롤리주맵)에 의한 조합 치료는 인간 면역 줄기 세포 및 환자-유래 이중이식 CTG-0202 흑색종 종양이 접합된 마우스 종양 모델에서 종양 침윤성 hCD45⁺ CD3⁺ 골수성 세포 수를 증가시켰다.
- [0813] 도 15H 및 도 15J에 나타난 바와 같이, Siglec-9 항체 2D4 및 항-PD-1 항체 키트루다(등록상표)(캄브롤리주맵)와의 조합 치료는 2명의 상이한 인간 공여자(공여자 #: 165547112 및 17509112)로부터의 인간 면역 줄기 세포가 접합된 마우스에서 이식된 환자-유래 흑색종 종양 모델에서 생체내 종양 성장을 저해한 반면, 2D4 처리는 제3 공여자(공여자 # 984480112)로부터의 면역 세포가 생착된 마우스 내 종양 성장에 영향을 미치지 않았다.
- [0814] 중요하게는 본 명세서에 기재된 결과에 대해, 종양과 종양에 반응하는 면역계는 둘 다 인간이었다. 마우스 면역계가 유전적으로 제거되고, 방사선조사에 의해 골수가 제거된 방법에 의해 마우스의 면역계를 인간화시키고, 이어서, 골수성 및 림프 면역 세포를 재집단화하고 발생시키는 인간 공여자 CD34⁺ 조혈성 줄기 세포 및 전구체 세포로 대체하였다. 종양은 환자-유래 흑색종이었다. 인간-특이적 Siglec-9 항체 2D4는 표적 특이적 맞물림 및 인간 Siglec-9의 하향조절을 나타내었다. 수용체 하향조절은 말초 및 종양 CD14⁺ 골수성 세포 상에서 유의하였다. 따라서 종양 성장, CD3⁺ T-세포의 증가된 종양 침윤, 및 감소된 CD14⁺ 세포에 대한 임의의 효과는 인간 골수성 면역 세포에 대한 Siglec-9의 2D4 항체-매개된 하향조절 결과였다.
- [0815] 상기 제시한 데이터는 Siglec-9 항체 2D4가 말초 및 종양 침윤성 골수성 세포 상에서 강력하고 유의한 수용체-하향조절 항체라는 것을 나타내었다. 순환성과 종양 침윤성 면역 세포 집단 둘 다의 분석은 CD3⁺ T-세포의 유의한 증가를 입증하였다. 추가적으로, 골수성 세포 집단은 또한 Siglec-9 항체 처리에 의해 영향받았다. 종양에서 뿐만 아니라 말초 혈액 세포 집단에서 CD14⁺ 골수성 세포의 감소가 관찰되었다. 이 데이터는 Siglec-9의 하향조절이 종양 침윤성 면역 세포 집단을 작용적으로 변경시켰다는 것을 시사하였다. 종합하면, 이들 연구는 인간암을 치료하기 위한 치료제로서 항-Siglec-9 항체의 전임상 효능을 뒷받침하였다.

도면

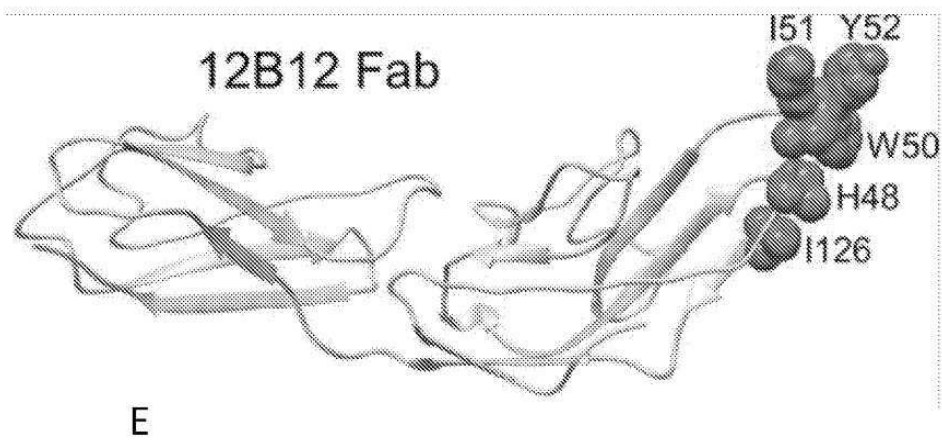
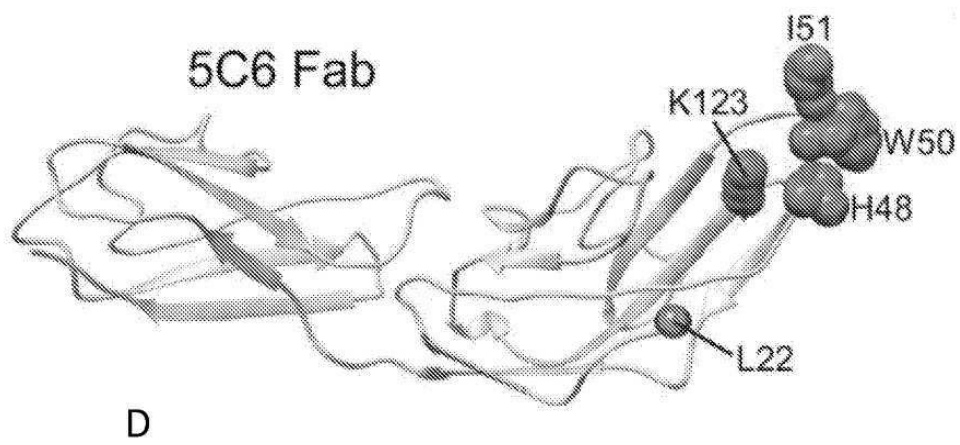
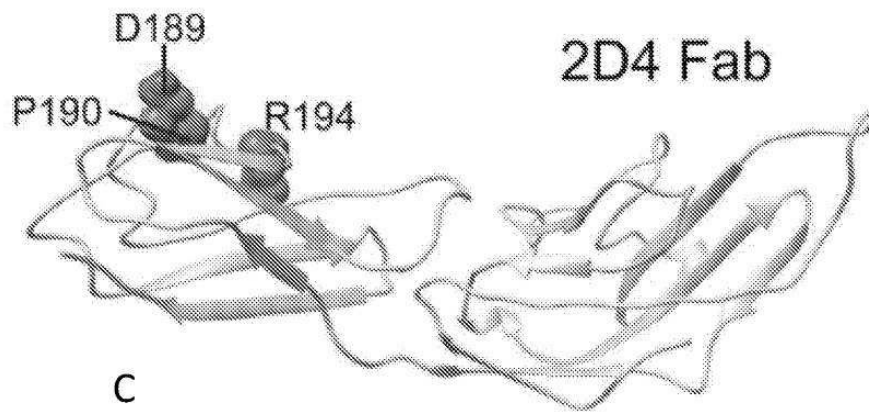
도면1a

인간 Siglec-9	--MLLLLLLPLLWGRERAEQQTST---KLITMQSSSVTVQEGLCVHVPCSFSPYS---HGWI	51
침팬지 Siglec-9	--MLLLLLLPLLWGRERAEQQTST---NLITMQSSVMVQEGLCVHVPCSFSPYS---RGWI	51
그린 원숭이 Siglec-9	-MLLLLLLPLLWGRERVEGQRNNRKYPLTMQGSATVQEGLCVHVLCSPSYPR---PGWI	56
레서스 마카크 Siglec-9	MLLLLLLPLLWGRERVEGQRNNQKNYPLTMQESVTVQQLCVHVLCSPSPY---YGI	57
마우스 Siglec-9	-MLLLLLLPLLWGIKGVGQNP-QEVFTLNVERKVVVQEGLCVLVPCNPSYLYKKRLTDWT	58
	:**** * : ,*** : ,: ,. ** :*** * ,*** *	
인간 Siglec-9	YPGPVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETDRFHLGDPHTKNCTLSIRDARR	111
침팬지 Siglec-9	YPGPVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVREETDRFHLGDPHTKNCTLSIRDARR	111
그린 원숭이 Siglec-9	TSDP-VHGYWFQAGADTRDTPVATNNPARAREETDRFHLGDPQTKNCTLSIRDARS	115
레서스 마카크 Siglec-9	SSDP-VHGYWFRAGARTDRDAPVATNNPARAVREDTRFHLGDPQTTNCTLSIRDARS	116
마우스 Siglec-9	DSDP-VHGFYREGTDRKDSIVATNNPIRKAVKETNRFFLLGDPWRNDCSLNIREIRK	117
	* ** : : : * : : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
인간 Siglec-9	SDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESQCPQNLTCVSPWACE	171
침팬지 Siglec-9	SDAGRYFFRVETGNIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESQCPQNLTCVSPWACE	171
그린 원숭이 Siglec-9	SDAGTYFFRVETGKTWNYKYVLLSVRVLTALTHRPNILIPGTLESQCPQNLTCVSPWACE	175
레서스 마카크 Siglec-9	SDAGKYFFRVETGKTWNYKYAPLSVHVLTALTHRPNILIPGTLESQCPQNLTCVSPWACE	176
마우스 Siglec-9	KDAGLYFFRLERKTKYNYMWDKMTLVVLTALTNTPQILLPETLEAGHPNSLTCVSPWDG	177
	.*** ** : * . : . * : : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
인간 Siglec-9	QGTTPMISWIGTSVSPDPSTTRSSVLTLPQPDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTIVHLN	231
침팬지 Siglec-9	QGTTPMISWIGTSVSPDPSTTHSSVLTLPQPDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTIVHLN	231
그린 원숭이 Siglec-9	QGTTPMISWIGTSVSPDPSTTRSSVLTLPQPDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTIVHLN	235
레서스 마카크 Siglec-9	QGTAPMISWIGTSVSPDPSTTRSSVLTLPQPDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTIVHLN	236
마우스 Siglec-9	WTAPPISWIGTSVSPDSTNTTSSVLTLPQPDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTIVHLN	237
	: * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
인간 Siglec-9	VSYPPQNLMTVPQGDGTSTVLNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRG	291
침팬지 Siglec-9	VSYPPQNLMTVPQGDGTSTVLNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRG	291
그린 원숭이 Siglec-9	VSYPPQNLMTVPQNGTVSIVLNGSSLSVPEGQSLRLVCAV---DSNPPARLSLSWGG	292
레서스 마카크 Siglec-9	VSYPPQNLMTVPQNDTVSIVLNGSSSVSVPEGQSLRLVCAV---DSNPPARLSLSWGG	293
마우스 Siglec-9	VSYAPKNLTVTIYQGADSVSTILKNGSSLPISGQSLRLICST---DSYPPANLSWSWDN	294
	*** * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
인간 Siglec-9	LTLCPSPQSPNPGVLELFWVHLRDAEFTCRAQNPLGSSQVYLVNLSLQSKAT-SGVTQGVV	350
침팬지 Siglec-9	LTLCPSPQSPNPGVLELFWVHLRDEEFTCRAQNPLGSSQVYLVNLSLQSKAT-SGVTQGVV	350
그린 원숭이 Siglec-9	LTLCPSPQSPNPGVLELPRVHLRDEEFTCRAQNLLGSSQVYLVNLSLQSKAT-SGLTQGVV	351
레서스 마카크 Siglec-9	LTLCPSPQSPNPGVLELPRVHLREEEFTCRAQNLLGSSQVYLVNLSLQSKAT-SGLTQGVV	352
마우스 Siglec-9	LTLCPSKLSKPGLELFPVHLKHGGVYTCQAQHALGSHISLSLPSQSSATLSMMMGTF	354
	***** : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
인간 Siglec-9	GGAGATALVFLSPCVIFVVVRSRKKKSARPAAGVGDGTIEDANAVRGSSAQGLTEPWAE	410
침팬지 Siglec-9	GGAGATALVFLSPCVIFVVVRSRKKKSARPAAGVGDGTIEDANAVRGSSAQGLTEPCAE	410
그린 원숭이 Siglec-9	G-AGATALVFLSPCVIFVVVRSRKKKSARPAAGVGDGTIEDANAVRGSSAQGLTEPWAE	410
레서스 마카크 Siglec-9	G-AGATALVFLSPCVIFVVVRSRKKKSARPAAGVGDGTIEDANAVRGSSAQGLTEPWAE	411
마우스 Siglec-9	VGSGVTALLFLSVCILLAVRSYRRKPARPAVVAP----HPDALKVSVSQNPLVESQAD	409
	: , * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
인간 Siglec-9	DSPPDQPPPASARSSVGEGELQYASLSFQMKVPRDLRGQATDTEYSEIKIHR-----	463
침팬지 Siglec-9	DSPPDQPPPASARSSVGEGELQYASLSFQMKVPRDLRGQATDTEYSEIKIHR-----	463
그린 원숭이 Siglec-9	DSPPDQPPPASARSSVGEEELQYASLSFQTVKPRDLRGQATNTEYSEIKIHK-----	463
레서스 마카크 Siglec-9	DSPPDQPPPASARSSVGEEELQYASLSFQTVKPRDLRGQATNTEYSEIKIHK-----	464
마우스 Siglec-9	DSSEPLPSILEAAPSSTEEIHYATLSFHEMKPMNLWGQDTEYSEIKFPQRTAWP	467
	** * , * * * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	

도면1b

결합 반응성 (% WT)				
돌연변이	2D4 Fab 높은 엄격함	12B12 Fab	5C6 Fab	MAb 1139
L22A	94.7 (23)	91.2 (2)	6.6 (4)	100.6 (18)
H48A	147.5 (21)	2.6 (3)	0.7 (2)	118.7 (30)
W50A	99.8 (39)	2.2 (3)	7.1 (7)	68.7 (29)
I51A	103.1 (8)	5.8 (6)	3.2 (3)	75.6 (18)
Y52A	144.3 (10)	1.5 (2)	58.8 (39)	108.3 (8)
K123A	142.0 (8)	27.6 (8)	4.5 (0)	87.3 (31)
I126A	163.6 (7)	9.1 (2)	75.8 (2)	127.4 (24)
D189A	24.3 (8)	115.0 (10)	56.3 (9)	114.9 (3)
P190A	25.9 (9)	146.0 (13)	48.3 (37)	124.6 (29)
R194A	2.6 (2)	174.3 (3)	85.1 (67)	134.0 (26)
C213A	20.3 (15)	72.1 (10)	46.1 (9)	76.7 (3)

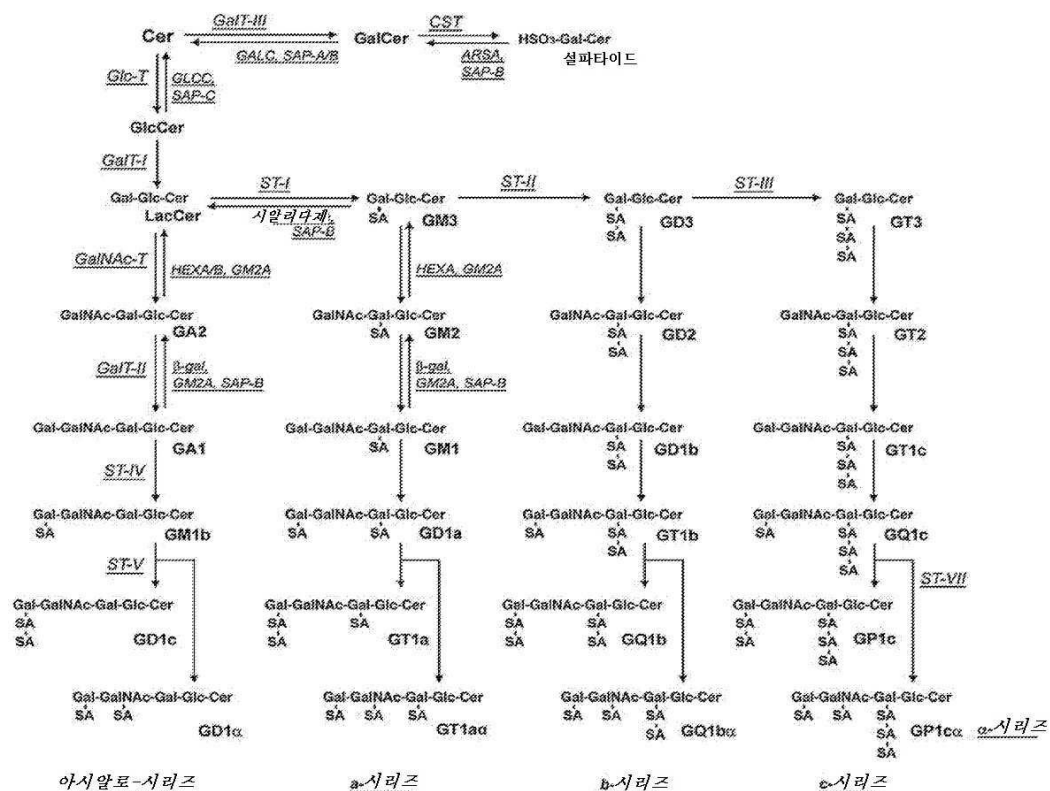
도면1ce



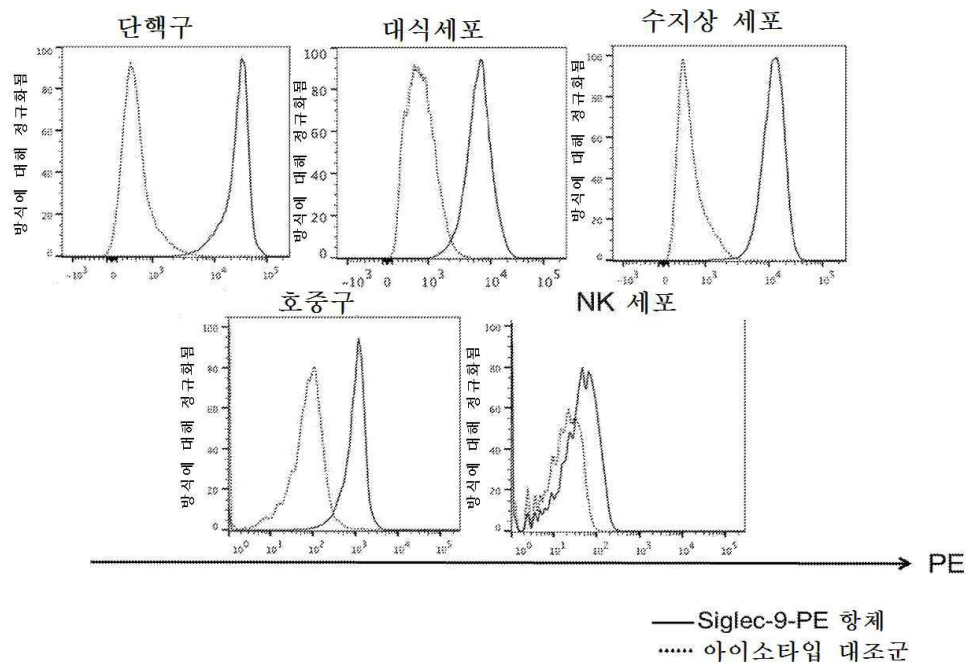
도면2

올리고당	R1	R2	R3	◆ = Sia ○ = Gal ■ = GlcNAc □ = GalNAc ▲ = Fuc										
N-글리칸	+			인간 Siglec 에 의한 상대적 인식										
O-글리칸	+		+											
당지질	+	+		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
◆α6○β4■β-R1				-	++	++	-	-	-	-	-	+	+	-
◆α3○β4■β-R1				++	-	+	+	++	-	-	+	++	++	+
◆α8◆α3○β4■β-R1				+	-	+	-	-	-	++	+	+	-	++
◆α3○β3■β-R1				++	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-
◆α3○β4■β-R1 ▲ α3				+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
◆α3○β3□β-R2/α-R3				+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
◆α3○β3□β-R2/α-R3 α6 ◆				?	?	?	++	-	-	+	-	+	?	?
□β-R2/α-R3 α6 ◆				+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-

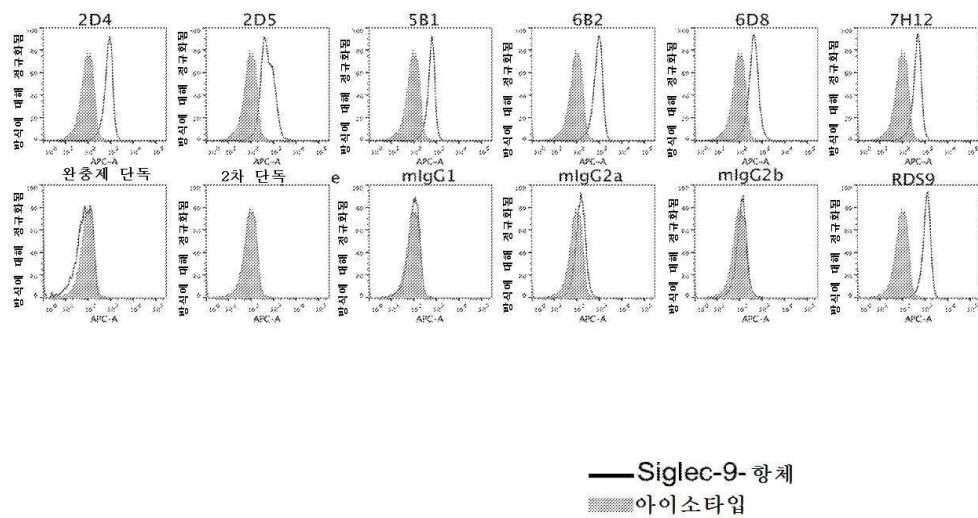
도면3



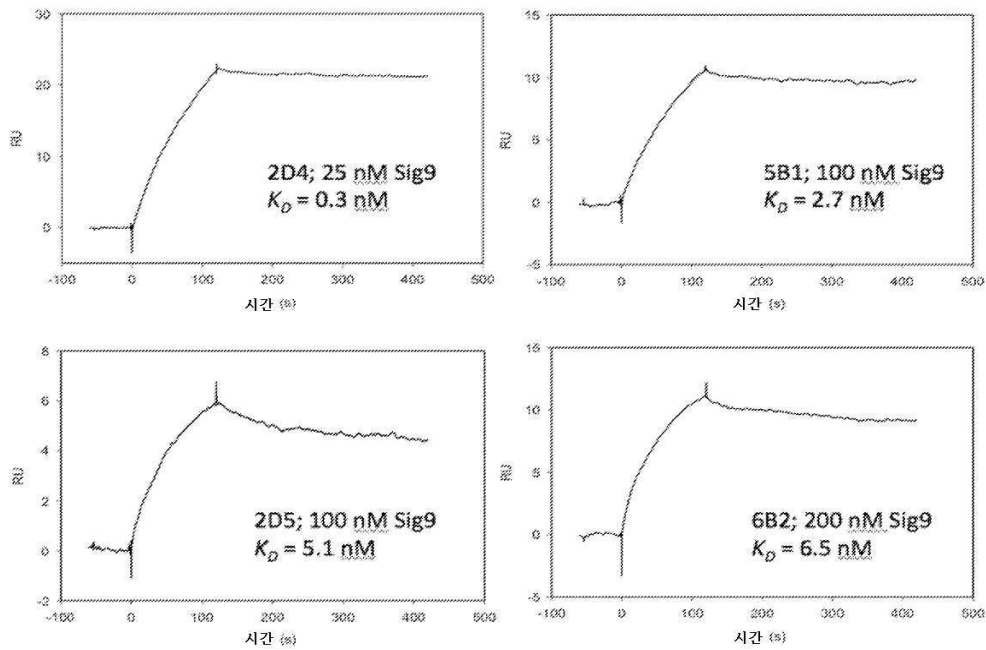
도면4



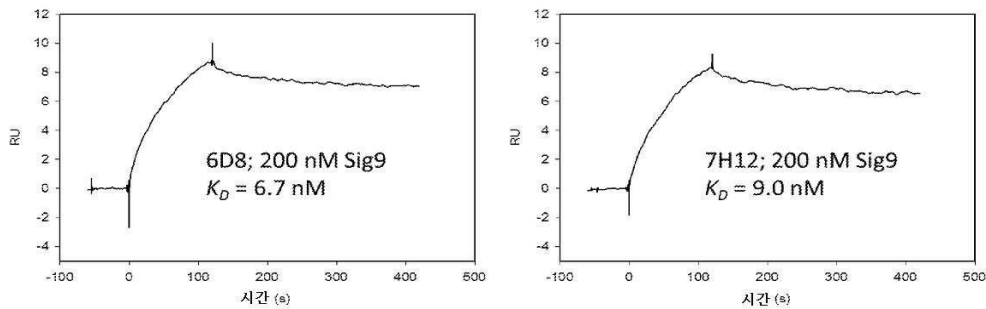
도면5



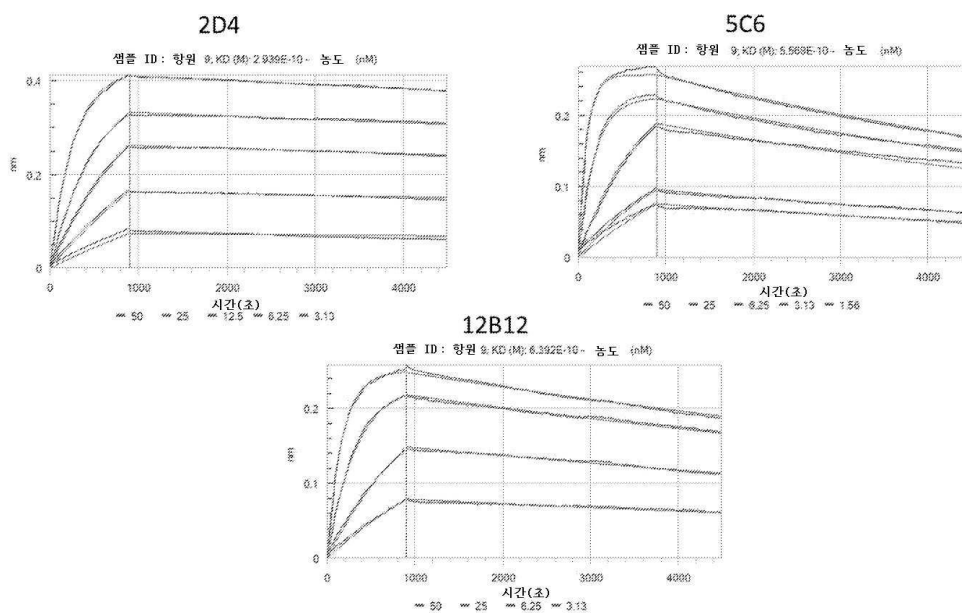
도면6aa



도면6ab



도면6b



도면6c

IMGT IGKV2-30*01 엑세서 프레임워크에 기반한 잠재적 인간화된 서열 (AbM CDR 정의)
 IGKV2-30*01 DVVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRLIYKVSNRDS
 GVPRFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQGTWPP
 결합 영역 IMGT J00242|IGKJ2*01|YTFGQGTKLEIK

seq	10	20	30	40	50	60
AbM	10	20	30abcde	40	50	60
	b b b	p p	b b b	b b	bi bi i	ii ibbi i
5C6.3	DVVMTQTPSLSPVSLGQVSISC	SSSQSLVHNSNGNTYLH	WYLKSGQSPKLLIY	KVSNRFS		
	*	*	***	**	*	*

2-30*01 DVVMTQSPSLSPVTLGQPASISC RSSQSLVYSDGNTYLN WFQQRPGQSPRLIY KVSNRDS
 h5C6.3-L1 DVVMTQSPSLSPVTLGQPASISC SSSQSLVHNSNGNTYLH WFQQRPGQSPRLIY KVSNRFS
 h5C6.3-L2 DVVMTQSPSLSPVTLGQPVISISC SSSQSLVHNSNGNTYLH WFQQRPGQSPRLIY KVSNRFS
 h5C6.3-L3 DVVMTQSPSLSPVTLGQPVISISC SSSQSLVHNSNGNTYLH WFQQRPGQSPRLIY KVSNRFS

seq	70	80	90	100	110
AbM	60	70	80	90	100
	b b	b b b	b b b	ib iib	i b b b
5C6.3	GVPRFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	SQNTHVPLT	FGAGTKLEIK		
	*	*	*	*	*

2-30*01 GVPRFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQGTWPP FQGQGTKLEIK
 h5C6.3-L1 GVPRFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQGTWPP FQGQGTKLEIK
 h5C6.3-L2 GVPRFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQGTWPP FQGQGTKLEIK
 h5C6.3-L3 GVPRFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVVYCMQGTWPP FQGQGTKLEIK

탈아미드화 치환 : Q/S/A/D
 @ 아이소아스파르트레이트 형성 치환 : S/Q/A

h5C6.3-L1은 인간 프레임워크에 대한 변화가 없는 "CDR-swap"이다. 후속적 서열은 (그것을 상기 서열에 비교하여) 적색으로 나타낸 프레임워크 변화를 변경시킨다.

도면6d

IMGT IGHV1-18*01 엑세서 프레임워크에 기반한 잠재적 인간화된 서열 (AbM CDR 정의)
 IGHV1-18*01 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTN
 YAKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR
 결합 영역 IMGT J00256|IGHJ4*01|YFDYWGQGLTVTVSS

seq	10	20	30	40	50
AbM	10	20	30	40	50 a
	b b b	p	b b b b	b b	bi i i ibb b
5C6.3	EVQLQQSGPELVKPGASVRISCKAS	GYTFDYNIN	WVKQSGQKLEWIG	YIYPYNGDTG	
	*	*	*	*	*

1-18*01 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS GYTFTSYGIS WVRQAPGQGLEWMG WISAYNGNTN
 h5C6.3-H1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS GYTFTDYNIN WVRQAPGQGLEWMG YIYPYNGDTG
 h5C6.3-H2 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS GYTFTDYNIN WVRQAPGQGLEWMG YIYPYNGDTG
 h5C6.3-H3 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS GYTFTDYNIN WVRQAPGQGLEWIG YIYPYNGDTG
 h5C6.3-H4 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS GYTFTDYNIN WVRQAPGQGLEWIG YIYPYNGDTG

seq	60	70	80	90	100	110	120
AbM	60	70	80 abc	90	100	110	120
	i b b b b x	b b b b	b b b b	bi b b b		i b b b	
5C6.3	YNQKFPQKATLTVDNSSSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR	GNLYIYIYANDY	WGQGLTVTVSS				
	*	*	*	*	*	*	*

1-18*01 YAKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR WGQGLTVTVSS
 h5C6.3-H1 YAKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR GNLYIYIYANDY WGQGLTVTVSS
 h5C6.3-H2 YAKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR GNLYIYIYANDY WGQGLTVTVSS
 h5C6.3-H3 YAKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR GNLYIYIYANDY WGQGLTVTVSS
 h5C6.3-H4 YAKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR GNLYIYIYANDY WGQGLTVTVSS

탈아미드화 치환 : Q/S/A/D
 @ 아이소아스파르트레이트 치환 : Q/S/A/H

h5C6.3-H1은 인간 프레임워크에 대한 변화가 없는 "CDR-swap"이다. 후속적 서열은 (그것을 상기 서열에 비교하여) 적색으로 나타낸 프레임워크 변화를 변경시킨다.

도면6e

IMGT IGKV1-39*01 엑셀터 프레임워크에 기반한 잠재적 인간화된 서열 (AbM CDR 정의)
 IGKV1-39*01 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQS
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPP
 결합 영역 IMGT J00242|IGKJ2*01|YTFGQGTKLEIK

seq	10	20	30	40	50	60
AbM	10	20	30abcd	40	50	
12B12.2	b b b p p b b b b b b i i i i i i i					
12B12.2	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC	RASENVDSYGISFMH	WYQQKPGQPPKLLIY	RASNLES		
1-39*01	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC	RASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIY	AASSLQS			
h12B12.2-L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC	RASENVDSYGISFMH	WYQQKPGKAPKLLIY	RASNLES		
h12B12.2-L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC	RASENVDSYGISFMH	WYQQKPGKAPKLLIY	RASNLES		
h12B12.2-L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC	RASENVDSYGISFMH	WYQQKPGKAPKLLIY	RASNLES		
	V	#	P	#		

seq	70	80	90	100	110
AbM	60	70	80	90	100
12B12.2	b b b b b b b b b b b b b b b b				
12B12.2	GIPARFSGSGSGTDFTLTINPVEADDAVATYYC	QQSNEDPMT	FGGQGTKLEIK		
1-39*01	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	QSYSTPP	FGGQGTKLEIK		
h12B12.2-L1	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	QQSNEDPMT	FGGQGTKLEIK		
h12B12.2-L2	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	QQSNEDPMT	FGGQGTKLEIK		
h12B12.2-L3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	QQSNEDPMT	FGGQGTKLEIK		
	V	#	E		

달아마이드화 치환 : Q/S/A/D
 E 트립토판 산화 : F/Y/H

h12B12.2-L1 은 인간 프레임워크에 대한 변화가 없는 "CDR-swap"이다. 후속적 서열은 (그것을 상기 서열에 비교하여) 적색으로 나타난 프레임워크 변화를 변경시킨다.

도면6f

IMGT IGHV3-23*04 엑셀터 프레임워크에 기반한 잠재적 인간화된 서열 (AbM CDR 정의)
 IGHV3-23*04 EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSVWRQAPGKGLWVSAISGSGGSTY
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
 결합 영역 IMGT J00256|IGHJ4*01|YFDYWGQGLVTVSS

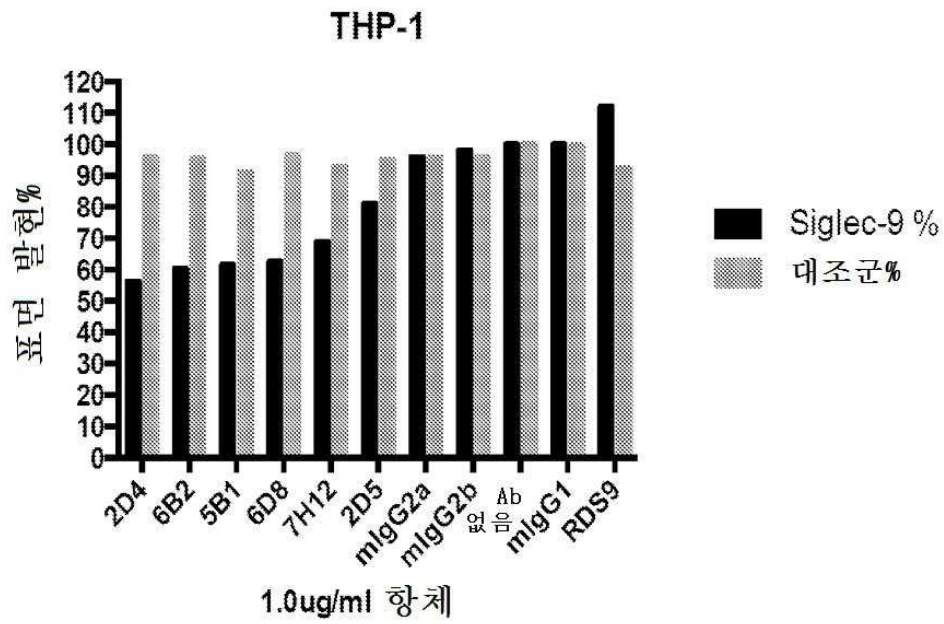
seq	10	20	30	40	50
AbM	10	20	30	40	50 a
12B12.2	b b b p b b b b b b i i i i b b b				
12B12.2	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYAMSVWRQ	ILDKRLELVA	TINSNGGRTY	
3-23*04	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYAMSVWRQAPGKGLWVSAISGSGGSTY			
h12B12.2-H1	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYAMSVWRQAPGKGLWVSAISGSGGSTY			
h12B12.2-H2	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYAMSVWRQAPGKGLWVSAISGSGGSTY			
		#	#	#	

seq	60	70	80	90	100	110	120
AbM	60	70	80 abc	90	100	110	
12B12.2	i b b b b x b b b b b b i b b b						
12B12.2	YPDVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	YYRIDS	YAMDY	WGQGLTVTVSS			
3-23*04	YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	YYRIDS	YAMDY	WGQGLTVTVSS			
h12B12.2-H1	YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	YYRIDS	YAMDY	WGQGLTVTVSS			
h12B12.2-H2	YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	YYRIDS	YAMDY	WGQGLTVTVSS			
	P	I					

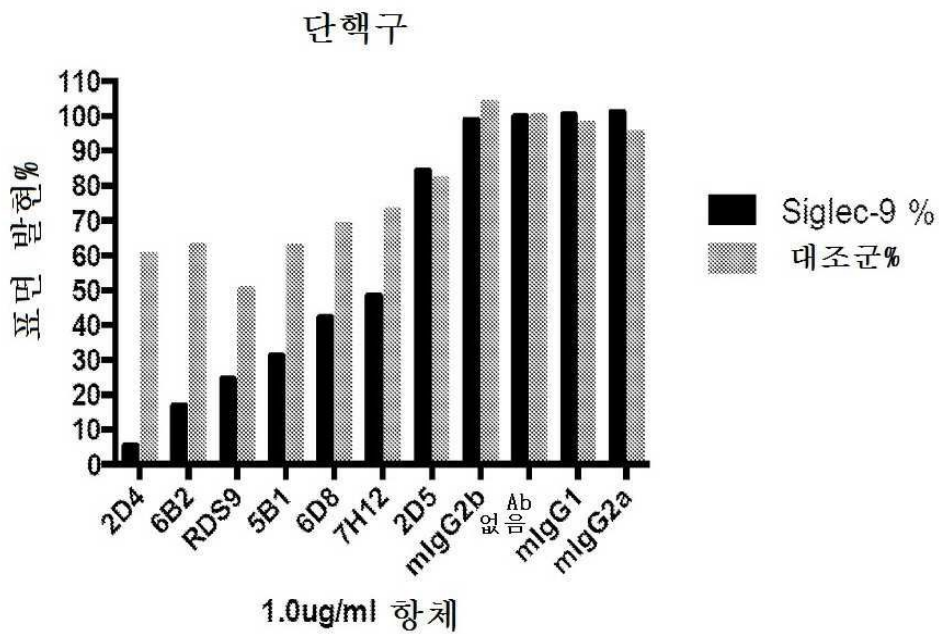
달아마이드화 치환 : Q/S/A/D
 E 아이소아스파르트레이트 치환 : Q/S/A

h12B12.2-H1 은 인간 프레임워크에 대한 변화가 없는 "CDR-swap"이다. 후속적 서열은 (그것을 상기 서열에 비교하여) 적색으로 나타난 프레임워크 변화를 변경시킨다.

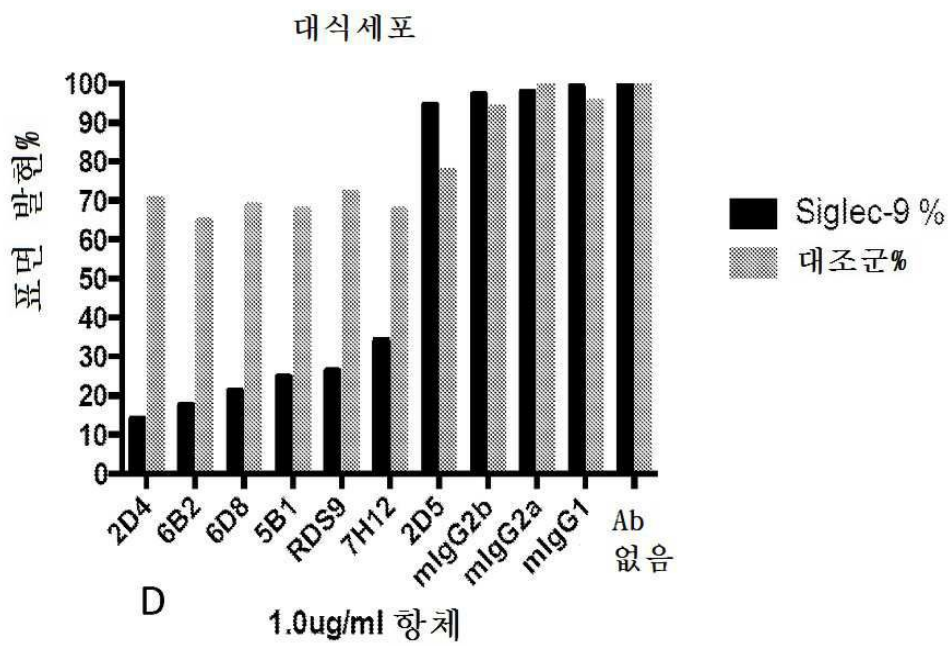
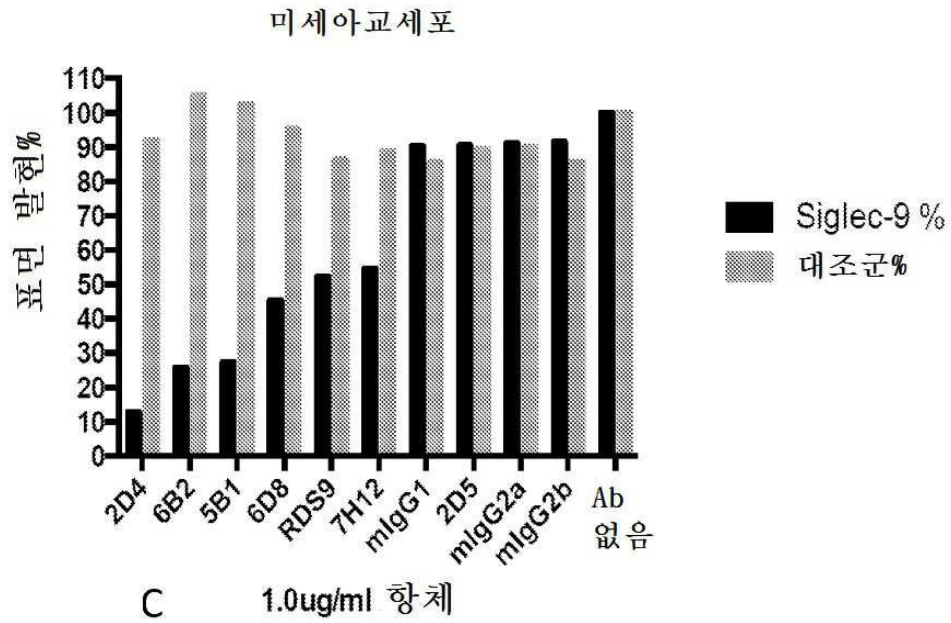
도면7a



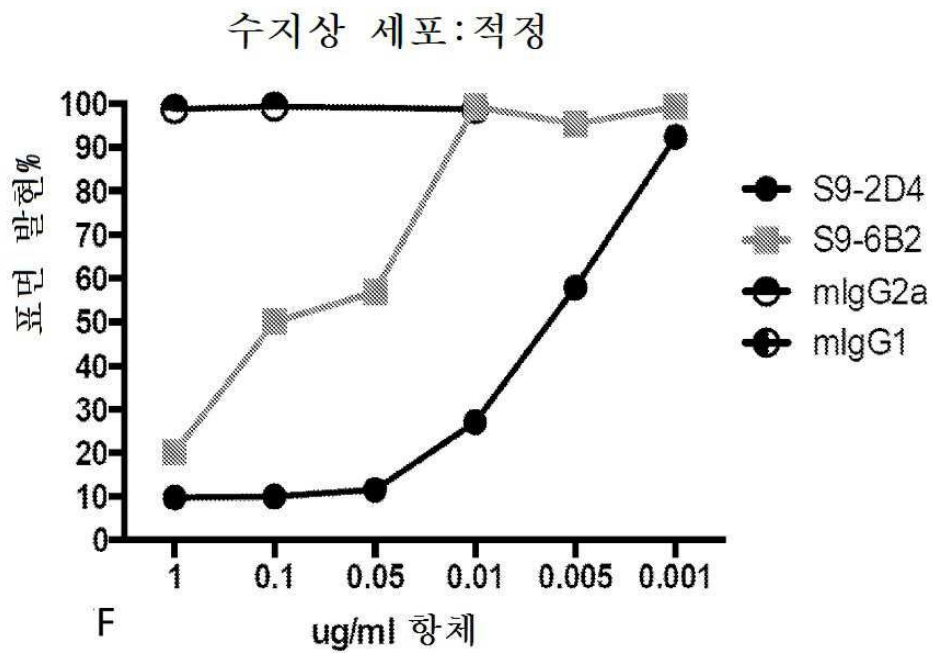
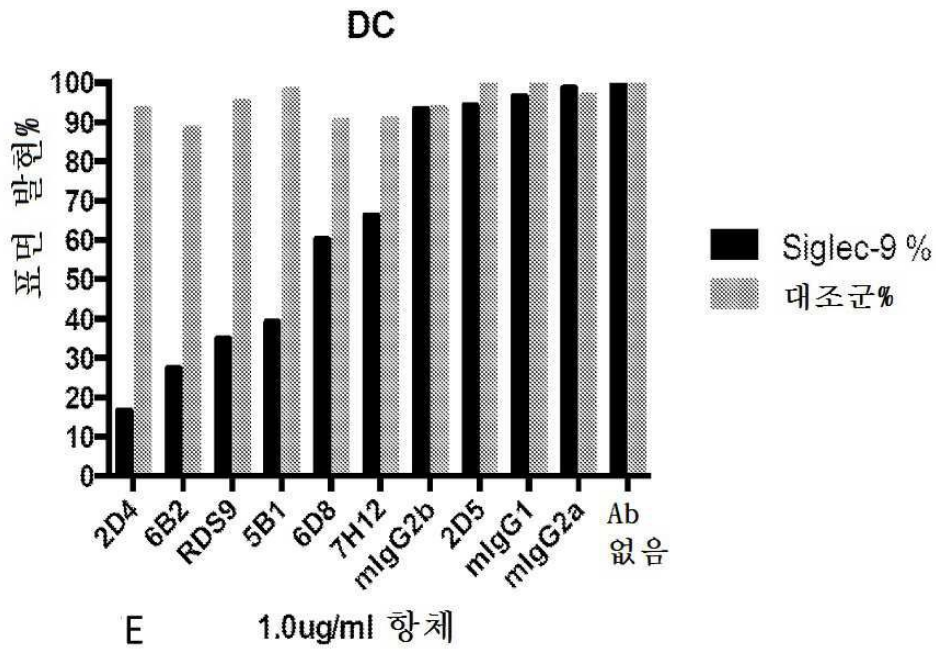
도면7b



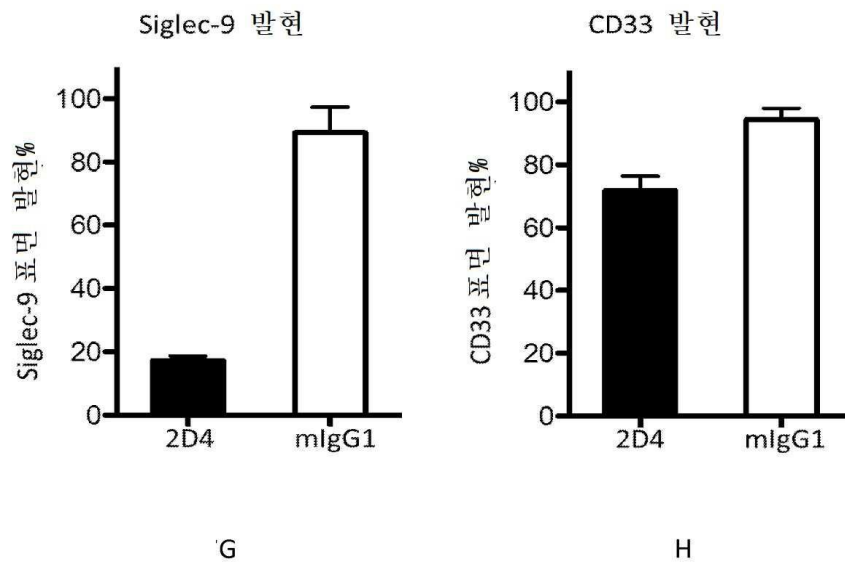
도면7cd



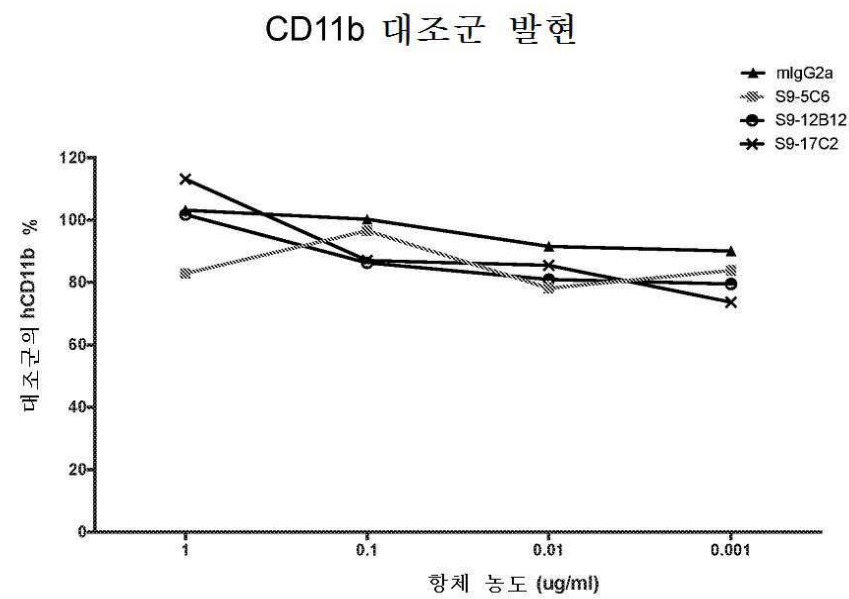
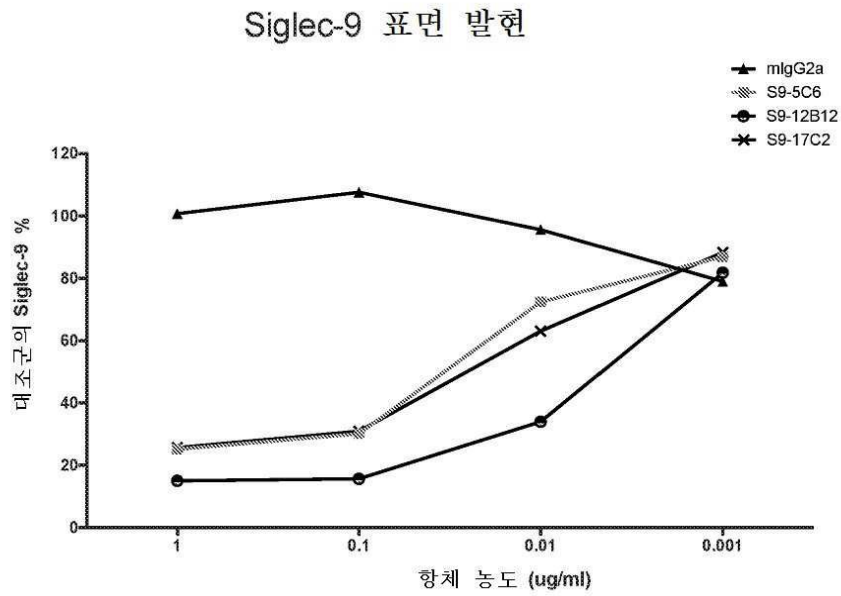
도면7ef



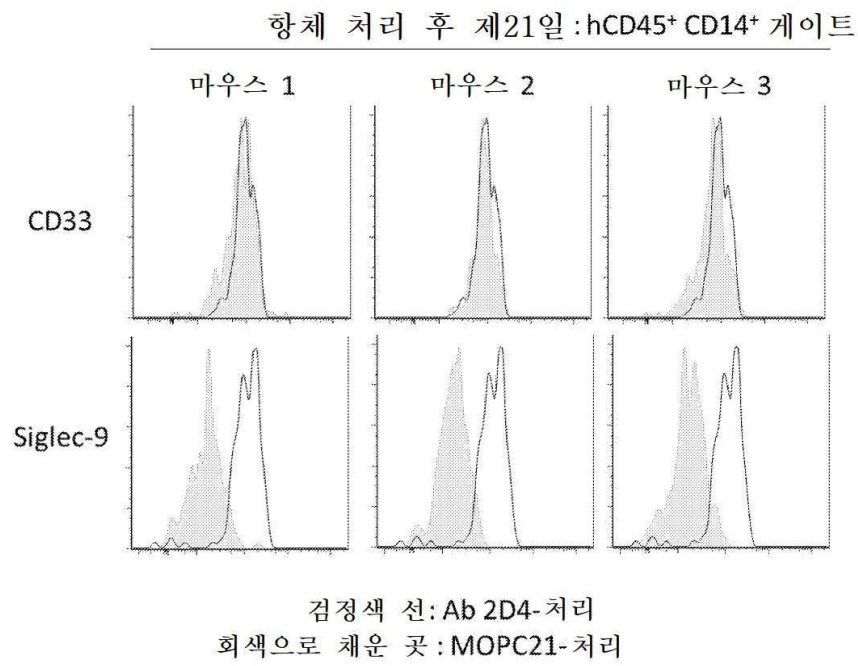
도면7gh



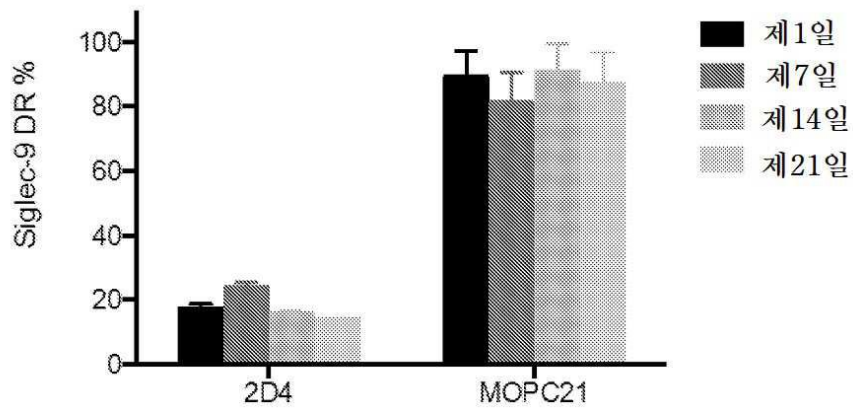
도면7ij



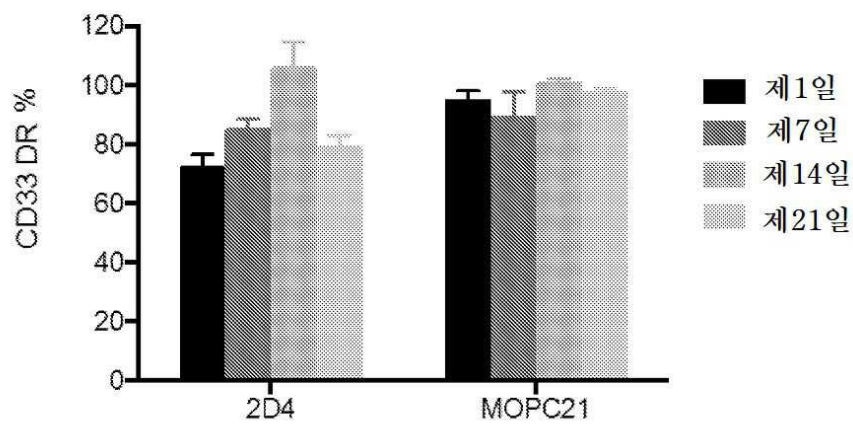
도면7k



도면71m

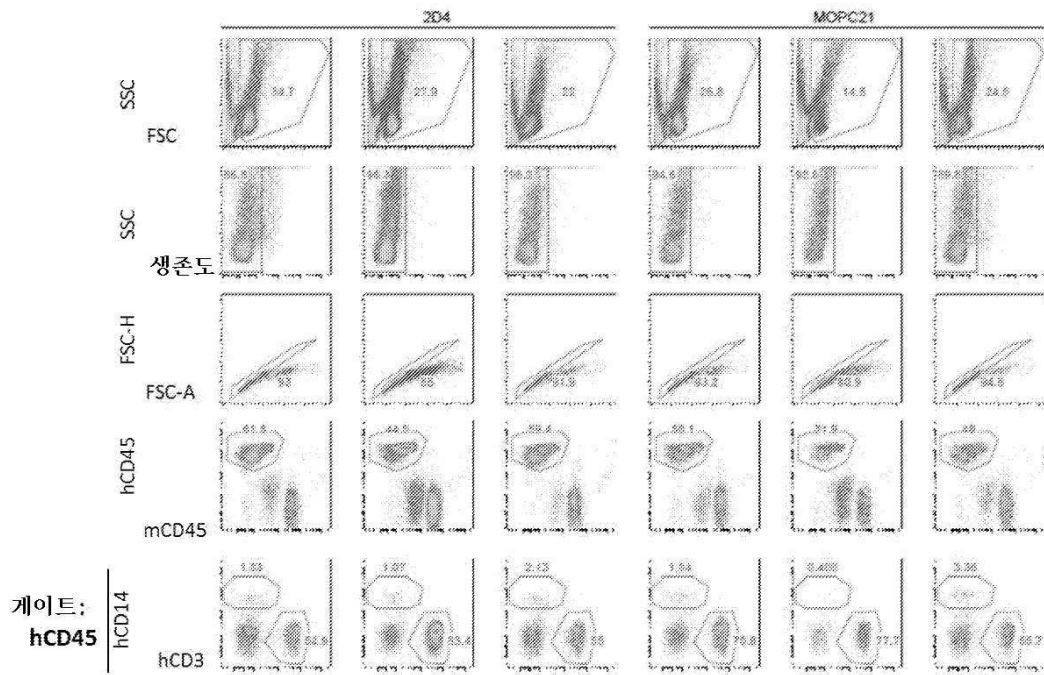


L



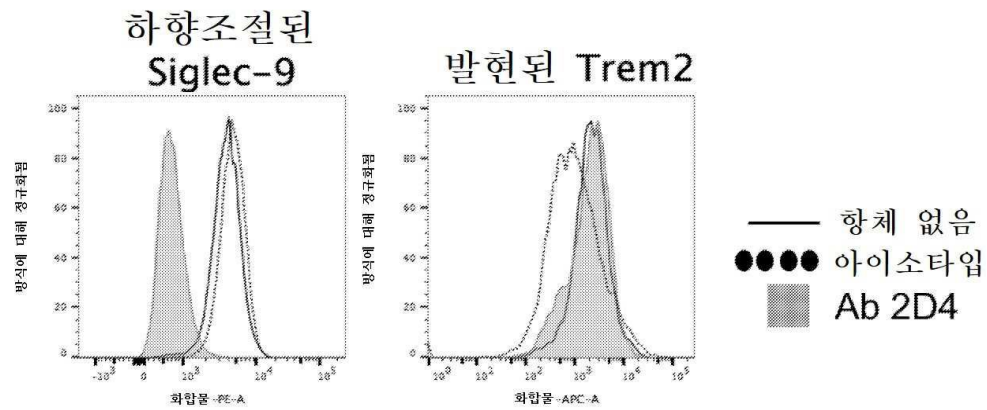
M

도면7n

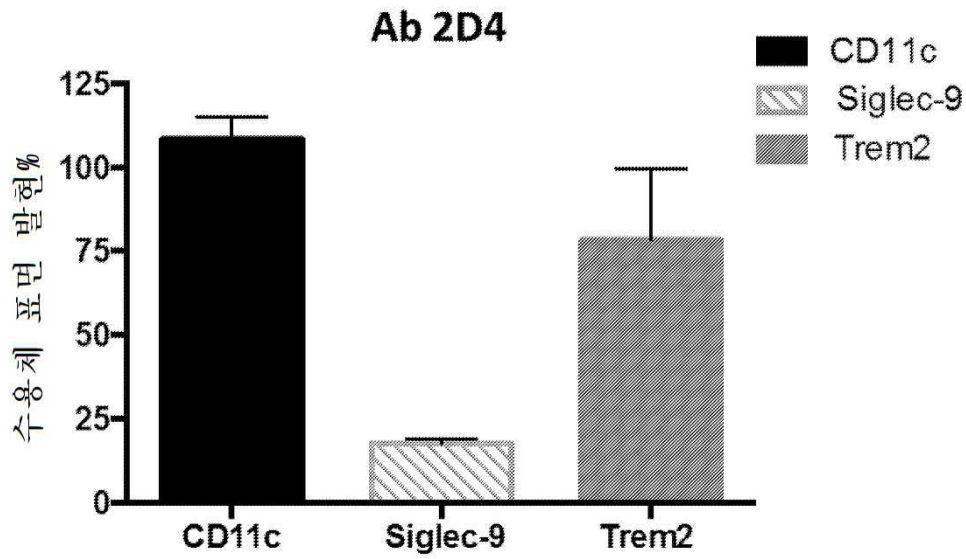


제21일로부터의 흐름도

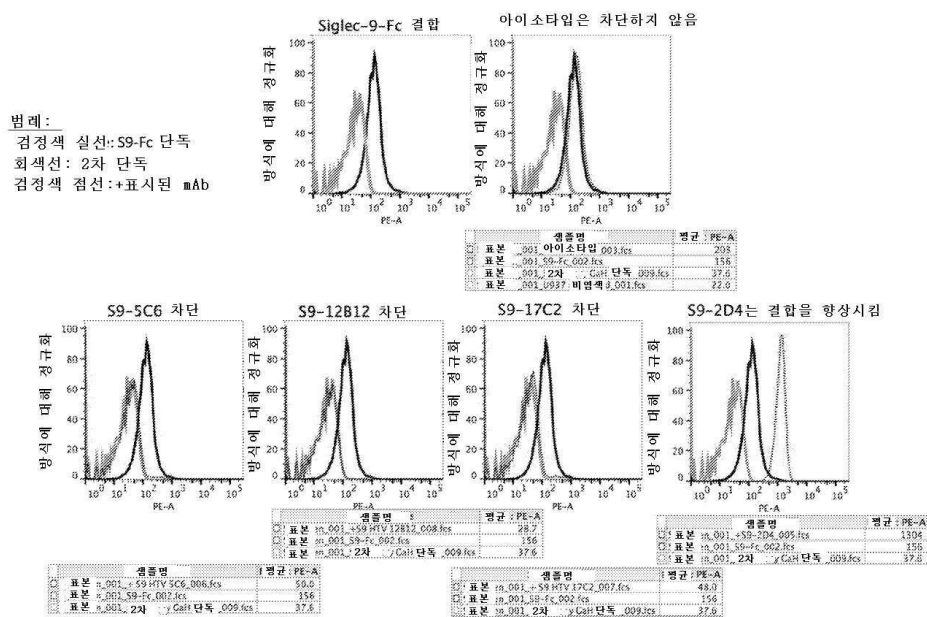
도면7o



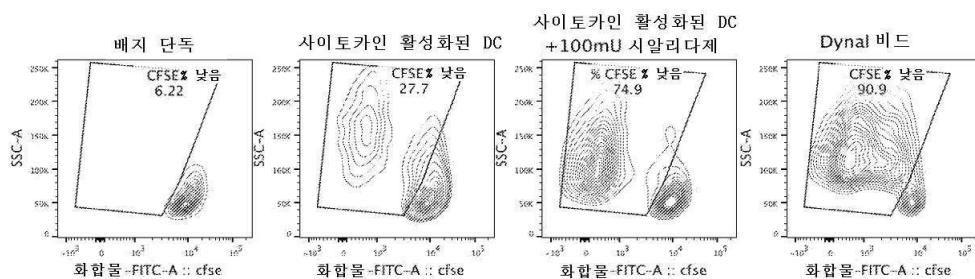
도면7p



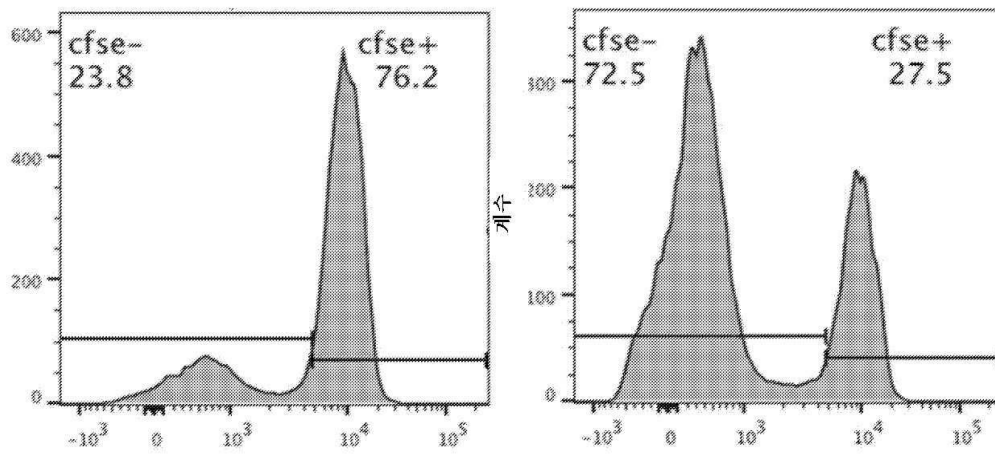
도면7q



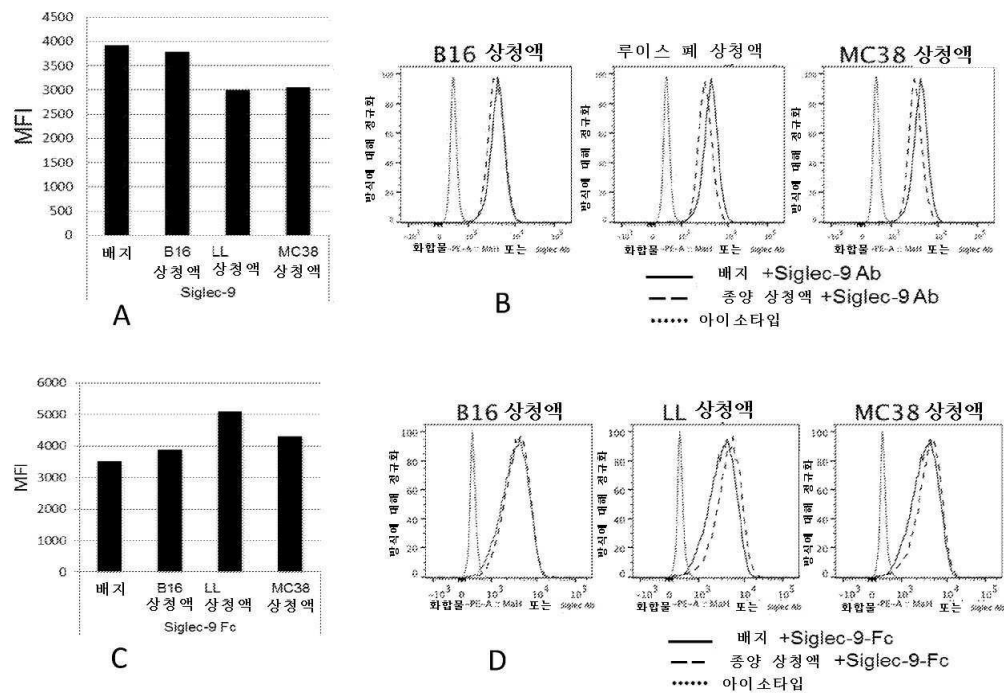
도면8



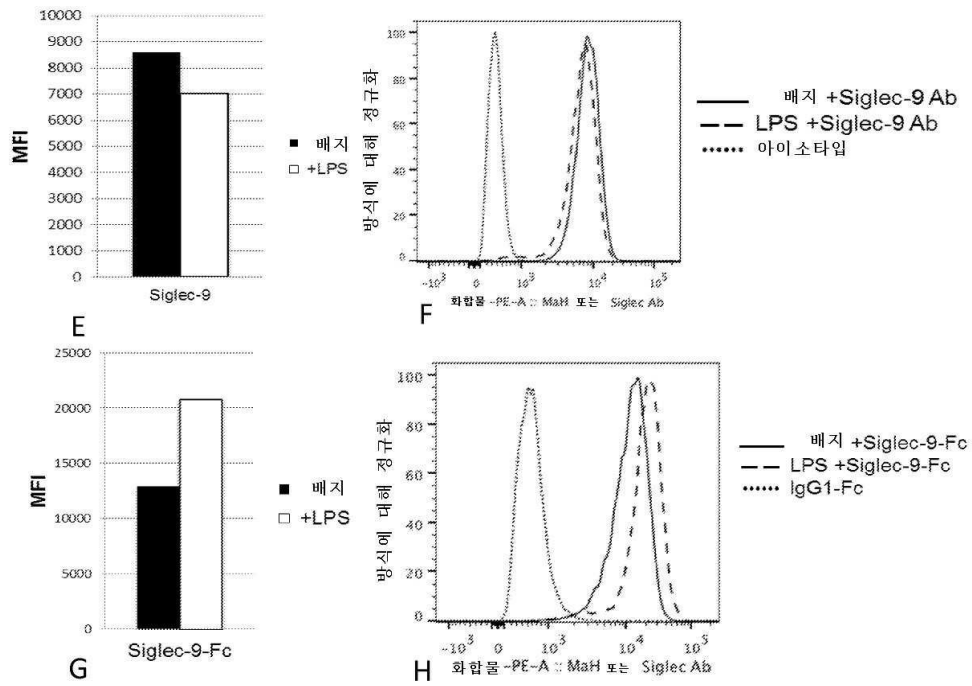
도면9



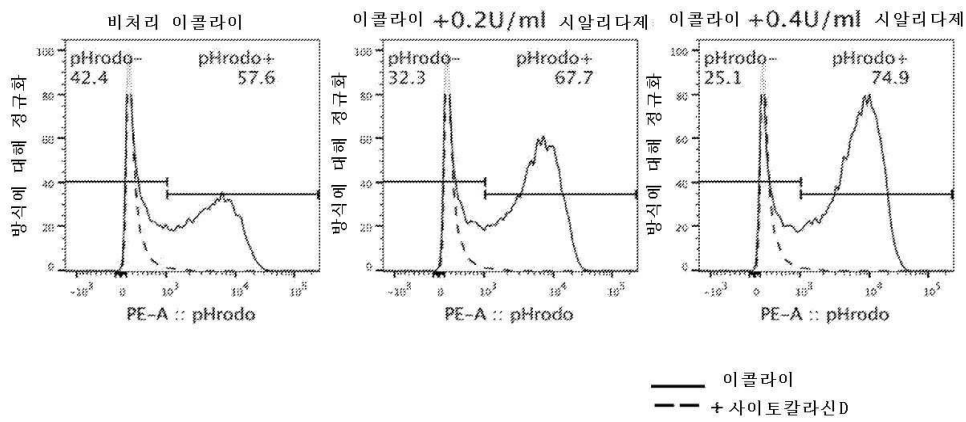
도면10ad



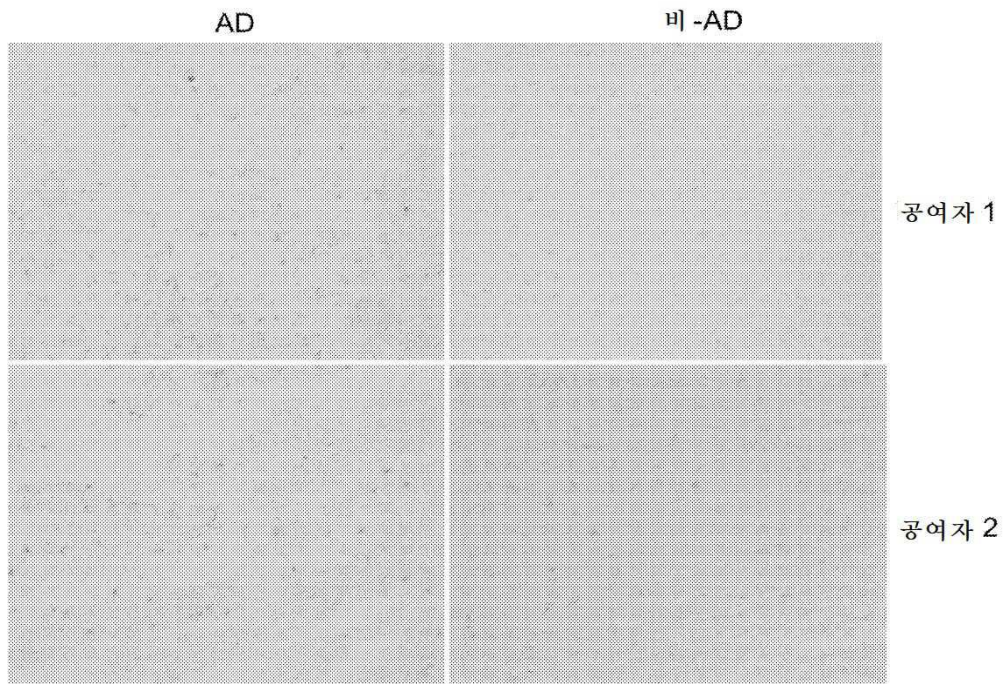
도면10eh



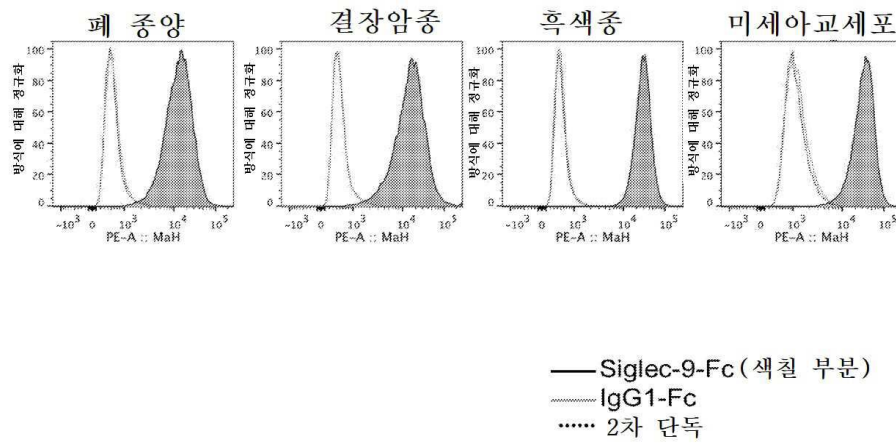
도면11



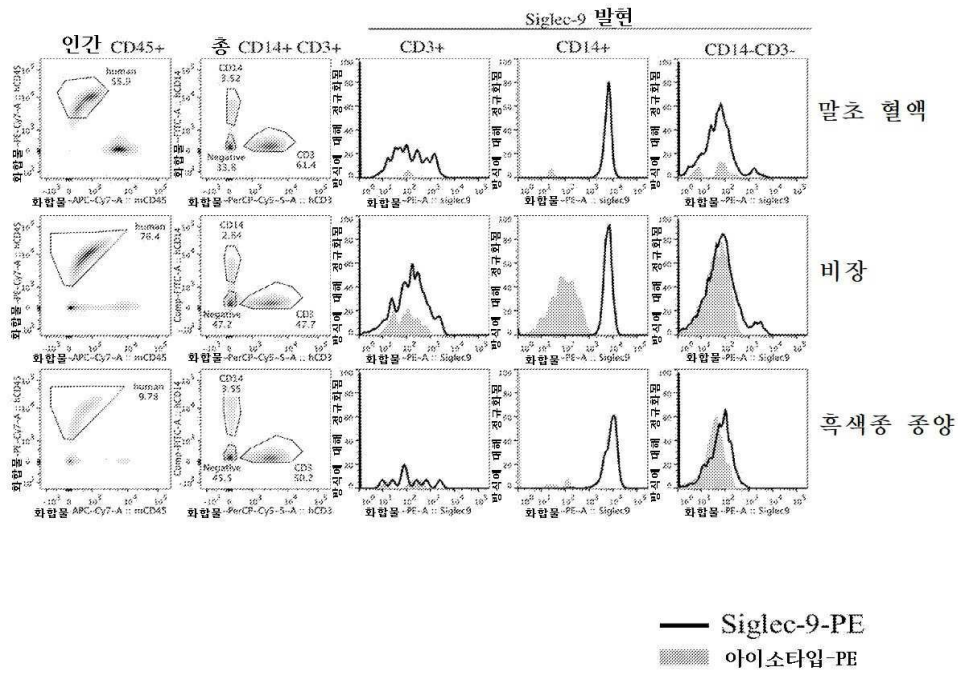
도면12



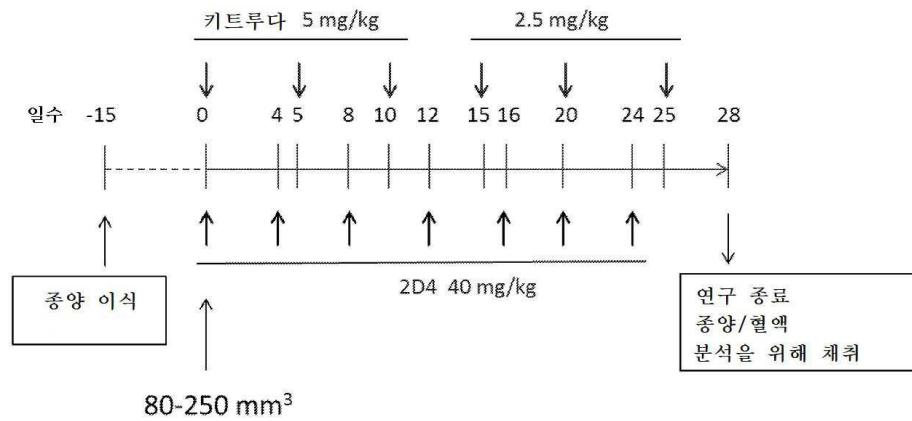
도면13



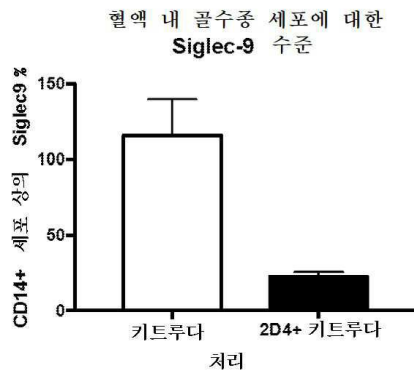
도면14



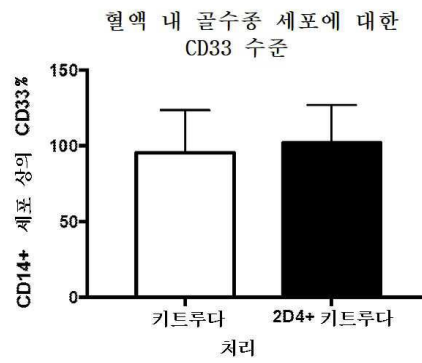
도면15a



도면15bc

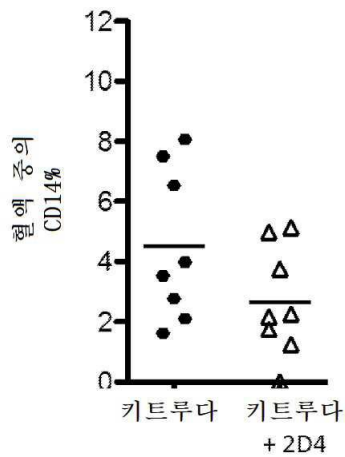


B

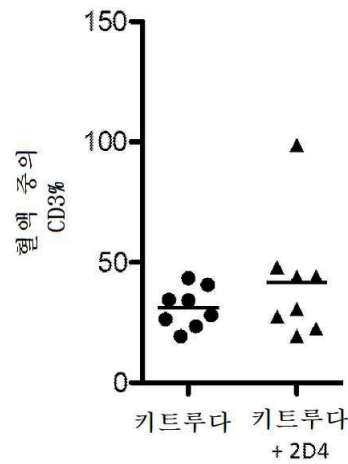


C

도면15de

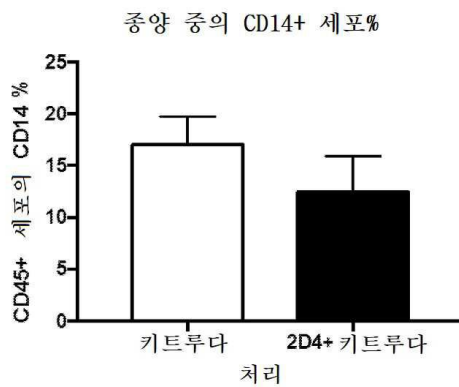


D

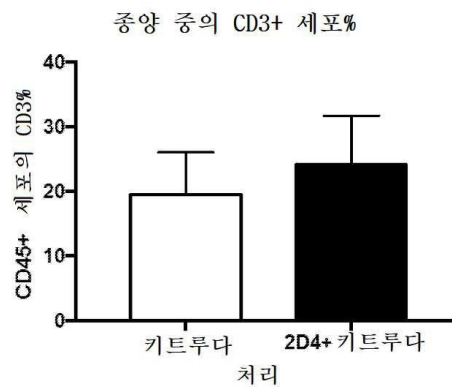


E

도면15fg

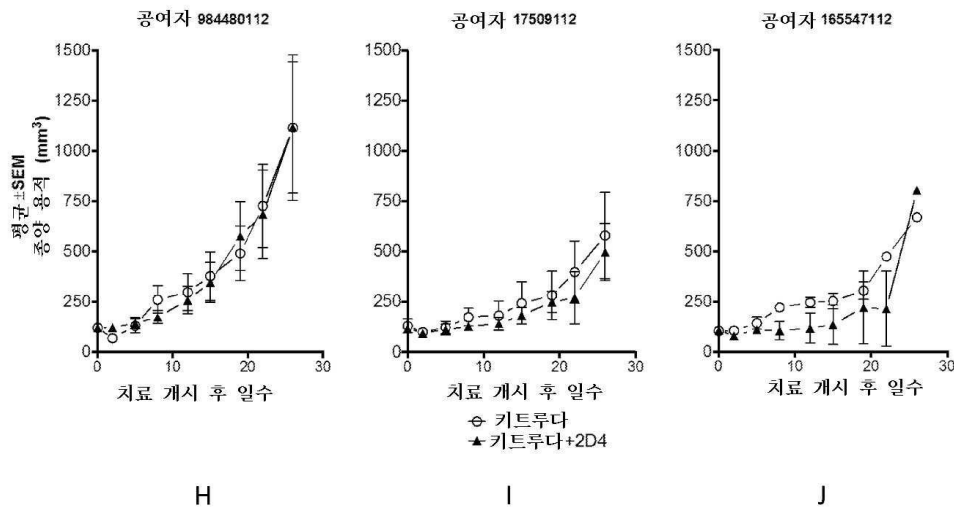


F



G

도면15hj



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ALECTOR LLC

<120> ANTI-SIGLEC-9 ANTIBODIES AND METHODS OF
USE THEREOF

<130> WO/2017/075432

<140> PCT/US2016/059443

<141> 2016-10-28

<150> US 62/248,231

<151> 2015-10-29

<160> 252

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 463

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Gly Arg Glu Arg Ala Glu

1 5 10 15

Gly Gln Thr Ser Lys Leu Leu Thr Met Gln Ser Ser Val Thr Val Gln

20 25 30

Glu Gly Leu Cys Val His Val Pro Cys Ser Phe Ser Tyr Pro Ser His

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Pro Val Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu
50 55 60

Gly Ala Asn Thr Asp Gln Asp Ala Pro Val Ala Thr Asn Asn Pro Ala
65 70 75 80

Arg Ala Val Trp Glu Glu Thr Arg Asp Arg Phe His Leu Leu Gly Asp
85 90 95

Pro His Thr Lys Asn Cys Thr Leu Ser Ile Arg Asp Ala Arg Arg Ser
100 105 110

Asp Ala Gly Arg Tyr Phe Phe Arg Met Glu Lys Gly Ser Ile Lys Trp
115 120 125

Asn Tyr Lys His His Arg Leu Ser Val Asn Val Thr Ala Leu Thr His
130 135 140

Arg Pro Asn Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Ser Gly Cys Pro Gln
145 150 155 160

Asn Leu Thr Cys Ser Val Pro Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro
165 170 175

Met Ile Ser Trp Ile Gly Thr Ser Val Ser Pro Leu Asp Pro Ser Thr
180 185 190

Thr Arg Ser Ser Val Leu Thr Leu Ile Pro Gln Pro Gln Asp His Gly
195 200 205

Thr Ser Leu Thr Cys Gln Val Thr Phe Pro Gly Ala Ser Val Thr Thr
210 215 220

Asn Lys Thr Val His Leu Asn Val Ser Tyr Pro Pro Gln Asn Leu Thr
225 230 235 240

Met Thr Val Phe Gln Gly Asp Gly Thr Val Ser Thr Val Leu Gly Asn
245 250 255

Gly Ser Ser Leu Ser Leu Pro Glu Gly Gln Ser Leu Arg Leu Val Cys
260 265 270

Ala Val Asp Ala Val Asp Ser Asn Pro Pro Ala Arg Leu Ser Leu Ser
275 280 285

Trp Arg Gly Leu Thr Leu Cys Pro Ser Gln Pro Ser Asn Pro Gly Val

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

 Leu Gln Ser Lys Ala Thr Ser Gly Val Thr Gln Gly Val Val Gly Gly
 340 345 350
 Ala Gly Ala Thr Ala Leu Val Phe Leu Ser Phe Cys Val Ile Phe Val
 355 360 365
 Val Val Arg Ser Cys Arg Lys Lys Ser Ala Arg Pro Ala Ala Gly Val
 370 375 380
 Gly Asp Thr Gly Ile Glu Asp Ala Asn Ala Val Arg Gly Ser Ala Ser
 385 390 395 400

 Gln Gly Pro Leu Thr Glu Pro Trp Ala Glu Asp Ser Pro Pro Asp Gln
 405 410 415
 Pro Pro Pro Ala Ser Ala Arg Ser Ser Val Gly Glu Gly Glu Leu Gln
 420 425 430
 Tyr Ala Ser Leu Ser Phe Gln Met Val Lys Pro Trp Asp Ser Arg Gly
 435 440 445
 Gln Glu Ala Thr Asp Thr Glu Tyr Ser Glu Ile Lys Ile His Arg
 450 455 460

 <210> 2
 <211> 463
 <212> PRT
 <213> Pan troglodytes
 <400> 2
 Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Gly Arg Glu Arg Ala Glu
 1 5 10 15
 Gly Gln Thr Ser Asn Leu Leu Thr Met Gln Ser Ser Val Met Val Gln
 20 25 30
 Glu Gly Leu Cys Val His Val Pro Cys Ser Phe Ser Tyr Pro Ser Arg
 35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Pro Val Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu

50

55

60

Gly Ala Asn Thr Asp Gln Asp Ala Pro Val Ala Thr Asn Asn Pro Ala

65

70

75

80

Arg Ala Val Arg Glu Glu Thr Arg Asp Arg Phe His Leu Leu Gly Asp

85

90

95

Pro His Thr Lys Asn Cys Thr Leu Ser Ile Arg Asp Ala Arg Arg Ser

100

105

110

Asp Ala Gly Arg Tyr Phe Phe Arg Val Glu Thr Gly Asn Ile Lys Trp

115

120

125

Asn Tyr Lys His His Arg Leu Ser Val Asn Val Thr Ala Leu Thr His

130

135

140

Arg Pro Asn Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Ser Gly Cys Pro Gln

145

150

155

160

Asn Leu Thr Cys Ser Val Pro Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

240

Met Thr Val Phe Gln Gly Asp Gly Thr Val Ser Thr Val Leu Gly Asn

245

250

255

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

260

265

270

Ala Val Asp Ala Val Asp Ser Asn Pro Pro Ala Arg Leu Ser Leu Ser

275

280

285

Trp Arg Gly Leu Thr Leu Cys Pro Ser Gln Pro Ser Asn Pro Gly Val

290 295 300
Leu Glu Leu Pro Trp Val His Leu Arg Asp Glu Asp Glu Phe Thr Cys

305 310 315 320
Arg Ala Gln Asn Pro Leu Gly Ser Gln Gln Val Ser Leu Asn Val Ser

325 330 335
Leu Gln Ser Lys Ala Thr Ser Gly Val Thr Gln Gly Ala Val Gly Gly

340 345 350
Ala Gly Ala Thr Ala Leu Val Phe Leu Ser Phe Cys Val Ile Phe Val

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

370 375 380
Gly Asp Thr Gly Ile Glu Asp Ala Asn Ala Val Arg Gly Ser Ala Ser

385 390 395 400
Gln Gly Pro Leu Thr Glu Pro Cys Ala Glu Asp Ser Pro Pro Asp Gln

405 410 415
Pro Pro Pro Ala Ser Ala Arg Ser Ser Val Gly Glu Gly Glu Leu Gln

420 425 430
Tyr Ala Ser Leu Ser Phe Gln Met Val Lys Pro Arg Asp Leu Arg Gly

435 440 445
Gln Glu Ala Thr Asp Thr Glu Tyr Ser Glu Ile Lys Ile His Arg

450 455 460

<210> 3

<211> 463

<212> PRT

<213> Chlorocebus sabaeus

<400> 3

Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Gly Arg Glu Arg Val

1 5 10 15

Glu Gly Gln Arg Asn Asn Arg Lys Asp Tyr Pro Leu Thr Met Gln Gly

20 25 30

Ser Ala Thr Val Gln Glu Gly Leu Cys Val His Val Leu Cys Ser Phe

35	40	45	
Ser Tyr Pro Arg Phe Gly Trp Ile Thr Ser Asp Pro Val His Gly Tyr			
50	55	60	
Trp Phe Gln Ala Gly Ala Asp Thr Asp Arg Asp Thr Pro Val Ala Thr			
65	70	75	80
Asn Asn Pro Ala Arg Ala Ala Arg Glu Glu Thr Arg Asp Arg Phe His			
85	90	95	
Leu Leu Gly Asp Pro Gln Thr Lys Asn Cys Thr Leu Ser Ile Arg Asp			
100	105	110	
Ala Arg Ser Ser Asp Ala Gly Thr Tyr Phe Phe Arg Val Glu Thr Gly			
115	120	125	
Lys Thr Lys Trp Asn Tyr Lys Tyr Val Leu Leu Ser Val Arg Val Thr			
130	135	140	
Ala Leu Thr His Arg Pro Asn Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Ser			
145	150	155	160
Gly Cys Pro Gln Asn Leu Thr Cys Ser Val Pro Trp Ala Cys Glu Gln			
165	170	175	
Gly Thr Pro Pro Met Ile Ser Trp Met Gly Thr Ser Val Ser Pro Leu			
180	185	190	
Asp Pro Ser Thr Thr Arg Ser Ser Val Leu Thr Leu Ile Pro Gln Pro			
195	200	205	
Gln Asp His Gly Thr Ser Leu Thr Cys Gln Val Thr Phe Pro Gly Ala			
210	215	220	
Ser Val Thr Thr Asn Lys Thr Ile His Leu Asn Val Ser Tyr Pro Pro			
225	230	235	240
Gln Asn Leu Thr Met Thr Val Phe Gln Gly Asn Gly Thr Val Ser Ile			
245	250	255	
Val Leu Gly Asn Gly Ser Ser Leu Ser Val Pro Glu Gly Gln Ser Leu			
260	265	270	
Arg Leu Val Cys Ala Val Asp Ser Asn Pro Pro Ala Arg Leu Ser Leu			
275	280	285	

Ser Trp Gly Gly Leu Thr Leu Cys Pro Ser Gln Pro Ser Ser Pro Gly
290 295 300

Val Leu Glu Leu Pro Arg Val His Leu Arg Asp Glu Glu Glu Phe Thr
305 310 315 320

Cys Arg Ala Gln Asn Leu Leu Gly Ser Gln Gln Val Ser Leu Asn Val
325 330 335

Ser Leu Gln Ser Lys Ala Thr Ser Gly Leu Thr Gln Gly Ala Val Gly
340 345 350

Ala Gly Ala Thr Ala Leu Val Phe Leu Ser Phe Cys Val Ile Phe Val
355 360 365

Val Val Arg Ser Cys Arg Lys Lys Ser Ala Arg Pro Val Ala Gly Val
370 375 380

Gly Asp Thr Gly Ile Glu Asp Ala Asn Ala Val Arg Gly Ser Ala Ser
385 390 395 400

Gln Gly Ser Leu Thr Glu Pro Trp Ala Glu Asp Ser Pro Pro Asp Gln
405 410 415

Pro Pro Pro Ala Ser Ala Arg Ser Ser Val Gly Glu Glu Glu Leu Gln
420 425 430

Tyr Ala Ser Leu Ser Phe Gln Thr Val Lys Pro Arg Asp Leu Gln Gly
435 440 445

Gln Glu Ala Thr Asn Thr Glu Tyr Ser Glu Ile Lys Ile His Lys
450 455 460

<210> 4

<211> 464

<212> PRT

<213> Macaca mulatta

<400> 4

Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Gly Arg Glu Arg

1 5 10 15

Val Glu Gly Gln Arg Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Pro Leu Thr Met Gln
20 25 30

Glu Ser Val Thr Val Gln Gln Gly Leu Cys Val His Val Leu Cys Ser

35 40 45
 Phe Ser Tyr Pro Trp Tyr Gly Trp Ile Ser Ser Asp Pro Val His Gly
 50 55 60
 Tyr Trp Phe Arg Ala Gly Ala Arg Thr Asp Arg Asp Ala Pro Val Ala

 65 70 75 80
 Thr Asn Asn Pro Ala Arg Ala Val Arg Glu Asp Thr Arg Asp Arg Phe
 85 90 95
 His Leu Leu Gly Asp Pro Gln Thr Thr Asn Cys Thr Leu Ser Ile Arg
 100 105 110
 Asp Ala Arg Ser Ser Asp Ala Gly Lys Tyr Phe Phe Arg Val Glu Thr
 115 120 125
 Gly Lys Thr Lys Trp Ser Tyr Lys Tyr Ala Pro Leu Ser Val His Val

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

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

 260 265 270
 Leu Arg Leu Val Cys Ala Val Asp Ser Asn Pro Pro Ala Arg Leu Ser
 275 280 285

Leu Ser Trp Gly Gly Leu Thr Leu Cys Pro Ser Gln Pro Ser Asn Pro
 290 295 300
 Gly Val Leu Glu Leu Pro Arg Val His Leu Arg Glu Glu Glu Glu Phe
 305 310 315 320
 Thr Cys Arg Ala Gln Asn Leu Leu Gly Ser Gln Gln Val Ser Leu Asn
 325 330 335
 Val Ser Leu Gln Ser Lys Ala Thr Ser Gly Leu Thr Gln Gly Ala Val
 340 345 350
 Gly Ala Gly Ala Thr Ala Leu Val Phe Leu Ser Phe Cys Val Ile Phe
 355 360 365
 Val Val Val Arg Ser Cys Arg Lys Lys Ser Ala Arg Pro Val Ala Gly
 370 375 380
 Val Gly Asp Val Gly Ile Glu Asp Ala Asn Ala Val Arg Gly Ser Ala
 385 390 395 400
 Ser Gln Gly Ser Leu Thr Glu Pro Trp Ala Glu Asp Ser Pro Pro Asp
 405 410 415
 Gln Pro Pro Pro Ala Ser Ala Arg Ser Ser Val Gly Glu Glu Glu Leu
 420 425 430
 Gln Tyr Ala Ser Leu Ser Phe Gln Thr Val Lys Pro Arg Asp Leu Gln
 435 440 445
 Gly Gln Glu Ala Thr Asn Thr Glu Tyr Ser Glu Ile Lys Ile His Lys
 450 455 460
 <210> 5
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 5
 Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Trp Gly Ile Lys Gly Val
 1 5 10 15
 Glu Gly Gln Asn Pro Gln Glu Val Phe Thr Leu Asn Val Glu Arg Lys
 20 25 30
 Val Val Val Gln Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Asn Phe Ser

35					40					45						
Tyr	Leu	Lys	Lys	Arg	Leu	Thr	Asp	Trp	Thr	Asp	Ser	Asp	Pro	Val	His	
50					55					60						
Gly	Phe	Trp	Tyr	Arg	Glu	Gly	Thr	Asp	Arg	Arg	Lys	Asp	Ser	Ile	Val	
65					70					75					80	
Ala	Thr	Asn	Asn	Pro	Ile	Arg	Lys	Ala	Val	Lys	Glu	Thr	Arg	Asn	Arg	
85					90					95						
Phe	Phe	Leu	Leu	Gly	Asp	Pro	Trp	Arg	Asn	Asp	Cys	Ser	Leu	Asn	Ile	
100					105					110						
Arg	Glu	Ile	Arg	Lys	Lys	Asp	Ala	Gly	Leu	Tyr	Phe	Phe	Arg	Leu	Glu	
115					120					125						
Arg	Gly	Lys	Thr	Lys	Tyr	Asn	Tyr	Met	Trp	Asp	Lys	Met	Thr	Leu	Val	
130					135					140						
Val	Thr	Ala	Leu	Thr	Asn	Thr	Pro	Gln	Ile	Leu	Leu	Pro	Glu	Thr	Leu	
145					150					155					160	
Glu	Ala	Gly	His	Pro	Ser	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Val	Pro	Trp	Asp	Cys	
165					170					175						
Gly	Trp	Thr	Ala	Pro	Pro	Ile	Phe	Ser	Trp	Thr	Gly	Thr	Ser	Val	Ser	
180					185					190						
Phe	Leu	Ser	Thr	Asn	Thr	Thr	Gly	Ser	Ser	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Pro	
195					200					205						
Gln	Pro	Gln	Asp	His	Gly	Thr	Asn	Leu	Thr	Cys	Gln	Val	Thr	Leu	Pro	
210					215					220						
Gly	Thr	Asn	Val	Ser	Thr	Arg	Met	Thr	Ile	Arg	Leu	Asn	Val	Ser	Tyr	
225					230					235					240	
Ala	Pro	Lys	Asn	Leu	Thr	Val	Thr	Ile	Tyr	Gln	Gly	Ala	Asp	Ser	Val	
245					250					255						
Ser	Thr	Ile	Leu	Lys	Asn	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Ile	Ser	Glu	Gly	Gln	
260					265					270						
Ser	Leu	Arg	Leu	Ile	Cys	Ser	Thr	Asp	Ser	Tyr	Pro	Pro	Ala	Asn	Leu	
275					280					285						

Ser Trp Ser Trp Asp Asn Leu Thr Leu Cys Pro Ser Lys Leu Ser Lys
290 295 300

Pro Gly Leu Leu Glu Leu Phe Pro Val His Leu Lys His Gly Gly Val
305 310 315 320

Tyr Thr Cys Gln Ala Gln His Ala Leu Gly Ser Gln His Ile Ser Leu
325 330 335

Ser Leu Ser Pro Gln Ser Ser Ala Thr Leu Ser Glu Met Met Met Gly
340 345 350

Thr Phe Val Gly Ser Gly Val Thr Ala Leu Leu Phe Leu Ser Val Cys
355 360 365

Ile Leu Leu Leu Ala Val Arg Ser Tyr Arg Arg Lys Pro Ala Arg Pro
370 375 380

Ala Val Val Ala Pro His Pro Asp Ala Leu Lys Val Ser Val Ser Gln
385 390 395 400

Asn Pro Leu Val Glu Ser Gln Ala Asp Asp Ser Ser Glu Pro Leu Pro
405 410 415

Ser Ile Leu Glu Ala Ala Pro Ser Ser Thr Glu Glu Glu Ile His Tyr
420 425 430

Ala Thr Leu Ser Phe His Glu Met Lys Pro Met Asn Leu Trp Gly Gln
435 440 445

Gln Asp Thr Thr Thr Glu Tyr Ser Glu Ile Lys Phe Pro Gln Arg Thr
450 455 460

Ala Trp Pro

465

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 6

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Gly

1 5 10

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 7

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

1 5 10 15

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 8

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

1 5 10 15

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 9

His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr Lys Gly

1 5 10

<210> 10

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct
 <400> 10
 Ser Thr Ser Thr Leu Asp Ser
 1 5

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 11

Leu Val Cys Lys Leu Asp Ser
 1 5

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 12

Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser
 1 5

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 13

Cys Ala Arg Asn Gly Glu Gly
 1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 14

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 15

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gln Thr

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 16

Leu Gln Ala Thr His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 17

Ala Gln Phe Tyr Gln Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 18

Leu Gln Ala Pro His Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 19

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 20

Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 21

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 22

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 22

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

1 5 10

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 23

Ile Gly Arg Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn

1 5 10

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 24

Ile Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn

1 5 10

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 25

Ile Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn

1 5 10

<210> 26

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 26

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

1 5 10

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 27

Ala Arg Trp Leu Leu Arg Phe Ala Tyr

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 28

Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 29

Ala Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Val Arg Ala Tyr

1 5 10

<210> 30

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 30

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys

20

<210> 31

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 31

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 32

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 32

Asn Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 33

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 33

Asp Ile Gln Lys Pro Gln Ser Pro Phe Tyr Met Cys Val Ser Gly Gly

1 5 10 15

Glu Thr Ile Ser Ile Ser Ser

20

<210> 34

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 34

Asn Val Glx Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 35

Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile Phe

1 5 10 15

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223

> Synthetic Construct

<400> 36

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

1 5 10 15

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 37

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

1 5 10 15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 38

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

1 5 10 15

<210> 39

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 40

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> Synthetic Construct

<400> 40

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

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 41

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 41

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

1 5 10 15

Leu Lys Ile Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 42

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210

> 43

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 43

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

1 5 10 15

Leu Lys Ile Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys

20 25 30

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 44

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 45

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

1 5 10

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 46

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys

1 5 10

<210> 47

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 47

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly

20 25

<210> 48

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 48

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly

20 25

<210> 49

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 49

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Phe Gly

20 25

<210> 50

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 50

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

1 5 10 15

Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly

20 25

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 51

Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp

1 5 10

<210> 52

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 52

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

1 5 10

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 53

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

1 5 10

<210> 54

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 54

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Cys

35

<210> 55

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 55

Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Cys

35

<210> 56

<

211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 56

Glu Lys Phe Thr Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Cys

35

<210> 57

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 57

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser

1 5 10 15

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 20 25 30

Tyr Tyr Cys
 35

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 58

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 59

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 60

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Thr
 1 5 10

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 62

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 62

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Pro

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

<210> 63

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 63

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Pro
 85 90 95

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

<210> 64

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 65

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

<210> 66

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 66

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

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

<210> 67

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 67

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

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

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

<210> 68

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 68

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 69

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 69

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr

20 25 30

Leu Gly Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 70

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 71

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 71

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala

65 70 75 80

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

<210> 72

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 72

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

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

<210> 73

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 73

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

<210> 74

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 74

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

85 90 95
 Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 75

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 75

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

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

<210> 76

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 76

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

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

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

<210> 77

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 77

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

50 55 60
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75 80
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 78

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Val Cys Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 79

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 79

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Val Cys Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
65 70 75 80

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

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 80

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 80

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Val Cys Lys Leu Asp Ser Gly Ile Pro

50 55 60

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

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

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 81

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 81

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Val Cys Lys Leu Asp Ser Gly Ile Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly

85 90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 82

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 82

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

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

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

<210> 83

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 83

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

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

<210> 84

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 84

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala

85 90 95

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

100 105 110

<210> 85

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 85

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala

85 90 95

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

100 105 110

<210> 86

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 87

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 87

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 88

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 88

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

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

35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser Gly Val Pro

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

<210> 89

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 89

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

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

<210> 90

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 90

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 91

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

<210> 92

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 92

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala

85

90

95

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

100

105

110

<210> 93

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala

85 90 95

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

100 105 110

<210> 94

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 94

Asp Ile Gln Lys Pro Gln Ser Pro Phe Tyr Met Cys Val Ser Gly Gly

1 5 10 15

Glu Thr Ile Ser Ile Ser Ser His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr

20 25 30

Lys Gly Gly Ser Ala Glu Lys Pro Glu Lys Pro Phe Lys Leu Glu Ile

35 40 45

Tyr Cys Ala Arg Asn Gly Glu Gly Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Cys Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe Tyr Gln Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 95

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 95

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 His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 96

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 96

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

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

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

<210> 97

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 97

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

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

<210> 98

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 98

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr

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

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

<210> 99

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 99

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe Tyr Gln Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 100

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 100

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

<210> 101

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 101

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

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

<210> 102

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 102

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Cys Ala Arg Asn Gly Glu Gly Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala

65 70 75 80

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Phe Tyr Gln Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 103

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 103

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys His Thr Thr Arg Gly Ile Tyr Trp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Cys Ala Arg Asn Gly Glu Gly Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

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

<210> 104

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 104

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

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

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

<210> 105

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 105

Asn Val Glx Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Ala

85 90 95

Pro His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys

100 105 110

<210> 106

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 106

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala
85 90 95

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

<210> 107

 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 107

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala

85 90 95

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

100 105 110

<210> 108

 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 108

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 109

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 109

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

<210> 110

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 110

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

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

50 55 60

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

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

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

<210> 111

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 111

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

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

<210> 112

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 112

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

50 55 60
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75 80
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala

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

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 113

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

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

<210> 114

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 114

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

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

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

<210> 115

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 115

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

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

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

100

105

110

<210> 116

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 116

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Val Arg Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100

105

110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 117

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 117

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

<210> 118

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 118

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

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

<210> 119

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 119

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

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 120

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 120

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Arg Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 121

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 121

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 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

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

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

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 122

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 122

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 123

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 123

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Arg Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 124

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 124

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

<210> 125

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 125

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

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

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

<210> 126

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 126

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

50					55					60									
Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser				
65					70					75					80				
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
85					90					95									
Val	Arg	Arg	Asp	Tyr	Gly	Thr	Ser	Asp	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly				
100					105					110									
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser													
115																			

<210> 127

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 127

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala 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 Phe Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ala

115

<210> 128

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 128

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Gly Arg Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe

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

115

<210> 129

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 129

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

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

Thr Val Ser Ser

115

<210> 130

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 131

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 131

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

<210> 132

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 132

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

65	70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85					90					95					
Ala	Arg	Trp	Leu	Leu	Arg	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
100					105					110					
Thr	Val	Ser	Ser												
115															
<210>					133										

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 133

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

50					55					60									
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
					85					90					95				
Ala	Arg	Trp	Leu	Leu	Arg	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val				
100					105					110									
Thr	Val	Ser	Ser																
115																			
<210>	134																		

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 134

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 135

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Gly Arg Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

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

115

<210> 136

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 136

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

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

Thr Val Ser Ser

115

<210> 137

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 137

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 138

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 138

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

<210> 139

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 139

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 Ser 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 Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90				95			
Thr	Ile	Trp	Glu	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
				100				105				110			
Thr	Val	Ser	Ser												
				115											
<210>				140											

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 140

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

50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115
<210> 141

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 141

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser 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 Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 142

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 142

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Asp Ser Val

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

115

<210> 143

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 143

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

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

Thr Val Ser Ser

115

<210> 144

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 144

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 145

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 145

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

<210> 146

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 146

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

65					70					75					80
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Thr	Ile	Trp	Glu	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
				100					105					110	
Thr	Val	Ser	Ser												
				115											
<210> 147															

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 147

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

50					55					60									
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
85					90					95									
Thr	Ile	Trp	Glu	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val				
100					105					110									
Thr	Val	Ser	Ser																
115																			
<210>															148				

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 148

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 149

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 149

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

50 55 60
Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
65 70 75 80
Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Val Arg Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ala
115

<210

> 150

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 150

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 Ser 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 Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Val Arg Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 151

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 152

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 152

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

<210> 153

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 153

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

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

<210> 154

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 154

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

50					55					60									
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
					85					90					95				
Ala	Ala	Tyr	Tyr	Ser	Asn	Tyr	Val	Arg	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
					100					105					110				
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser														
115																			

<210> 155

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 155

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 156

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 156

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser 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 Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Val Arg Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 157

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 157

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 158

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 158

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 159

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 159

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

<210> 160

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 160

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Thr Phe Thr Ser 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 Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Thr Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65					70					75					80
Met	Gln	Leu	Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90				95			
Thr	Ile	Trp	Glu	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu
				100				105				110			
Thr	Val	Ser	Thr												
				115											
<210>	161														

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 161

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

50					55					60									
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr				
65					70					75					80				
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
85					90					95									
Thr	Ile	Trp	Glu	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val				
100					105					110									
Thr	Val	Ser	Ser																
115																			
<210>															162				

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 163

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 163

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser 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 Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Gln Lys Phe

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

115

<210> 164

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 164

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

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

Thr Val Ser Ser

115

<210> 165

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 165

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 166

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 166

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

<210> 167

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 167

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

65	70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85					90					95					
Thr	Ile	Trp	Glu	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
100					105					110					
Thr	Val	Ser	Ser												
115															
<210> 168															

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 168

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

50					55					60									
Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser				
65					70					75					80				
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
					85					90					95				
Thr	Ile	Trp	Glu	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val				
					100					105					110				
Thr	Val	Ser	Ser																
115																			
<210>															169				

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 169

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Ala Pro Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ile Trp Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 170

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 170

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Arg Asp Gly Val Ser Asn Cys Asn Pro Ser Leu

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

115

<210> 171

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 171

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

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

<210> 172

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220>

<223> Synthetic Construct

<400> 172

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

1 5 10 15

<210> 173

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 173

Arg Ala Ser Glu Asn Val Asp Ser Tyr Gly Ile Ser Phe Met His

1 5 10 15

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 174

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 175

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 176

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Leu Thr

1 5

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 177

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Trp Thr

1 5

<210> 178

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 178

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Ile His

1 5 10

<210> 179

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 179

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser

1 5 10

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 180

Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Gly

1 5 10

<210> 181

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 181

Thr Ile Asn Ser Asn Gly Gly Arg Thr Tyr

1 5 10

<210> 182

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 182

Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 183

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 183

Tyr Tyr Arg Tyr Asp Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 184

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 184

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

1 5 10 15

Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys

20

<210> 185

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 185

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys

20

<210> 186

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 186

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

1 5 10 15

<210> 187

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 187

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

1 5 10 15

<210> 188

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 188

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

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys

20 25 30

<210> 189

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 189

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

1 5 10 15
Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 190

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 190

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 191

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 191

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 192

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 192

Trp Val Lys Gln Ser Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10
 <210> 193
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 193
 Trp Val Arg Gln Ile Leu Asp Lys Arg Leu Glu Leu Val Ala

1 5 10
 <210> 194
 <211>
 > 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 194
 Tyr Asn Gln Lys Phe Gln Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Ser
 1 5 10 15
 Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser
 20 25 30
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Asn
 35

<210> 195
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 195
 Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 1 5 10 15
 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr

20 25 30

Ala Ile Tyr Tyr Cys Val Thr

35

<210> 196

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 196

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 197

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 197

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

1 5 10 15

Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 198

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 198

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn

85 90 95

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

100 105 110

<210> 199

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 199

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

1 5 10 15

Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

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

<210> 200

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 200

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

Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 201

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 201

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 202

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 202

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

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

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

<210> 203

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 203

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

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

<210> 204

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 204

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 205

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 205

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Asn Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 206

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 206

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 Asp Tyr

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 207

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 207

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 Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Asn Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 208

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 208

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

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

 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Asn Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 209

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 209

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

 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Val Asp Asn Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

<210> 210

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 210

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

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Thr Tyr Tyr Arg Tyr Asp Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 211

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 211

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

<210> 212

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 212

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

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 213

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 213

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly

85 90 95

Thr His Trp Pro Pro

100

<210> 214

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 214

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

1 5 10

<210> 215

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 215

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

1 5 10 15

Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

<210> 216

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 216

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly

85 90 95

Thr His Trp Pro Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 217

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 217

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

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

<210> 218

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 218

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

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

<210> 219

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 219

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

1 5 10 15

Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 220

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 220

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 Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

<210> 221

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 221

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

1 5 10 15

<210> 222

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 222

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
Ala Asn Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 223

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 223

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 Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105

<210> 224

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 224

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 Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 225

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 225

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 Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 226

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 226

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

Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

Ala Asn Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 227

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 227

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Asn Gly Asn Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 228

<211> 96

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 228

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

1 5 10 15

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

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

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

<210> 229

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 229

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

1 5 10

<210> 230

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 230

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

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

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

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

<210> 231

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 231

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

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

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

<210> 232

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 232

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 233

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 233

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 234

 $\langle 211 \rangle$ 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 234

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 235

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 235

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys

<210> 236

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 236

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

1 5 10 15

<210> 237

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 237

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

1 5 10 15

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

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ile Leu Asp Lys Arg Leu Glu Leu Val
35 40 45

Ala Thr Ile Asn Ser Asn Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Val Thr Tyr Tyr Arg Tyr Asp Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 238

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 238

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 239

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 239

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 240

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 240

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 241

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 241

ctccactcac ggcaaattca a

21

<210> 242

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 242
gatgacaagc ttccattct cg 22
<210> 243
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Construct
<400> 243
ccgtcagccg atttgctatc t 21
<210> 244
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Construct
<400> 244
acggcagaga ggaggttgac tt 22
<210> 245
<211> 22
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Construct
<400> 245
acaacaaaaa agcctcgtgc tg 22
<210> 246
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Construct
<400> 246
ccattgaggt ggagagcttt ca 22

<210> 247
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 247
 ggcaaacca aggtctacgt tc 22

<210> 248
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 248
 tacctcattg gccagctgct t 21

<210> 249
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 249
 aggacctggg ttggaagtgg 20

<210> 250
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 250
 agttggcatg gtagcccttg 20

<210> 251

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 251

Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Ser Pro Phe Ser Arg Val Val His Leu

1 5 10 15

Tyr Arg Asn Gly Lys

20

<210> 252

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> VARIANT

<222> 1

<223> Xaa = D or E

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 3

<223> Xaa = Any Amino Acid and up to 2 of them can be

present or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> 5, 6

<223> Xaa = Any Amino Acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 7

<223> Xaa = L or I

<220>

<221> VARIANT

<222> 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15

<223> Xaa = Any Amino Acid and up to 2 of them can be
present or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> 17, 18

<223> Xaa = Any Amino Acid

<220>

<221> VARIANT

<222> 19

<223> Xaa = L or I

<400> 252

Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr

1	5	10	15

Xaa Xaa Xaa