(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년08월12일
(11) 등록번호 10-2431596
(24) 등록일자 2022년08월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C07K 16/18* (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
*G01N 33/68* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C07K 16/18* (2013.01)
*G01N 33/6896* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7036625
(22) 출원일자(국제) 2015년06월26일
심사청구일자 2020년06월26일
(85) 번역문제출일자 2016년12월27일
(65) 공개번호 10-2017-0026390
(43) 공개일자 2017년03월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/038002
(87) 국제공개번호 WO 2015/200806
국제공개일자 2015년12월30일
(30) 우선권주장
62/018,436 2014년06월27일 미국(US)
*(뒷면에 계속)*
(56) 선행기술조사문헌
WO2013180238 A1

(73) 특허권자
**시2엔 다이어그노스틱스 엘엘시**
미국 미주리주 63108 세인트 루이스 포레스트 파크 애비뉴 4041 센터 포 이멀징 테크놀로지즈
(72) 발명자
**웨스트 팀**
미국 미주리주 63130 세인트 루이스 코넬 애비뉴 7339
**아트월 딜지트 에스.**
영국 슬라우
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**장훈**

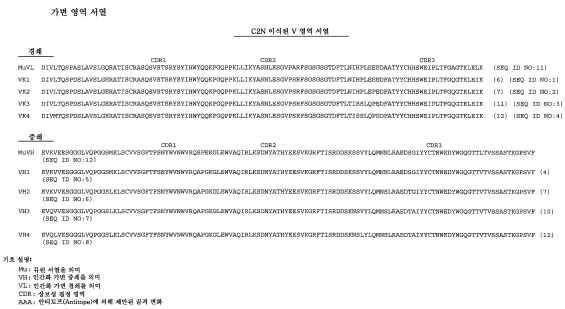
전체 청구항 수 : 총 3 항 심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 **인간화 항-타우 항체**

## (57) 요 약

본원에서는, 본원에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하는, 타우에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 타우병증에 대한 치료요법이 필요한 인간에게 본원에 기재된 하나 이상의 항체 또는 단편을 투여함을 포함하는, 대상체에서 타우병증을 예방 또는 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 타우병증을 예방 또는 치료하기에 유효한 조건 하에 그리고 타우병증을 예방 또는 치료하기에 유효한 양으로 투여된다.

## 대 표 도



(52) CPC특허분류
*A61K 2039/505* (2013.01)
*A61K 2039/545* (2013.01)
*C07K 2317/24* (2013.01)
*C07K 2317/33* (2013.01)
*C07K 2317/34* (2013.01)
*C07K 2317/92* (2013.01)
*G01N 2800/2814* (2013.01)
(72) 발명자
**존스 티모시 디.**
영국 캠브리지셔
**카 프랜시스 제이.**
영국 애버딘
**홀게이트 로버트 조지 에드워드**
영국 하트포드셔 로이스턴

(30) 우선권주장
62/080,903 2014년11월17일 미국(US)
62/170,036 2015년06월02일 미국(US)

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및

서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄

를 포함하는, 단리된 모노클로날 항-타우(tau) 항체.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체가 S241P 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 인간화 IgG4 항체인, 항체.

### 청구항 3

서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및

서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄

를 포함하는, 단리된 모노클로날 항-타우 항체.

### 청구항 4

삭제

### 청구항 5

삭제

### 청구항 6

삭제

### 청구항 7

삭제

### 청구항 8

삭제

### 청구항 9

삭제

### 청구항 10

삭제

### 청구항 11

삭제

### 청구항 12

삭제

### 청구항 13

삭제

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

삭제

**청구항 20**

삭제

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

삭제

**청구항 24**

삭제

**청구항 25**

삭제

**청구항 26**

삭제

**청구항 27**

삭제

**청구항 28**

삭제

**청구항 29**

삭제

**청구항 30**

삭제

**청구항 31**

삭제

**청구항 32**

삭제

**청구항 33**

삭제

**청구항 34**

삭제

**청구항 35**

삭제

**청구항 36**

삭제

**청구항 37**

삭제

**청구항 38**

삭제

**청구항 39**

삭제

**청구항 40**

삭제

**청구항 41**

삭제

**청구항 42**

삭제

**청구항 43**

삭제

**청구항 44**

삭제

**청구항 45**

삭제

**청구항 46**

삭제

**청구항 47**

삭제

**청구항 48**

삭제

**청구항 49**

삭제

**청구항 50**

삭제

**청구항 51**

삭제

**청구항 52**

삭제

**청구항 53**

삭제

**청구항 54**

삭제

**청구항 55**

삭제

**청구항 56**

삭제

**청구항 57**

삭제

**청구항 58**

삭제

**청구항 59**

삭제

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 35 U.S.C.§119(e)하에 2015년 6월 2일자로 출원된 미국 출원 제62/170,036호, 2014년 11월 17일자로 출원된 미국 출원 제62/080,903호 및 2014년 6월 27일자로 출원된 미국 출원 제62/018,436호의 우선권에 대한 이익을 주장하며, 이들의 전체 내용은 이의 전문이 본원에 참조로서 포함된다.

[0003] **서열 목록의 포함**

[0004] 첨부된 서열목록의 내용은 본 출원에 참조로 포함된다. C2N1120_4WO_Sequence_Listing란 명칭의 첨부된 서열목록 텍스트 파일은 2015년 6월 26일자로 작성되었으며 9kb이다. 상기 파일은 윈도우 OS를 사용하는 컴퓨터상에서 마이크로소프트 워드를 사용하여 접근될 수 있다.

[0005] **발명의 분야**

[0006] 본 발명은 타우(tau)에 결합하는 인간화 항체 및 이의 항원-결합 단편 및 이러한 항체를 사용하여 타우병증(tauopathy)를 치료하는 방법의 분야에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 타우의 특정 에피토프에 결합하고 타우 파종(seeding)을 방지하는 인간화 항체 및 항원-결합 단편에 관한 것이다.

## *배 경 기 술*

[0007] 타우병증은 공통적으로 뇌 속에 불용성의 과인산화된 타우 단백질의 축적을 갖는다. 20종이 넘는 상이한 신경변성 장애는 어느 정도의 신경섬유 변성을 특징으로 하며 타우병증으로서 분류될 수 있다(참조: Williams 2006). 진행성 핵상 마비(PSP) 및 피질기저부 변성(CBD)과 같은 원형적 타우병증은 단독의 또는 주된 중추신경계 병변인 타우 봉입체를 특징으로 한다. 원형적 타우병증은 알츠하이머병(AD)에서 발견되는 아밀로드 베타(Aβ) 플라크 또는 파킨슨병(PD)에서 발견되는 루이소체와 같은 다른 신경병리학적 특징의 존재하에 그리고 타우 응집체가 발견되는 다른 타우병증들과는 상이하다. 이러한 비-원형적 타우병증에서, 타우 병리상태가 1차 질환 동인(動因)이 되는지 또는 타우 병리상태가 기타 단백질 미스폴딩(misfolding) 및 신경변성에 부차적인 것인지는 더욱 불확실하다.

[0008] 진행성 핵상 마비(PSP, 스틸-리처드슨-올스제브스키 증후군(Steele-Richardson-Olszewski syndrome)으로서도 공지됨)는 연간 발병률이 100,000명당 5 내지 7명으로 추산되는 진행성 신경변성 장애이다(참조: Golbe 2014). 미국 내에서, 이 질환은 대략 20,000명에서 발생한다. PSP 빈도에 있어 명백한 지리학적, 민족적, 성별적 또는 인종적 차이는 없다. PSP는 초기에 특발성 파킨슨병을 포함하는 기타 뇌 장애와 유사한 임상적 증상의 소견을 나타낼 수 있다. 이러한 이유로, PSP의 정확한 진단은 때때로 지체되고, 일반적으로 임상적 증상의 초기 발생 후 1년 내지 3년이 소요된다. 증상 발생은 50대 내지 70대의 연령에서 가장 흔하고, 임상적 과정이 가변적이라도 해도, 증상 발생시부터 전형적 생존 기간은 5년 내지 9년이다(참조: Houghton, 2007). 임상적 소견의 이질성이 존재한다 해도, 최근에는 리처드슨 증후군으로서 언급되는 가장 흔하고 초기에 설명된 PSP 증후군은, 낙상으로 이어지는 현저한 자세 불안정 및 축 경직(axial rigidity), 광범위한 시력 손상을 유발하는 핵상 주시 마비, 전두엽-피질하 치매 및 흡인으로 이어지는 연하곤란의 존재이다. 질환의 과정은 진행성이고 한결같이 치명적이다(참조: Williams and Lees 2009).

[0009] 병리학적으로, PSP는 뇌간, 소뇌, 기저핵 및 대뇌 피질 내의 뉴런 및 아교세포 내에 타우 단백질의 과도한 인산화된 불용성 응집체의 비정상적 축적을 특징으로 한다(참조: Williams and Lees 2009). PSP에서 타우 응집의 정도 및 분포는 일생 동안 PSP 증상학과 강력하게 상관관계가 있다(참조: Schofield et al. 2012). 미국 국립신경장애연구소 및 진행성 핵상 마비 협회(The National Institute of Neurological Disorders and the Society for Progressive Supranuclear Palsy)(NINDS-SPSP)는 연구 기준을 제공하며, 이는 리처드슨 증후군이 내재적 PSP 병리상태를 강력하게 예측해 준다고 설명하고 있다(참조: Litvan et al. 1996). 뇌의 각종 영역에서의 뉴런 손실은 타우 응집체들로 구성된 신경섬유 매듭(neurofibrillary tangle)(NFT)을 동반한다. 특정한 도파민성, 콜린성, 가바성(GABAergic) 및 노르아드레날린성 신경계에 영향을 미치는 신경전달물질 이상을 포함하는 다수의 신경전달물질 이상들도 발생한다.

[0010] 현재 PSP용으로 승인된 치료법은 없다(참조: Stamelou et al. 2010). PSP에서의 치료 효능 연구의 부정적 결과로 인해 증거에 기반한 표준 치료요법을 권장하는 것은 불가능하다(참조: Boxer et al. 2014). 임의의 효과적 질환 조절(disease modifying) 또는 신경보호 치료요법의 부재하에, PSP는 충족되지 않은 긴급한 의학적 요구를 대표한다.

[0011] 알츠하이머병(AD)은 인지 및 행동 기능의 비가역적 손실을 동반한 흔한 만성 진행성 신경변성 질환이다. 상기 질환은 10년 넘게 지속될 수 있으며 경미한 증상에서 매우 심각한 소견으로 진행될 수 있다. AD는 65세 이상의

인구 중 약 10% 및 80세 이상의 인구 중 30% 이상이 시달린다고 한다. 알츠하이머병은 세포외 아밀로이드 플라크 및 세포내 신경섬유 매듭으로서 병리학적으로 저절로 나타난다. 신경섬유 매듭은, 예를 들면, 미세소관-결합 단백질 타우로 이루어져 있으며, 이는 쌍 나선 및 일자형 필라멘트들로 조립된다. 아밀로이드 침착이 병리학적 타우 필라멘트 조립을 촉진하는 기작 또는 그 반대의 기작이 명백하지 않으나, 이러한 실재들이 기능적으로 연결될 수 있다는 것이 제시된 바 있다.

[0012] 타우병증의 세포내 신경섬유 구조(신경섬유 매듭, 이영양성 신경돌기(dystrophic neurites) 및 호중구 실(neurophil thread))는 쌍 나선 필라멘트(paired helical filament; PHF)를 갖는다. PHF의 주요 단백질 서브유닛은 비정상적으로 과인산화된 형태의 미세소관-결합 단백질 타우이다. 신경섬유 변화를 갖는 뉴런은 변성된 상태로 변화되고, 이러한 변성의 정도는 질환에 걸린 개체의 치매 정도와 직접적으로 상관관계가 있다.

[0013] 미세소관-결합 단백질 타우를 함유하는 필라멘트성 세포 봉입체를 갖는 것으로 공지된 기타 타우병증은 피크병(PiD), 17번 염색체와 연관된 파킨슨증을 동반한 전두측두 치매(FTDP-17)로 총칭되는 관련 장애들의 그룹, 근위축성 측삭 경화증(ALS), 크레이츠펠트-야콥병(CJD), 권투선수 치매(DP), 게르스트만-슈트라우슬러-샤인커병(GSSD), 루이소체 질환, 만성 외상성 뇌병증(CTE) 및 헌팅턴병을 포함한다. 이러한 질환들에서 병인론, 임상적 증상들, 병리소견 및 필라멘트성 세포 봉입체의 생화학적 조성이 상이하다 해도, 다양한 필라멘트성 봉입체를 형성하는 정상적 세포성 단백질의 응집에 관여하는 기작들이 유사하다는 것을 시사하는 새로운 증거가 있다. 미세소관-결합 단백질 타우의 입체구조의 초기 변경은 필라멘트 조립을 위한 핵 또는 씨드의 생성을 개시하는 작용을 하며 주요 특질 중 하나인 것으로 사료된다. 이러한 과정은 정상 단백질의 번역후 변형에 의해, 특정 유전자의 돌연변이 또는 결실에 의해 및 정상 단백질에 결합하여 이의 입체구조를 변경하는 인자들에 의해 영향을 받을 수 있다.

## *발명의 내용*

[0014] 발명의 요지

[0015] 본 발명의 한 양상으로서, 타우에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 항원-결합 단편이 제공된다. 상기 항체 또는 단편은 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하고, 상기 VH 영역 및 VL 영역 각각은 도 1 및 2에 제시된 아미노산 서열들로부터 선택된 서열을 갖는다. 보다 특히, VL 영역은 서열번호 1, 2, 3 및 4[VK1, VK2, VK3 및 VK4]로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 가질 수 있고, VH 영역은 서열번호 5, 6, 7 및 8[VH1, VH2, VH3 및 VH4]로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, VL 영역은 서열번호 2[VK2]의 아미노산 서열을 갖고, VH 영역은 서열번호 5[VH1]의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 항체는 S241P 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 인간 IgG4와 같은, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 이의 변이체의 것일 수 있는 Fc 영역을 포함한다. 항체는 인간 이소타입 카파 또는 이의 변이체의 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 scFv 또는 Fab이다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 인간화 항체 또는 단편 또는 키메라 항체 또는 단편이다. 항체 또는 단편은 모노클로날 항체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 인간 타우 단백질에의 특이적 결합에 대해 HJ8.5와 경쟁한다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 적어도 $10^{-4}$M의 평형 해리상수(Kd)로 인간 타우 단백질에 결합한다.

[0016] 본 발명의 다른 양상으로서, 복수개의 항원-결합 영역을 갖는 다중특이적 항체 또는 항원-결합 단편이 제공된다. 다중특이적 항체 또는 단편의 적어도 하나의 항원-결합 영역은 인간 타우 단백질에 결합한다. 대안으로, 2개의 항원-결합 영역을 갖는 이특이적 항체 또는 항원-결합 단편이 제공된다. 이특이적 항체 또는 단편의 항원-결합 영역들 중 하나는 인간 타우 단백질에 결합한다. 대안으로, 항체 또는 항원-결합 단편의 1개의 암(arm)이 인간 타우 단백질에의 특이적 결합에 대해 HJ8.5와 경쟁하는 이특이적 항체 또는 항원-결합 단편이 제공된다. 대안으로, 항체 또는 항원-결합 단편의 1개의 암이 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역으로 구성되어 있고 여기서 상기 VH 및 VL 영역 각각이 도 1 및 2에 제시된 아미노산 서열들로부터 선택된 서열을 갖는 이특이적 항체 또는 항원-결합 단편이 제공된다.

[0017] 상기 항체들 또는 항원-결합 단편들 중 어느 것이라도 독성 페이로드, 임의로 약물 접합체 또는 방사성핵종을 추가로 포함할 수 있다.

[0018] 본 발명의 또 다른 양상으로서, 상기 항체들 또는 항원-결합 단편들 중 어느 하나 또는 도 1 및 2에 제시된 VH 영역 또는 VL 영역을 암호화하는 단리된 핵산 분자가 제공된다. 이러한 핵산 분자를 포함하는 벡터(발현 벡터와 같은)가 제공될 수 있다. 이러한 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포가 제공될 수 있다. 숙주 세포는 원핵 세포

이거나 포유동물 세포와 같은 진핵 세포일 수 있다.

[0019] 본 발명의 또 다른 양상으로서, 약제학적 조성물이 제공된다. 약제학적 조성물은 상기 임의의 항체 또는 항원-결합 단편 또는 본원에 기재된 핵산분자 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다.

[0020] 본 발명의 또 다른 양상으로서, 도 1 및 2에 제시된 경쇄들 중 하나의 서열을 함유하는 단리된 아미노산 서열이 제공된다.

[0021] 대안으로 또는 추가로, 도 1 및 2에 제시된 중쇄들 중 하나의 서열을 함유하는 단리된 아미노산 서열이 제공된다.

[0022] 본 발명의 추가 양상으로서, 아미노산 서열 DQGGYT(서열번호 9)를 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 인간화 항체 또는 항원-결합 단편이 제공된다. 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 공여체 항체로부터의 VH 및 VL 영역들의 CDR들을 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 Fc 영역을 포함하고, 이러한 Fc 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 이의 변이체의 것이다. Fc 영역은 S241P 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 인간 IgG4와 같은 인간 IgG4 또는 이의 변이체일 수 있다. 항체는 인간 이소타입 카파 또는 이의 변이체의 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 scFv 또는 Fab이다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 인간화 항체 또는 단편 또는 키메라 항체 또는 단편이다. 항체 또는 단편은 모노클로날 항체일 수 있다. 항체 또는 단편은 항체 또는 단편의 하나의 암이 아미노산 서열 DQGGYT(서열번호 9)을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 이특이적 항체 또는 항원-결합 단편일 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 또는 치료학적 모이어티에 연결된 상기 항체들 또는 단편들 중 하나를 포함하는 면역접합체가 제공된다.

[0023] 다른 양상으로서, 아미노산 서열 GYTMHQDQ(서열번호 10)을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 인간화 항체 또는 항원-결합 단편이 제공된다. 항체 또는 단편은 공여체 항체로부터의 VH 및 VL 영역의 CDR들을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 이의 변이체의 Fc 영역과 같은 Fc 영역을 포함한다. Fc 영역은 S241P 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 인간 IgG4 또는 이의 변이체일 수 있다. 항체는 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 단편은 scFv 또는 Fab이다. 항체의 1개의 암이 아미노산 서열 GYTMHQDQ(서열번호 10)을 포함하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 이특이적 항체 또는 항원-결합 단편이 또한 제공된다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 또는 치료학적 모이어티에 상기 항체들 또는 단편들 중 어느 하나를 포함하는 면역접합체가 연결된다.

[0024] 본 발명의 추가 양상으로서, 타우병증에 대한 치료요법이 필요한 인간에게 본원에 기재된 항체들 또는 단편들 중 하나 이상을 투여함을 포함하는, 대상체에서 타우병증을 예방 또는 치료하는 방법이 제공된다. 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 타우병증을 예방 또는 치료하기에 유효한 조건하에 조건하에 그리고 타우병증을 예방 또는 치료하기에 유효한 양으로 투여된다. 타우병증은 알츠하이머병(AD), 진행성 핵상 마비(PSP), 피질기저부 변성(CBD), 피크병(PiD), 17번 염색체와 연관된 파킨슨증을 동반한 전두측두 치매(FTDP-17)로 총칭되는 관련 장애들의 그룹, 근위축성 측삭 경화증(ALS), 크레이츠펠트-야콥병(CJD), 권투선수 치매(DP), 게르스트만-슈트라우슬러-샤인커병(GSSD), 루이소체 질환, 만성 외상성 뇌병증(CTE) 또는 헌팅턴병 중 하나 이상일 수 있다.

[0025] 항-타우 항체 또는 단편을 치료가 필요한 대상체에게 투여함을 포함하는 타우병증의 치료 방법이 제공되며, 여기서 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 타우에 특이적으로 결합하고, 중쇄 가변(VH) 영역 및 경쇄 가변(VL) 영역을 포함하고, 상기 VH 영역 및 VL 영역 각각은 도 1 및 2에 제시된 아미노산 서열들로부터 선택된 서열을 갖고, 상기 항체 또는 단편은 약 0.1mg/kg 내지 약 250mg/kg, 대안으로 약 1mg/kg 내지 약 25mg/kg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 상기 항체 또는 단편은 서열번호 1, 2, 3 및 4[VK1, VK2, VK3 및 VK4]로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 갖고; 대안으로 또는 추가로, 상기 항체 또는 단편은 서열번호 5, 6, 7 및 8[VH1, VH2, VH3 및 VH4]로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 갖는다.

## *도면의 간단한 설명*

[0026] 도 1은 뮤린 HJ8.5 항체의 가변 영역 서열뿐만 아니라 각각의 중쇄 및 경쇄에 대한 4종의 인간화 변이체 서열(4종의 VH 및 4종의 VL/VK 서열)을 도시한다. 도 1은 MuVL (서열번호 11); VK1 (서열번호 1); VK2 (서열번호 2); VK3 (서열번호 3); VK4 (서열번호 4); MuVH (서열번호 12); VH1 (서열번호 5); VH2 (서열번호 6); VH3 (서열번호 7); VH4 (서열번호 8)에 대한 서열을 도시한다.

도 2a는 중쇄 VH1에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다(서열번호 13). 도 2b는 중쇄 VH2에

대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다 (서열번호 14). 도 2c는 중쇄 VH3에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다 (서열번호 15). 도 2d는 중쇄 VH4에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다 (서열번호 16). 가변 중쇄는 S241P 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 인간 IgG4의 불변 중쇄로 이식된다. 도 2e는 경쇄 VL1에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다(서열번호 17). 도 2f는 경쇄 VL2에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다(서열번호 18).도 2g는 경쇄 VL3에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다(서열번호 19).도 2h는 경쇄 VL4에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열을 도시한다(서열번호 20).

도 3은 VH 및 VK 영역들을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 형질감염된 세포의 2 라운드의 일시적 발현으로부터 발현 데이터를 도시한다. 상이한 발현 수준이 관찰된 인간화 중쇄 및 경쇄 가변 영역들의 상이한 조합들에 기초하는 13종의 인간화 항-타우 항체에 대한 결과가 요약되어 있다.

도 4는 ELISA형 포맷에서 인간 타우에의 결합에 대해 본래 뮤린 HJ8.5(모 항체)와 경쟁하는 항-타우 항체의 능력을 평가하는 효능 검정으로부터의 데이터를 도시한다.

도 5는 인간 타우에 대한 6종의 최상 발현 인간화 작제물의 결합 반응속도를 측정하는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 분석의 결과를 요약한 것이다.

도 6은 샌드위치식 ELISA에서 가용성 인간 타우에의 4종의 인간화 항체의 결합을 도시한다.

도 7a 내지 7h는 야생형 마우스(음성 대조군 조직), P301S 마우스(P301S 돌연변이를 갖는 인간 타우를 발현하고 연령 연관된 타우 병리상태가 발생함) 및 알츠하이머병 또는 진행성 핵상 마비(PSP)를 앓는 인간으로부터의 조직에의 인간화 항체 및 대조 항체의 결합을 도시한다. 도 7a. 마우스 및 인간 조직에의 키메라(양성 대조군)의 결합; 도 7b. 마우스 및 인간 조직에의 비특이적 인간 IgG4(음성 대조군)의 결합. 도 7c. 마우스 및 인간 조직에의 VH1/VK2의 결합. 도 7d. 마우스 및 인간 조직에의 VH1/VK3의 결합. 도 7e. 마우스 및 인간 조직에의 VH2/VK2의 결합. 도 7f. 마우스 및 인간 조직에의 VH2/VK3의 결합. 도 7g. 마우스 및 인간 조직에의 VH3/VK2의 결합. 도 7h. 마우스 및 인간 조직에의 VH3/VK3의 결합.

도 8은 인간 타우의 아미노산 서열에 대한 뮤린 항체 HJ8.5의 에피토프 맵핑을 도시한다. 도 8은 인간, 레수스 멍키 및 마우스 타우 서열을 도시한다 (서열번호 21, 22, 23 각각).

도 9는 HJ8.5 및 $C_2N$-8E12의 상세한 펩타이드 기반 에피토프 맵핑을 도시한다. 맵핑은 $C_2N$-8E12의 결합 에피토프가 $_{25}$DQGGYT$_{30}$이고 (서열번호 9), 뮤린 모체 HJ8.5의 에피토프와 매치(match)함을 나타낸다. 도 9는 펩타이드 PEP_2875800 내지 PEP_2875830 (서열번호 24 내지 54 각각)의 서열을 도시한다.

도 10은 인간 또는 레수스 원숭이 타우에의 상이한 항-인간 타우 항체 결합의 결과를 예시한다. 본 결과는 $C_2N$-8E12 및 HJ8.5가 레수스 타우에는 결합하지 않지만 인간 타우에의 양성 결합을 나타냄을 입증한다. HJ8.7은 인간 타우와 레수스 타우 둘 다에 결합한다.

도 11은 다양한 타우병증을 앓는 인간 대상체로부터의 CSF 중에서 타우에의 인간화 항-타우 항체의 결합을 도시한다. 각종 타우병증으로 진단된 대상체들로부터의 CSF 샘플 중에서 타우에의 $C_2N$-8E12의 결합이 평가되었다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0027] 신경변성에서 타우 병리상태에 대응하기 위한 방편으로서 타우 면역요법 전략을 뒷받침하는 강력한 실험 증거 및 생물학적 근거가 존재한다. 먼저, 타우는 정상적으로는 매우 가용성의, 기본적으로 폴딩되지 않은 세포내 단백질이어서, 세포외 항체는 타우의 정상 기능에 영향을 미칠 가능성이 낮다. 둘째, 타우 병리상태의 부하는 타우병증의 인간 및 트랜스제닉(transgenic) 마우스 모델에서 진행성 신경 기능장애, 시냅스 손실 및 기능저하와 상관관계가 있다. 셋째, 병리 조건 하에서 타우는 미스폴딩되고 병리학적 타우 원섬유로 이루어진 신경세포내 신경섬유 매듭(NFT)로 응집된다. 인간 타우병증에서, 이러한 병리상태는 하나의 뇌 영역으로부터 다른 영역으로 질환-특이적 패턴으로 진행된다. 실험 데이터는 타우 응집체가 세포에서 세포로 확산되어 뇌에서 추가의 타우 응집 및 타우 병리상태 확산을 유도할 수 있음을 시사한다. 이러한 데이터는 하나의 세포에서 생성된 응집체가 세포외 공간으로 방출되고 이웃 또는 연결된 세포에서의 응집을 촉진시킬 수 있음을 시사한다. 마지막으로, 항-타우 항체가 타우의 돌연변이된 인간 형태를 보유한 마우스의 뇌에서 타우 병리상태의 진행을 예방하거나 둔화시킬 수 있음을 입증하는 종래 기술이 존재한다.

[0028] "인간화 항체"는 비-인간 항체가 투여 후 인간에서 면역반응을 유발할 위험을 감소시키도록 변형된 항체, 또는 이의 변이체, 유도체, 유사체 또는 단편이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 인간화 항체는 비-인간 항체(공여체 항체)와 동일하거나 유사한 에피토프에 면역특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 인간화 항체는 실질적으로 인간 항체의 아미노산 서열을 갖는 골격(framwork)(FR) 영역 및 실질적으로 비-인간 항체의 아미노산 서열을 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. CDR의 맥락에서 "실질적으로"란 용어는 비-인간 항체 CDR의 아미노산 서열과  적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 CDR을 의미한다. 인간화 항체는 1개 이상, 전형적으로 2개 이상의 가변 도메인(Fab, Fab', F(ab')2, FabC, Fv)을 실질적으로 전부 포함하며, 여기서, CDR 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 비-인간 면역글로불린(즉, 공여체 항체)의 것에 상응하며, 골격 영역의 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 바람직하게는, 인간화 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로 인간 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부분을 포함한다. 본 발명에서는 신규 골격 영역을 포함하는 인간화 항체가 제공된다.

[0029] 일부 실시형태에서, 인간화 항체는 적어도 중쇄의 가변 도메인뿐만 아니라 경쇄 둘 다를 포함한다. 또한, 상기 항체는 중쇄의 CH1, 힌지, CH2, CH3 및 CH4 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체는 인간화된 경쇄만을 함유한다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체는 인간화된 중쇄만을 함유한다. 특정한 실시양태에서, 인간화 항체는 경쇄의 인간화된 가변 도메인 및/또는 인간화된 중쇄만을 함유한다.

[0030] 항체는 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE를 포함하는 면역글로불린의 임의의 클래스와, 제한 없이 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하는 임의의 이소타입으로부터 선택될 수 있다. 인간화 항체는 1개 이상의 클래스 또는 이소타입으로부터의 서열을 포함할 수 있으며, 특정 불변 도메인은 당업계에 익히 공지된 기술을 사용하여 바람직한 효과기(effector) 기능을 최적화하도록 선택될 수 있다.

[0031] 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 디설파이드 결합된 Fv, 모노클로날 항체, 단일쇄 가변 단편(scFv), 키메라 항체, CDR 이식된 항체, 디아바디(diabody), 인간화 항체, 다중특이적 항체, Fab(단편 항원-결합), 이특이적 항체, F(ab')2(전형적으로 펩신에 의한 항체 분해에 의해 생성되는, 이중 암, 항원-결합 단편), Fab'(전형적으로 온화한 환원에 의해 F(ab')2를 2개의 항원-결합 단편으로 개열시킨 결과) 또는 Fv(항원-결합 가변 단편)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0032] "키메라 항체"란 용어는 인간 불변 영역에 연결된 뮤린 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 항체와 같은, 한 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열 및 다른 종으로부터의 불변 영역 서열을 포함하는 항체를 의미한다.

[0033] "VH 영역", "VL 영역" 또는 "VK 영역"은 각각 중쇄의 가변 영역(VH), 람다 경쇄의 가변 영역(VL) 또는 카파 경쇄의 가변 영역(VK)을 의미한다. VH 및 VL 영역은 상보성 결정 영역(CDR)이라 불리는 초가변성 영역들로 추가로 세분될 수 있고, 이들 사이에는 골격 영역(FR)이라 불리는 더 보존적인 영역들이 배치되어 있다. 각각의 VH 및 VL은 아미노 말단부터 카복시 말단까지 다음과 같은 순서에 따라 배열된 3개의 CDR과 4개의 FR로 이루어진다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 면역글로불린 분자는 임의의 유형(예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스(예를 들면, IgG1, IgG2, IgG 3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 서브클래스일 수 있다.

[0034] "골격" 또는 "골격 서열"이란 용어는 CDR을 제외한 가변 영역의 나머지 서열을 의미한다. CDR 서열의 정확한 정의는 상이한 체계에 의해 결정될 수 있기 때문에, 이에 따라 골격 서열의 의미는 상이하게 해석된다. 6종의 CDR(경쇄의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 및 중쇄의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)은 또한 경쇄 및 중쇄 상의 골격 영역을 각 쇄 상에 4종의 하위 영역(FR1, FR2, FR3 및 FR4)으로 나누고, 여기서 CDR1은 FR1과 FR2 사이에 위치하고, CDR2는 FR2와 FR3 사이에 위치하고 CDR3은 FR3과 FR4 사이에 위치한다. FR1, FR2, FR3 또는 FR4로서 특정 하위 영역으로 구체화하지 않고, 달리 언급된 골격 영역은 단일의 천연 발생 면역글로불린 쇄의 가변 영역 내의 조합된 FR을 나타낸다. FR은 4개의 하위 영역 중 하나를 나타내며, FR들은 골격 영역을 구성하는 4개의 하위 영역 중 2개 이상을 나타낸다.

[0035] 이미 설명된 바 있는 많은 인간화 면역글로불린들(참조: Jones et al., Verhoeyen et al., Riechmann et al.)은 특정 인간 면역글로불린 쇄의 골격과 동일한 골격, 수용체 및 비-인간 공여체 면역글로불린 쇄로부터의 3개의 CDR로 구성되었다. "인간화 항-타우" 항체는 타우에 결합할 수 있는 비-인간(공여체) 항체로부터 생성된 항체를 의미하고, 이러한 결합은 인간 항체(수용체(acceptor))로 이전된다.

[0036] "CDR"이란 용어는 항체 가변 서열 내의 상보성 결정 영역을 의미한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 각각에는 3개의 CDR이 있으며, 가변 영역 각각에 대해 CDR1, CDR2 및 CDR3으로서 지정된다. 청구된 본 발명의 VH 및 VL/K 영

역의 CDR의 아미노산 서열은 도 1에 도시되어 있다.

[0037] 본원에서 사용되는 바와 같이, 단일쇄 항체로서도 명명되는 단일쇄 Fv란 용어는 결합 항체의 결합 도메인(중쇄 및 경쇄 둘 다)을 단리시키고 결합 기능이 보존될 수 있도록 하는 연결 모이어티를 제공함으로써 제조된 조작된 항체 작제물을 의미한다. 두 쇄 사이에 삽입된 링커 펩타이드는 적절한 폴딩 및 활성 결합 부위의 생성을 방해하지 않으면서 가변 도메인이 안정화될 수 있게 한다. 이러한 링커는 5 내지 30개의 아미노산 길이일 수 있으며 전형적으로 "GGGGS"((Gly)4Ser) 아미노산 서열의 반복체로 구성된다 (서열번호 55). 이것은 항원에 결합하는데 필수적인 가변 도메인만을 갖는, 근본적으로 단축된 항체를 형성한다.

[0038] 디아바디, 트리아바디(triabody) 및 테트라바디(tetraabody) 및 보다 고차 변이체는 전형적으로 상기 언급된 링커 펩타이드의 길이를 0부터 수 아미노산까지 다양화함으로써 생성된다. 변이체는, VH 및 VL 도메인이 폴리펩타이드 쇄상에서 발현되지만, 동일한 쇄상의 두 도메인들 간의 쌍이 형성되도록 하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써 상기 도메인들이 다른 쇄의 상보적 도메인들과 쌍을 형성하여 2개의 항원 결합 부위를 생성하는 다가 다중특이적 항체이다[참조: 예를 들면, Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al. (1994) Structure 2: 1121-1123]. 이러한 항체 결합 부분은 당업계에 공지되어 있다(참조: Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. New York. p. 790 (ISBN 3-540-41354-5). 대안으로, 다가 결합 항체 변이체를 가변 도메인에 연결된 자가-조립 유닛을 사용하여 생성시킬 수 있다는 것이 또한 공지되어 있다.

[0039] 이특이적, 삼특이적 항체 또는 다중 특이성의 항체들은 하나의 항체의 중쇄 및 경쇄를 하나 이상의 다른 항체의 중쇄 및 경쇄와 조합하여 생성된다. 이러한 쇄들은 공유 결합될 수 있다. 예를 들면, "이특이적 항체"란 용어는 오직 하나만이 기능적 이특이적 항체인 다수의 상이한 면역글로불린 종을 생성시키는, 쿼드로마(quadroma) 기술[참조: Milstein and Cuello (1983) Nature 305(5934): 537-40], 2종의 상이한 모노클로날 항체의 화학적 접합[참조: Staerz et al. (1985) Nature 314(6012): 628-31] 또는 구멍에 손잡이(knob-into-hole) 또는 Fc 영역에 돌연변이를 도입시키는 유사 전략[참조: Holliger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(14): 6444-6448]에 의해 생성되는 전체길이 항체를 의미한다. 분자 기능에 의해 이특이적 항체는 이의 2개의 결합 암(하나의 HC/LC 쌍) 중 하나에서 하나의 항원(또는 에피토프)에 결합하고 이의 제2 암(상이한 HC/LC 쌍)에서 상이한 항원(또는 에피토프)에 결합한다. 이특이적 항체는 2개의 별개의 항원 결합 암(특이성 및 CDR 서열 둘 다에서)을 갖고 이것이 결합하는 각 항원에 대해 일가이다.

[0040] 타우에 결합할 수 있는 일련의 뮤린 항체는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 생성되었다[참조: Holtzman et al., WO2014/08404]. 추가로, 이러한 항체들을 스크리닝하여, 이러한 항체들이 치료학적 용도에 적합한 후보가 되게 할 수 있는 특이적 생물학적 활성을 갖는 항체를 동정하였다.

[0041] 하나의 양상에서, 본 발명은 복합 인간화 항체를 제공한다. Composite Human Antibody™ 기술은 공여체 항체의 가변 영역(V 영역) 서열 내에서 잠재적 T 세포 에피토프를 동정하고 잠재적 T 세포 에피토프에의 결합이 제거되게 하는 방식으로 항체 또는 항원-결합 단편을 조작함으로써 인간화 항체를 생성시킨다[참조: EP2,388,871]. 공여체 항체(전형적으로 뮤린)으로부터의 각각의 상보성 결정 영역(CDR)에 대한 경쇄 및 중쇄 "수용체"로서 단일 인간 경쇄 및 중쇄 V 영역 골격 또는 인간 컨센서스 골격을 사용하는 다른 인간화 기술과 달리, Composite Human Antibody™은 다수의 비관련 인간 항체의 V 영역으로부터 유도된 다수의 서열 절편(복합물)을 포함한다.

[0042] 비관련 인간 V 영역의 데이터베이스로부터 유도된 서열 절편은 출발 항체의 항원 결합에 결정적인 것으로 간주되는 아미노산을 결정한 후 선택된다. 인간 V 영역 데이터베이스로부터 유도된 모든 선택된 서열 절편은 당업계에 공지된 인실리카 도구(*in silica* tool)를 사용하여 잠재적 CD4+ T 세포 에피토프의 존재에 대해 여과한다. Composite Human Antibody™은 인간 서열 절편이 출발 항체 V 영역의 모든 부분들과 잘 일치하기 때문에 표준 인간화 항체보다 우수한 친화성 및 특이성을 보유한다. Composite Human Antibody™은 T 세포 에피토프가 고갈되어 있고 따라서 인간화 및 탈면역화된 것으로 간주된다.

[0043] 하나의 실시형태에서, 공여체 항체로부터의 뮤린 가변 영역은 인간 수용체 IgG 내의 인간 가변 영역을 대체하여 키메라 항체를 생성시킨다.

[0044] 추가의 실시형태에서, 공여체 항체로부터의 뮤린 CDR 서열은 인간 수용체 IgG 내의 CDR 서열을 대체하여 인간화 항체를 생성시킨다. 추가 변화를 인간화 항체에 포함시켜, 공여체 항체의 결합 특징들을 유지하는데 결정적인 것으로 간주되는 잠재적 T 세포 에피토프 및 골격 잔기를 제거한다. 당업계의 숙련가들은 CDR 이식과 같은 기타 방법들을 사용하여 항체를 인간화시킬 수 있음을 알 것이다.

[0045] 추가의 실시형태에서, 인간 타우에 결합할 수 있는 비-인간 항체가 인간화된다.

[0046] 본 발명의 항체는 공여체 항체와 비교해 변경된 결합 친화성 및/또는 변경된 면역원성을 나타낼 수 있다. 일부 실시형태에서, 키메라 또는 인간화 항체는 타우의 에피토프에 대해서 공여체 항체와 실질적으로 동일한 결합 친화성을 갖는다.

[0047] 추가의 실시형태에서, 본원에서 기재한 바와 같은 인간화 항체, 예를 들면, 인간화 항-타우 항체에 기초한 단일쇄 가변 단편은 단량체로서 결합할 수 있다.

[0048] 추가의 실시형태에서, 다가 결합은, 항체 단편을 사용하여, 생성될 수 있는 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 고차 변이체를 사용함으로써 달성할 수 있다.

[0049] 추가의 실시형태에서, 인간화 항-타우 항체의 중쇄 및 경쇄를 다른 항체의 중쇄 및 경쇄와 조합하여 이특이적 또는 기타 추가의 다중 특이적 항체를 형성시킬 수 있다.

[0050] 추가로, 본 발명의 인간화 항체, 예를 들면, 인간화 항-타우 항체는 또한 항체 단편, 예를 들면, Fab, Fab' 단량체, F(ab)'2 이량체 또는 전체 면역글로불린 분자의 형태일 수 있다.

[0051] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 아미노산 서열, DQGGYT (서열번호 9)로 이루어진 단리된 펩타이드를 제공한다. 상기 펩타이드는 $C_2$N-8E12 또는 HJ8.5와 같은 본원에 기재된 항체에 대한 코어 에피토프이다. 본 발명의 하나의 양상에서, 펩타이드는 X($_{0-8}$)DQGGYTX($_{0-8}$) (서열번호 56)를 포함하고, 여기서 X는 임의의 아미노산이다. 실례가 15량체(15mer)를 보여주고 있으나(도 11 참조), 당업계의 숙련가들은 상이한 길이의 펩타이드가 본 발명에 포함됨을 인지할 것이다. 따라서, 본 발명의 항체 또는 단편은 아미노산 서열 DQGGYT (서열번호 9)를 함유하는 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 에피토프는 선형 또는 입체구조적 에피토프일 수 있고 길이가 약 6 내지 22개 아미노산일 수 있다.

[0052] 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 상기 항체 또는 항원-결합 단편을 이용하는 타우병증의 치료에 관한 것으로, 여기서 상기 항체 또는 단편을 타우병증을 앓는 대상체에게 일정 용량으로 투여된다.

[0053] 항체 또는 항원-결합 단편의 적합한 용량은 대상체의 체중 kg당 약물 mg으로서 표현될 수 있다. 항체 또는 항원-결합 단편의 적합한 용량은 적어도 약 0.1mg/kg, 대안으로 약 0.2mg/kg, 대안으로 약 0.25mg/kg, 대안으로 약 0.3mg/kg, 대안으로 약 0.5mg/kg, 대안으로 약 0.75mg/kg, 대안으로 약 1mg/kg, 대안으로 약 1.25mg/kg, 대안으로 약 1.5mg/kg, 대안으로 약 2mg/kg, 대안으로 약 5mg/kg, 대안으로 약 7.5mg/kg, 대안으로 약 10mg/kg, 대안으로 약 12.5mg/kg, 대안으로 약 15mg/kg, 대안으로 약 20mg/kg, 대안으로 약 25mg/kg, 대안으로 약 30mg/kg, 대안으로 약 50mg/kg, 대안으로 약 100mg/kg을 포함한다. 항체 또는 항원-결합 단편의 적합한 용량은 최대 약 250mg/kg, 대안으로 최대 약 200mg/kg, 대안으로 최대 약 175mg/kg, 대안으로 최대 약 150mg/kg, 대안으로 최대 약 125mg/kg, 대안으로 최대 약 100mg/kg, 대안으로 최대 약 75mg/kg, 대안으로 최대 약 50mg/kg, 대안으로 최대 약 25mg/kg, 대안으로 최대 약 20mg/kg, 대안으로 최대 약 15mg/kg일 수 있다. 범위의 최소치가 범위의 최대치보다 낮은 한, 전술한 최소치들 및 최대치들 중 어느 것이라도 합하여 범위(예를 들면, 약 0.1mg/kg 내지 약 250mg/kg)를 한정할 수 있다.

[0054] 항체 또는 항원-결합 단편의 적합한 용량은 대상체에게 투여되는 약물 mg으로서 표현될 수 있다. 인간화 항체 또는 항원-결합 단편의 적합한 용량은 적어도 약 2.5mg, 대안으로 적어도 약 5mg, 대안으로 적어도 약 10mg, 대안으로 적어도 약 15mg, 대안으로 적어도 약 20mg, 대안으로 적어도 약 25mg, 대안으로 적어도 약 30mg, 대안으로 적어도 약 40mg, 대안으로 적어도 약 50mg, 대안으로 적어도 약 60mg, 대안으로 적어도 약 70mg, 대안으로 적어도 약 80mg, 대안으로 적어도 약 90mg, 대안으로 적어도 약 100mg, 대안으로 적어도 약 125mg, 대안으로 적어도 약 150mg, 대안으로 적어도 약 175mg, 대안으로 적어도 약 200mg, 대안으로 적어도 약 250mg, 대안으로 적어도 약 100mg, 대안으로 적어도 약 125mg, 대안으로 적어도 약 300mg을 포함한다. 항체 또는 항원-결합 단편의 적합한 용량은 최대 약 2500mg, 대안으로 최대 약 2000mg, 대안으로 최대 약 1500mg, 대안으로 최대 약 1000mg, 대안으로 최대 약 750mg, 대안으로 최대 약 500mg, 대안으로 최대 약 400mg, 대안으로 최대 약 300mg, 대안으로 최대 약 275mg, 대안으로 최대 약 250mg, 대안으로 최대 약 200mg, 대안으로 최대 약 150mg일 수 있다. 범위의 최소치가 범위의 최대치보다 낮은 한 전술한 최소치들 및 최대치들 중 어느 것이라도 합하여 범위(예를 들면, 약 5mg 내지 약 2500mg)를 한정할 수 있다.

[0055] $C_2$N-8E12는 인간화 재조합 IgG4 항-인간 타우 항체이다. $C_2$N-8E12의 IgG4 골격은 반-항체의 형성을 최소화하는

S241P 힌지 안정화 돌연변이를 함유한다. $C_2N$-8E12는 모든 인간 타우 스플라이스 변이체뿐만 아니라 타우의 아미노-말단 단편에 존재하는 서열인, 인간 타우내 아미노산 25번 내지 30번(DQGGYT)(서열번호 9)에 결합한다. 상기 항체는 타우병증으로부터의 인간 뇌 조직 내에서 단량체성 타우 및 응집된 타우 둘 다에 결합한다. $C_2N$-8E12는 응집 또는 분해가 거의 없이 매우 안정하다. $C_2N$-8E12의 전반적인 물리적 특성들은 표 1에 기재되어 있다.

*표 1*

[0056]

| | |
|---|---|
| 분자량 | 145.72kDa |
| 입체화학 | L-아미노산 |
| 외관 | 투명한 무색 내지 담황색 액체 |
| 용해도 | 약 130mg/mL |

[0057] 본 발명은 첨부된 실시예를 참조로 하여 설명하였으나, 본 발명의 취지 및 범주 내에 변형 및 변화가 포함된다는 것이 이해될 것이다. 이하 본 발명의 실시예가 첨부되며 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0058] 실시예 1

[0059] 본 실시예는 뮤린 항-타우 항체 HJ8.5의 인간화를 위한 노력과 결과를 설명한다. 이러한 노력으로 4종의 인간화 경쇄 가변 영역(VL 또는 VK) 및 4종의 인간화 중쇄 가변 영역(VH)이 생성되었다.

[0060] 인간화는 일반적으로 만성 치료를 위한 비-인간 모노클로날 항체의 사용과 연관된 잠재적 면역원성을 감소시키기 위한 기술을 의미한다. 전형적으로 면역원성을 감소시키기 위해 사용된 두가지 방법들은 CDR 이식 및 탈면역화이다. 뮤린 항체 HJ8.5는 안티토프(Antitope)에 의해 개발된 방법을 사용하여 탈면역화시켰다.

[0061] CDR 이식은 단백질 조작 접근법이다. 간략하게 언급하면, 이는 항체의 기본적 구조의 이해 및 종 전체에 걸친 이의 보존성 둘 다에 의존한다. 뮤린 및 인간 항체는 공통의/보존된 구조를 공유한다. 항체 구조는 불변 영역과 가변 영역으로 나뉜다. 가변 영역은 소위 골격 영역 및 CDR 영역으로 추가로 나뉠 수 있다. 가변 영역이 4개의 골격(Fwk)과 3개의 CDR로 이루어진다는 것을 알 수 있다. 골격들 및 CDR들의 배열은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인에서 동일하다.

[0062] CDR 이식에서, 비-인간 불변 영역을 인간 불변 영역으로 대체시켜 소위 키메라 항체를 생성시킨다. 또한, 뮤린 CDR 영역은 인간 골격 영역으로 이전된다; 이렇게 생성된 가변 도메인은 인간 골격과 뮤린 CDR의 혼합물이다. 마지막 단계로서, 친화성을 유지시키는데 있어 결정적 역할을 하는 것으로 사료되는 다수의 뮤린 골격 잔기들이 이전된다(도시되지 않음).

[0063] 탈면역화: 안티토프의 Composite Human Antibody™ 기술은 결합에서 역할을 한다고 사료되는 골격 내의 주요 아미노산 및 CDR 둘 다를 동정하는 것과 함께 사용되는 탈면역화 기술이다. 생성된 완전히 인간화된 항체는 출발 모노클로날 항체의 결합 친화성 및 특이성을 보유하며 또한 CD4+ T 세포 에피토프가 없으며, 이로 인해 인간에서 원치않는 면역원성이 회피된다.

[0064] Composite Human Antibody™는 비관련 완전-인간 항체 가변 영역 서열들 중 100,000개를 포함하는 안티토프의 데이터베이스로부터의 인간 항체 서열의 다수의 절편들을 조합하여 생성시킨다. HJ8.5 항체의 가변 영역 서열의 초기 모델링을 사용하여 항체 결합에 결정적인 아미노산들을 동정하고, 이어서 이 아미노산들을 사용하여 인간 서열 절편의 선택이 제한되도록 한다. 그 다음, 개개의 서열 절편 및 인접 절편들 간의 접합부를 CD4+ T 세포 에피토프가 없는 완전 인간 가변 영역 서열의 선택을 위한 2가지 사유 인실리코(in silico) 기술(iTope™ 및 TCED™)을 사용하여 분석한다. Composite Human Antibody에 대한 가변 영역을 암호화하는 DNA를 합성하고 인간 불변 영역과 함께 발현 벡터 내로 클로닝시키고 인간화 항체 생산을 위해 포유동물 세포로 형질감염시킨다.

[0065] HJ8.5의 인간화: HJ8.5 뮤린 항-타우412 항체 V 영역의 구조적 모델을 스위스 PDB를 사용하여 생성시키고, 항체의 결합 특성에 필수적일 가능성이 큰 V 영역 내의 중요한 "속박(constraining)" 아미노산을 동정하기 위해 분석하였다. 이러한 분석으로부터, 다수의 속박 골격 잔기들이 완전 인간화 V 영역에 포함시키기 위한 후보로서 동정되었다. 이러한 잔기들 중 하나 이상을 포함하도록 인간 가변 영역 서열의 절편들을 선택하였다.

[0066] 완전 인간화 HJ8.5 항체를 생성시키는데 사용될 수 있는 인간 서열 절편의 예비 세트를 선택하고, 인간 MHC 클래스 II 대립유전자(참조: Perry et al 2008)에의 펩타이드 결합의 인실리코 분석을 위한 iTope™ 기술을 사용하고 공지된 항체 서열-관련 T 세포 에피토프(참조: Bryson et al 2010)의 TCED™(T 세포 에피토프 데이터베이

스)를 사용하여 분석하였다. 인간 MHC 클래스 II에 대한 중요한 비-인간 생식계열(germline) 결합제로서 동정된 또는 TCED™에 대해 현저한 히트(hit)를 기록한 서열 절편들은 폐기하였다. 절편들 간의 접합부가 잠재적 T 세포 에피토프를 함유하지 않는다는 것을 보장하기 위해 서열 절편의 조합들을 또한 분석하였다. 이어서, 선택된 절편들을 조합하여 합성을 위한 중쇄 및 경쇄 V 영역 서열들 생성시켰다. HJ8.5의 경우, 4종의 VH 쇄와 4종의 VK 쇄를 디자인하고 작제하였다.

[0067] 도 1은 뮤린 HJ8.5 항체의 가변 영역 서열뿐만 아니라 각각의 중쇄 및 경쇄에 대한 4종의 인간화 변이체 서열(4종의 VH 및 4종의 VL/VK 서열)을 도시한다. 이러한 4종의 VH 쇄 및 4종의 VK 쇄의 아미노산 서열은 도 1에 도시되어 있다. 카벳(Kabat) 등에 의해 정의된 CDR 서열은 적색(밑줄)으로 강조되어 있다. 본래 마우스 서열로부터의 골격 변화는 청색 및 볼드체로 강조되어 있다.

[0068] 표 B-1은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 각 변이체로 도입된 골격 변화의 개수를 요약한 것이다.

[0069] [표 B-1]

[0070]

| 가변 도메인 | 골격 변화의 개수 |
|---|---|
| VH1 | 4 |
| VH2 | 5 |
| VH3 | 10 |
| VH4 | 11 |
| VK1 | 6 |
| VK2 | 7 |
| VK3 | 11 |
| VK4 | 12 |

[0071] 도 2는 각각의 중쇄 및 경쇄에 대한 인간화 가변 영역 및 불변 영역 서열(4종의 VH 및 4종의 VL/VK 서열)을 도시한다. 가변 중쇄는 S241P 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 인간 IgG4의 불변 중쇄로 이식된다. 가변 경쇄는 인간 카파 경쇄의 불변 경쇄로 이식된다. 상기 표에는 또한 이론적 등전점(PI) 및 분자량(Mw)를 기재되어 있다.

[0072] 도 3은 VH 및 VK 영역들을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 형질감염된 세포의 2 라운드의 일시적 발현으로부터 발현 데이터를 도시한다. 13종의 인간화 항-타우 항체들의 결과들이 요약되어 있다. 중쇄 및 경쇄의 상이한 조합들에 의해 현저하게 상이한 발현 수준이 관찰되었다. 라운드 1에서, VH 및 VL 영역의 모든 변이체들을 서로 조합하였다(시험된 16종 중 13종에 대한 결과만이 도시되어 있다). 라운드 2에서, 라운드 1에서 관찰된 최상의 6가지 발현 조합들을 시험하였다. 발현은 배양 배지 mL당 측정된 항체 ㎍로서 나타낸다. 보다 고 수준의 발현은, 이것이 항체가 정확하게 폴딩되고 예상한 대로 분비되고 비독성이고 일반적으로 안정하다는 것을 시사하기 때문에 유리하다.

[0073] 도 4는 효능 검정으로부터 데이터를 도시한다. 인간화 항-타우 항체 변이체를 추가로 특징 규명하기 위해, 효능 검정은 ELISA형 포맷에서 인간 타우에의 결합에 대해 본래 뮤린 HJ8.5(모 항체)와 경쟁하는 항체의 능력을 평가한다. 검정 포맷은 ELISA 플레이트를 인간 타우로 코팅하고 이어서 시험 항체뿐만 아니라 바이오틴화된 HJ8.5이 타우에의 결합에 대해 경쟁하도록 함을 포함한다. 검정은 각 인간화 항체 변이체에 대한 상대적 IC50 값이 측정될 수 있도록 한다. 플레이트들 간에 비교될 수 있도록 IC50 값을 키메라 HJ8.5의 IC50 값에 대해 정규화한다. 이러한 데이터는 인간화 과정이 인간 타우에의 인간화 항체의 결합을 현저하게 변화시키지 않았음을 입증한다.

[0074] 실시예 2

[0075] 본 연구는 6종의 완전 인간화(VH1/VK2, VH1/VK3, VH2/VK2, VH2/VK3, VH3/VK2 및 VH3/VK3, 상기 실시예 1에서 설명한 바와 같음) 모노클로날 항체 및 HJ8.5에 기초한 1종의 키메라 모노클로날 항체와 재조합 인간 타우-412 단백질 간의 상호작용의 결합 특징들을 측정하고 비교하기 위한 비아코어(Biacore) T200의 사용을 설명한다. 본 연구의 목적은 타우-412와 상기 7종의 mAb 간의 상호작용의 고분해능 반응속도 특징 규명을 위해 비아코어 T200 표면 플라즈몬 공명 기기를 사용하는 것이었다.

[0076] 항체는 4℃에서 저장하였다. 타우-412는 제조업자의 지침에 따라서 -20℃에서 저장하였다. 일단 재구성되면, 타우-412 용액을 얼음 위에서 저장하고 24시간 이내에 사용하였다. 재구성된 타우-412의 분취액을 재구성시킨지 30분 이내에 냉동시키고 -20℃에서 저장하였다.

[0077] 비아코어 기기를 비아코어 T200 평가 소프트웨어 V1.1(스웨덴 웁살라)에서 구동시켰다. 모든 재료들은 달리 언급하지 않는 한 비아코어로부터 입수하였다:

[0078] 비아코어 예방보전 키트(Biacore Preventative Maintenance Kit) 2 BR-1006-51

[0079] 시리즈 S CM5 센서 칩스 BR-1006-68

[0080] 아민 커플링 키트 BR-1000-50

[0081] 10mM 아세테이트 pH 4.5 BR-1003-51

[0082] HBS-EP 러닝 완충액(running buffer)\ BR-1006-69

[0083] 10mM 글리신-HCl pH 1.5 BR-1003-54

[0084] 10mM 글리신-HCl pH 2.0 BR-1003-55

[0085] 단백질 A(시그마(Sigma)) P6031

[0086] 4M $MgCl_2$ 6수화물(시그마) M9272-500G

[0087] 모든 실험들은 비아코어 '위저드(wizard)' 소프트웨어를 사용하여 개발하였다. 다음의 비아코어 방법을 사용하였다: 면역화; 반응속도/친화성 및 탈리 및 위생처리.

[0088] 임의의 샘플을 러닝(running)시키기 전 및 본 연구 동안, 시스템 점검(비아코어 예방보전 키트 2)을 수행하였다. 시험된 모든 시스템들은 통과하였으며(Reagent pump, Refractometer, Injections, Noise, Mixing and Buffer Selector), 이는 본 기기가 제조업자에 의해 설정된 기준에 맞게 작동하였음을 나타낸다.

[0089] CM5/단백질 A 칩의 삽입시, 시스템을 준비시킨 다음, BIA 정규화 용액(비아코어 예방보전 키트 2)을 사용하여 정규화하였다. 모든 샘플을 5℃에서 인큐베이팅된 샘플 거치대를 사용하여 25℃에서 러닝시켰다. 상기 칩을 시스템에 부가하였고, 이때 HBS-EP를 러닝 완충액으로서 사용하였다.

[0090] mAb를 공급된 상태로 저장하고 모든 고정화(포획) 런(run)을 위해 100nM까지 희석시켰다. 항원 타우-412를 Milli-Q 물을 사용하여 건조 분말로부터 1mg/mL의 최종 농도로 재구성하였다; 추가의 희석을 반응속도 런을 위해 수행하였다. 농도 계산에서 사용된 타우-412의 질량 및 분자량은 시약 제조업자에 의해 제공되었다(100㎍/바이알 및 42.9kDa). 상기 용액에 운반체 단백질은 부가하지 않았다. 항원의 바이알을 필요할 때만 재구성하였고 사용할 때까지 -20℃에서 이의 분말 형태로 저장하였다. 일단 재구성되면, 항원 용액을 얼음 위에서 보관하고 24시간 이내에 사용하였다.

[0091] 단백질 A를 이용한 포획 검정을 본 연구를 위해 선택하였다. 단백질 A 표면의 성능은, 또한 시험된 항-인간, 단백질 A/G, 단백질 G 및 단백질 L 표면보다 우수하였다. 단백질 A 칩을 표준 아민 커플링 화학을 사용하는 고정화를 통해 제조하였다. 고정화는 10mM 아세테이트 완충액(pH 4.5) 중 5㎍/mL의 단백질 농도에서 CM5 시리즈 S 센서 칩(비아코어)상에서 500RU의 표적 반응 수준까지 수행하였다.

[0092] $F_c$s로 표시된 '모든' 단백질 A 칩에 대한 최종 반응 수준은 하기 표 G-1에 제시되어 있다.

[0093] [표 G-1]

[0094]

| | 리간드 | 최종 공명 수준(RU) |
|---|---|---|
| $F_c1$ | 단백질 A | 697.1 |
| $F_c2$ | 단백질 A | 691.4 |
| $F_c3$ | 단백질 A | 708.3 |
| $F_c4$ | 단백질 A | 704.6 |

[0095] 반응속도 실험 동안, 칩의 표면에서 질량 전이 효과를 회피하기 위해 고정된/포획된 리간드의 양은 한정될 필요가 있다. 반응속도 실험 동안, 표면은 이상적으로는 50 내지 100RU의 최대 분석물 결합 수준($R_{max}$)을 가져야만 한다. 따라서, 고정되는 리간드의 양은 다음 수학식 1을 사용하여 계산한다:

[0096] $$분석물결합성능(RU) = \frac{분석물MW}{리간드MW} \times 고정된리간드(RU) \times Sm$$

[0097] 분석물 타우-412에 대한 42.9 kDa(시약 제조업자에 의해 제공됨)의 평균 MW, 리간드에 대한 150kDa(항체에 대한 추정값)(mAb), $R_{max}$에 대한 100RU 및 1로서의 화학양론($S_m$)을 사용하여, 300RU의 표적을 모든 시험 항체의 포획을 위해 설정하였다. 본 연구 내에서 수득된 포획 수준은 약 280 내지 400RU로 다양하다. 제2 및 제3 런 동안, 주사된 항체의 양을 목적하는 300RU 포획 수준에 가까워지도록 조정하였다.

[0098] 비-특이적 결합은 리간드(비-특이적이고 검출하기가 어려움), 포획 단백질 또는 센서 칩 표면과 상호작용하는 분석물 또는 분석물 오염물 때문일 수 있다. 타우-412를 비교적 높은 농도(40nM)로 300초 주사한 후 블랭크 $F_c1$ 표면의 반응을 분석하여, 카복시-덱스트란 표면 또는 단백질 A 포획 표면에 대한 NSB는 관찰되지 않았다. 100 nM 초과의 타우-412 농도에서, 카복시-덱스트란 표면에 대해 현저한 NSB가 관찰되었지만; 이러한 범위 내의 농도는 후속적 반응속도 분석을 위해 요구되지 않았다.

[0099] 재생 스카우팅(regeneration scouting)을 수행하였고, 단백질 A 표면상에서 키메라 및 VH1/VK2 항체의 재생을 위한 최적의 조건은 다음과 같았다. 10 mM 글리신-HCl pH 1.7의 3회의 240초 주사에 이어서 40㎕/분에서 모든 4M $MgCl_2$의 1회의 300초 주사. 마지막 재생 주사 후 600초의 대기 단계를 도입하여 그 다음 결합 사이클을 시작하기 전에 표면이 안정화되도록 하였다.

[0100] 초기 시험이 선택된 완충액 'HBS-EP'가 반응속도 분석에 적합한 재생 가능한 시스템을 생성하였음을 나타냈기 때문에, 완충액 스카우팅은 수행되지 않았다.

[0101] 표면의 성능을 반응속도 런의 시작, 사이의 시간 및 종료시에 2.5nM 타우-412의 반복적 대조 주사에 의해 분석하였다. 반응속도 런 전반에 걸쳐서 안정한 결합이 관찰되었으며, 이는 반응속도 분석에 대한 본 시스템의 적합성을 강조한다.

[0102] 결합 속도가 칩 표면으로의 및 칩 표면으로부터의 분석물의 이동 속도와 연관된 중요한 성분을 함유할 때 질량 이동 제한이 발생한다. 질량 이동이 현저한 것으로 밝혀진다면, 수득된 반응속도 분석 결과는 부정확할 수 있다. 고정된 리간드의 밀도를 저하시키거나 유속을 증가시키는 것은 질량 이동 제한을 감소시킬 수 있다. 저밀도 표면 및 유사한 Mw 항원을 사용한 이전의 실험을 근거로, 40㎕/분의 유속이 본 연구를 위해 선택되었다.

[0103] 리간드-분석물 상호작용을 평가하여 1 대 1 결합 모델로부터의 편차를 확인하기 위해 연결된 반응 대조 실험이 사용된다. 분석물을 상이한 시간 기간(접촉 시간) 동안 표면 위로 주사하고, 해리율을 분석하여, 이것이 접촉 시간에 따라서 달라지는가를 결정한다. 이러한 관련성이 관찰된다면, 이는 표면에서 안정화된 복합체를 야기하는 초기 결합 사건 후에 제2의 상호작용 사건이 일어난다는 것을 나타낸다.

[0104] 포획 검정 포맷, 1.5의 겉보기 결합 화학양론을 사용하고 1 대 1 모델이 수득된 반응속도 데이터에 대한 신뢰도와 핏팅될 수 있었던 이전의 실험으로부터, 보다 복잡한 반응속도 상호작용을 뒷받침하는 추가의 증거가 없었기 때문에 연결된 반응 대조는 수행하지 않았다.

[0105] 1 대 1 결합 모델을 사용하여, 수득된 반응속도 데이터(반응식 2)를 핏팅시켰다. 포획된 항체의 양의 변화로 인해, 매개변수 $R_{max}$를 각 항체 반응속도 분석을 위한 전체적 분석과 대조적으로 국부 분석에 대해 설정하였다.

[0106] $$A + B \underset{k_d}{\overset{k_a}{\rightleftharpoons}} AB$$

[0107] 항체 특징 규명: 단백질 A 포획 표면에 대해 수행된 특징규명 및 대조 실험은 이것이 타우-412 상호작용에 대한 반응속도 값들을 측정하는데 적합한 시스템임을 시사하였다. 시험 단백질 A 표면상에 포획된 VH1/VK2의 277RU 위에 포화 농도의 타우-412(1000 nM)를 주사하여 결합 화학양론을 평가하였다. 1000nM 타우-412의 2회 연속 주사는 122RU에서 포화 결합을 야기한 것으로 보였다. 이로 인해 1개의 타우-412 분자에의 1개의 항체 분자 결합에 대해 예상되는 것보다 높은 150%의 결합 화학양론이 야기되었다. 그 이유는 칩의 표면상에서의 2개의 타우-412 분자에의 항체 결합 또는 타우-412 올리고머화를 포함할 수 있다.

[0108] 반응속도 데이터는, 어떠한 잠재적 물질 이동 효과라도 최소화하는 40㎕/분의 유속에서 수득되었다. 반응속도 사이클에 걸쳐서 표면과 분석물 둘 다의 안정성을 확인하기 위해, 블랭크(항원 없음) 및 2.5nM 농도의 분석물의 2회 반복을 반응속도 런으로 프로그래밍하였다. 초기 반응속도 런 동안, 40nM 내지 0.156 nM 의 타우-412의 2배 희석액을 러닝시켰다. 반응속도 분석 및 후속적 런 동안, 20nM 내지 0.625nM 범위의 분석물을 선택하였다. 상기 범위는 보고된 $K_D$ 초과 및 미만 둘다의 다수의 분석물 농도를 포괄하였다.

[0109] 결합 단계를 500초 동안 모니터링하여, 보다 고 농도의 분석물의 일부가 정상(定常) 상태에 도달하도록 하였다. 반응속도 사이클의 해리 단계 동안 충분한 시그널 감소(>10%)를 관찰하기 위해, 해리를 1200초 동안 측정하였다. 섹션 5에서 논의된 바와 같이, $F_c$s를 각 재생 단계 후에 600초 동안 안정화되도록 하였다. 기준 채널 $F_c1$로부터의 시그널을 $F_c2$, $F_c3$ 및 $F_c4$의 시그널로부터 공제하였다.

[0110] 비아코어 T200에서 단백질 A 포획 시스템을 이용하여 측정한 타우-412와 7종의 mAb와의 상호작용에 대한 반응속도 매개변수는 표 F-2에 제시되어 있다. 각 결합 사이클 간의 항체의 포획 수준의 차이를 교정하기 위해, 국부 $R_{max}$ 매개변수를 1 대 1 결합 모델에서 사용하였다. 신선한 타우-412 및 항체 제제를 사용하여 3회의 독립적 런에서 반응속도 분석을 수행하였다. 런 1 및 런 2+3은 항원 타우-412의 상이한 바이알을 사용하였다; 따라서, 평균 반응과 연관된 보고된 오차는 아마도 분석물 제조의 변동 및 검정 설정 및 런의 차이를 나타낼 것이다. 런 1부터 런 2+3까지, 주사된 항체의 양을 표적 300 RU 포획 수준에 더욱 가깝게 하고자 주사된 항체의 양을 조정하였다. 런 1의 경우, 키메라 항체를 3중으로 러닝시켰고, 모든 3가지 데이터 세트의 분석은 **표 F-2**에 제시되어 있다. 상기 3가지 데이터 세트로부터 도출된 $K_D$에 대한 %CV는 4.3%이었으며, 이는 본 결과가 검정 변동성 내에 있었음을 나타낸다.

[0111] [표 F-2]

[0112]

| 리간드 | 칼 | $k_a$ (1/Ms) | SE($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SE($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD ($K_D$) | $Chi^2$ | 부록 II |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VH1/VK2 | A11/1 | $2.80 \times 10^5$ | $4.40 \times 10^3$ | $5.11 \times 10^{-4}$ | $2.80 \times 10^{-7}$ | 2.18 | | 1.28 | A3-4 |
| VH1/VK2 | A11/3 | $3.25 \times 10^5$ | $1.00 \times 10^3$ | $6.32 \times 10^{-4}$ | $8.20 \times 10^{-7}$ | 1.95 | | 0.64 | A5-6 |
| | | $k_a$ (1/Ms) | SD($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SD($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD($K_D$) (nM) | | |
| 평균 | | $3.02 \times 10^5$ | $3.19 \times 10^4$ | $6.21 \times 10^{-4}$ | $1.48 \times 10^{-6}$ | 2.06 | 0.17 | | |
| 리간드 | 칼 | $k_a$ (1/Ms) | SE($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SE($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD (KD) | $Chi^2$ | 부록 II |
| VH1/VK3 | A11/1 | $2.80 \times 10^5$ | $9.10 \times 10^3$ | $6.26 \times 10^{-4}$ | $8.50 \times 10^{-7}$ | 2.24 | | 0.99 | A7-8 |
| VH1/VK3 | A11/2 | $2.95 \times 10^5$ | $4.40 \times 10^3$ | $5.72 \times 10^{-4}$ | $2.70 \times 10^{-7}$ | 1.94 | | 0.52 | A9-10 |
| | | $k_a$ (1/Ms) | SD($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SD($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD($K_D$) (nM) | | |
| 평균 | | $2.87 \times 10^5$ | $1.07 \times 10^4$ | $5.99 \times 10^{-4}$ | $3.76 \times 10^{-6}$ | 2.09 | 0.21 | | |
| 리간드 | 칼 | $k_a$ (1/Ms) | SE($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SE($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD (KD) | $Chi^2$ | 부록 II |
| VH2/VK2 | A11/1 | $2.62 \times 10^5$ | $4.30 \times 10^3$ | $6.28 \times 10^{-4}$ | $2.80 \times 10^{-7}$ | 2.40 | | 0.83 | A11-12 |
| VH2/VK2 | A11/2 | $2.84 \times 10^5$ | $4.10 \times 10^3$ | $5.87 \times 10^{-4}$ | $2.60 \times 10^{-7}$ | 2.06 | | 0.70 | A13-14 |
| | | $k_a$ (1/Ms) | SD($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SD($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD($K_D$) (nM) | | |
| 평균 | | $2.73 \times 10^5$ | $1.59 \times 10^4$ | $6.08 \times 10^{-4}$ | $2.94 \times 10^{-6}$ | 2.23 | 0.24 | | |
| 리간드 | 칼 | $k_a$ (1/Ms) | SE($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SE($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD (KD) | $Chi^2$ | 부록 II |
| VH2/VK3 | A11/1 | $2.58 \times 10^5$ | $8.80 \times 10^3$ | $6.53 \times 10^{-4}$ | $9.00 \times 10^{-7}$ | 2.44 | | 1.11 | A15-16 |
| VH2/VK3 | A11/2 | $2.92 \times 10^5$ | $4.40 \times 10^3$ | $5.33 \times 10^{-4}$ | $2.60 \times 10^{-7}$ | 1.83 | | 0.50 | A17-18 |
| | | $k_a$ (1/Ms) | SD($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SD($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD($K_D$) (nM) | | |
| 평균 | | $2.80 \times 10^5$ | $1.71 \times 10^4$ | $5.93 \times 10^{-4}$ | $8.44 \times 10^{-6}$ | 2.13 | 0.43 | | |
| 리간드 | 칼 | $k_a$ (1/Ms) | SE($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SE($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD (KD) | $Chi^2$ | 부록 II |
| VH3/VK2 | A11/1 | $2.62 \times 10^5$ | $3.20 \times 10^3$ | $5.46 \times 10^{-4}$ | $2.20 \times 10^{-7}$ | 2.08 | | 0.45 | A19-20 |
| VH3/VK2 | A11/2 | $2.90 \times 10^5$ | $3.70 \times 10^3$ | $4.85 \times 10^{-4}$ | $2.20 \times 10^{-7}$ | 1.67 | | 0.71 | A21-22 |
| | | $k_a$ (1/Ms) | SD($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SD($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD($K_D$) (nM) | | |
| 평균 | | $2.76 \times 10^5$ | $1.99 \times 10^4$ | $5.15 \times 10^{-4}$ | $4.28 \times 10^{-6}$ | 1.88 | 0.29 | | |
| 리간드 | 칼 | $k_a$ (1/Ms) | SE($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SE($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD (KD) | $Chi^2$ | 부록 II |
| VH3/VK3 | A11/1 | $2.54 \times 10^5$ | $3.10 \times 10^3$ | $5.59 \times 10^{-4}$ | $2.00 \times 10^{-7}$ | 2.20 | | 0.80 | A23-24 |
| VH3/VK3 | A11/2 | $2.76 \times 10^5$ | $3.80 \times 10^3$ | $4.54 \times 10^{-4}$ | $2.20 \times 10^{-7}$ | 1.65 | | 0.80 | A25-26 |
| | | $k_a$ (1/Ms) | SD($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SD($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD($K_D$) (nM) | | |
| 평균 | | $2.65 \times 10^5$ | $1.56 \times 10^4$ | $5.07 \times 10^{-4}$ | $7.40 \times 10^{-6}$ | 1.92 | 0.39 | | |
| 리간드 | 칼 | $k_a$ (1/Ms) | SE($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SE($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD (KD) | $Chi^2$ | 부록 II |
| 키메라 | A11/1 | $7.18 \times 10^5$ | $1.80 \times 10^4$ | $1.60 \times 10^{-3}$ | $2.40 \times 10^{-6}$ | 2.23 | | 1.17 | A27-29 |
| 키메라 | A11/2 | $7.22 \times 10^5$ | $3.00 \times 10^3$ | $1.30 \times 10^{-3}$ | $3.50 \times 10^{-6}$ | 1.79 | | 0.97 | A30-31 |
| 키메라 | A11/3 | $7.23 \times 10^5$ | $2.60 \times 10^3$ | $1.40 \times 10^{-3}$ | $3.30 \times 10^{-6}$ | 1.94 | | 0.49 | A32-33 |
| | | $k_a$ (1/Ms) | SD($k_a$) | $k_d$ (1/s) | SD($k_d$) | $K_D$ (nM) | SD($K_D$) (nM) | | |
| 평균 | | $7.21 \times 10^5$ | $2.87 \times 10^3$ | $1.43 \times 10^{-3}$ | $1.54 \times 10^{-6}$ | 1.99 | 0.22 | | |

[0113] $Chi^2$ 값은 결합 및 해리 데이터가 제안된 1 대 1 결합 모델과 얼마나 잘 핏팅되는가를 보여준다 - 그 값이 낮을수록 더 잘 핏팅된다. 속도 상수에 대한 연관된 SE 값은 데이터를 기재된 모델과 핏팅시키는 것과 연관된 불확실성을 나타내고, 반응속도 참값에 대한 전체 불확실성을 나타내지 않는다. 평균 반응 데이터는 평균 반응속도 값 및 2회 또는 3회의 독립적 분석으로부터의 연관된 SD를 나타낸다.

[0114] 표 F-2로부터의 평균 $K_D$ 값을 사용하여, 항체를 친화성에 기초하여 다음과 같이 등급화할 수 있다: VH3/VK2 > VH3/VK3 > 키메라 > VH2/VK3 > VH1/VK3 > VH1/VK2 > VH2/VK2. 평균 반응속도 매개변수와 연관된 %CV는 10 내지 20%의 범위였으며, 따라서 모든 항체는 매우 유사한 친화성을 갖고 차이는 순전히 검정 변동의 결과이다. 일반적으로, 항체들 간의 결합 차이는 검정 변동에 기여할 수 있고, 키메라 항체와 비교해 인간화 항체들의 $K_D$ 값의 유의차는 없는 것으로 사료된다.

[0115] 항체와 타우-412 간의 상호작용에 대해 비아코어 T200에서 단백질 A 포획 검정을 사용하여 측정한 반응속도 값들의 비교가 도시되어 있다. 키메라 항체는, 인간화 항체와 비교해 친화성은 유사하지만, 유의하게 상이한 결합

프로파일을 나타내는 것으로 보인다. $K_d$ 대 $K_a$ 플롯은, 비아코어 T200에서 단백질 A 포획 검정을 사용하여 측정한, 시험된 항체와 타우-412 상호작용의 상대적 반응속도 값을 나타낸다. 파선 사선은 등가-친화성(isoaffinity) 선을 나타낸다. 플롯상에서의 인간화 항체의 명확성을 개선시키기 위해 축은 상이한 데이터 범위를 나타냄을 주지하라.

[0116] 도 5는 인간 타우에 대한 6종의 최상 발현 인간화 작제물의 결합 반응속도를 측정하는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 분석의 결과를 요약한 것이다. 시험 항체를 SPR상에 고정시키고, 이어서 상이한 농도의 인간 타우가 상기 칩 위에서 유동하도록 하였다. 측정된 결합 사건에 기초하여, 결합율 및 해리율뿐만 아니라 친화성을 각각의 변이체에 대해 계산한다. 또한, 키메라 변이체를 시험하였다.

[0117] 실시예 3

[0118] 도 6은 샌드위치식 ELISA에서 가용성 인간 타우에의 4종의 인간화 항체의 결합을 도시한다. 능동 흡착에 의존하는 검정 방법은 인위적 결합 결과를 생성할 가능성이 있다. 이러한 가능성을 극복하기 위해, 인간화 항체 변이체의 결합 활성을 측정하는 용액 기반 방법을 사용하였다. 이러한 검정 포맷에서, 항원(인간 타우)은 HJ8.5과 상이한 에피토프를 인식하는 모노클로날 항-인간 타우 항체에 의해 포획된다. 포획된 인간 타우에의 후속적 인간화 항-타우 항체의 결합은 항원 농도에 의존하는 반면에, IgG4 이소타입 대조군은 결합을 전혀 나타내지 않는다. 이러한 검정은 인간 타우에의 상기 인간화 항-타우 항체 결합이 특이적이고 상기 항체가 가용성 인간 타우에 결합함을 입증한다.

[0119] 실시예 4

[0120] 도 7a 내지 7h는 야생형 마우스(음성 대조군 조직), P301S 마우스(P301S 돌연변이를 갖는 인간 타우를 발현하고 연령 연관된 타우 병리상태가 발생함) 및 알츠하이머병 또는 진행성 핵상 마비(PSP)를 앓는 인간으로부터의 조직에의 인간화 항체 및 대조 항체의 결합을 도시한다. 본 연구의 목적은 인간화 항체가 HJ8.5의 키메라 형태와 비교해 조직에서 응집된 타우에 결합하는 능력을 보유하는가를 확인하는 것이었다. 상기 도면들은 인간화 HJ8.5 항체의 상이한 변이체들로 염색된 인간 및 마우스 뇌의 대표적 영상들을 도시한다. 4개월령 및 9개월령의 P301S 마우스를 시험하였고, 두 시점 모두는 병리학적 타우 응집체를 나타내고, 9개월령 마우스는 4개월령 마우스보다 많은 타우 병리상태를 나타낸다. 인간 염색의 경우, PSP를 앓는 1명의 대상체로부터의 뇌 조직 샘플 및 AD를 앓는 1명의 대상체로부터의 뇌 조직 샘플을 검사하였다. 도 7a는 마우스 및 인간 AD 조직에 대한 키메라 HJ8.5로의 염색을 예시한다. 도 7b는 음성 대조군 항체(비-특이적 인간 IgG4)로의 염색을 예시한다. 도 7c 내지 7h는 6종의 인간화 항체로의 염색을 예시한다. 뮤린 HJ8.5 항체의 모든 인간화 변이체는 P301S 마우스 뇌에서 발견되는 타우 응집체뿐만 아니라 AD 또는 PSP로 진단된 대상체의 뇌 조직에서 발견되는 타우 응집체에도 결합한다.

[0121] 실시예 5

[0122] 도 8은 인간 타우 내의 HJ8.5의 에피토프를 도시한다. 상기 에피토프는 효모 디스플레이를 사용하여 맵핑하였다. 이러한 방법을 위해, 인간 타우의 서열을 포함하는 다양한 펩타이드를 효모를 사용하여 발현시켰다. 배양물 중에서 효모에의 HJ8.5 항체의 결합을 면역형광으로 측정하였다. 처음 34개 아미노산을 포함한 타우의 변이체를 발현하는 효모에의 결합이 관찰되었지만, 효모가 타우의 처음 32개 아미노산만을 발현한 경우에는 결합이 없었다. 이는 에피토프가 처음 34개 아미노산 내에 있음을 시사한다. 추가로, 펩타이드가 아미노산 27번 내지 135번을 포함할 경우에는 HJ8.5가 결합하지만, 펩타이드가 아미노산 30번 내지 135번에 걸쳐있을 경우에는 HJ8.5가 결합하지 않는다. 이는 에피토프가 아미노산 27 보다 큰 아미노산을 포함함을 시사한다. 이러한 데이터에 기초할 때, 에피토프는 인간 타우의 서열의 27번 내지 34번 아미노산(GYTMHQDQ) (서열번호 10)에 함유되어 있다. 도 8은 또한 레수스 원숭이 및 마우스 타우 서열을 도시하며 인간 타우로부터의 아미노산 변화를 적색으로 강조하고 있다.

[0123] 도 9는 HJ8.5 및 $C_2N$-8E12의 펩타이드-기반 에피토프 맵핑을 보다 상세히 도시한다. 인간 타우의 전체 서열(IN4R, 412개 아미노산)에 걸쳐있는 선형 15량체의 펩타이드 라이브러리를 생성시켰다. 추가로, 아미노산 10번 및 11번이 알라닌으로 교환된 이들 펩타이드의 이중 알라닌 버젼을 또한 생산하였다. 이중 알라닌 라이브러리의 경우, 10번 또는 11번 위치에 있는 임의의 천연 발생 알라닌이 글리신으로 돌연변이되었다. 모든 펩타이드를 펩타이드 어레이상으로 스포팅한 다음, HJ8.5 또는 C2N-8E12으로 프로빙하고, 결합을 측정하였다. 두 항체 모두의 타우 결합 에피토프(들)를 이들 펩타이드 어레이를 사용하여 신뢰할 수 있게 맵핑하였다. $C_2N$-8E12의 결합 에피토프는 $_{25}$DQGGYT$_{30}$이고(서열번호 9) 뮤린 모체, HJ8.5의 에피토프와 매치된다. 타우 펩타이드에의 HJ8.5 및 $C_2N$-

8E12의 결합은 상기 에피토프의 아미노산 D, Q, Y 또는 T가 알라닌으로 대체되었을 때는 심각하게 저하되며, 이는 상기 아미노산들이 항체 결합에서 결정적 역할을 함을 시사한다. 그러나, 에피토프 내의 중심의 2개 글리신이 알라닌으로 대체되었을 때, 타우 펩타이드에의 항체 결합은 심각하게 저하되지 않았다(PEP 2875811). 이것은, 이들 아미노산이 결합에 중요한 것이 아니란 암시라기보다는 알라닌과 글리신 아미노산들 간 치환의 보존적 성질 때문일 가능성이 있다. 이러한 보다 상세한 방법들을 사용하여 맵핑된 에피토프는 효모 디스플레이를 사용하여 맵핑된 것과 다소 상이하다(도 8). 보다 큰 펩타이드가 효모 디스플레이 시스템에서 사용되었으므로, 이러한 차이는 결합 검정의 차이에 기인하며, 15량체 펩타이드 어레이 방법이 효모 디스플레이 방법보다 우수한 것으로 간주된다.

[0124] 실시예 6

[0125] 도 10은 상이한 인간 타우 항체가 인간 또는 레수스 원숭이 타우에 결합한 결과를 예시한다. 인간화 변이체 VH1/VK2($C_2$N-8E12로서도 언급됨)와 함께 뮤린 항-인간 타우 항체 HJ8.5 및 HJ8.7을 시험하였다. 도 8은 청구된 결합 에피토프 서열GYTM(H/L)QDQ (서열번호 57)내에서 인간과 레수스 타우 간에 32번 위치에서의 단일 아미노산 차이가 있음을 도시한다. 도 8은 청구된 결합 에피토프 서열 DQ(G/E)GYT (서열번호 58) 내에서, 인간과 레수스 타우 간에 27번 위치에서의 단일 아미노산 차이가 있음을 도시한다. 타우의 두 종들 간의 이러한 아미노산 차이가 항체 HJ8.5/$C_2$N-8E12가 결합하는 능력에 영향을 미치는가를 측정하기 위해, 다음 실험을 수행하였다. 96웰 ELISA 플레이트를 다양한 농도로 인간 또는 레수스 타우로 코팅하여 인간 및 레수스 타우에의 $C_2$N-8E12, HJ8.5($C_2$N-8E12의 뮤린 전구체) 및 HJ8.7(인간 및 레수스 아미노산 서열이 100% 보존되어 있는 타우의 에피토프에 결합하는 뮤린 항-인간 타우 항체)의 결합을 측정하였다. 본 발명자들의 결과는 $C_2$N-8E12 및 HJ8.5가 레수스 타우에 결합하지 않았으나 인간 타우에의 양성 결합을 나타냄을 입증하였다. 예상한 대로, HJ8.7는 인간 타우와 레수스 타우 둘 다에 결합한다.

[0126] 실시예 7

[0127] 도 11은 다양한 타우병증을 앓는 인간 대상체로부터의 CSF 중에서 타우에의 인간화 항-타우 항체의 결합을 도시한다. 각종 타우병증으로 진단된 대상체뿐만 아니라 연령 매치된 청년 대조군 대상체로부터의 CSF 샘플 중에서 타우에의 $C_2$N-8E12의 결합을 평가하였다. AD, CBD, FTD 또는 PSP를 앓는 대상체뿐만 아니라 연령 매치된 청년 대조군로부터의 인간 CSF 중에서 타우에의 $C_2$N-8E12 결합을 입증하기 위해 샌드위치 ELISA를 사용하였다. $C_2$N-8E12를 코팅 항체로서 사용하여 CSF 샘플에서 타우를 포획하였다. 바이오틴화된 뮤린 모노클로날 타우 항체 HJ8.7를 검출 항체로서 사용하였다. 대조군 인간 IgG4로 코팅된 웰은 실험 동안 음성 대조군으로서 작용하였다. $C_2$N-8E12 코팅된 웰로부터의 시그널과 대조군 IgG4 코팅된 웰로부터의 시그널 간의 큰 차이가 관찰되었으며, 이는 인간 CSF 샘플 중에서 타우에의 $C_2$N-8E12의 특이적 결합을 입증한다. 표준 곡선(재조합 타우)을 포함시킴으로써, 이들 CSF 샘플 중의 타우 농도에 관한 정량적 정보를 얻을 수 있다.

[0128] 실시예 8

[0129] 본 연구는 열개(10) 이하의 센터에서 수행된 무작위적, 이중 맹검, 위약 대조된 단일상승용량(SAD) 1기 연구이다. 본 연구는 $C_2$N-8E12의 단일-용량 투여의 안정성, 내약성, 면역원성 및 PK를 평가하고 추후의 반복 투약 연구에서 사용될 MTD를 확립하도록 디자인된다.

[0130] 본 연구의 1차 목적은 PSP를 앓는 대상체에서 $C_2$N-8E12의 단일 용량의 안정성, 내약성, 면역원성 및 최대 허용 용량(maximally tolerated dose)(MTD)을 측정하는 것이다. 안정성 평가는 신체 및 신경학적 검사, 임상 안정성 실험실 연구, 면역원성, 이상사례, 활력징후 및 병용 의약 검토를 포함할 것이다.

[0131] 2차 목적은 단일 주입 후 최대 혈장 농도; 단일 주입 후 곡선하 면적(AUC);주입후 최대 농도가 달성되는 시각; $C_2$N-8E12의 최종 반감기; $C_2$N-8E12의 뇌척수액(CSF)으로의 분배; 및 혈액 및 CSF 중 가용성 타우 수준의 측정을 통한 생물학적 표적 교전(target engagement)을 포함하는 단일-용량 전신 약동학을 측정하는 것 뿐만 아니라 $C_2$N-8E12-타우 복합체의 존재를 평가하는 것이다.

[0132] 본 연구에는 PSP를 갖는 32명의 대상체(치료군에 24명 및 위약군에 8명)를 등재시키고자 한다. 대상체들은 4명 환자의 8개 무리로 등재될 것이며, 각 무리 내 1명의 환자는 위약으로 무작위 배정되고 3명은 MTD의 현재 추정

치로 무작위 배정된다. DLT가 발생할 경우 추가의 대상체들이 등재될 수 있다. 그러나, 용량 상승 과정 동안에 투약은 생략될 수 없다.

[0133] 용량 상승을 위한 연속 재평가 방법(CRM)은 통계학적 디자인 부분에서 설명된 바와 같이 사용될 것이다. 용량당 DLT 확률을 동정하기 위해 로지스틱 모델이 사용될 것이다.

[0134] $C_2N$-8EI2는 20mg/mL의 공칭 농도에서 1회용 병 내의 냉동된 액체로서 임상 현장으로 운반될 것이다. 각 병은 300mg의 $C_2N$-8E12를 함유하며 -70℃ 내지 -80℃에서 냉동 저장되어야 한다.

[0135] 포함 기준 및 제외 기준을 충족하는가를 평가하기 위해 환자들은 스크리닝될 것이다. 스크리닝은 또한 혈액과 CSF의 평가 및 MRI를 포함할 것이다. 투약 당일(0일), 단일 용량의 $C_2N$-8E12는 IV 선을 통해 투여될 것이며 임상 시설에서 용량 투여 후 24시간 동안 면밀히 모니터링될 것이다. 이는 안정성 및 PK 평가를 위한 혈액 샘플을 포함한다. 그 다음 3일 동안 뿐만 아니라 주입 후 1주일째 및 2주일째에, 추가의 임상 검사 및 혈액 샘플링이 수행될 것이다. 추가의 안정성 MRI 및 CSF 샘플링은 주입 후 4일 동안 수행될 것이다. 대상체들은 투약 날짜로부터 2개월 이상 동안 매 28일마다(예: 56일째) 추적조사될 것이다. 이후, 매월 평가는 다음 사건들 중 어느 것이라도 조기 발생할 때까지 지속될 것이다: (i) $C_2N$-8E12가 더 이상 혈액 중에서 검출될 수 없다; (ii) 후원자가 본 연구를 종료하기로 결정한다; (iii) 대상체가 본 연구에 참여하는 것을 조기 중단하기로 결심한다.

[0136] 1기 연구의 목적은, 후속적 2기/MAD 연구에서 평가를 위한 권장 용량 범위를 결정하기 위해, 임상 실험실 시험, 신체 및 신경학적 검사 및 이상사례의 발생을 포함하는 안정성 평가로 평가된 바와 같은 MTD의 확립을 포함한다. 대상체들의 무작위적 배정 및 위약군의 포함은 편향을 피하고, 공지의 위험 인자 및 미지의 위험 인자 둘 다가 처리 그룹들 간에 균등하게 분배될 가능성을 증가시킨다.

[0137] 데이터 안정성 모니터링 위원회(data safety monitoring committee)(DSMC)는 안정성 데이터를 지속적으로 검토할 것이다. 안정성 모니터링 위원회는 최소한 2명의 독립적 내과의, 1명의 생물통계학자, PSP에 전문지식을 가진 1명의 내과의 및 후원자로부터의 1명의 무의결권 구성원으로 구성될 것이다. 어떠한 개별 연구 대상체가 SAE를 경험한다면, 그 사건이 DLT의 정의를 충족하는지 및 MTD가 확립되었는가를 결정하기 위해 대상체에 대한 모든 입수가능한 안정성 데이터가 검토될 것이다. MTD가 확립되지 않았고 환자 등재가 지속될 경우, DSMC는 이후에 등재되는 환자의 안정성을 보장하기 위해 임의의 추가 조치 또는 프로토콜 수정이 필요하다는 것을 후원자에게 권고할 것이다. 후원자는 연구의 임의의 수정 또는 예비 종료에 대해 최종 결정을 내릴 것이다.

[0138] 용량 제한 독성은 다음과 같이 정의된다: (i) $C_2N$-8EI2가 사건을 유발하였을 타당한 가능성이 있는, 류마티스학 표준 독성 기준(Rheumatology Common Toxicity Criteria) v2에 따른 임의의 3등급 이상의 AE; (ii) 임상적으로 유의적인 것으로 간주되며 $C_2N$-8E12가 사건을 유발하였을 타당한 가능성이 있는, NCI의 이상사례 표준 용어기준(Common Terminology Criteria for Adverse Events(CTCAE)) v4.0 신경계의 기관계 부류 및 정신의학 장애에서의 임의의 2등급 AE; 또는 (iii) 주입율 및/또는 지지적 관리(supportive care)의 감소로는 즉시 해결되지 않는, $C_2N$-8EI2 주입 동안 또는 주입 완료 후 24시간 이내에 발생하는 임의의 주입-관련 독성(예: 알레르기 반응/과민성).

[0139] 용량 상승: 대상체의 용량 코호트로의 배정은 다음 규칙에 따라서 좌우된다: (1) 4명 환자의 각 무리 내에서, 1명의 환자는 위약군으로 할당될 것이다; (2) 완전 독성 정보가, 보다 고 용량 수준으로 상승시키기 전에 한 용량 수준에서 적어도 3명의 환자를 위해 요구된다; (3) 한 코호트에서 다음 코호트로의 상승의 최대 증분은 1용량 수준이다; 및 (4) 적어도 12명의 대상체(3개 무리)는 MTD 용량 수준에서 투약되어야 한다.

[0140] 각각의 4명 환자 코호트에서, 안정성 평가의 추가 척도를 제공하기 위해, 환자들은 적어도 연이은 대상체 투약 간에 2일의 최소 간격으로 순차적으로 투약받을 것이다.

[0141] 제1 코호트는 $d_1$로 할당될 것이다. 통계 모델은 각 코호트에서 완전 독성 정보가 입수가능해진 후 갱신될 것이다. 규칙에 따라서, 가장 최근의 코호트에서 모든 대상체에 대해 완전한 정보가 입수가능하기 전에 하나의 추가 코호트가 등재될 것이다. 다음 코호트가 등재되고 무작위화되기 전에 불완전 독성 데이터가 3명 이하의 환자에게 허용된다.

[0142] 각각의 후속적 코호트는 상기 정의에 따라서 MTD인 것으로 추산되는 용량으로 배정될 것이다. 느린 증가의 경우에, 모델은, 각 환자가 등재되고 각 후속적 환자가 현재 추산 MTD까지 투약될 때마다 갱신될 수 있다.

[0143] 연구 집단: 본 연구에는 진행성 핵상 마비(PSP)를 앓는 50세 내지 85세의 남성 및 여성 대상체가 등재될 것이다.

[0144] 포함 기준: 연구에 포함되기 위해, 각 대상체는 자발적으로 사전 동의서를 제공해야 한다. 처리 프로토콜의 개시 전, 각 대상체가 처리 프로토콜에 대한 동의서를 제공할 수 있는가가 확인될 것이다. 대상체는 본 연구에 참여하도록 청해질 것이며, 사전 동의서 양식에 서명한 후, 스크리닝 절차가 수행될 것이다. 대상체가 포함 기준에 부합하지 못하거나 제외 기준 중 어느 하나라도 충족할 경우, 대상체는 스크리닝 평가 또는 처리 스케쥴에 등재되지 않을 것이다.

[0145] 각 대상체는 본 연구에 등재되기 위해서 다음 기준들을 충족해야 한다: 남성 또는 여성; 50세 내지 85세의 연령; (d) 핵상 주시 마비 또는 감소된 단속성 운동 속도를 포함하는, NNIPPS 및 AL-108-231 임상 시험용으로 수정된 NINDS-SPSP 가능한 또는 개연성 있는 기준을 충족, (ii) 증상이 나타난지 처음 3년 이내에 보행 불안정 또는 낙상; 스크리닝시 뇌 MRI는 PSP(< 4 미세출혈 및 큰 발작 또는 중증 백질 질환 없음)와 일치한다; PSP 등급화 척도에서 20 내지 50의 스코어; 기준선에서 참여에 대한 사전 동의서를 제공할 수 있음 또는 사전 동의서를 제공할 수 없을 경우, 참여에 동의할 수 있고, 동의서를 제공할 수 있는 인정된 의약정보담당자가 있음; 환자와 함께 동행하여 방문할 수 있고 연구 참여에 동의하는, 주당 적어도 5시간 동안 환자를 관찰하는 연구 파트너가 있음; 기타 동시적 비-생물학적 치료요법이 허용되지만, 투약은 등재 전 적어도 30일 동안 안정해야만 한다; 최소한의 도움(한 팔의 안정화 또는 지팡이/워커의 사용)으로 5걸음 걸을 수 있음; 스크리닝 전 적어도 2개월 동안, 레보도파, 도파민 효능제, 라사갈린, COMT 저해제, 아만타딘, 메만틴 또는 콜린에스테라제 저해제를 포함하는 안정한 파킨슨증용 약물 처치; 4 내지 18개월에 걸쳐서 최대 3회의 요추 천자, 대상체가 1기/SAD 연구 및 2기/MAD 연구 둘 다에 참여할 경우 최대 6회의 요추 천자에 동의함; 대상체로부터 입수된 서명되고 날짜가 기입된 서면 사전 동의서; 프로토콜 명시된 피임 방법(하기 참조)을 사용하는 것에 동의함.

[0146] 다음 기준들 중 어느 것이라도 충족하는 대상체는 본 연구로부터 배제될 것이다: (a) 가능한 알츠하이머병에 대한 기준을 충족하거나 (b) 루이소체를 동반한 파킨슨 치매, 다계통 위축증(MSA) 또는 근위축성 측삭 경화증(ALS)에 대한 조사 기준을 충족하는 것을 포함하여, PSP 이외의 신경계 장애 유형에 대한 기준을 더 잘 충족하는 진행성 신경계 장애의 징후; 스크리닝 5년 이내의 임의의 악성 종양(피부의 비전이성 기저 세포 암종 이외의 것); 조사자의 전문적 판단에 기초한 스크리닝시 임상적으로 유의적인 신장 또는 간 기능장애; 조사자의 전문적 판단에 기초한, 연구 참가 전 30개월 이내에 임상적으로 유의적인 심혈관 사건; 조사자의 전문적 판단에 기초한, 스크리닝 동안의 임상적으로 유의적인 비정상적 혈액학 또는 화학 실험실 시험 결과; 최근 90일 이내에 어떠한 이유로 임의의 사전 모노클로날 항체 치료요법을 받았거나 30일 또는 5 반감기(이중 더 긴 것으로 고려) 이전에 임의의 조사용 제제를 투여 받았음. $C_2N$-8E12의 투여 전에는 이러한 기준들이 적용되지 않고, 따라서 대상체로부터 2기/MAD 연구에 참여하는 자격을 박탈시키지 않는다. 현재 임의의 기타 생물학적 또는 면역조절 치료요법 중에 있음; 증상 발생시부터 5년이 넘는 질환 기간; 스크리닝 MRI 스캔상에서 중간뇌 용적>8,600㎣; 전문 요양 시설 또는 치매 관리 시설에 체류하는 대상체; 검사시, ALS 병리상태(이는 CBS 제시와 함께 C9ORF72 보유자에서 설명되었다) 일치하는 명백한 운동 뉴런 질환 증거; 조사자의 전문적 판단에 기초한, 인지 결핍의 이유가 될 수 있는 임의의 기타 유의적 비관련 신경계 또는 정신의학 장애(예를 들면, 활성 발작 장애, 뇌졸중, 혈관 치매)의 진단; 임상적 판단 및 GDS의 결과에 기초한, 기준선 평가시 치료되지 않은 주요 우울증; 기타 주요 정신의학 질환 병력; 임의의 자살 시도 이력; 조사자의 의견에서 결과 측정의 수집을 불가능하게 할 수 있는, MMSE에 의한 평가에 따른 심각한 인지 손상(<17); 평가 프로토콜에 참여할 수 없음; 일반적으로 위험을 끼칠 수 있거나 연구 데이터의 적절한 해석을 방해할 수 있는 스크리닝시 채취된 혈액 샘플로부터의 유의적인 비정상적 값; 임상적으로 유의적인 세균, 진균 또는 미코박테리아 감염의 현재 또는 최근 병력(스크리닝 전 4주 이내); 스크리닝 MRI 스캔을 허용할 수 없음 또는 임의의 기타 MRI 금지 사유; 와파린과 같은 항-응혈 의약의 사용과 같은, 스크리닝시 요추 천자에 대한 임의의 금지 사유 또는 요추 천자를 허용할 수 없음. 81mg 아스피린 또는 유사한 항응혈제의 1일 투여는, 이러한 투여가 스크리닝 전 30일 동안 안정한 한 허용될 것이다; 조사자의 의견에서 투약 스케쥴 또는 연구 평가를 준수할 수 없거나 준수하지 않을 가능성이 있는 대상체; 스크리닝 3개월 이내에 또 다른 중재적 임상 시험에 참여; 스크리닝 30일 이내에 또 다른 조사용 약물로 처리; 450ms를 초과하는 임의의 기존 QTcF 기간; 대상체가 후원자의 고용인 또는 가족 구성원이거나 조사 현장의 직원 또는 이의 가족 구성원이다.

[0147] 대상체는, 연구 전반에 걸쳐서 그리고 마지막 처리 기간에서 연구 약물의 마지막 투약 후 56일째까지, 기준선 방문시에 시작되는 허용되는 피임 방법을 사용하는 것(및/또는 이들의 파트너를 사용하는 것)에 동의해야 한다.

허용되는 피임 방법은 하기에 기재되어 있다.

[0148] 연구 약물: 1기/SAD 연구는 DP 롯트 # 1018775로부터의 $C_2N$-8E12 - 동정적사용승인계획(Expanded Access) IND 119404에서 현재 사용되고 있는 리서치 셀 뱅크(Research Cell Bank)(RCB) 물질을 사용할 것이다. 이것은 pH 5.5에서 25mM 아세테이트 완충액 중에서 제형화되며 20mg/mL의 농도로 제공된다. 위약: 위약은 활성 연구 약물 없이 $C_2N$-8E12와 동일하게 제형화된다.

[0149] 용량 근거: 최대 권장 출발 용량(MRSD)은 미국 식품의약청(FDA) 산업 지침(Guidance for Industry) "건강한 성인 지원자의 치료제 임상 시험에서 안정한 출발 용량의 추정(Estimating the Safe Starting Dose in the Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers)"을 사용하여 계산하였다. 지침에 따라서, IV로 투여되는 분자량이 100,000달톤을 초과하는 조사용 치료학적 단백질의 경우, MRSD는 체표면적 척도화를 통한 것 대신에 종들 전체에 걸쳐서 정규화하여 추정하여야 한다. 마우스 독성학 연구에서 관찰된 250mg/kg의 무관찰 작용량(No Observed Effect Level)(NOEL)에 기초하여, 10의 표준 안전계수는 용량을 25mg/kg으로 제한한다.

[0150] 1기/SAD 연구의 출발 용량은 IV로 투약되는 2.5mg/kg가 될 것이다. 이러한 출발 용량은 4주 마우스 독성학 연구에 기초하여 최대 허용 출발 용량보다 10배 더 낮고 동정적사용승인계획(Expanded Access) 및 $C_2N$-8E12를 수반한 동정적 사용 인간 처리 프로토콜(임상시험자 자료집(Investigator's Brochure) 참조)로 투여되는 현재 최대 용량(15mg/kg)보다 6배 더 낮다.

[0151] 단일 환자 시험으로부터의 예비 혈장 PK에 기초하여, $C_2N$-8EI2의 2.5mg/kg 용량 투여 후 다양한 시점에서 $C_2N$-8EI2에 의해 결합되는 CSF 중 타우의 비율(%)을 추산할 수 있다. 이러한 계산에 있어, 인간화 항체에 대한 CSF 농도는 혈장 농도의 0.1%이고 CSF 중 타우의 농도는 500pg/mL인 것으로 추정된다. 이러한 추정에 기초하여, 2.5mg/kg의 용량은 첫 달에 걸쳐서, CSF 중 타우의 몰 농도의 3 내지 40배인 $C_2N$-8E12의 농도를 유도할 것이다. $C_2N$8E12의 $K_d$에 기초하여, 2.5mg/kg 용량은 CSF 중 3 내지 26%의 타우가 항체에 의해 결합되도록 유도할 것이다. 지금까지 인간에게 투여된 최고 용량(15mg/kg)으로부터의 PK 데이타에 대해 유사한 모델링을 수행하였고, 28일 기간에 걸친 평균 타우 결합은 약 50%(최대 72% 결합, 최소 40%)인 것으로 추산되었다. 또한, CSF 구획을 통해 접근할 수 없지만 항체가 결합될 수 있는, 뇌에 존재하는 많은 세포외 타우가 있을 가능성이 클 수 있다. 따라서, 뇌에서 유의적인 표적 교전(target engagement)을 유도할 가능성이 있는 용량의 안전성을 평가하기 위해 용량 상승은 25mg/kg까지 진행될 것이다.

[0152] 조사자가 승인하지 않는다면, 처리 동안 연구 대상체는 다음의 것들을 받지 않아야 한다: 임의의 기타 생물학적 면역조절 치료요법; 임의의 기타 조사용 제제; 와파린; CSF 샘플링 전에 일시적 처리 중단이 의학적 위험을 야기할 수 있는 임의의 병태용 항응혈제(81mg 1일 아스프린 이외의 것).

[0153] 사전 동의서: 사전 동의서를 제공한 후, 각 대상체는, 포함 기준이 충족될 수 있는가와 이러한 프로토콜 하에 처리를 받는 것에 대한 금지 사유가 없는가를 재확인하기 위해 스크리닝 평가를 받게 될 것이다. 구체적으로, 각 대상체는 진단을 확인하기 위해 스크리닝시에 임상 및 신경학적 검사로 평가될 것이다. 면담을 통해서 PSP 등급화 척도 및 우울 척도를 이용한 간략한 인지 스크리닝이 이루어질 것이고, 완전한 약물/의약 복용이력이 입수될 것이다. 대상체가 모든 포함 기준을 충족하고 제외 기준이 없다면, 추가의 조사가 수행될 것이다. 스크리닝 방문은 기준선 28일 내지 7일 전/0일째 방문에 이루어진다.

[0154] 약동학적 평가: 샘플은 PK 분석을 위해 하기 표 3에 기재된 다양한 시점에서 수집될 것이다.

*표 3*

[0155]

| 투약 전 | 15분(#) | 3시간 | 6시간 | 12시간 | 24시간 | 48시간 | 168시간 | 336시간 | 28일 | 28일 후 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | (@) |

[0156] (*) 조기 종료가 발생할 경우, 최종 혈액 샘플은 최종 PK 평가를 위해 조기 종료 방문시에 수득될 것이다;

[0157] (#) 주입을 완료한지 15분 이내;

[0158] (@) 28일째 후, PK 샘플은 다음 사건들의 조기 발생 때까지 매 28일마다 채취될 것이다: (i) 연구 종료; (ii)

임의의 검출가능한 $C_2N$-8EI2 혈액 샘플의 부재.

[0159] 이상사례 평가: AE를 모니터링하기 위해 다음의 안전성 평가가 실시될 것이다: 활력징후(혈압, 맥박수/심박수, 체온, 호흡률, SPO2); 인지 평가(정신상태 시험)을 포함하는 완전한 신경학적 검사; 실험실 시험: (1) 혈액학 패널: 전혈구 계수(complete blood count)(CBC)와 함께 차별적인 헤마토크리트 및 헤모글로빈(Hb), 혈소판 계수; (2) 화학 패널: 혈청 전해질, 글루코스, 뇨산, 혈액 요소질소(BUN), 크레아티닌, 총 단백질, 알부민, 빌리루빈(총, 직접적 및 간접적), 알칼리성 포스파타제, 락테이트 데하이드로게나제(LDH), 간 효소(AST, ALT 및 GGT), 철, 콜레스테롤 패널, CPK, 아밀라제 및 리파제; (3) 응혈 패널: 프로트롬빈 시간(PT), INR 및 부분 트롬보플라스틴 시간(PTT); Hb, WBC 및 단백질 계수의 측정을 포함하는 소변검사; ECG - 연속 모니터링 또는 12 유도 ECG; 액체감쇠역전회복(fluid attenuated inversion recovery)(FLAIR)을 포함하는 MRI 뇌 영상화; 세포 계수(WBC 및 RBC), 총 단백질 및 글루코스의 측정을 이용하는 CSF 샘플링.

[0160] 인간 혈장 및 CSF 중에서 $C_2N$-8E12의 측정: 혈장 및 CSF 중에서 $C_2N$-8E12의 농도를 측정하기 위해 샌드위치 ELISA 검정들을 개발하였다. 찰스 리버 래보래토리즈(Charles River Laboratories)가 각종 상이한 매트릭스들에서의 사용에 대한 상기 검정들의 유효성을 검사하였다(표 4 참조).

표 4

[0161]

| CRL 연구# | 연구 표제 |
|---|---|
| 20056682 완료 | 인간 혈장(K2EDTA) 중에서 $C_2N$-8E12 측정에 대한 효소-연계 면역흡착 검정(ELISA) 방법의 유효성 검사 |
| 20057088 진행중 | 인간 뇌척수액 중에서 $C_2N$-8E12 측정에 대한 효소-연계 면역흡착 검정(ELISA) 방법의 유효성 검사 |

[0162] 인간 혈장 중에서 항-$C_2N$-8E12 항체의 측정: 항-약물 항체(ADA) 개발의 평가를 위해 혈액 샘플은 초기 투약 전 및 약물 투약 후 14일째 및 28일째에 수거될 것이다. 최종 측정은 종료시에 이루어질 것이다. 혈장 중에서 $C_2N$-8E12에 대한 항체의 존재(ADA)를 측정하기 위해 ECL 기반 샌드위치 ELISA 검정이 개발되었다. 찰스 리버 래보래토리즈가 인간 혈장 중에서 ADA 반응의 검출에 대한 상기 검정의 유효성을 검사하였다(표 5 참조).

표 5

[0163]

| CRL 연구# | 연구 표제 |
|---|---|
| 20056686 완료 | 인간 혈장(K2EDTA) 중에서 항-$C_2N$-8E12 항체 검출을 위한 정성적 전기적 화학발광(Qualitative Electrochemiluminescent)(ECL) 검정의 유효성 검사 |

[0164] 임상적 및 기능적 평가는 컬럼비아-자살 심각성 등급화 척도(Colombia-Suicide Severity Rating Scale)를 포함한다: 안전성 매개변수로서, 자살 생각에 대한 컬럼비아-자살 심각성 등급화 척도(C-SSRS)가 사용될 것이다(참조: Posner et al. 2011). 노인 우울 척도: C-SSRS와 유사하게, 연구 동안 전반적 기분을 평가하는데 노인 우울 척도(GDS)가 사용될 것이다. 노인 우울 척도(GDS)는 노인들에서 우울증을 동정하기 위해 사용되는 30항목 자기 보고식 평가서이다(참조: Yesavage et al. 1983). PSP 등급화 척도: PSP 등급화 척도(PSPRS)는 포함에 대한 스크리닝시에 사용될 뿐만 아니라 시간에 따른 척도의 변화를 평가하기 위해 기준선 및 연구 종료시에 사용될 것이다(참조: Golbe and Ohman-Strickland 2007). 전반적 임상 인상(Clinical Global Impressions): 변화도의 전반적 임상 인상(CGIc) 및 중증도의 전반적 임상 인상(CGIs) 척도는 증상의 중증도를 평가하기 위해 사용될 것이다. 슈바브 및 잉글랜드 일상생활 활동(Schwab and England Activities of Daily Living): 슈바브 및 잉글랜드 일상생활 활동(SEADL) 척도가 일상 활동을 수행하는 대상체 능력을 평가하기 위한 수단으로서 사용될 것이다(참조: Schwab and England 1969). 전측두엽 치매의 임상치매평가척도 총합(Clinical Dementia Rating Sum of Boxes Frontotemporal Lobe Dementia): 전측두엽 치매의 임상치매평가척도 총합(CDR-SB-FTLD)은 행동, 처신, 인격 및 언어의 평가를 포함하는 CDR-SB 인지 평가 시험의 한 형태이다(참조: Knopman et al. 2008). 간이 정신상태 검사(Mini Mental State Examination): 간이 정신상태 검사(MMSE)는 인지 손상을 측정하는 신뢰할 만한 30-포인트 질문지이다(참조: Folstein, Folstein, and McHugh 1975).

[0165] 뇌척수액: CSF는 요추 천자에 의해 L3-4 요추간으로부터 채취될 것이다. CSF 샘플링이 성공하지 못할 경우, CT/

플루오로 유도하(CT/fluoro guided) 요추 천자가 현지 프로토콜에 따라서 현지 임상 현장 직원의 재량으로 사용될 수 있다. CSF에 대한 안정성 실험은 각 요추 천자/CSF 수거 후에 해당되는 임상 현장에서 현지에서 분석될 것이다. 이러한 측정치들은 세포 계수(WBC 및 RBC), 총 단백질 및 글루코스를 포함한다. 다른 CSF 측정치들(예: $C_2N$-8E12 농도, 표적 교전 및 기타 탐사 바이오마커)은 해당 지정된 실험실에 의해 분석될 것이다.

[0166] 영상화: 대상체는 또한 구조적, FLAIR, 확산강조 및 자화강조 영상화를 이용하는 기준선 MRI 스캔을 받게 될 것이다. 투약-후 영상화 분석은 일정표(Schedule of Events)에 따라서 수행될 것이다.

[0167] 탐색 약물유전체학 분석: 혈액 샘플은 기준선에서 DNA 추출을 위해 수거될 것이다. H1(A-D) 및 H2 보유자 상황을 측정하기 위해 모든 개체들은 연장된 MAPT 하플로타입 서열 분석을 받게 될 것이다. DNA는 샘플로부터 추출될 것이고 DNA는 본 연구용으로 지정된 약물유전체학 핵심부로 운반될 것이다.

[0168] 대상체는 다음 사건들 중 어느 하나라도 조기 발생할 때까지 본 연구에 등재되어 있을 것이다: (i) 대상체들이 연구 참여 및 전체 일정표를 완료함; (ii) 대상체들 또는 조사자가 연구 참여를 중단하기로 결정함; 또는 (iii) 해당 대상체가, 조사자가 본 연구에 더이상 참여하는 것이 불가능하고 후속적 2기/MAD 연구에 적격하지 않다고 판단할 정도의 임의의 DLT 또는 임의의 SAE를 경험함. 추가로, 조사자의 재량으로, 임의의 포함 기준을 충족하지 않거나 연구 동안 하나 이상의 제외 기준을 충족하는 대상체들은 본 연구 참여를 지속할 자격이 없거나 후속적 2기/MAD 연구에 참여할 자격이 없는 것으로 결정될 수 있다.

## 가변 영역 서열

### C2N 이식된 V 영역 서열

**경쇄**

| | CDR1 | CDR2 | CDR3 | |
|---|---|---|---|---|
| MuVL | DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPLEEEDAATYYCHHSWEIPLTFGAGTKLELK | | | (SEQ ID NO:11) |
| VK1 | DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLNIHPLEEEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIK | | | (6) (SEQ ID NO:1) |
| VK2 | DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLNIHPLEPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIK | | | (7) (SEQ ID NO:2) |
| VK3 | DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIK | | | (11) (SEQ ID NO:3) |
| VK4 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIK | | | (12) (SEQ ID NO:4) |

**중쇄**

| | CDR1 | CDR2 | CDR3 | |
|---|---|---|---|---|
| MuVH | EVKVEESGGGLVQPGGSMKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQSPEKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDSGIYYCTNWEDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF (SEQ ID NO:12) | | | |
| VH1 | EVKVVESGGGLVQPGGSMKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDSGIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVF (SEQ ID NO:5) | | | (4) |
| VH2 | EVKVVESGGGLVQPGGSLKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVF (SEQ ID NO:6) | | | (7) |
| VH3 | EVQVVESGGGLVQPGGSLKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNSLRAEDTAIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVF (SEQ ID NO:7) | | | (10) |
| VH4 | EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVF (SEQ ID NO:8) | | | (12) |

**기호 설명:**

Mu: 뮤린 서열을 의미
VH: 인간화 가변 중쇄를 의미
VL: 인간화 가변 경쇄를 의미
CDR: 상보성 결정 영역
AAA: 안티토프(Antitope)에 의해 제안된 골격 변화



등록특허 10-2431596

도면2a

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 중쇄 변이체

**gVH1 이론적 pI/Mw: 6.80 / 48822.90**

EVKVVESGGGLVQPGGSMKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRD
DSKSSVYLQMNNLRAEDSGIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP
APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
(SEQ ID NO:13)

도면2b

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 중쇄 변이체

**gVH2 이론적 pI/Mw: 6.80/48791.87**

EVKVVESGGGLVQPGGSLKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRD
DSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP
APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
(SEQ ID NO:14)

도면2c

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 중쇄 변이체

**gVH3 이론적 pI/Mw: 6.51 /48832.88**

EVQVVESGGGLVQPGGSLKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRD
DSKNSVYLQMNSLRAEDTAIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP
APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
(SEQ ID NO:15)

도면2d

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 중쇄 변이체

**gVH4 이론적 pI/Mw: 6.51 /48860.93**

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYEESVKGRFTISRD
DSKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP
APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
(SEQ ID NO:16)

도면2e

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 경쇄 변이체

**gVL1 이론적 pI/Mw: 6.08 / 24100.81**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDF
TLNIHPLEEEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:17)

도면2f

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 경쇄 변이체

**gVL2 이론적 pI/Mw: 6.33 / 24068.81**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDF
TLNIHPLEPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:18)

도면2g

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 경쇄 변이체

**gVL3 이론적 pI/Mw: 6.57 / 23994.72**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:19)

도면2h

$C_2N$ 중쇄 및 경쇄 변이체의 전체 아미노산 서열

이식된 경쇄 변이체

**gVL4 이론적 pI/Mw: 6.57 / 24012.76**

DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:20)

도면3

인간화 변이체로부터의 일시적 발현 데이터

| 인간화 변이체 | 일시적 발현 라운드 1 (ug/mL) | 일시적 발현 라운드 2 (ug/mL) |
|---|---|---|
| VH1/VK1 | 9.0 | |
| VH1/VK2 | 13.4 | 13.1 |
| VH1/VK3 | 22.2 | 20.2 |
| VH1/VK4 | 12.4 | |
| VH2/VK1 | 6.5 | |
| VH2/VK2 | 11.3 | 6.2 |
| VH2/VK3 | 13.7 | 13.8 |
| VH2/VK4 | 9.3 | |
| VH3/VK1 | 7.3 | |
| VH3/VK2 | 12.0 | 8.1 |
| VH3/VK3 | 15.2 | 15.9 |
| VH3/VK4 | 6.4 | |
| VH4/VK3 | 3.6 | |

도면4

효능 검정

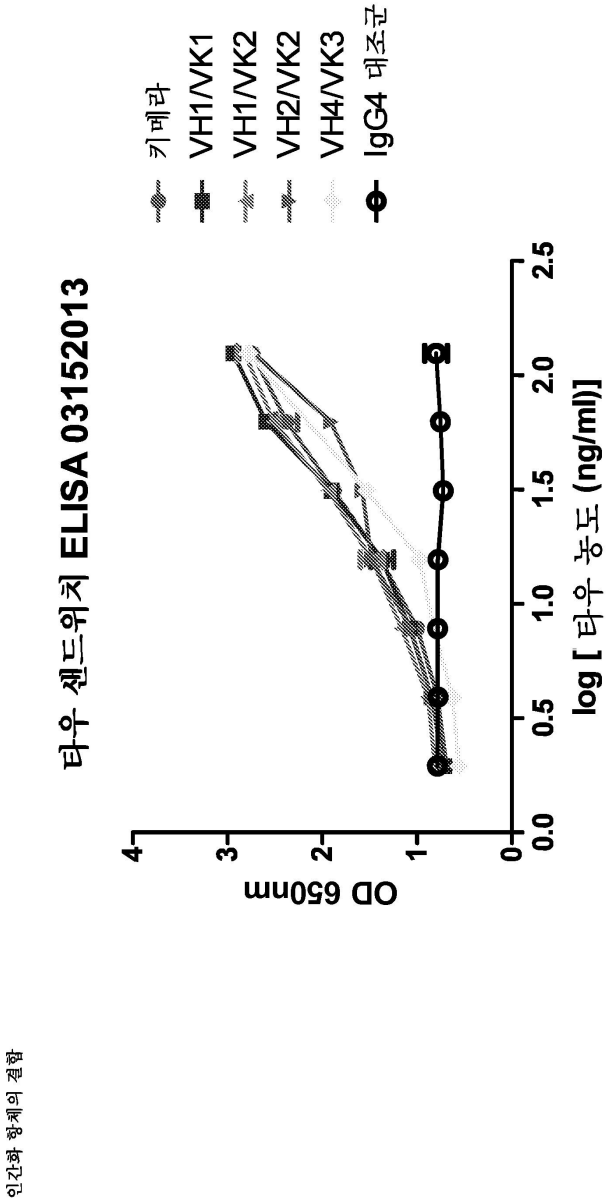
| 항체 | IC50 ( 키메라에 상대적 ) | | |
|---|---|---|---|
| | $C_2N$ 런(run) 1 | $C_2N$ 런(run) 2 | 외부 |
| 키메라 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| VH1/VK1 | 1.49 | 1.11 | 0.84 |
| VH1/VK2 | 1.34 | 0.91 | 0.78 |
| VH1/VK3.1 | 1.58 | 0.92 | 0.79 |
| VH1/VK3.2 | 1.93 | 1.07 | 1.02 |
| VH1/VK4 | 2.05 | 1.02 | 1.41 |
| VH2/VK1 | 1.43 | 1.02 | 1.02 |
| VH2/VK2 | 1.37 | 0.85 | 1.12 |
| VH2/VK3 | 1.17 | 0.97 | 0.94 |
| VH2/VK4 | 1.36 | 1.03 | 1.37 |
| VH3/VK1 | 1.16 | 1.42 | 1.04 |
| VH3/VK2 | 0.81 | 1.28 | 0.94 |
| VH3/VK3 | 0.84 | 1.34 | 0.93 |
| VH3/VK4 | 0.89 | 1.22 | 1.51 |
| VH4/VK3 | 1.79 | 1.9 | 1.31 |
| HJ8.5 | 0.79 | 0.99 | 1.07 |

도면5

인간 타우에 대한 항체 결합 반응속도

| 인간화 변이체 | 결합 상수 $K_a$ (1/Ms) | 해리 상수 $K_d$ (1/s) | 친화성 $K_D$ (M) |
|---|---|---|---|
| 키메라 | 7.21E+05 | 1.43E-03 | 1.99E-09 |
| VH1/VK2 | 3.02E+05 | 6.21E-04 | 2.06E-09 |
| VH1/VK4 | 2.87E+05 | 5.99E-04 | 2.09E-09 |
| VH2/VK3 | 2.73E+05 | 6.08E-04 | 2.23E-09 |
| VH2/VK4 | 2.80E+05 | 5.93E-04 | 2.13E-09 |
| VH3/VK3 | 2.76E+05 | 5.15E-04 | 1.88E-09 |
| VH3/VK4 | 2.65E+05 | 5.07E-04 | 1.92E-09 |

도면6

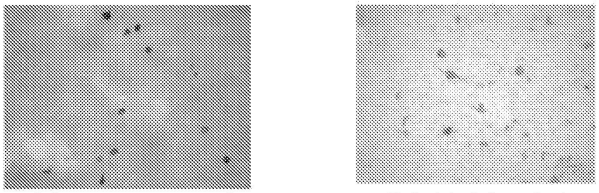



인간화 항체의 결합

도면7a

인간 및 마우스 뇌에서 인간 타우에의 인간화 항체의 결합

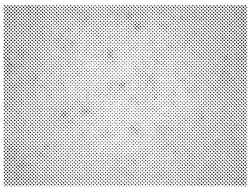



마우스 및 인간 조직에의 키메라(양성 대조군)의 결합

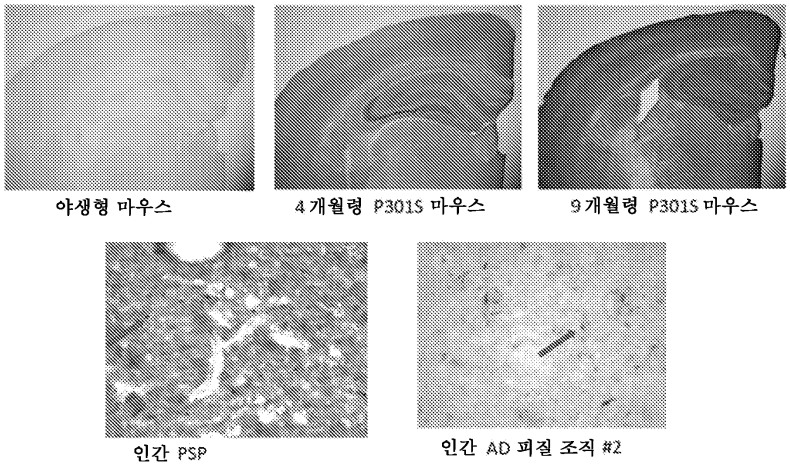
도면7b



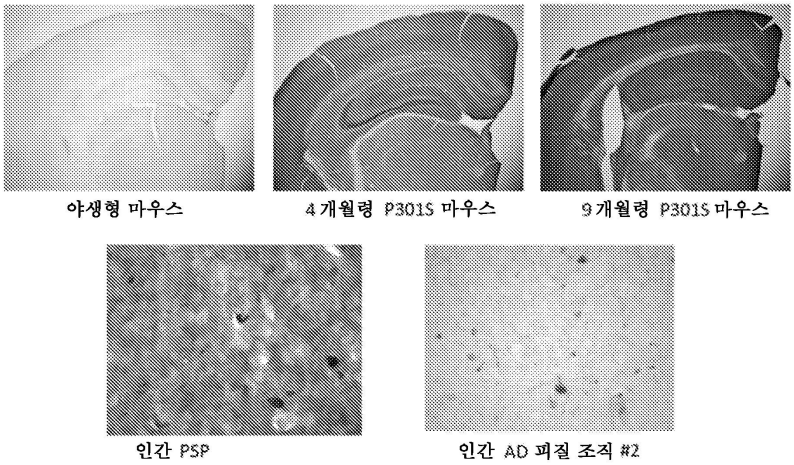

마우스 및 인간 조직에의 비-특이적 인간 IgG4(음성 대조군)의 결합

도면7c



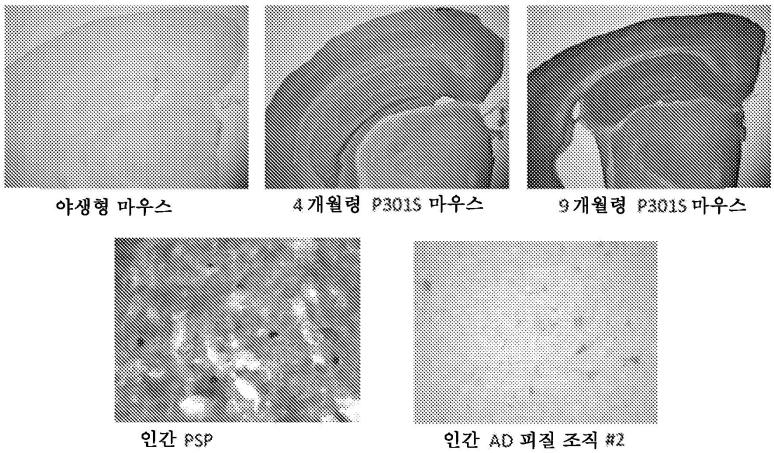

마우스 및 인간 조직에의 VH1/VK2의 결합

도면7d



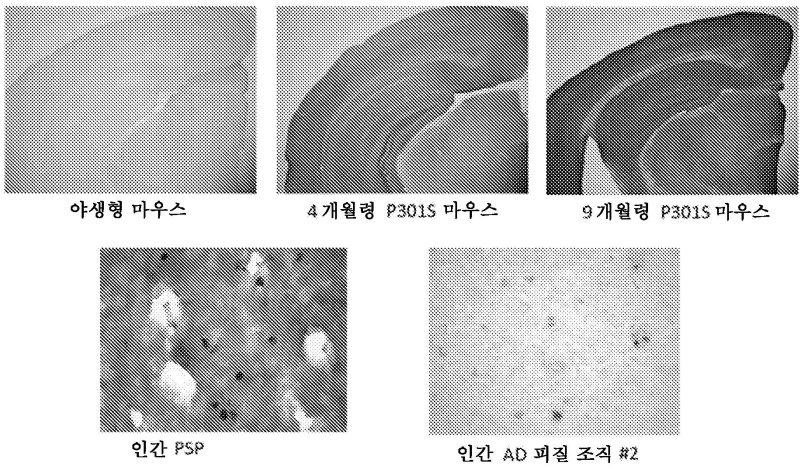

마우스 및 인간 조직에의 VH1/VK3의 결합

도면7e



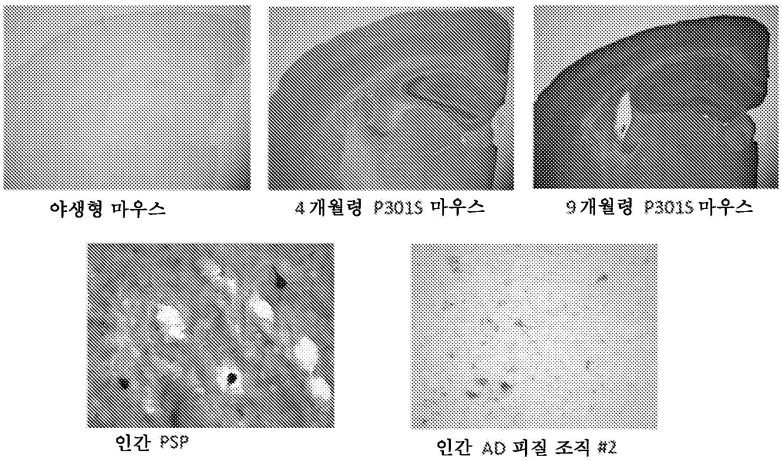

마우스 및 인간 조직에의 VH2/VK2의 결합

도면7f



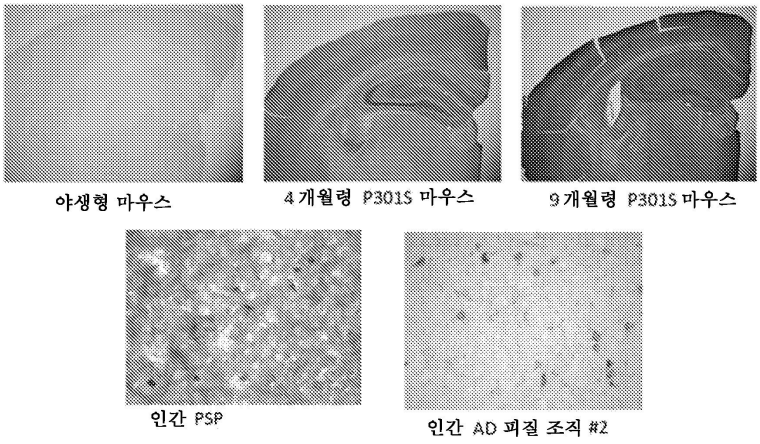

마우스 및 인간 조직에의 VH2/VK3의 결합

도면7g



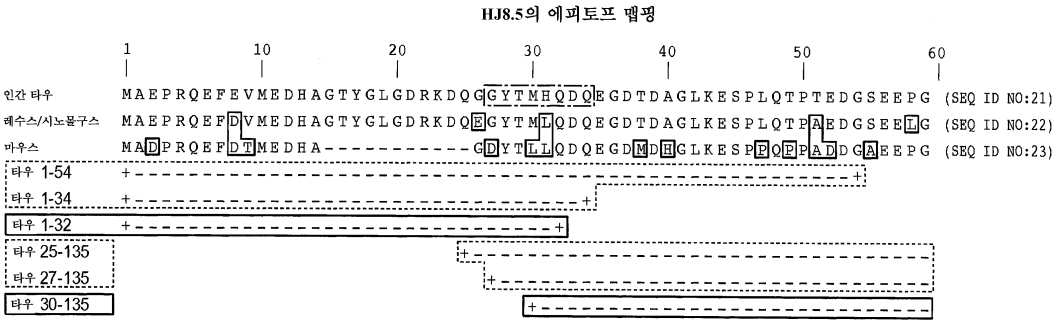

마우스 및 인간 조직에의 VH3/VK2의 결합

도면7h




마우스 및 인간 조직에의 VH3/VK3의 결합

도면8




도면9

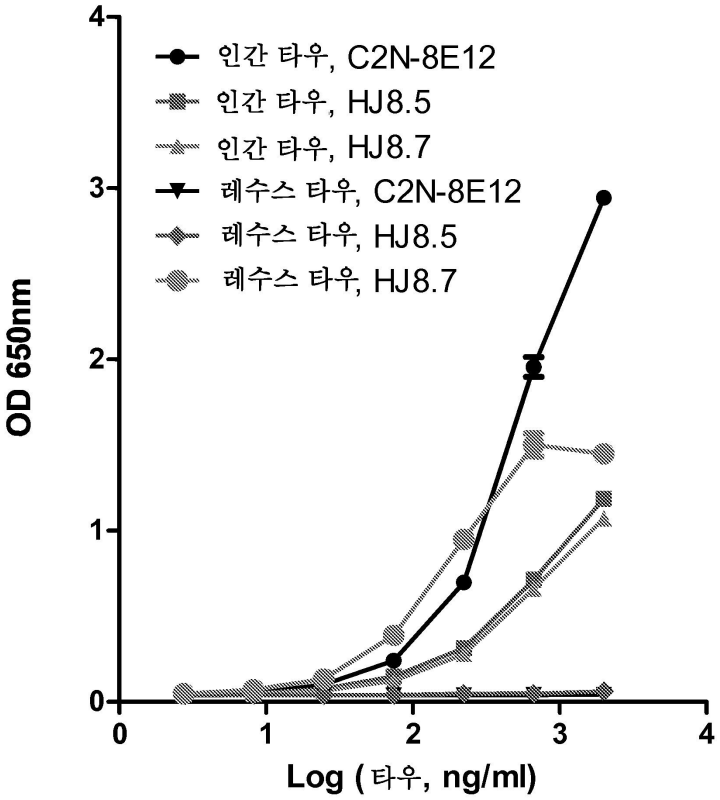
**$C_2N$-8E12 및 HJ8.5의 에피토프 맵핑**

| 항체 | 코어 에피토프 |
|---|---|
| HJ8.5 및 $C_2N$-8E12 | $_{25}$DQGGYT$_{30}$(SEQ ID NO:9) |

| PepLab데이터 | 서열 | 서열 번호 | 라벨 | HJ8.5 (결합 시그널) | $C_2N$-8E12 (결합 시그널) |
|---|---|---|---|---|---|
| PEP_2875800 | DHAGTYGLGDRKDQG | SEQ ID NO:24 | LIN | 61 | 78 |
| PEP_2875801 | DHAGTYGLGAAKDQG | SEQ ID NO:25 | LIN.AA | 52 | 90 |
| PEP_2875802 | HAGTYGLGDRKDQGG | SEQ ID NO:26 | LIN | 63 | 65 |
| PEP_2875803 | HAGTYGLGDAADQGG | SEQ ID NO:27 | LIN.AA | 51 | 65 |
| PEP_2875804 | AGTYGLGDRKDQGGY | SEQ ID NO:28 | LIN | 427 | 1286 |
| PEP_2875805 | AGTYGLGDRAAQGGY | SEQ ID NO:29 | LIN.AA | 58 | 76 |
| PEP_2875806 | GTYGLGDRKDQGGYT | SEQ ID NO:30 | LIN | 2638 | 1714 |
| PEP_2875807 | GTYGLGDRKAAGGYT | SEQ ID NO:31 | LIN.AA | 110 | 114 |
| PEP_2875808 | TYGLGDRKDQGGYTM | SEQ ID NO:32 | LIN | 2640 | 2588 |
| PEP_2875809 | TYGLGDRKDAAGYTM | SEQ ID NO:33 | LIN.AA | 2814 | 2755 |
| PEP_2875810 | YGLGDRKDQGGYTMH | SEQ ID NO:34 | LIN | 2844 | 2671 |
| PEP_2875811 | YGLGDRKDQAAYTMH | SEQ ID NO:35 | LIN.AA | 1780 | 1876 |
| PEP_2875812 | GLGDRKDQGGYTMHQ | SEQ ID NO:36 | LIN | 2824 | 2729 |
| PEP_2875813 | GLGDRKDQGAATMHQ | SEQ ID NO:37 | LIN.AA | 80 | 65 |
| PEP_2875814 | LGDRKDQGGYTMHQD | SEQ ID NO:38 | LIN | 2835 | 2749 |
| PEP_2875815 | LGDRKDQGGAAMHQD | SEQ ID NO:39 | LIN.AA | 69 | 99 |
| PEP_2875816 | GDRKDQGGYTMHQDQ | SEQ ID NO:40 | LIN | 2647 | 2699 |
| PEP_2875817 | GDRKDQGGYAAHQDQ | SEQ ID NO:41 | LIN.AA | 2635 | 661 |
| PEP_2875818 | DRKDQGGYTMHQDQE | SEQ ID NO:42 | LIN | 2692 | 2788 |
| PEP_2875819 | DRKDQGGYTAAQDQE | SEQ ID NO:43 | LIN.AA | 2697 | 2585 |
| PEP_2875820 | RKDQGGYTMHQDQEG | SEQ ID NO:44 | LIN | 2699 | 2779 |
| PEP_2875821 | RKDQGGYTMAADQEG | SEQ ID NO:45 | LIN.AA | 2713 | 2791 |
| PEP_2875822 | KDQGGYTMHQDQEGD | SEQ ID NO:46 | LIN | 2701 | 2680 |
| PEP_2875823 | KDQGGYTMHAAQEGD | SEQ ID NO:47 | LIN.AA | 2707 | 2712 |
| PEP_2875824 | DQGGYTMHQDQEGDT | SEQ ID NO:48 | LIN | 2677 | 2648 |
| PEP_2875825 | DQGGYTMHQAAEGDT | SEQ ID NO:49 | LIN.AA | 2707 | 2585 |
| PEP_2875826 | QGGYTMHQDQEGDTD | SEQ ID NO:50 | LIN | 399 | 789 |
| PEP_2875827 | QGGYTMHQDAAGDTD | SEQ ID NO:51 | LIN.AA | 427 | 636 |
| PEP_2875828 | GGYTMHQDQEGDTDA | SEQ ID NO:52 | LIN | 109 | 110 |
| PEP_2875829 | GGYTMHQDQAADTDA | SEQ ID NO:53 | LIN.AA | 106 | 118 |
| PEP_2875830 | GYTMHQDQEGDTDAG | SEQ ID NO:54 | LIN | 77 | 97 |

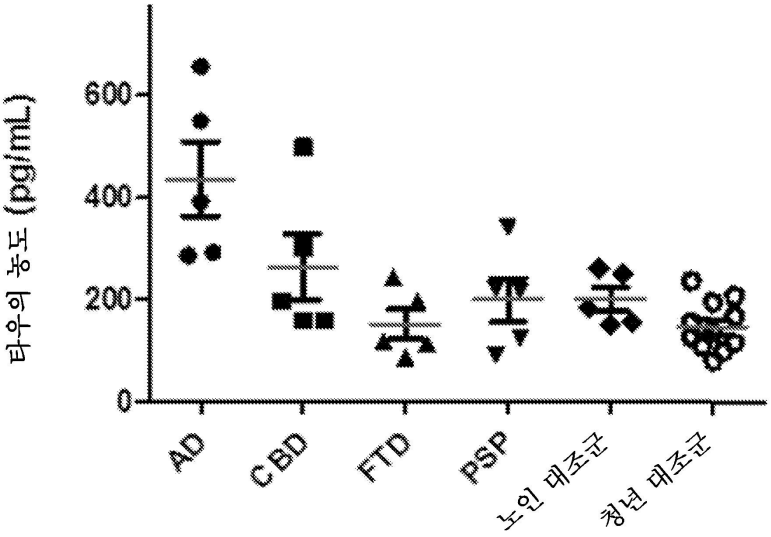
도면10

레수스 원숭이의 타우에의 인간화 항-타우 항체의 결합




도면11

다양한 타우병증을 앓는 인간들로부터의 CSF 중에서
타우에의 인간화 항-타우 항체의 결합




서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> C2N DIAGNOSTICS, LLC

<120> HUMANIZED ANTI-TAU ANTIBODIES

<130> ABV12215WO

<150> PCT/US2015/038002

<151> 2015-06-26

<150> 62/170,036

<151> 2015-06-02

<150> 62/080,903

<151> 2014-11-17

<150> 62/018,436

<151> 2014-06-27

<160> 58

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

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

20 25 30

Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr 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 Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Leu Glu Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp

85 90 95

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

<210> 2

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr 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 Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp
85 90 95

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

<210> 3

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

100 105 110

<210> 4
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 4
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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr 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 His His Ser Trp
85 90 95
Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 5
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 5
Glu Val Lys Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

115 120

<210> 6

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

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

100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120

<210> 7
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 7

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

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

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120

<210> 8
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 8

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 Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

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

115 120

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Asp Gln Gly Gly Tyr Thr

1 5

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln

1 5

<210> 11

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

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

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

<210> 12
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 12

Glu Val Lys Val Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

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

85 90 95
Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr

100 105 110

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

115 120

<210> 13

<211> 442

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Ser Gly Ile Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys

210 215 220
Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
225 230 235 240
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
245 250 255
Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
260 265 270
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

275 280 285
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320
Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu

340 345 350
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400
Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn

405 410 415
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
420 425 430
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440

<210> 14

<211> 442

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Glu Val Lys Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

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

85 90 95
Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190
Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys

210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp

260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu

340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn

405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440

<210> 15

<211> 442

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

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

85 90 95
Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190
Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys

210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp

260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu

340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn

405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440

<210> 16

<211> 442

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

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 Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Glu Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Asn Trp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp

260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu

340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn

405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440

<210> 17

<211> 218

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser

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

85 90 95
Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 18
<211> 218
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

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

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr 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 Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp
85 90 95

Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 19

<211> 218

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

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

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr 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 His His Ser Trp
85 90 95

Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 20

<211> 218

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Arg Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr 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 His His Ser Trp
85 90 95

Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 21

<211> 60

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
1 5 10 15
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His

20 25 30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
35 40 45
Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly
50 55 60

<210> 22

<211> 60

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Asp Val Met Glu Asp His Ala Gly
1 5 10 15
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Glu Gly Tyr Thr Met Leu

20 25 30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
35 40 45
Gln Thr Pro Ala Glu Asp Gly Ser Glu Glu Leu Gly
50 55 60

<210> 23

<211> 49

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 23

Met Ala Asp Pro Arg Gln Glu Phe Asp Thr Met Glu Asp His Ala Gly

1 5 10 15

Asp Tyr Thr Leu Leu Gln Asp Gln Glu Gly Asp Met Asp His Gly Leu

20 25 30

Lys Glu Ser Pro Pro Gln Pro Pro Ala Asp Asp Gly Ala Glu Glu Pro

35 40 45

Gly

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Asp His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly

1 5 10 15

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Asp His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Ala Ala Lys Asp Gln Gly

1 5 10 15

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly

1 5 10 15

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Ala Ala Asp Gln Gly Gly

1 5 10 15

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Ala Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr

1 5 10 15

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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

1 5 10 15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Gly Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr

1 5 10 15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

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

1 5 10 15

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met

1 5 10 15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

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

1 5 10 15

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His

1 5 10 15

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Ala Ala Tyr Thr Met His

1 5 10 15

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln

1 5 10 15

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Ala Ala Thr Met His Gln

1 5 10 15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp

1 5 10 15

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Ala Ala Met His Gln Asp

1 5 10 15

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln

1 5 10 15

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Ala Ala His Gln Asp Gln

1 5 10 15

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu

1 5 10 15

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Ala Ala Gln Asp Gln Glu

1 5 10 15

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu Gly

1 5 10 15

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met Ala Ala Asp Gln Glu Gly

1 5 10 15

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu Gly Asp

1 5 10 15

<210> 47

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Ala Ala Gln Glu Gly Asp

1 5 10 15

<210> 48

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr

1 5 10 15

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Ala Ala Glu Gly Asp Thr

1 5 10 15

<210> 50

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp

1 5 10 15

<210> 51

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Gln Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Ala Ala Gly Asp Thr Asp

1 5 10 15

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala

1 5 10 15

<210> 53

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Gly Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Ala Ala Asp Thr Asp Ala

1 5 10 15

<210> 54

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Gly Tyr Thr Met His Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly

1 5 10 15

<210> 55

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 55

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 56

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(8)

<223> Any amino acid or not present

<220><221> MOD_RES

<222> (15)..(22)

<223> Any amino acid or not present

<400> 56

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> His or Leu

<400> 57

Gly Tyr Thr Met Xaa Gln Asp Gln
1 5

<210> 58

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Gly or Glu

<400> 58

Asp Gln Xaa Gly Tyr Thr
1 5