



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년03월25일
 (11) 등록번호 10-1961508
 (24) 등록일자 2019년03월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/18 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01) *A61P 25/28* (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2014-7014139
 (22) 출원일자(국제) 2012년10월26일
 심사청구일자 2017년04월25일
 (85) 번역문제출일자 2014년05월26일
 (65) 공개번호 10-2014-0100480
 (43) 공개일자 2014년08월14일
 (86) 국제출원번호 PCT/IB2012/002905
 (87) 국제공개번호 WO 2013/061163
 국제공개일자 2013년05월02일
 (30) 우선권주장
 61/553,113 2011년10월28일 미국(US)
 (56) 선행기술조사문헌
 WO2009008529 A1*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
바이오젠 인터내셔널 뉴로사이언스 게엠베하
 스위스 6340 바르 노이호프슈트라쎄 30
유니버시티 오브 취리히
 스위스 체하-8006, 취리히 라미슈트라쎄 71 프
 로레크토라트 포르슈
 (72) 발명자
니치 로거
 스위스 체하-8126 추미콘 랑비슈슈트라쎄 27
호크 크리스토프
 스위스 체하-8703 에를렌바흐 리트슈트라쎄 43
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 22 항

심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 **TDP-43 특이적 결합 분자**

(57) 요약

인간 항체와 같은 폴리펩타이드뿐만 아니라 이의 단편, 유도체 및 변이체를 포함하는 신규한 TDP-43-특이적 결합 분자가 제공된다. 또한 이들 TDP-43 특이적 결합 분자에 관한 방법이 제공된다. 인간 항체와 같은 폴리펩타이드를 포함하는 TDP-43-특이적 결합 분자와 관련된 분석, 키트 및 고체 지지체가 또한 개시된다. TDP-43-특이적 결합 분자, 항체, 면역글로불린쇄(들)뿐만 아니라 이의 결합 단편, 유도체 및 변이체는 각각 TDP-43 표적화된 면역치료 및 진단을 위한 약제학적 및 진단적 조성물에서 사용될 수 있다.

(72) 발명자

바렌코 몬트라시오 마리아 그라치아

스위스 체하-8834 쉐넬레기 포겔네슈트슈트라쎄 7

몬트라시오 파비오

스위스 체하-8834 쉐넬레기 포겔네슈트슈트라쎄 7

그립 얀

스위스 체하-8600 두벤도르프 부르글리슈트라쎄 16

베리스빌 장-뤽

스위스 체하-8037 취리히 로트부흐슈트라쎄 27

웨인랩 폴

미국 01810 매사추세츠주 앤도버 브런드렛 애비뉴 18

쿠마라스와미 자나키

스위스 체하-8004 취리히 안반트슈트라쎄 45

퀸테로-몬존 오마르

미국 02453 매사추세츠주 월섬 워싱턴 애비뉴 76

명세서

청구범위

청구항 1

중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 (VL) 을 포함하는, 항-TAR-DNA-결합 단백질 43kDa(TDP-43) 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편으로서,

VH 는 상보성 결정 영역(complementarity determining region: CDR) H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 을 포함하고, VL 은 상보성 결정 영역(CDR) L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3 을 포함하고, 여기서:

H-CDR1, H-CDR2, 및 H-CDR3 은 각각 서열번호 131, 132, 및 133 에 제시된 아미노산 서열로 이루어지고, L-CDR1, L-CDR2, 및 L-CDR3 은 각각 서열번호 135, 136, 및 137 에 제시된 아미노산 서열로 이루어짐.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

VH 는 서열번호 130 에 제시된 아미노산 서열로 이루어지고, VL 은 서열번호 134 에 제시된 아미노산 서열로 이루어지는,

항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 인간 항체인, 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 키메라 항체인, 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편.

청구항 5

제 1 항에 있어서, TDP-43 결합 단편인, 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편.

청구항 6

제 5 항에 있어서, TDP-43 결합 단편은 단일쇄 Fv 단편 (scFv), F(ab') 단편, F(ab) 단편, 또는 F(ab')₂ 단편인, 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편.

청구항 7

제 1 항의 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 또는 뉴클레오타이드 서열들을 포함하는, 단리된 폴리뉴클레오타이드.

청구항 8

중쇄 가변 도메인 (VH) 을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 및 경쇄 가변 도메인 (VL) 을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 항-TAR-DNA-결합 단백질 43kDa(TDP-43) 항체 또는 이의 TDP-43 결합 단편을 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드로서, 여기서:

뉴클레오타이드 서열은 서열번호 275 에 제시된 핵산 서열로 이루어진 VH 를 암호화하고, 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 276 에 제시된 핵산 서열로 이루어진 VL 을 암호화함.

청구항 9

제 7 항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 단리된 벡터.

청구항 10

제 7 항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 11

하기를 포함하는, 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편을 제조하는 방법:

- (a) 제 10 항에 기재된 숙주 세포를 세포 배양물에서 배양하는 단계; 및
- (b) 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편을 세포 배양물로부터 분리하는 단계.

청구항 12

제 11 항의 방법에 따라 수득한 단리된 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편.

청구항 13

제 1 항 내지 제 6 항 및 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서, 검출가능한 표지로 표지된 것인 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 상기 검출가능한 표지는 효소, 방사성 동위원소, 형광단 및 중금속으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편.

청구항 15

제 1 항 내지 제 6 항 및 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서, 약물에 부착된 것인 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편.

청구항 16

제 1 항 내지 제 6 항 및 제 12 항 중 어느 한 항에 따른 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하고, TDP-43 단백질성 질병을 치료하기 위한 약제학적 조성물로서, 상기 TDP-43 단백질성 질병은 은진화성 입자 질병, 알츠하이머병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 컴플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅틴병, 루이바디병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 컴플렉스 및 피크병으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 약제학적 조성물.

청구항 17

제 1 항 내지 제 6 항 및 제 12 항 중 어느 한 항에 따른 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하고, TDP-43 단백질성 질병을 예방하기 위한 약제학적 조성물로서, 상기 TDP-43 단백질성 질병은 은진화성 입자 질병, 알츠하이머병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 컴플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅틴병, 루이바디병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 컴플렉스 및 피크병으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 약제학적 조성물.

청구항 18

제 16 항에 있어서, 약제학적 조성물은 정맥내 투여를 위해 제형화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 19

제 1 항 내지 제 6 항 및 제 12 항 중 어느 한 항에 따른 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편을 포함하고, TDP-43 단백질성 질병을 진단하기 위한 진단적 조성물로서, 상기 TDP-43 단백질성 질병은 은진화성 입자 질병, 알츠하이머병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 컴플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅틴병, 루이바디병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 컴플렉스 및 피크병으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 진단적 조성물.

청구항 20

제 16 항에 있어서, TDP-43 단백질성 질병은 알츠하이머병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 전측두엽 변성(FTLD), 및 파킨슨병으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 약제학적 조성물.

청구항 21

너에서 TDP-43 침착의 생체내 검출을 위한 진단적 조성물로서, 상기 조성물은 제 1 항 내지 제 6 항 및 제 12 항 중 어느 한 항의 항-TDP-43 항체 또는 이의 TDP-43-결합 단편을 포함하는 것인 진단적 조성물.

청구항 22

제 21 항에 따른 진단적 조성물로서, 생체내 검출은 양전자 방출 단층촬영(positron emission tomography: PET), 단일 광자 방출 단층촬영(single photon emission tomography: SPECT), 근적외선(near infrared: NIR) 광학 영상화 또는 자기 공명 영상화(magnetic resonance imaging: MRI)를 포함하는 것인 진단적 조성물.

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

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 TDP-43을 특이적으로 인식하는 신규한 TDP-43(43 kDa의 TAR DNA-결합 단백질)-특이적 결합 분자, 예컨대 항체(이의 단편, 유도체 및 변이체를 포함함)에 관한 것이다. 추가로, 본 발명은 이러한 항체 및 다른 TDP-43-특이적 결합 분자를 포함하는 약제학적 및 진단적 조성물 및 혈장, 뇌척수액, 뇌, 및 다른 샘플에서 TDP-43을 검출하고 확인하기 위한 그것의 용도뿐만 아니라, 예를 들어 응집과 관련된 장애 또는 TDP-43 발현에서의 다른 이상, 예컨대, 전측두엽 변성 및/또는, 근위축성 측색 경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병 및 다른 TDP-43 단백질성 질병을 치료하기 위한 수동적 면역 전략을 포함하는 치료적 적용에서 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전측두엽 변성(frontotemporal lobar degeneration: FTL)은 65세보다 젊은 개체에 영향을 미치는 치매의 두 번째로 가장 흔한 원인이다; 예를 들어, 문헌[McKhann et al., Arch. Neurol. 58 (2001), 1803; Forman et al., Ann. Neurol. 59 (2006), 952-62] 참조. 세포 병적 수준에 대해, 대다수의 FTLD 뇌에서 특징적 병변은 비정상적 유비퀴틴화 단백질 봉입물이다. FTLD의 가장 흔한 병리학적 형태에서 유비퀴틴화된 봉입물의 생화학적 조성물, 즉, FTLD-U는 TAR-DNA 결합 단백질 43(TDP-43)이 대다수의 산발성 및 가족성 FTLD-U 사례에서 대부분의 질병 단백질로서 확인되었을 때인 2006년까지 알려지지 않고 남아있었다. 후속적으로, 근위축성 측색 경화증(ALS)에 대한 특징인 유비퀴틴화된 촘촘한 봉입물은 또한 TDP-43을 구성하는 것으로 발견되었고, 이에 의해 두 질환 모두 메커니즘이 관련되고 TDP-43 단백질성 질병으로서 분류될 수 있는 질병 범위의 부분이라는 증거를 제공한다, 예를 들어, 문헌[Neumann et al., Science 314 (2006), 130-133] 참조.

[0003] FTLD 및 ALS 이외에, TDP-43은 또한 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 콤플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅턴병, 루이바디병, 운동뉴런병, 전측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도체에서 파킨슨-치매 콤플렉스 및 피크병 등의 신경 세포 및 신경아교세포에서 축적되는 것으로 알려져 있다; 예를 들어, 전문이 본 명세서에 참조로서 포함되는 문헌[Lagier-Tourenne et al., Hum. Mol. Gen. 19 (2010), R46-64] 참조. 이들 질병은 총괄적으로 TDP-43 단백질성 질병으로서 지칭된다. TDP-43의 비정상 축적은 이들 질병의 신경 변성의 원인에서 연루를 암시하는 것으로 나타난 각 질병의 병변 부위에서 관찰된다. "사전 봉입물"로서 지칭되는 환자의 뇌 및 척수에서 TDP-43의 증가된 세포질 국소화는 TDP-43 단백질성 질병에서 조기 사건이 되는 것으로 제안되었고, 이들 질병에서 가능한 병적 역할을 암시한다; 예를 들어, 문헌[Giordana et al., Brain Pathol. 20 (2010), 351-60] 참조. 일관되게, 증상전 단계에서 증가된 세포질 TDP-43 국소화는 야생형 TDP-43을 과발현시키는 마우스에서(예를 들어, 문헌[Wils et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 107 (2010), 3858-63] 참조)뿐만 아니라 아테노바이러스-매개 야생형 TDP-43 발현을 지니는 급성 래트 모델에서(예를 들어, Tatom et al., Mol. Ther. 17 (2009), 607-613 참조) 발견되는 것으로 보고되었다. 상업적으로 입수가능한 단클론성 무린 항체가 TDP-43에 대한 연구에서 및 TDP-43 단백질성 질병의 병적 진단을 수행하는데 주로 사용된다. TDP-43의 포스포릴화된 형태를 인식하는 단클론성 무린 항 TDP-43 항체는 유럽특허 출원 제2 189 526 A1호에 개시되어 있다. 추가적인 항-TDP-43 항체는 문헌[Zhang et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 106(18):7607-12 (2009)] 및 미국특허 공개 제20100136573호에 개시되어 있다.

[0004] 무엇보다도 단클론성 항체를 만드는 것에서의 성공은 무린 골수종 세포주와 항원-자극된 B 세포의 효율적이고 선택적인 융합 다음에 본래 문헌[Köhler and Milstein, Nature 256 (1975), 495-497]에 기재되어 있는 바와 같은 혼성체를 생성하는 안정한 항체의 선택에 있다. 그러나, 인간에서 무린 기반 항체의 치료적 이용성은 그것의 비인간 유래의 결과로서 인간 항-마우스 항체(HAMA) 반응에 의해 방해된다. 인간 또는 인간 유사 단클론성 항체의 제조를 위한 접근은 유전적 유전자조작을 통해 이용가능하게 되었다. 그러나, 이들 방법은 그것이 생리학적인 인간 면역 반응의 과정 동안 인간 면역계에 의해 내인성으로 생성된 항체의 다수의 특징을 나타내는 항체를 생성하는데 적합하지 않다는 문제점을 겪는다. 더 나아가, 이들 유전적으로 유전자조작된 항체는 생리적으로 적절한 본래의 입체구조 및 표적 항원의 정상 생리학적 기능에서 다른 단백질 및/또는 표적 단백질과 원치 않는

교차 반응성을 나타낼 수 있다. 내인성 항체의 전신 투여 시 얻어진 부작용은, 예를 들어 과민증 반응에 대한 원치 않는 자가면역 질병의 범위에 있을 수 있다. 이들 부작용은 소위 "인간화된 항체"에서 보고되었는데, 이는 본래 마우스와 같은 비인간 유기체뿐만 아니라 인간 항체의 레퍼토리를 발현시키도록 유전적으로 유전자 조작된 시험관내 또는 이종 마우스에서의 소위 "완전 인간 항체"로부터 생겨난다. 다른 한편으로, 병리학적으로 적절한 항원에 의한 활성 면역화는 이들 항원에 대해 제어될 수 없는 면역 반응이 생기는 환자의 상당한 위험 및 결과적으로 위험한 자가면역반응을 야기할 수 있는 내인성 항원과 교차반응성을 지닌다.

[0005] 더 나아가, FTLD 및 ALS의 생체마커로서 혈장, 뇌척수액 및 기타 샘플 내 정상 및 병적 TDP-43의 수준을 검출하고 모니터링하는 분석의 개발은 TDP-43 단백질성 질병을 다른 임상적으로 유사한 신경퇴행성 장애, 예컨대 타우병증 또는 관련된 단백질성 질병과 구별하고, 진단하는 능력을 제공할 것이다. 추가로, 살아있는 환자에서 TDP-43 신경병리학의 검출 및/또는 정량화를 가능하게 하는 영상화 리간드의 개발은 진단뿐만 아니라 그것들이 이용 가능하게 될 때 질병 완화 치료에 대해 신경퇴행성 TDP-43 단백질성 질병을 갖는 환자의 반응을 모니터링하는 강력한 도구를 제공할 것이다.

[0006] 따라서, 상기 기재한 제한을 극복하고, 생물학적으로 적절한 TDP-43 입체구조를 특이적으로 인식하는 치료적 및 진단적 항체 및 다른 결합 분자를 제공할 필요가 있다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 TDP-43 (43kDa의 TAR DNA-결합 단백질)-특이적 결합 분자, 예컨대 TDP-43을 특이적으로 인식할 수 있는 항체(항체의 단편, 유도체 및 변이체를 포함)에 관한 것이다. "TDP-43을 특이적으로 인식하는", "TDP-43에/에 대해 특이적인 항체" 및 "항-TDP-43 항체"는 구체적으로, 일반적으로 및 총괄적으로 TDP-43에 대한 항체 또는 미스폴딩되거나 또는 올리고머 또는 응집 또는 번역후 변형된 TDP-43을 의미한다. 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체(항원-결합 항체 단편 및 유도체를 포함)는 전장이거나, 절단되거나 또는 응집된 인간 TDP-43을 특이적으로 인식한다. 추가적인 실시형태에서, 항체는 서열번호 94의 서열을 갖는 전장 인간 TDP-43 또는 잔기 409 및 410에서 인산화된 서열번호 94의 C-말단 서열의 잔기 390 내지 414로 이루어진 펩타이드를 인식한다.

[0008] 일 실시형태에서, TDP-43 특이적 결합 분자는 각각 본 명세서에 기재된 항체, 예컨대(서열번호 1) 및 (서열번호 6), (서열번호 10) 및 (서열번호 14), (서열번호 18) 및 (서열번호 22), (서열번호 26) 및 (서열번호 31), (서열번호 35) 및 (서열번호 40), (서열번호 45) 및 (서열번호 49), (서열번호 53) 및 (서열번호 57), (서열번호 61) 및 (서열번호 65), (서열번호 69) 및 (서열번호 73), (서열번호 77) 및 (서열번호 82), (서열번호 87) 및 (서열번호 122), (서열번호 130) 및 (서열번호 134), (서열번호 138) 및 (서열번호 142), (서열번호 146) 및 (서열번호 150), (서열번호 146) 및 (서열번호 151), (서열번호 155) 및 (서열번호 159), (서열번호 163) 및 (서열번호 167), (서열번호 171) 및 (서열번호 175), (서열번호 179) 및 (서열번호 183), (서열번호 187) 및 (서열번호 191), (서열번호 195) 및 (서열번호 199), (서열번호 203) 및 (서열번호 207), (서열번호 211) 및 (서열번호 215), (서열번호 219) 및 (서열번호 223), (서열번호 227) 및 (서열번호 213), (서열번호 235) 및 (서열번호 239), (서열번호 243) 및 (서열번호 247), (서열번호 251) 및 (서열번호 255), (서열번호 259) 및 (서열번호 263) 또는(서열번호 267) 및 (서열번호 271)에서 제시된 아미노산 서열의 가변 영역 V_H 및/또는 V_L 을 갖는 항체의 면역학적 결합 특징을 갖는 항체(항원 결합 단편 또는 이의 유도체를 포함)이다.

[0009] 본 발명은 또한 본 발명의 항체(TDP-43-결합 항체 단편 및 유도체를 포함) 또는 TDP-43 작용물질(agonist) 및 동족 분자를 포함하는 조성물, 또는 대안적으로, 이의 길항물질(antagonist) 및 TDP-43 단백질성 질병의 예방, 진단 또는 치료에서 이러한 조성물을 사용하는 면역치료 및 면역진단적 방법에 관한 것이되, 조성물의 유효량은 치료가 필요한 환자에게 투여된다.

[0010] TDP-43-결합 분자, 예컨대 항체(TDP-43 결합 항체 단편 또는 변이체를 포함)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 또한 본 발명에 의해 포함된다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 적어도 본 발명의 항체의 면역글로블린 쇄의 가변영역을 암호화한다. 추가적인 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 도 1 및 3에 도시된 바와 같은 V_H 및/또는 V_L 가변 영역의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(complementarity determining region: CDR)을 암호화한다. 추가적인 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 표 3에서 제시되는 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되는 V_H 및/또는 V_L 가변 영역의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 암호화한다. 상기 암호화된 TDP-43 결합 펩타이드의 유도체 또는 유사체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 및 이들 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화되는 폴리펩타이드가 또한 본 발명에 의해 포함된다.

[0011] 본 발명의 TDP-43-결합 분자(예를 들어, 항체)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 벡터 및 이들 벡터에 의해 형질변환된 숙주 세포 및/또는 폴리뉴클레오타이드가 또한 본 발명에 포함되며, TDP-43에 특이적인 항체 및 동등한 결합 분자의 생성을 위한 그것의 용도도 포함된다. 항체 및 다른 결합 폴리펩타이드 및 이의 모방체의 재조합 생성을 위한 수단 및 방법뿐만 아니라 분자, 예를 들어 TDP-43과 결합을 위한 이들 항체 또는 다른 항체 단백질과 경쟁하는 항체를 선별하는 방법이 당업계에 공지되어 있다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 예를 들어 인간에서 치료적 적용에 관한 것, 본 발명의 TDP-43 특이적 결합 항체는 상기 항체의 적용이 키메라 및 심지어 인간화된 항체에 대해 다르게 관찰된 HAMA 반응이 실질적으로 없다는 의미에서 인간 항체이다.

[0012] 일 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43에 특이적으로 결합되는 분자 및 샘플 내 TDP-43의 존재를 검출하기 위한 이들 분자의 용도를 포함한다. 따라서, 본 발명의 TDP-43 결합 분자, 예컨대, 항-TDP-43 항체는, 예를 들어 ELISA-기반 또는 표면 적합 분석을 사용함으로써 샘플 내 TDP-43의 존재에 대해 인간 혈액, CSF 및 소변을 선별하는데 사용될 수 있다. 본 명세서에 개시된 방법 및 조성물은 근위축성 측색 경화증(ALS) 또는 전측두엽 변성(FTLD)과 같은 TDP-43 단백질성 질병을 진단하는데 적용을 가진다. 본 발명의 방법 및 조성물은 또한 증상전 질병을 진단하고, 질병 진행 및 치료적 효능을 모니터링하는데 적용을 가진다. 일부 실시형태에 따르면, TDP-43에 특이적인 항체(예를 들어, 전장 항체 또는 TDP-43 결합 단편 또는 항체의 유도체)는 샘플(예를 들어, 혈액, 뇌척수액, 또는 뇌 조직)과 접촉되어 전측두엽 변성(FTLD) 또는 근위축성 측색 경화증(ALS)을 검출하거나, 진단하거나 또는 모니터링한다. 다른 실시형태에서, TDP-43에 특이적인 항체는 샘플과 접촉되어 알츠하이머병, 파킨슨병 및 루이바디병으로부터 선택된 질병을 검출하거나, 진단하거나 또는 모니터링하고: 다른 실시형태에서, TDP-43에 특이적인 항체는 샘플과 접촉되어: 은친화성 입자 질병, 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 컴플렉스, 피질기저핵 퇴화, 루이소체 치매, 헌팅턴병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 컴플렉스, 피크병 및 마카도-조셉병 또는 치매로부터 선택된 질병을 검출하거나, 진단하거나 또는 모니터링한다.

[0013] 추가적인 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 신경학적 단백질성 질병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법을 제공한다. 실시형태에 따르면, 본 발명의 방법은 TDP-43에 특이적인 항체(예를 들어, 전장 항체 또는 항체의 TDP-43 결합 단편 또는 유도체)의 유효 농도를 피험체에 투여하는 단계를 포함한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 신경학적 단백질성 질병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법을 제공한다. 일부 실시형태에 따르면, TDP-43에 특이적인 항체는 전측두엽 변성(FTLD) 또는 근위축성 측색 경화증(ALS)을 치료하거나 예방하기 위해 투여된다. 다른 실시형태에서, TDP-43에 특이적인 항체는 알츠하이머병, 파킨슨병 및 루이바디병으로부터 선택된 신경퇴행성 질병을 치료하거나 또는 예방하기 위해 투여된다. 다른 실시형태에서, TDP-43에 특이적인 항체는: 은친화성 입자 질병, 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 컴플렉스, 피질기저핵 퇴화, 루이소체 치매, 헌팅턴병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 컴플렉스, 피크병, 및 마카도-조셉병 또는 치매로부터 선택된 질병을 치료하거나 또는 예방하기 위해 투여된다.

[0014] 본 발명의 추가적인 실시형태는 다음의 설명 및 실시예로부터 명확하게 된다.

도면의 간단한 설명

[0015] **도 1A 내지 1K:** 인간 항체 NI-205.3F10(도 1A), NI-205.51C1(도 1B), NI-205.21G2(도 1C), NI-205.8A2(도 1D), NI-205.15F12(도 1E), NI-205.113C4(도 1F), NI-205.25F3(도 1G), NI-205.87E7(도 1H), NI-205.21G1(도 1I), NI-205.68G5(도 1J) 및 NI-205.20A1(도 1K)의 가변 영역, 즉, 중쇄 및 카파/람다 경쇄의 아미노산 서열을 도시한 도면. 프레임워크(framework: FR), 상보성 결정 영역(CDR; 밑줄), 중쇄 결합 영역(joining region: JH) 및 경쇄 결합 영역(JK) 또는 (JL)이 표시된다. 잠재적인 PCR-프라이머 유발 클로닝 인공물을 설명하도록 변형되고, 대응되는 인간 생식 계열 가변 영역 서열에 매칭되도록 변형된 아미노산 위치는 볼드체로 제공된다.

도 2A 내지 도 2J: 아미노산 잔기 2-106(도메인 I(서열번호 117)), 99-204(도메인 II(서열번호 118)), 183-273(도메인 III(서열번호 119)), 258-414(도메인 IV(서열번호 120)) 또는 2-414 (전장(서열번호 121))로 이루어진 TDP-43의 아미노산 말단 His-태그 단편에 대한 인간 TDP-43 항체의 결합을 도시한 도면.

도 3A 내지 도 3R: 가변 영역의 아미노산 서열, 즉, 인간 항체 NI205.41D1(도 3A), NI205.29E11(도 3B), NI205.9E12(도 3C), NI205.98H6(도 3D), NI205.10D3(도 3E), NI205.44B2(도 3F), NI205.38H2(도 3G), NI205.36D5(도 3H), NI205.58E11(도 3I), NI205.14H5(도 3J), NI205.31D2(도 3K), NI205.8F8(도 3L),

NI205.31C11(도 3M), NI205.8C10(도 3N), NI205.10H7(도 3O), NI205.1A9(도 3P), NI205.14W3(도 3Q) 및 NI205.19G5(도 3R)의 중쇄(VH) 및 카파(VK)/람다(VL) 경쇄를 도시한 도면. 상보성 결정 영역(CDR)은 밑줄로 표시한다.

도 4A 내지 도 4H: (A 내지 D) 제조항 전장 TDP-43(●), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*) 추출물(▲) 및 BSA(■) 또는 (E 내지 H) 잔기 409/410에서 인산화 변형을 지니는 TDP-43의 C-말단 도메인의 잔기 390 내지 414를 포괄하는 합성 효소(●) 및 BSA(■)에 대한 직접적 ELISA에 의한 인간 유래 TDP-43 항체의 절반의 최대 유효농도(EC50)의 결정을 도시한 도면.

도 5A 내지 도 5M: 직접적 ELISA에 의해 결정되는 바와 같은 TDP-43의 아미노산 2-106(도메인 I), 99-204(도메인 II), 183-273(도메인 III), 258-414(도메인 IV) 및 2-414(전장)를 포함하는 TDP-43 도메인에 대한 인간 유래 항체의 결합 특이성.

도 6A 내지 도 6Q: 웨스턴 블롯 분석에 의해 결정되는 바와 같은 TDP-43의 아미노산 2-414(전장), 2-106(도메인 I), 99-204(도메인 II), 183-273(도메인 III), 및 258-414(도메인 IV)을 포함하는 TDP-43 도메인에 대한 인간-유래 항체의 결합.

도 7A 내지 도 7C: (A) 전장 TDP-43 및 아미노산 잔기 258-414, 258-384, 258-375, 258-362, 258-353, 258-319, 317-414 및 340-414를 포함하는 TDP-43 단편에 결합되는 NI-205.41D1 항체. (B) 전장 TDP-43, 아미노산 잔기 258-414를 포함하는 TDP-43 단편에, 및 아미노산 잔기 258-414 및 잔기 321에서 A의 G로 치환, 잔기 322에서 M의 G로 치환, 및 잔기 323에서 M의 G로 치환을 포함하는 돌연변이체 TDP-43 폴리펩타이드 단편(TDP-43 258-414 AMM321GGG)에 결합되는 NI-205.41D1 및 12892-1-AP 항체. (C) 아미노산 잔기 316-353, 316-343 및 316-333을 포함하는 TDP-43 단편에 결합되는 NI-205.41D1.

도 8A 내지 도 8C: 온화한 카오트로픽 조건을 사용하는 TDP-43의 모노머 형태의 정제를 도시한 도면. A) 카오트로프 KSCN의 존재 또는 부재에서 정제된 TDP-43 형태의 쿠마씨 염색 SDS-PAGE 겔. 레인 1 내지 4는 각각: 분자량 표준, 6xHis-TDP-43(1-414), 6xHis-SUMO-TDP-43(1-414), 6His-SUMO-TDP-43(220-414), 1.5M KSCN의 존재에서 모두 정제됨, 및 레인 5 및 6: KC1(레인 5) 또는 KSCN(레인 6)의 존재에서 정제된 6xHis-SUMO-TDP-43 (101-265) B) RNA 결합 도메인(RRM1 및 RRM2)뿐만 아니라 태그(6His 및 SUMO)의 위치를 도시하는 정제된 단백질의 도메인 배열, C) 정제된 6His-SUMO 및 6His 태그된 전장 TDP-43에 대해 분석적 초원심분리 침강계수 분포. 침강계수 및 계산된 분자량을 피크 위에 나타낸다.

도 9: a) 40mM HEPES, 0.5 M KC1, 0.4 M 아르기닌, pH 7.4를 함유하는 완충제 중에서 특이적 ((UG)₆) 또는 대조군((UU)₆) RNA에 결합되는 전장 TDP-43, b), c) 및 d): b) K_d를 결정하기 위하여, c) 비카오트로픽 조건 또는 d) 온화한 카오트로픽 조건에서 화학량론적으로 정제된, 20mM HEPES, 80mM 글루탐산칼륨, 4mM 아세트산마그네슘, 5% 글라이세롤, pH 7.5, 2mM DTT를 함유하는 생리적 완충제의 존재에서 TDP-43(101-265)에 의한 RNA 결합을 도시한 도면.

도 10: A) 폴딩된 전장 TDP-43, B) 포획 ELISA 분석에서 잔기 220-414를 포함하는 TDP-43 단편에 대해, 결합된 인간 NI-205.41D1, NI-205.21G1, NI-205.51C1, NI-205.21G2 및 NI-205.3F10 항체에 대한 적정 곡선을 도시한 도면.

도 11: 항체 (A 내지 C) 2E2-D3를 지니는 인간 FTLD-U 해마 조직의 면역조직화학적 염색, (D 내지 F) 대조군 항체 p403/p404, (G 내지 I) 대조군 항체 p409/p410, (J) NI-205.10D3, (K) NI-205.8C10, (L) NI-205.15F12, (M) NI-205.8A2, (N) NI-205.3F10, (O) NI-205.21G2, (P) NI-205.8F8, (Q) NI-205.31C11, (R) NI-205.36D5, (S) NI-205.31D2, (T) NI-205.10H7, (U) NI-205.14H5, (V) NI-205.68G5, (W) NI-205.14W3, (X) NI-205.21G1, 및 (Y) NI-205.41D1. (Z) NI-205.41D1을 지니는 대조군 해마 조직의 면역조직화학적 염색.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 어구 "신경퇴행성 질병"은 뇌, 척수, 또는 다른 신경조직에서 비정상 단백질 축적, 세포 국소화 또는 단백질 폴딩의 존재를 지칭하며, 뉴런의 사멸 또는 기능적 손상에 의해 야기된다. 신경퇴행성 질병의 일부 경우에서, 유전적으로 정의된 이상은 질병의 발생에 기여한다. 신경퇴행성 질병은, 예를 들어 뇌의 퇴행성 질병 (예를 들어, 알츠하이머병, 파킨슨병, 진행성 핵상마비, 및 헌팅턴병) 및 척추 퇴행

[0016]

[0017]

성 질병/운동 뉴런 퇴행성 질병, 예를 들어, 근위축성 측색 경화증 및 척수성 근위축을 포함하며; 예를 들어, 문헌[Formanet *al.* Nat. Med. 10 (2004), 1055-63] 참조.

- [0018] "TDP-43 단백질성 질병"은 신경계 질병, 특히 신경퇴행성 질병에 관한 것이며, 43kDa의 TAR(전사활성화 반응성)-DNA-결합 단백질에 의해 연관된 장애의 이중성 그룹으로서 알려져 있다. TDP-43 단백질성 질병은 TDP-43이 근위축성 측색 경화증(ALS) 은진화성 입자 질병, 알츠하이머병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 콤플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅턴병, 루이바디병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 콤플렉스, 피크병, 마카도-조셉병 등에 대해 운동뉴런병과 함께 및 운동뉴런병 없이 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성(FTLD-U)과 메커니즘이 연관된 질병 단백질이라는 사실을 특징으로 한다; 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참조로서 포함되는 문헌[Lagier-Tourenne *et al.*, Hum. Mol. Gen. 19 (2010), R46-64] 참조.
- [0019] 정상 생리적 조건 하에, TDP-43은 대부분 핵으로 국소화된다. 그러나, 핵의 TDP-43의 실질적인 손실은 비정상적 세포질 TDP-43 봉입물을 함유하는 뉴런에서 관찰된다. TDP-43은 질병-특이적 생화학적 특징; 병리학적으로 변경된 TDP-43을 나타낸다. TDP-43 단백질성 질병은 대부분의 다른 신경퇴행성 장애와 구별되며, 이때 단백질 미스폴딩은 뇌 아밀로이드증을 야기하는데, 병적 TDP-43는 뇌 아밀로이드 침착물의 특징이 없는 뉴런 및 신경교 봉입물을 형성하기 때문이다; 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참조로서 포함되는 문헌[Neumann *et al.*, Arch Neurol. 64 (2007), 1388-1394] 참조.
- [0020] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "병적 TDP-43"는 세포외, 세포질, 신경염 및 핵 봉입물을 지칭하며, 또한 "TDP-43 봉입체"로서 지칭되며, 단백질은 피브릴 유사 무리를 형성한다. 구체적으로, 병적 TDP-43는 과인산화, 유비퀴틴화, 및 N-말단 절단되는 것이 발견되었으며, 이에 의해 대략 45kDa에서 더 높은 분자량뿐만 아니라 고분자량 단백질의 도말 및 대략 25 kDa의 C-말단 단편과 함께 이동하는 TDP-43의 비정상 종을 만들며; 예를 들어, 문헌[Neumann *et al.*, Science 314 (2006), 130-133 및 Arai *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 351 (2006), 602-611] 참조하고, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다. 추가적으로, TDP-43은 침착된 TDP-43의 카복실-말단 영역에서 다수의 인산화 부위를 나타내는 것이 발견되었고, 이는 인산화가 TDP-43의 증가된 올리고머화 및 피브릴화를 야기한다는 것을 시사한다; 예를 들어, 문헌[Hasegawa *et al.*, Annals of Neurology 64 (2008), 60-70] 참조.
- [0021] TDP-43 봉입체 형성은 봉입물-함유 세포에서 정상 확산 핵 TDP-43 염색의 완전한 결여와 함께 TDP-43의 하위세포 분포에서 변화를 수반한다. 영향받은 색 피질 및 백색 피질 물질뿐만 아니라 척수에서 이 병적 신호의 존재 및 정도는 TDP-43-양성 봉입물의 밀도와 거의 대응된다; 예를 들어, 문헌[Neumann *et al.*, J. Neuropath. Exp. Neurol. 66 (2007), 177-183] 참조. FTLD-U에서 유비퀴틴화된 봉입물(UBI)의 조성물은 상대적으로 낮은 존재비, 상이한 FTLD-U 경우에서 UBI의 불균일한 분포 및 그것들의 비아밀로이드 특성을 특징으로 한다. 따라서, TDP-43은 뉴런 세포질 봉입물(neuronal cytoplasmic inclusion: NCI), 이영양성 신경돌기(dystrophic neurite) 및 뉴런 핵내 봉입물(neuronal intranuclear inclusion: NII)을 포함하는, FTLD-U에서 특징적 유비퀴틴-면역반응성 병변을 검출하기 위한 특이적 및 민감한 마커이다.
- [0022] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "TARDBP," "43kDa의 전사활성화 반응성-DNA 결합 단백질", "43kDa의 전사활성 반응성-DNA 결합 단백질", "43kDa의 TAR-DNA 결합 단백질" 및 "TDP-43"은 TDP-43의 천연 형태를 지칭하기 위해 상호호환적으로 사용된다. 용어 "TDP-43"은 또한 TDP-43의 모든 유형 및 형태를 총괄적으로 지칭하기 위해 사용된다. "TDP-43"은 또한, 예를 들어 TDP-43의 인산화된 형태 및 TDP-43의 유비퀴틴-결합 응집물 또는 응집물들을 포함하는 TDP-43의 다른 형태이성질체를 일반적으로 확인하기 위해 사용된다.
- [0023] 인간 TDP-43의 아미노산 서열은 당업계에 공지되어 있으며; 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된 문헌[Strausberg *et al.*, TARDBP protein (Homo sapiens) GenBank Pubmed: AAH71657 version GI:47939520] 참조. 실시형태에 따르면, 천연 인간 TDP-43의 아미노산 서열은:

MSEYIRVTEDENDPEIEIPSEDDGTVLLSTVTAQFPGACGLRYRNPVSQCM
 RGVRLVEGILHAPDAGWGNLVVYVNYPKDNKRKMDETDASSAVKVKR
 AVQKTSDLIVLGLPWKTTEQDLKEYFSTFGEVLMVQVKKDLKTGHSGKF
 GFVRFTEYETQVKVMSQRHMIDGRWCDCKLPNSKQSQDEPLRSRKVFVVG
 RCTEDMTEDELREFFSQYGDVMDVFIKPFRAFVTFADDQIAQSLCGE
 DLIKGISVHISNAEPKHNSNRQLERSGRFGGNPGGFGNQGGFGNSRGGG
 AGLGNNQGSNMGGGMNFGAFSINPAMMAAAQAALQSSWGMMGMLAS
 QQNQSGPSGNNQGNMQREPNQAFGSGNNSYSGNSGAAIGWGSASN
 AGSGSGFNGGFGSSMDSKSSGWGM (서열번호 94)

[0024] 이다.

[0025] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "항체" 또는 "항체들"은 완전, 무결합 항체, 및 Fab, Fab', F(ab)2, 및 다른 항체 단편을 지칭하는 것을 의미한다. 완전, 무결합 항체는 단클론성 항체, 예컨대 무린 단클론성 항체, 다클론성 항체, 키메라 항체, 인간 항체 및 인간화된 항체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 표준 제조법 DNA 기법을 사용하여 다양한 항체 형태가 생성될 수 있다(Winter and Milstein, Nature 349 (1991), 293-99). 예를 들어, "키메라" 항체가 구성될 수 있는데, 이때 동물 항체로부터 항원 결합 도메인은 인간 불변 도메인에 결합된다(항체는 비인간 동물로부터 초기에 유래되며, 이때 제조법 DNA 기법은 중쇄의 힌지 및 불변 영역 및/또는 경쇄의 불변 영역의 모두 또는 부분을 대체하기 위해 사용되었고, 인간 면역글로블린 경쇄 또는 중쇄로부터 대응되는 영역을 지닌다)(예를 들어, 미국특허 제4,816,567호; 문헌[Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 81 (1984), 6851-6855] 참조. 키메라 항체는 인간 임상 치료에서 사용될 때, 동물 항체에 의해 유발되는 면역원성 반응을 감소시킨다.

[0026] 추가로, 제조법 "인간화된" 항체가 합성될 수 있다. 인간화된 항체는 비인간 포유류로부터 초기에 유래된 항체이며, 이때 제조법 DNA 기법은 인간 면역글로블린 경쇄 또는 중쇄의 대응되는 영역으로부터 아미노산과 결합되는 항원을 필요로 하지 않는 일부 또는 모든 아미노산을 치환하는데 사용되었다. 즉, 그것들은 특이적 항원 결합을 초래하는 영역에 삽입된 대부분의 인간 면역글로블린 서열을 포함하는 키메라이다(예를 들어, 국제특허 출원 공개 제WO 94/04679호 참조). 동물은 원하는 항원으로 면역화되며, 대응되는 항체는 분리되고, 특이적 항원 결합을 초래하는 가변 영역 서열의 일부는 제거된다. 그 다음에 동물 유래 항원 결합 영역은 인간 항체 유전자의 적절한 위치 내로 클로닝되며, 이때 항원 결합 영역은 결실되었다. 인간화된 항체는 인간 치료에서 사용을 위한 항체 내 이종성(중간) 서열의 사용을 최소화하고, 원치 않는 면역 반응을 유발할 가능성이 더 적다. 영장류화된 항체는 유사하게 생성될 수 있다.

[0027] 본 발명의 추가적인 실시형태는 인간 항체뿐만 아니라 이들 인간 항체의 용도에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 인간 항체는 인간 B 세포 또는 다른 면역 세포로부터 유래되며, 일반적으로 본 명세서에서 "완전한 인간 항체"로서 지칭된다. 따라서, 본 발명은 이하에 정의되는 바와 같이 별개이면서 독특한 특징을 갖는 항체를 생성하는 불멸 인간 B 기억 림프구 및 B 세포를 각각 포함한다. 대안적으로, 인간 항체는 비인간 동물, 예컨대 하나 이상의 인간 면역글로블린 이식유전자를 은닉하는 유전자이식 동물에서 생성될 수 있다. 이러한 동물은 미국특허 제 5,569,825호에 기재되어 있는 바와 같이 하이브리도마를 생성하기 위한 비장세포에 대한 공급원으로서 사용될 수 있다.

[0028] 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은 단일쇄 Fv 단편, F(ab') 단편, F(ab) 단편, 및 F(ab')₂ 단편일 수 있다. 추가적인 실시형태에서, 항원-결합 단편은 하나 이상의 CDS의 하나 이상의 항체 가변 도메인, 또는 그에 대한 단편 또는 변이체, 예컨대, 하나 이상의 CDR 또는 유도체에 의해 TDP-43을 인식하는 TDP-43-결합 단편이다. 특이적 실시형태에서, 이하의, 항체 또는 이의 단편은 인간 IgG 아이소타입 항체이다. 대안적으로, 항체는 키메라 인간-무린 또는 무린화된 항체이며, 후자는 동물에서 진단적 방법 및 연구에 대해 특히 유용하다.

[0029] 항체 단편, 일가 항체, 및 단일 도메인 항체가 또한 본 발명의 방법 및 조성물에서 사용될 수 있다. 일가 항체는 제2 중쇄의 Fc(또는 줄기) 영역에 결합된 중쇄/경쇄 다이머를 포함한다. "Fab 영역"은 전체적으로 중쇄의 Y 분지 부분을 포함하는 서열에 대해 및 경쇄에 대해 거의 동일하거나 유사하고, 총괄적으로(응집물에서)항체 활성을 나타내는 것으로 보여진 쇄의 해당 부분을 지칭한다. Fab 단백질은 상기 중 어떤 것이 공유적으로 또는 비공유적으로 응집되든 아니든, 응집물이 특정 항원 또는 항원 패밀리와 특이적으로 반응할 수 있다면, 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄(보통 Fab'로서 알려짐)의 응집물뿐만 아니라 항체 Y의 2분지 세그먼트에 대응되는 테트라머(보통 F(ab)2로서 알려짐)를 포함한다.

- [0030] 본 발명의 TDP-43 항체는 TDP-43, TDP-43의 에피토프, 및 TDP-43의 다양한 입체구조에 및 이의 에피토프에 특이적으로 결합된다. 예를 들어, 천연 TDP-43, 전장 및 절단된 TDP-43 및 병적 TDP-43에 특이적으로 결합되는 항체가 본 명세서에 개시된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "특이적으로 결합되는", "선택적으로 결합되는", 또는 "우선적으로 결합되는" 또는 훨씬 더 일반적으로는 "TDP-43에 결합되는" 또는 "TDP-43 결합의" 항체에 대한 언급은 다른 별대의 단백질 이상으로 우선적으로 TDP-43에 결합되는 항체를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, TDP-43 형태이성질체에 "특이적으로 결합되는" 또는 "선택적으로 결합되는" 항체는 적어도 하나의 다른 TDP-43 형태이성질체에 결합되지 않는다. 예를 들어, 전장 TDP-43에 선택적으로 결합되는 항체뿐만 아니라 핵 TDP-43을 거쳐서 세포질 TDP-43에 선택적으로 결합되는 항체가 본 명세서에서 개시된다.
- [0031] 단수 용어 독립체는 해당 독립체의 하나 이상을 지칭한다는 것을 주의하여야 하며; 예를 들어, "항체"는 하나 이상의 항체를 나타내는 것으로 이해된다. 이와 같이, 단수의 용어, "하나 이상" 및 "적어도 하나의"는 본 명세서에서 상호호환적으로 사용될 수 있다.
- [0032] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "폴리펩타이드"는 용어 "폴리펩타이드"와 상호호환적으로 사용되며, 단수의 폴리펩타이드/단백질뿐만 아니라 복수의 폴리펩타이드/단백질을 포함하고, 2 이상의 아미노산의 임의의 쇠 또는 쇠들을 지칭하고, 생성물의 구체적 길이를 지칭하지 않는다. 따라서, 펩타이드, 다이펩타이드, 트라이펩타이드, 올리고펩타이드, "단백질", "아미노산 쇠" 또는 2 이상의 아미노산의 쇠 또는 쇠들을 지칭하기 위해 사용되는 임의의 다른 용어는 "폴리펩타이드"의 정의 내에 포함되며, 용어 "폴리펩타이드"는 이들 용어 중 어떤 것 대신 또는 상호호환적으로 사용된다.
- [0033] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "폴리펩타이드" 및 "단백질"은 또한 글라이코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질 분해성 절단, 또는 비자연적으로 생기는 아미노산 또는 다른 화학적 모이어티에 의한 변형을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 폴리펩타이드의 발현후 변형의 생성물을 지칭한다. 폴리펩타이드는 천연 생물학적 공급원으로부터 유래되거나 또는 제조법 기법에 의해 생성될 수 있지만, 특정 핵산 서열로부터 반드시 번역될 필요는 없다. 본 발명의 폴리펩타이드는 화학적 합성을 포함하는 임의의 방식에서 만들어질 수 있다.
- [0034] 본 발명의 폴리펩타이드는 약 3개 이상, 5개 이상, 10개 이상, 20개 이상, 25개 이상, 50개 이상, 75개 이상, 100개 이상, 200개 이상, 500개 이상, 1,000개 이상, 또는 2,000개 이상의 아미노산의 크기를 가질 수 있다. 폴리펩타이드는 그것이 이러한 구조가 반드시 가지지는 않더라도, 정해진 3차원 구조를 가질 수 있다. 정해진 3차원 구조를 지니는 폴리펩타이드는 본 명세서에서 폴딩으로서 지칭될 수 있으며, 정해진 3차원 구조를 소유하지 않지만, 오히려 다수의 상이한 입체형태를 채택할 수 있는 폴리펩타이드는 본 명세서에서 비폴딩으로서 지칭될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 글라이코단백질은 아미노산 잔기, 예를 들어 세린 잔기 또는 아스파라긴 잔기의 산소-함유 또는 질소-함유 측쇄를 통해 단백질에 부착된 적어도 하나의 탄수화물 모이어티에 결합된 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0035] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "단리된" 폴리펩타이드 또는 이의 단편, 변이체, 또는 유도체는 그것의 천연 환경에 있지 않은 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정 정제 수준은 필요로 되지 않는다. 예를 들어, 단리된 폴리펩타이드는 그것의 천연 또는 자연 환경으로부터 제거될 수 있다. 본 발명의 목적을 위해 단리된 제조법적으로 생성된 폴리펩타이드 및 숙주 세포에서 발현된 단백질이 고려될 수 있는데, 이는 임의의 적합한 기법에 의해 분리되거나, 분획화되거나 또는 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 천연 또는 제조법 폴리펩타이드이기 때문이다.
- [0036] 또한 본 발명의 폴리펩타이드로서 앞서 언급한 폴리펩타이드의 단편, 유도체, 유사체 또는 변이체 및 이들의 임의의 조합물이 포함된다. 본 발명의 항체 또는 TDP-43 결합 폴리펩타이드를 지칭할 때, 용어 "단편," "변이체", "유도체" 및 "유사체"는 대응되는 기준 항체 또는 TDP-43 결합 분자의 항원-결합 특성의 적어도 일부를 보유하는 임의의 폴리펩타이드를 포함한다. 항원 결합 항체 단편과 같은 TDP-43 결합 폴리펩타이드의 단편은 본 명세서에서 논의된 추가적인 항체 단편에 추가적으로 단백질 분해 단편뿐만 아니라 결실 단편을 포함한다. TDP-43 결합 분자의 변이체, 예컨대 항체(항원 결합 항체 단편을 포함) 및 또한 폴리펩타이드는 아미노산 치환, 결실 또는 삽입에 기인하여 아미노산 서열이 변경되었다. 변이체는 자연적으로 또는 비자연적으로 생길 수 있다. 비자연적으로 생기는 변이체는 당업계에 공지된 돌연변이유발 기법을 사용하여 생성될 수 있다. 변이체 폴리펩타이드는 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환, 결실 또는 첨가를 포함할 수 있다. TDP-43 특이적 결합 분자의 유도체, 예를 들어 항체 및 다른 TDP-43 특이적 결합 분자는 기준 폴리펩타이드에서 발견되지 않는 변경되거나 추가적인 특징을 나타내도록 변경된 폴리펩타이드이다. TDP-43 특이적 결합 분자의 유도체의 예는 융합 단백질을

포함한다. 변이체 폴리펩타이드는 또한 본 명세서에서 "폴리펩타이드 유도체"로서 지칭될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, TDP-43 특이적 결합 분자 또는 이의 단편의 "유도체"는 기능적 측기의 반응에 의해 화학적으로 유도체화된 하나 이상의 잔기를 갖는 대상 폴리펩타이드를 지칭한다. 또한 20가지의 표준 아미노산의 하나 이상의 자연적으로 생기는 아미노산 유도체를 함유하는 해당 펩타이드가 "유도체"로서 포함된다. 예를 들어, 일부 실시형태에 따르면, 4-하이드록시프롤린은 프롤린으로 치환될 수 있고; 5-하이드록시리신은 리신으로 치환될 수 있으며; 3-메틸히스티딘은 히스티딘으로 치환될 수 있고; 호모세린은 세린으로 치환될 수 있으며; 또한 오르니틴은 리신으로 치환될 수 있다.

[0037] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 단수의 핵산뿐만 아니라 복수의 핵산을 포함하고, 단리된 핵산 분자 또는 작제물, 예를 들어 전령 RNA(mRNA) 또는 플라스미드 DNA(pDNA)를 포함한다. 폴리뉴클레오타이드는 통상적인 포스포다이에스터 결합 또는 비통상적인 결합(예를 들어, 펩타이드 핵산(PNA)에서 발견되는 것과 같은 아마이드 결합)을 포함할 수 있다.

[0038] 용어 "폴리뉴클레오타이드산"은 또한 폴리뉴클레오타이드에서 존재하는 임의의 하나 이상의 핵산 세그먼트, 예를 들어, DNA 또는 RNA 단편을 지칭할 수 있다. "단리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드는 그것의 천연 환경으로부터 제거된 핵산 분자, 즉, DNA 또는 RNA를 의도한다. 예를 들어, 본 발명의 목적을 위해 단리된 벡터 내 함유된 항체 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 암호화하는 재조합 폴리뉴클레오타이드가 고려된다. 단리된 폴리뉴클레오타이드의 추가적인 예는 이종성 숙주 세포에서 유지된 재조합 폴리뉴클레오타이드 또는 용액 중에서 정제된(부분적으로 또는 실질적으로) 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 단리된 RNA 분자는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체를 포함한다. 본 발명에 따른 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 합성적으로 생성된 이러한 분자를 추가로 포함한다. 추가로, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 조절 구성요소, 예컨대 프로모터, 리보솜 결합 부위, 또는 본 발명의 TDP-43 특이적 결합 폴리펩타이드를 암호화하는 서열과 작동 가능하게(operably) 결합된 전사 종결자이거나 또는 포함할 수 있다.

[0039] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "암호 영역"은 아미노산으로 번역되는 코돈으로 이루어진 핵산의 일부이다. "정지 코돈"(TAG, TGA 또는 TAA)은 아미노산으로 번역되지 않음에도 불구하고, 이는 암호 영역의 부분이 되는 것으로 고려될 수 있지만, 임의의 측정 서열, 예를 들어 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사 종결자, 인트론 등은 암호 영역의 부분이 아니다. 본 발명의 2 이상의 암호 영역은 단일 폴리뉴클레오타이드 작제물에, 예를 들어 단일 벡터 상에, 또는 별개의 폴리뉴클레오타이드 작제물에서, 예를 들어 별개의(상이한) 벡터 상에 존재할 수 있다. 더 나아가, 임의의 벡터는 단일 암호 영역을 함유할 수 있거나, 또는 2 이상의 암호 영역을 포함할 수 있고, 예를 들어 단일 벡터는 번역글로불린 중쇄 가변 영역 및 번역글로불린 경쇄 가변 영역을 별개로 암호화할 수 있다. 추가로, 본 발명의 핵산을 포함하는 벡터는, 예를 들어 항체 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체를 포함하는 TDP-43 결합 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 융합되거나 또는 비융합된 하나 이상의 이종성 암호 영역을 선택적으로 암호화할 수 있다. 이종성 암호 영역은 전문화된 구성요소 또는 모티프, 예컨대 분비 신호 펩타이드 또는 이종성 기능성 도메인을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0040] 특정 실시형태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 DNA이다. 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 암호 영역과 작동 가능하게 결합된 프로모터 및/또는 다른 전사 또는 번역 제어 구성요소를 선택적으로 포함한다. 조작 가능한 결합은 유전자 산물, 예를 들어 폴리펩타이드에 대한 암호 영역이 조절 서열(들)의 영향 또는 제어 하에 유전자 산물의 발현을 두는 방법에서 하나 이상의 조절 서열과 결합될 때 존재한다. 두 DNA 단편(예컨대 폴리펩타이드 암호 영역 및 그와 관련된 프로모터)은, 프로모터 기능의 유도가 원하는 유전자 산물을 암호화하는 mRNA의 전사를 초래한다면, 그리고 두 DNA 단편 간의 결합이 유전자 산물의 발현을 지지하는 발현 조절 서열의 능력을 방해하지 않거나 또는 전사되는 DNA 주형의 능력을 방해하지 않는다면, "작동 가능하게 결합되거나" 또는 "작동 가능하게 연결된다". 따라서, 프로모터 영역은, 프로모터가 해당 핵산의 전사를 달성할 수 있다면, 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산과 작동 가능하게 결합될 수 있다. 프로모터는 사전결정된 세포에서만 DNA의 실질적인 전사를 지지하는 세포-특이적 프로모터일 수 있다. 프로모터는 구성적이거나 또는 조절 가능할 수 있다. 본 발명의 핵산과 선택적으로 작동 가능하게 연결된 다른 전사 제어 구성요소는, 예를 들어 인핸서, 오피레이터, 리프레서 및 전사 종결 신호를 포함하며, 세포-특이적 전사를 지지하는 폴리뉴클레오타이드와 작동 가능하게 결합될 수 있다. 적합한 프로모터 및 다른 전사 제어 영역의 예는 본 명세서에 개시되어 있거나 또 다르게는 당업계에 공지되어 있다.

[0041] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 발현을 제어하기 위해 사용될 수 있는 다양한 전사 제어 영역은 당업계에 공지되어 있다. 이들은, 거대세포바이러스로부터의 프로모터 및 인핸서 세그먼트(인트론 A와 함께 급속초기 프로모터), 유인원 바이러스 40(초기 프로모터), 및 레트로바이러스(예컨대 라우스 육종 바이러스)를 포함하지만, 이

들로 제한되지 않는 척추동물 세포에서 기능하는 전사 제어 영역을 포함하지만, 이것으로 제한되지 않는다. 다른 전사 제어 영역은 척추동물 유전자로부터 유래된 것, 예컨대, 액틴, 열충격 단백질, 소 성장 호르몬 및 토끼 β -글로빈뿐만 아니라 진핵 세포에서 유전자 발현을 제어할 수 있는 다른 서열을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가적인 적합한 전사 제어 영역은 조직-특이적 프로모터 및 인핸서뿐만 아니라 림포카인-유동성 프로모터(예를 들어, 인터페론 또는 인터류킨에 의해 유도될 수 있는 프로모터)를 포함한다.

[0042] 유사하게, 다양한 적합한 번역 제어 구성요소가 당업자에게 공지되어 있다. 이들은 리보솜 결합 부위, 번역 개시 및 종결 코돈 및 피코르나바이러스로부터 유래된 구성요소를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다(특히, CITE 서열로서도 지칭되는 내부 리보솜 유입 부위 또는 IRES)

[0043] 다른 실시형태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 RNA, 예를 들어 전령 RNA(mRNA) 형태이다.

[0044] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 및 핵산 암호 서열은, 예를 들어 분비 또는 신호 펩타이드를 암호화하고, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 폴리펩타이드의 분비를 지시하는 추가적인 이중성 암호 서열과 결합될 수 있다. 신호 가설에 따르면, 포유류 세포에 의해 분비된 단백질은 일단 조면소포체를 가로질러 자라나는 단백질 쉐의 유출이 개시되면, 성숙 단백질로부터 절단된 분비 리더 서열 또는 단일 펩타이드를 가진다. 당업자는 척추동물 세포에 의해 분비된 폴리펩타이드가 일반적으로 폴리펩타이드의 N-말단에 융합된 신호 펩타이드를 가지는데, 이는 "전장" 폴리펩타이드로부터 절단되어 폴리펩타이드의 분비된 또는 "성숙" 형태를 생성한다는 것을 인식한다. 특정 실시형태에서, 천연 신호 펩타이드, 예를 들어, 면역글로블린 중쇄 또는 경쇄 신호 펩타이드 또는 작동가능하게 결합된 폴리펩타이드의 분비를 지시하는 능력을 보유하는 해당 서열의 기능적 유도체가 사용된다. 예를 들어, 천연 신호 펩타이드 서열은 인간 조직 플라스미노겐 활성화제(TPA), 마우스 β -글루쿠로니다제의 신호 펩타이드 서열 또는 바람직한 숙주 세포의 분비 단백질로부터 유래된 신호 서열로 치환될 수 있다.

[0045] 달리 언급되지 않는다면, 용어 "장애" 및 "질병"은 본 명세서에서 상호호환적으로 사용된다.

[0046] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "결합 분자"는 주로 항체(TDP-43 결합 항체 단편 또는 유도체를 포함)에 관한 것이지만, 또한 호르몬, 수용기, 리간드, 주조직적합성 복합체(MHC) 분자, 열충격 단백질(heat shock protein: HSP)과 같은 사폐론, 및 세포-세포 접합 분자, 예컨대 카데린, 인테그린, C형 렉틴 및 면역글로블린(Ig) 상과의 구성원을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 TDP-43을 특이적으로 인식하는 다른 단백질 및 폴리펩타이드를 지칭할 수 있다. TDP-43을 특이적으로 인식하는 이들 폴리펩타이드의 단편, 변이체 및 유도체가 또한 본 발명에 포함된다. 단지 명확함을 위해 본 발명의 범주를 제한하지 않고, 다음의 실시형태의 대부분은 TDP-43을 특이적으로 인식하는 본 발명의 분자 및 조성물의 일 실시형태를 나타내는 항체(항체 단편 및 유도체를 포함)에 대해 논의된다.

[0047] 용어 "항체" 및 "면역글로블린"은 본 명세서에서 상호호환적으로 사용된다. 항체 또는 면역글로블린은 적어도 중쇄의 가변 도메인을 포함하고, 정상적으로 적어도 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인을 포함하는 TDP-43-결합 분자이다. 척추동물계에서 기본적 면역글로블린 구조는 잘 이해되고 있으며; 예를 들어, 문헌[Harlow *et al.*, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)] 참조. 이하에 더욱 상세하게 논의되는 바와 같이 용어 "면역글로블린"은 생화학적으로 구별될 수 있는 폴리펩타이드의 다양한 넓은 분류를 포함한다. 당업계에서 일반적으로 이해되는 바와 같이, 중쇄는 감마, 뮤, 알파, 델타 또는 엡실론(γ , μ , α , δ , ϵ)으로서 분류되며 그 중에서 일부는 하위분류를 지닌다(예를 들어, γ 1- γ 4). 이는 각각 IgG, IgM, IgA, IgG 또는 IgE로서 항체의 "분류"를 결정하는 이런 쉐의 특성이다. 면역글로블린 하위분류(아이소타입), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1은 잘 특성규명되며, 이들 항체의 기능적 또는 다른 특성을 변형시키는 본 발명의 항체에서 포함되거나 또는 변형될 수 있는 기능적 전문화를 부여하는 것으로 알려져 있다. 본 발명의 항체 분류 및 아이소타입의 변형된 형태는 본 개시내용과 관련하여 당업자에게 용이하게 인식될 수 있으며, 본 발명의 범주 내에 있다. 추가적으로 모든 면역글로블린 분류는 본 발명의 범주에 의해 포함되지만, 간략함 및 예시적 목적을 위해, 다음의 논의는 일반적으로 면역글로블린 분자의 IgG 분류에 관한 것이다. IgG에 대해, 표준 면역글로블린 분자는 대략 23,000 달톤 분자량의 2개의 동일한 경쇄 폴리펩타이드, 및 분자량 53,000 내지 70,000 달톤의 2개의 동일한 중쇄를 포함한다. 4개의 쉐는 전형적으로 "Y" 배치에서 이황화 결합에 의해 결합되며, 경쇄는 "Y"의 입구에서 출발해서 가변 영역을 통해 이어지는 중쇄를 괄호로 묶는다.

[0048] 경쇄 폴리펩타이드는 카파 또는 람다(κ , λ) 중 하나로서 분류된다. 각각의 중쇄 폴리펩타이드 분류는 카파 또는 람다 경쇄 중 하나와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄 폴리펩타이드는 서로 공유적으로 결합되고, 두 중쇄 폴리펩타이드의 "꼬리" 부분은, 면역글로블린이 하이브리도마, B 세포 또는 유전적으로 유전자조작된 숙주 세포에 의해 만들어질 때, 공유적 이황화 결합 또는 비공유 결합에 의해 서로 결합된다. 중쇄 폴리펩타이드

드에서, 아미노산 서열은 Y 배치의 포크형 단부에서 N-말단으로부터 각각의 중쇄 폴리펩타이드의 바닥에서 C-말단까지 진행된다.

[0049] 경쇄와 중쇄 폴리펩타이드는 둘 다 구조적 및 기능적 상동성 영역을 함유한다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이에 대해, 경쇄(V_L)와 중쇄(V_H) 영역 둘 다의 가변 도메인은 항원 인식 및 특이성을 결정하는 것으로 인식될 것이다. 반대로, 경쇄(CL) 및 중쇄(CH1, CH2 또는 CH3)의 불변 도메인은 분비, 경태반 이동성, Fc 수용기 결합, 보체 결합 등과 같은 중요한 생물학적 특성을 부여한다. 관례상, 불변 영역 도메인 넘버링은 항원-결합 부위 또는 항체의 아미노 말단으로부터 그것들이 더 원위로 됨에 따라 증가된다. 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드의 N-말단 부분은 가변 영역이고, C-말단 부분에서 불변 영역이며; CH3 및 CL 도메인은 실제로 각각 중쇄 및 경쇄의 카복시 말단을 포함한다.

[0050] 상기 나타낸 바와 같이, 가변 영역은 항원 상의 에피토프를 항체가 선택적으로 인식하며 특이적으로 결합하게 한다. 즉, 항체의 V_L 도메인 및 V_H 도메인, 또는 상보성 결정 영역(CDR)의 서브세트는 조합되어 3차원 항원-결합 부위를 정하는 가변 영역을 형성한다. 이 4기 항체 구조는 항체의 Y 구조의 각 암의 단부에서 존재하는 항원-결합 부위를 형성한다. 완전한 항체의 항원-결합 부위는 V_H 및 V_L 쇄의 각각에 대해 3개의 CDR에 의해 정해진다. TDP-43에 특이적으로 결합되게 하기 위한 충분한 면역글로불린 관련 구조를 함유하는 임의의 항체(항체 단편, 유도체 및 변이체를 포함)는 본 명세서에서 "결합 단편" 또는 "면역특이적 단편"으로서 상호호환적으로 지칭되며, 일반적으로 TDP-43을 특이적으로 인식하는 항체로서 지칭될 수 있다.

[0051] 자연적으로 생기는 항체에서, 항체는 각각의 항원-결합 도메인에 존재하는 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로서 종종 지칭되는 6개의 초가변 영역을 포함한다. CDR은 항원 결합 도메인을 형성하는 짧고 비연속적인 아미노산 서열인데, 수성 환경에서 항체가 그것의 3차원 구조를 취하기 때문이다. "CDR"은 CDR보다 분자내 서열 가변성을 더 적게 나타내는 4개의 상대적으로 보존된 "프레임워크" 영역 또는 "FR"에 의해 측정된다. 프레임워크 영역은 β -시트 입체구조를 채택하며, CDR은 β -시트에 연결되고, 일부 경우에 이의 부분을 형성하는 루프를 형성한다. 따라서, 프레임워크 영역은 쇄간 비공유 상호작용에 의해 정확한 배향에서 CDR을 위치시키는 것을 제공하는 스캐폴드를 형성하도록 작용한다. 총괄적으로 위치된 중쇄 및 경쇄 CDR에 의해 형성된 항원-결합 도메인은 면역반응성 항원 상의 에피토프에 상보적인 표면을 정한다. 이 상보적 표면은 항체를 그것의 동족 에피토프에 대한 비공유적 결합을 촉진한다. CDR 및 프레임워크 영역을 각각 포함하는 아미노산은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 임의의 주어진 중쇄 또는 경쇄 가변 영역에 대해 용이하게 확인되고 정해질 수 있다; 본 명세서에 전문이 참조로서 포함되는 문헌["Sequences of Proteins of Immunological Interest," Kabat, E., *et al.*, U.S. Department of Health and Human Services, (1983); 및 Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 196 (1987), 901-917] 참조.

[0052] 당업계에서 사용되고/되거나 허용되는 용어의 2 이상의 정의가 있는 경우에, 본 명세서에서 사용되는 용어의 정의는 반대로 명확하게 언급되지 않는다면 모든 이러한 의미를 포함하는 것으로 의도된다. 구체적 예는 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견된 비연속적 항원 조합 부위를 설명하는 용어 "상보성 결정 영역"("CDR")의 사용이다. 정의가 서로에 대해 비교할 때 아미노산 잔기의 중복 또는 서브세트를 포함하는 경우, 이 특정 영역은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된 문헌[Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983) 및 Chothia and Lesk에 의한, *J. Mol. Biol.*, 196 (1987), 901-917]에 의해 기재되어 있다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 이의 변이체의 CDR을 지칭하기 위한 정의의 적용은 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 CDR의 범주 내에 있는 것으로 의도된다. 상기 열거한 참고문헌의 각각에서 정의된 바와 같은 CDR을 포함하는 적절한 아미노산 잔기는 도 1에 제시된다. 특정 CDR을 포함하는 정확한 잔기 수는 CDR의 서열 및 크기에 따라 다를 것이다. 항체의 가변 영역 서열을 제공한 당업자는 잔기가 인간 IgG 항체의 특정 초가변 영역 또는 CDR을 포함하는 것을 일상적으로 결정할 수 있다.

표 1

[0053]

CDR 정의 ¹		
	카바트(Kabat)	코티아(Chothia)
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102

VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96
¹ 표 2의 모든 CDR 정의의 넘버링은 카바트 등에 의해 제시된 넘버링 관례에 따른다(이하 참조).		

- [0054] 카바트 등은 또한 임의의 항체에 적용가능한 가변 도메인 서열에 대한 넘버링 시스템을 정의하였다. 당업자는 서열 그 자체 이상의 어떤 실험적 데이터에 대한 의존 없이 임의의 가변 도메인 서열에 대해 "카바트 넘버링"의 이 시스템을 분명하게 부여할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "카바트 넘버링"은 문헌[Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983)]에 의해 제시된 넘버링 시스템을 지칭한다. 달리 구체화되지 않는다면, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편, 변이체 내 특이적 아미노산 잔기 위치의 넘버링에 대한 기준은 카바트 넘버링 시스템을 따르지만, 그러나 이는 이론적이며 본 발명의 모든 항체에 동일하게 적용되지 않을 수도 있다. 예를 들어, 제1 CDR(즉, CDR1)의 위치에 따라서, 다음의 CDR은 방향 중 하나로 이동될 수 있다.
- [0055] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 단클론성 항체이다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 다클론성 항체가 아니다. 일부 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 이가, 또는 다중특이성 항체이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 다클론성 항체이다. 추가 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 단클론성 항체를 함유한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 다클론성 항체를 함유하지 않는다.
- [0056] 추가적인 실시형태에서, 항체는 인간(예를 들어, 완전 인간 및/또는 완전한 인간 항체), 인간화된, 영장류화된, 무린화된 또는 키메라 항체이다. 추가 실시형태에서, 본 발명의 항체는 is 단일쇄 항체, 에피토프-결합 단편, 예를 들어, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, Fv 단일쇄 Fv(scFv), 단일쇄 항체, 이황화 결합 Fv(sdFv), V_L 또는 V_H 도메인 중 하나를 포함하는 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 또는 항-유전자형(항-Id) 항체(도 1에 제공된 가변 도메인 서열을 함유하는 항체에 대한 항-Id 항체, 및 본 명세서에 개시된 다른 항체를 포함)이다. ScFv 분자는 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 미국특허 제5,892,019에 기재되어 있다. 본 발명의 항체는 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 분자(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 면역글로불린 분자의 하위 분류를 가질 수 있다.
- [0057] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 IgG1이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 IgG3이다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 5가 구조를 함유하는 IgM 또는 이의 유도체가 아니다. 더 구체적으로, 본 발명의 특정 적용, 특히 치료적 용도에 관한 것에서, IgM은 IgG 및 다른 이가 항체 또는 대응되는 결합분자보다 덜 바람직한데, IgM은 그것의 5가 구조 및 친화도 성숙 결여의 결과로서 비특이적 교차반응성 및 매우 낮은 친화도를 나타내기 때문이다.
- [0058] 특정 실시형태에서, 본 발명의 항체는 다클론성 항체가 아니며, 즉, 혈장 면역글로불린 샘플로부터 얻어진 혼합물보다는 하나의 특정 항체 종으로 실질적으로 이루어진다.
- [0059] 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 인간 TDP-43을 특이적으로 인식하고 인간으로부터 단리된 "완전한 인간" 단클론성 항체이다. 과거 디스플레이 라이브러리 또는 이중 마우스를 사용하여 확인된 단일쇄 항체 단편(scFv)으로부터 유래된 것과 같은 다른 인간 단클론성 항체에 비해, 본 발명의 완전한 인간 단클론성 항체는 (i) 동물 대리(surrogate)보다는 인간 면역 반응을 사용하여 얻어지는 것, 즉, 항체는 인간 신체에서 그것의 상대적 형태에서 천연 내인성 TDP-43에 대한 반응에 대해 만들어짐, (ii) 개체를 보호하거나 또는 적어도 TDP-43의 존재에 대해 유의함, 및 (iii) 항체가 인간 유래라는 사실에 기인하여 자가 항원에 대해 자기 반응성의 감소된 위험을 가짐을 특징으로 한다.
- [0060] 따라서, 용어 "완전한 인간 항체", 또는 "인간 단클론성 자가항체"는 용어 "인간 항체", "인간 단클론성 항체" 등을 포함하지만, 이들 용어는 인간 유래인, 즉, 인간 항체 생성 세포, 예컨대 B 세포 또는 이의 하이브리도마 또는 인간 기억 B 세포와 같은 세포를 생성하는 인간 항체로부터 직접 클로닝되거나 또는 유래된 cDNA인 cDNA와 같은 핵산을 함유하는 세포로부터 유래된, TDP-43 결합 분자를 의미하는 것으로 본 명세서에서 사용된다. 항체가, 예를 들어 결합 특성을 개선시키기 위해 완전한 인간 항체의 하나 이상의 아미노산 치환 또는 다른 변경을 함유할 때, 항체는 본 개시내용의 목적을 위한 "완전한 인간"으로 고려된다. 선택적으로 완전한 인간 항체 또는 본 발명의 다른 항체의 프레임워크 영역은 인간 생식 계열 가변 영역 서열과 일치되도록 또는 인간 생식 계열 가변 영역의 일부, 예컨대 단백질 조각을 위한 MRC 센터(영국 캠브릿지에 소재)에 의해 관리된

Vbase(<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)에서와 같은 입수가 가능한 서열과 일치되도록 변형되거나 또는 변형되었다. 이러한 변형은 특히 PCR 프라이머로부터 초래될 수 있는 것과 같은 클로닝 인공물로부터 얻어진 생식계열 서열 편차를 감소시키거나 또는 제거하는데 유용할 수 있다.

[0061] 인간 면역글로블린 라이브러리로부터 또는 하나 이상의 인간에 대한 유전자이식 동물로부터 유래된 항체는 일반적으로 본 명세서에서 인간 항체, 또는 "인간 유사 항체"로서 지칭된다. 이러한 면역글로블린은 이하에 기재되는 바와 같은 내인성 인간 면역글로블린에 대응되지 않는다. 예를 들어, 미국특허 제5,939,598) 참조. 예를 들어, 파지 디스플레이로부터 전형적으로 단리된 합성 및 반합성 항체와 같은 인간 유사 항체의 중쇄 및 경쇄의 짝지움은 본래의 인간 B 세포에서 일어나는 것과 같은 본래의 짝지움을 반드시 반영하지는 않는다. 따라서, 재조합 발현 라이브러리로부터 얻은 Fab 및 scFv 단편은 인공적인 것으로 고려될 수 있고, 그것의 인공적 조성물의 결과로서 면역원성 및 안정성 효과를 나타낼 수 있다. 대조적으로, 본 발명의 완전한 인간 항체는 선택된 인간 피험체로부터의 단리된 친화도 성숙 항체이며, 항체는 인간에서 그것의 용인을 특징으로 하였다.

[0062] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "뮤린화된 항체" 또는 "뮤린화된 면역글로블린"은 인간 항체 또는 본 발명의 다른 항체로부터 하나 이상의 CDR을 포함하는 항체; 예를 들어 마우스 항체 서열에 기반한 아미노산 치환 및/또는 결실 및/또는 삽입을 함유하는 인간 프레임워크 영역을 지칭한다. 이 경우에, CDR을 제공하는 인간 또는 다른 면역글로블린은 "모" 또는 "수용체(acceptor)"로 불리며, 프레임워크 변화를 제공하는 마우스 항체는 "공여체"로 불린다. 불변 영역은 존재할 필요는 없지만, 그것이 있다면, 그것들은 마우스 항체 불변 영역에 대해 보통 실질적으로 동일하며, 즉, 마우스 불변 영역의 대응되는 서열에 대해 적어도 약 85-90%, 또는 적어도 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 이상이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 완전한 뮤린화된 인간 중쇄 또는 경쇄 면역글로블린은 마우스 불변 영역, 하나 이상의 인간 CDR, 및 다수의 "뮤린화된" 아미노산 치환을 갖는 실질적으로 인간 프레임워크를 함유한다. 전형적으로, "뮤린화된 항체"는 뮤린화된 가변 경쇄 및/또는 뮤린화된 가변 중쇄를 포함하는 항체이다. 예를 들어, 뮤린화된 항체는 전형적인 키메라 항체를 포함하지 않는데, 예를 들어, 키메라 항체의 전체 가변 영역이 비마우스이기 때문이다. "뮤린화" 과정에 의해 "뮤린화된" 변형 항체는 CDR을 제공하고, 모 항체에 비해 마우스에서 보통 덜 면역원성인 모 항체와 동일한 항원에 결합된다.

[0063] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "중쇄 부분"은 면역글로블린 중쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 중쇄 부분을 포함하는 폴리펩타이드는: CH1 도메인, 힌지(예를 들어, 상부, 중간 및/또는 항부 힌지 영역) 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인 또는 이의 변이체 또는 단편 중 적어도 하나를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 결합 폴리펩타이드는 CH1 도메인, 적어도 힌지 도메인의 일부, 및 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇠; CH1 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇠; CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇠, 또는 CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇠와 조합으로 또는 단독으로 가변 영역(들) 또는 가변 영역의 일부(예를 들어, 하나 이상의 CDR, 예컨대 V_H CDR3)를 함유하는 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 가변 영역(들) 또는 가변 영역의 일부(예를 들어, 하나 이상의 CDR, 예컨대, V_H CDR3) 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇠를 포함한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 CH2 도메인의 적어도 일부(예를 들어, CH2 도메인의 모두 또는 부분)를 결여한다. 본 명세서에 제시된 바와 같고, 당업자에 의해 인식되는 바와 같은, 상기 중쇄 폴리펩타이드 도메인(예를 들어, 중쇄 부분)은 그것들이 자연적으로 생기는 면역글로블린 분자로부터 아미노산 서열이 변화되도록 변형될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 중쇄 부분의 단편, 변이체 및 유도체를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0064] 일부 실시형태에 따르면, 항체(이의 항원-결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 포함)의 하나의 폴리펩타이드 쇠의 중쇄 부분은 항체의 제2 폴리펩타이드 쇠에 대한 것과 동일하다. 대안의 실시형태에서, 항체(이의 항원-결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 포함)의 하나의 폴리펩타이드 쇠의 중쇄 부분은 항체의 제2 폴리펩타이드 쇠에 대한 것과 상이하다. 따라서 본 발명의 항체의 각 모노머 성분은, 예를 들어 이중특이성 항체 또는 다이아바디를 형성하는 상이한 표적 결합 부위를 포함할 수 있다.

[0065] 단일쇄 항체를 포함하는 본 발명의 항체 단편은 가변 영역(들) 또는 가변 영역의 일부(예를 들어, 하나 이상의 CDR, 예컨대, V_H CDR3 또는 V_L CDR3)를 단독으로 또는 다음의 전체 또는 일부와 조합으로 포함할 수 있다: 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인. 또한 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인과 가변 영역(들)의 임의의 조합을 포함하는 TDP-43-결합 단편이 본 발명에 포함된다. 본 발명의 항체(이의 면역특이적 단편을 포함)는 조류 및 포유류를 포함하는 임의의 동물 유래로부터 유래될 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 인간, 뮤린, 당나귀, 토끼, 염소, 기니아 피그, 낙타, 라마, 말 또는 닭 항체이다. 다른 실시형태에서, 가변 영역은 콘드로이틴 유래(예를

들어, 상어로부터)일 수 있다.

- [0066] 다른 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 scFv와 같은 단일 폴리펩타이드 쇄로 구성되며, 잠재적인 생체 내 치료적 및 진단적 적용을 위해 세포내로 발현되는 것이다.
- [0067] 본 명세서에 개시된 진단적 및 치료적 방법에서 사용을 위한 결합 폴리펩타이드의 중쇄 부분 또는 경쇄 부분은 상이한 면역글로블린 분자로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 중쇄 부분은 IgG1 분자로부터 유래된 CH1 도메인 및 IgG3 분자로부터 유래된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 다른 예에서, 중쇄 부분은 부분적으로 IgG1 분자로부터 및 부분적으로 IgG3 분자로부터 유래된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 다른 예에서, 중쇄 부분은 부분적으로 IgG1 분자로부터 및 부분적으로 IgG4 분자로부터 유래된 키메라 힌지를 포함할 수 있다.
- [0068] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "경쇄 부분"은 면역글로블린 경쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 경쇄 부분은 적어도 하나의 V_L 또는 CL 도메인을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "경쇄 부분"은 면역글로블린 경쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 경쇄 부분을 포함하는 폴리펩타이드는 적어도 경쇄 가변 영역(들) 또는 가변 영역의 일부(예를 들어, 하나 이상의 CDR, 예컨대 V_L CDR3)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 경쇄 부분은 CH1 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 경쇄 부분은 V_L 또는 CL 도메인 중 적어도 하나를 포함한다. 이들 경쇄 부분의 단편, 변이체 및 유도체를 포함하는 폴리펩타이드가 또한 본 발명에 포함된다.
- [0069] 항체에 대한 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프의 최소 크기는 약 4 내지 5개의 아미노산이 되는 것으로 생각된다. 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 적어도 7, 적어도 9, 또는 적어도 약 15 내지 약 30개의 아미노산을 함유할 수 있다. CDR은 그것의 3차 형태에서 항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 인식할 수 있기 때문에, 에피토프를 포함하는 아미노산은 연속적일 필요가 없으며, 일부 경우에, 심지어 동일 펩타이드 쇄 상에 있지 않을 수도 있다. 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체에 의해 인식되는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 TDP-43의 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25개의 연속적 또는 비연속적 아미노산의 서열을 함유한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체에 의해 인식되는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 TDP-43의 약 5 내지 약 30, 약 10 내지 약 30, 또는 15 내지 약 30개의 연속적 또는 비연속적 아미노산을 함유한다.
- [0070] 용어 "특이적으로 결합되는" 및 "특이적으로 인식하는"은 본 명세서에서 상호호환적으로 사용되며, 일반적으로 무작위, 미관련 에피토프 또는 항원에 결합되는 것보다 더 용이하게 에피토프 또는 항원에 결합되는 결합 분자(예를 들어, 항체와 같은 폴리펩타이드)를 지칭한다. 당업계에서 이해되는 바와 같이, 항체는 비연속적 에피토프의 선형 부분에 대응되는 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 이루어지는 단리된 폴리펩타이드에 특이적으로 결합되거나 또는 특이적으로 인식할 수 있다. 용어 "특이성"은 특정 항체가 특정 에피토프 또는 항원에 결합되는 상대적 친화도를 부여하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 예를 들어, 항체 "A"는 항체 "B"보다 주어진 에피토프에 대해 더 높은 특이성을 가지는 것으로 여겨질 수 있거나, 또는 항체 "A"는 관련된 에피토프 "D"에 대해 가지는 것보다 더 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합되는 것으로 언급될 수 있다. 예를 들어, 항체 "A"는 항체 "B"보다 주어진 에피토프에 대해 더 높은 특이성을 갖는 것으로 여겨질 수 있거나, 또는 항체 "A"는 관련된 에피토프 "D"에 대해 가지는 것보다 더 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합되는 것으로 언급될 수 있다. 마찬가지로, 항체 "A"는 항체 "B"보다 주어진 항원에 대해 더 높은 특이성을 갖는 것으로 여겨질 수 있거나, 또는 항체 "A"는 관련된 항원 "D"에 대해 갖는 것보다 더 높은 특이성으로 항원 "C"에 결합되는 것으로 언급될 수 있다.
- [0071] 존재한다면, 용어 "면역학적 결합 특징" 또는 항원과 항체의 다른 결합 특징은 모든 그것의 문법적 형태에서, 항체의 특이성, 친화도, 교차반응성 또는 다른 결합 특징을 지칭한다.
- [0072] "우선적으로 결합되는"은 결합 분자, 예를 들어 항체가, 관련되거나, 비슷한, 상동성 또는 유사한 에피토프 또는 항원에 결합되는 것보다 더 용이하게 에피토프 또는 항원에 특이적으로 결합되는 것을 의미한다. 따라서, 주어진 에피토프 또는 항원에 "우선적으로 결합되는" 항체는, 이러한 항체가 관련된 에피토프 또는 항원과 교차반응될 수 있다고 해도, 관련된 에피토프 또는 항원에 대해서보다 해당 에피토프 또는 항원에 결합될 가능성이 더 많다.
- [0073] 비제한적 예로서, 결합 분자, 예를 들어, 항체가 제2 에피토프 또는 항원에 대한 항체의 K_D 보다 더 적은 해리 상수(K_D)로 상기 제1 에피토프 또는 항원에 결합된다면, 항체는 제1 에피토프 또는 항원에 우선적으로 결합되는

것으로 고려될 수 있다. 다른 비제한적 예에서, 항체가 제2 에피토프 또는 항원에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 10배 더 적은 친화도로 제1 에피토프 또는 항원에 결합한다면, 항체는 제1 항원에 우선적으로 결합되는 것으로 고려될 수 있다. 다른 비제한적 예에서, 항체가 제2 에피토프 또는 항원에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 10^2 배 더 적은 친화도로 제1 에피토프 또는 항원에 결합된다면, 항체는 제1 에피토프 또는 항원에 우선적으로 결합되는 것으로 고려될 수 있다.

[0074] 다른 비제한적 예에서, 결합 분자, 예를 들어, 항체는, 그것이 제2 에피토프 또는 항원에 대한 항체의 $k(off)$ 보다 더 적은 오프 속도($k(off)$)로 제1 에피토프 또는 항원에 결합된다면, 제1 에피토프 또는 항원에 우선적으로 결합되는 것으로 고려될 수 있다. 다른 비제한적 예에서, 항체가 제2 에피토프 또는 항원에 대한 항체의 $k(off)$ 보다 적어도 10배 더 적은 오프 속도($k(off)$)로 제1 에피토프 또는 항원에 결합된다면, 항체는 제1 에피토프 또는 항원에 우선적으로 결합되는 것으로 고려될 수 있다. 다른 비제한적 예에서, 항체가 제2 에피토프 또는 항원에 대한 항체의 $k(off)$ 보다 적어도 10^2 배 더 적은 오프 속도($k(off)$)로 제1 에피토프 또는 항원에 결합된다면, 항체는 제1 에피토프 또는 항원에 우선적으로 결합되는 것으로 고려될 수 있다.

[0075] 실시형태에 따르면, TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항원-결합 단편 또는 이의 항체 또는 유도체의 변이체를 포함하는 항체)는 TDP-43 또는 이의 단편 또는 변이체에 $5 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-2} sec^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 또는 10^{-3} sec^{-1} 이하의 오프속도($k(off)$)로 결합된다. 다른 실시형태에서, TDP-43 결합 분자는 $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-4} sec^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ sec}^{-1}$, or 10^{-5} sec^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-6} sec^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ sec}^{-1}$ 또는 10^{-7} sec^{-1} 이하의 오프속도($k(off)$)로 TDP-43 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합된다.

[0076] 다른 실시형태에 따라, TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항원-결합 단편 또는 이의 항체 또는 유도체의 변이체를 포함하는 항체)는 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 또는 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 이상의 온 속도($k(on)$)로 TDP-43 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합된다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 TDP-43 결합 분자는 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, or $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 또는 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 이상의 온 속도($k(on)$)로 TDP-43 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합된다.

[0077] 본 발명은 또한 TDP-43과 결합을 위해 본 발명의 TDP-43 결합 분자 중 하나 이상과 경쟁하는 TDP-43 결합 분자를 포함한다. 본 발명의 목적을 위해, TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체)는, 그것이 일정한 정도로 에피토프 또는 항원에 대한 기준 항체의 결합을 차단하는 정도로 해당 에피토프 또는 항원에 우선적으로 결합된다면, 주어진 에피토프 또는 항원에 기준 TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체)의 결합을 경쟁적으로 저해하는 것으로 언급된다. 경쟁적 저해는 당업계에 공지된 임의의 방법, 예를 들어 경쟁 ELISA 분석에 의해 결정될 수 있다. 실시 형태에 따르면, TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체)는 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60% 또는 적어도 50% 만큼 주어진 에피토프 또는 항원에 기준 TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체)의 결합을 경쟁적으로 저해한다.

[0078] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "친화도"는 TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체, 이의 단편, 변이체 및 유도체를 포함함)와 개개의 에피토프 또는 항원의 결합 강도의 측정을 지칭한다. 예를 들어, 문헌[Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. (1988) 페이지 27 내지 28] 참조. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "결합활성"은 면역글로불린의 집단과 항원 간의 복합체의 전반적인 안정성, 즉, 면역글로불린 혼합물과 항원 강도의 기능적 조합을 지칭한다; 예를 들어, 문헌[Harlow 페이지 29-34] 참조. 결합활성은 특이적 에피토프 또는 항원을 지니는 집단에서 개개 면역글로불린 분자의 친화도 및 또한 면역글로불린과 항원의 원자가와 관련된다. 예를 들어, 이가 단클론성 항체와 중합체와 같은 고도로 반복적인 에피토프 구조를 지니는 항체 간의 상호작용은 높은 결합활성을 지니는 것이다. 항원에 대한 항체의 친화도 또는 결합활성은 임의의 적합한 방법을 사용하여 실험적으로 결정될 수 있다; 예를 들어, 문헌[Berzofsky *et al.*, "Antibody-Antigen Interactions" In *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press New York, N Y (1984), Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company New York, N Y (1992)] 및 본 명세서에 기재된 방법을 참조한다. 항원에 대해 항체의 친화도를 측정하기 위한 일반적 기법은 ELISA, RIA, 및 표면 플라즈몬 공명을 포함한다. 특정 항체-항원 상호작용의 측정된 친화도는 상이한 조건, 예를 들어 염 농도, pH 하에 측정된다면, 다를 수 있다. 따라서, 친화도 및 다른 항원 결합 변수, 예를 들어, K_D , IC_{50} 의 측정은 항체 및 항원의 표준화된 용액 및 표준화된 완충체에 의해 바람직하게 만들어진다.

- [0079] 본 발명의 TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체의 항원-결합 단편 및 이의 변이체 또는 유도체를 포함하는 항체)는 또한 그것의 교차 반응성에 대해 기재되거나 또는 구체화된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "교차 반응성"은 제2의 별개 항원과 반응하는 하나의 항원에 특이적인 TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체)의 능력; 종종 2개의 상이한 항원성 기질 간의 관련 정도를 반영하는 측정을 지칭한다.
- [0080] 예를 들어, 특정 항체는 그것이 관련된 결합에서 일정 정도의 교차 반응성을 가지지만, 비동일한 에피토프 또는 항원, 예를 들어, 기준 에피토프 또는 항원에 대해 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 65%, 적어도 60%, 적어도 55%, 및 적어도 50% 동일성(본 명세서에 기재되거나 또 다르게는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 계산함)을 지니는 에피토프를 가진다. 항체가 해당 에피토프 또는 항원의 어떤 다른 유사체, 오솔로그 또는 상동체에 결합되지 않는다면, 특정 에피토프에 대해 "고도로 특이적"인 것으로 여겨질 수 있다. 일 실시형태에 따르면, TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항체의 항원-결합 단편 및 이의 변이체 또는 유도체를 포함하는 항체)는 생리학적 조건 하에 기준 에피토프 또는 항원에 대해 95% 미만, 90% 미만, 85% 미만, 80% 미만, 75% 미만, 70% 미만, 65% 미만, 60% 미만, 55%, 및 50% 미만의 동일성(본 명세서에 기재되거나 또 다르게는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 계산함)을 지니는 에피토프에 결합되지 않는다.
- [0081] 본 발명의 항체와 같은 TDP-43 결합 분자(항체의 항원-결합 단편 및 이의 변이체 또는 유도체를 포함)는 또한 TDP-43에 대한 그것의 결합 친화도에 대해 기재될 수 있다. 일 실시형태에 따르면, TDP-43 결합 분자(예를 들어, 항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함하는 항체) 결합 친화도는 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M 또는 10^{-15} M의 해리 상수 또는 Kd를 지니는 것을 포함한다.
- [0082] 다양한 면역글로불린 분류의 불변 영역의 서브유닛 구조 및 3차원 배치는 잘 공지되어 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 " V_H 도메인"은 면역글로불린 중쇄의 아미노 말단 가변 도메인을 포함하며, 용어 "CH1 도메인"은 면역글로불린 중쇄의 제1(대부분 아미노 말단) 불변 영역 도메인을 포함한다. CH1 도메인은 V_H 도메인에 인접하며, 면역글로불린 중쇄 분자의 힌지 영역에 대해 아미노 말단이다.
- [0083] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "CH2 도메인"은 통상적인 넘버링 계획(잔기 244 내지 360, 카바트 넘버링 시스템; 및 잔기 231-340, EU 넘버링 시스템; 문헌[Kabat EA *et al.*, *op. cit*] 참조)을 사용하여, 예를 들어 항체의 대략 잔기 244 내지 잔기 360으로 연장되는 중쇄 분자의 부분을 포함한다. CH2 도메인은 독특하며, 다른 도메인과 가깝게 짝지어지지 않는다. 오히려, 2개의 N-결합 분지 탄수화물 쇄는 무결합 천연 IgG 분자의 두 CH2 도메인 간에 개재된다. 또한 CH3 도메인은 CH2 도메인으로부터 IgG 분자의 C-말단까지 연장되며, 대략 108개의 잔기를 포함한다는 것이 잘 기록되어 있다.
- [0084] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "힌지 영역"은 CH2 도메인에 CH1 도메인을 결합시키는 중쇄 분자의 부분을 포함한다. 이 힌지 영역은 대략 25개의 잔기를 포함하며, 가요성이고, 따라서 2개의 N-말단 항원-결합 영역이 독립적으로 이동되게 한다. 힌지 영역은 3개의 별개 도메인으로 다시 나눌 수 있다: 상부, 중간, 및 하부 힌지 도메인; 문헌[Roux *et al.*, *J. Immunol.* 161 (1998), 4083] 참조.
- [0085] 본 명세서에 사용되는 용어 "이황화 결합"은 두 황 원자 간에 형성된 공유 결합을 포함한다. 아미노산 시스템은 제2 티올기와 이황화 결합 또는 브릿지를 형성할 수 있는 티올기를 포함한다. 가장 자연적으로 생기는 IgG 분자에서, CH1 및 CL 영역은 이황화 결합에 의해 연결되고, 2개의 중쇄는 카바트 넘버링 시스템을 사용하여 239 및 242에 대응되는 위치에서 2개의 이황화 결합에 의해 연결된다(위치 226 또는 229, EU 넘버링 시스템).
- [0086] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "연결된", "융합된" 또는 "융합"은 상호호환적으로 사용된다. 이들 용어는 화학적 컨주게이션 또는 재조합 수단을 포함하는 어떤 수단에 의해 2 이상의 구성요소 또는 성분이 함께 결합되는 것을 지칭한다. "프레임 내 융합"은 본래의 ORF의 정확한 번역 리딩 프레임에 유지하는 방식으로 연속적으로 더 긴 ORF를 형성하기 위한 2 이상의 폴리뉴클레오타이드 오픈 리딩 프레임(open reading frame: ORF)의 결합을 지칭한다. 따라서, 재조합 융합 단백질은 본래의 ORF에 의해 암호화된 폴리펩타이드에 대응된 2 이상의 세그먼트를 함유하는 단일 단백질이다(이 세그먼트는 정상적으로 천연에서 결합되지 않음). 이렇게 리딩 프레임은 융합된 세그먼트를 통해 연속적으로 만들어지지만, 세그먼트는, 예를 들어 프레임내 링커 서열에 의해 물리적으로 또는 공간적으로 분리될 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린 가변 영역의 CDR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 프레임 내 융합될 수 있지만, "융합된" CDR이 연속적 폴리펩타이드의 부분으로서 공동번역된다면, 적

어도 하나의 번역글로블린 프레임워크 영역 또는 추가적인 CDR 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 분리된다.

[0087] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "발현"은 유전자가 생화학적 물질, 예를 들어 RNA 또는 폴리펩타이드를 생성하는 과정을 지칭한다. 과정은 유전자 녹다운뿐만 아니라 일시적 발현과 안정한 발현을 둘 다 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 세포 내 유전자의 기능적 존재의 어떤 나타남을 포함한다. 이는 전령 RNA(mRNA), 수송 RNA(tRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA) 또는 임의의 다른 RNA 산물로 유전자의 전사, 및 폴리펩타이드(들)로 이러한 mRNA의 번역을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 최종 원하는 산물이 생화학적 물질이라면, 발현은 해당 생화학적 물질 및 임의의 전구체의 생성을 포함한다. 유전자의 발현은 "유전자 산물"을 생성한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 유전자 산물은 핵산, 예를 들어 유전자의 전사에 의해 생성되는 전령 RNA 또는 전사체로부터 번역된 폴리펩타이드일 수 있다. 본 명세서에 기재된 유전자 산물은 다른 단백질 서브유닛, 단백질 분해적 절단 등과 결합으로, 전사후 변형, 폴리아데닐화에 의한 핵산 또는 번역후 변형, 예를 들어 메틸화, 글라이코실화, 지질의 첨가를 폴리펩타이드를 추가로 포함한다

[0088] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "샘플"은 피험체 또는 환자로부터 얻은 임의의 생물학적 재료를 지칭한다. 일 실시형태에서, 샘플은 혈액, 뇌척수액("CSF") 또는 소변을 포함한다. 다른 실시형태에서, 샘플은 전혈, 혈장, 혈액 샘플로부터 풍부한 B 세포, 또는 배양 세포(예를 들어, 피험체로부터의 B 세포)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 샘플은 신경조직을 포함하는 생검 또는 조직 샘플을 함유한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 샘플은 전체 세포 또는 세포의 용해물을 포함한다. 혈액 샘플 및 CSF 샘플을 포함하는 본 발명의 샘플은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 수집될 수 있다.

[0089] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 "치료하다" 또는 "치료"는 치료적 치료 및 예방적 또는 방지적 측정을 지칭하되, 목적은 원치 않는 생리학적 변화 또는 장애, 예컨대 치매의 발생을 예방하거나 또는 늦추는(줄이는) 것이다. 유리한 또는 원하는 임상적 결과는 검출가능하든 검출가능하지 않든 증상의 경감, 질병 정도의 감소, 질병의 안정화(즉, 악화시키지 않음) 상태, 질병 진행의 지연 또는 늦춤, 질병 상태의 개선 또는 완화, 및 관해(부분적이든 또는 전체적이든)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. "치료"는 또한 치료를 받지 않는다면 예상되는 생존에 비해 연장된 생존을 의미할 수 있다. 치료가 필요한 것은 이미 질환 또는 장애를 지니는 것뿐만 아니라 질환 또는 장애를 가질 경향이 있는 것 또는 질환 또는 장애의 징후가 예방되는 것을 포함한다.

[0090] "피험체" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유류"는 진단, 예후, 예방 또는 치료가 요망되는 임의의 피험체, 특히 포유류 피험체, 예를 들어 인간 환자를 의미한다.

[0091] **II. 항체**

[0092] TDP-43에 선택적으로 결합되는 항체는 본 발명에 의해 포함된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 용어 항체 또는 항체들은 완전한 항체뿐만 아니라 TDP-43에 결합되는 이들 완전한 항체들 또는 항체 단편의 TDP-43-결합 항체 단편 및 변이체 및 유도체를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 실시예 및 본 명세서의 어디에서나 개시된 항체의 구조적 특징(예를 들어, 서열), 면역학적 결합 특징(예를 들어, IC₅₀, 또는 에피토프 결합) 및/또는 생물학적 특징 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5 이상을 보여준다.

[0093] 일부 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 완전한 인간 항체이다. 본 발명은 또한 완전한 인간 항체의 단편, 변이체 및 유도체를 포함한다. 실시예에 개시된 바와 같이, 본 명세서에 개시된 완전한 인간 항체는 건강한 피험체로부터의 샘플 풀로부터 유래되었다. 잠재적 관심 대상의 항체는 분류 및 경쇄 하위분류 결정을 위해 분석되었고, 선택된 기억 B 세포 배양물로부터의 메세지는 RT-PCR에 의해 전사되고, 클로닝되며, 재조합 생성을 위한 발현 벡터내로 조합되며; 첨부되는 실시예를 참조한다. 그 다음에 완전한 인간 항체는 HEK293 세포에서 재조합적으로 발현되고, 후속적으로 전장 TDP-43, 절단된 TDP-43 및 변형된 형태의 TDP-43에 대한 그것의 결합 특이성을 기반으로 특성규명된다(도 2, 도 4 내지 도 7, 도 10 및 도 11). 이 특성규명은 처음에, TDP-43에 대해 고도로 특이적이고, TDP-43 단백질 내에서 상이한 에피토프를 인식하는 인간 항체가 클로닝되었다는 것을 확인하였다.

[0094] 따라서, 실시형태에 따르면, 본 발명은 일반적으로 TDP-43을 특이적으로 인식하는 항체에 관한 것이다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43을 특이적으로 인식하는 인간 항체에 관한 것이다. 또한 추가 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43을 특이적으로 인식하는 전체 인간 항체에 관한 것이다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명은 본 발명의 TDP-43 결합 단편, TDP-43 결합 무결합 인간(완전한 인간을 포함) 항체의 변이체 또는 유도체를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 웨스턴 블롯에서 전장이거나, 절단되거나 또는 병적인 인간 TDP-43을

특이적으로 인식한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 웨스턴 블롯에서 전장 또는 병적 TDP-43에 선택적으로 결합된다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 ELISA에서 전장이거나, 절단되거나 또는 병적인 인간 TDP-43을 특이적으로 인식한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 ELISA에서 전장 또는 병적 TDP-43에 선택적으로 결합된다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 면역조직화학에서 전장이거나, 절단되거나 또는 병적인 인간 TDP-43의 임의의 조합을 특이적으로 인식한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 면역조직화학에서 전장 또는 병적 TDP-43에 선택적으로 결합된다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 해마의 면역조직화학에서 전장이거나, 절단되거나 또는 병적인 인간 TDP-43을 특이적으로 인식한다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 해마의 면역조직화학에서 전장 또는 병적 TDP-43에 선택적으로 결합된다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 인간 FTLD-U 해마의 면역조직화학에서 핵 TDP-43, 세포질 TDP-43, 신경돌기 TDP-43 또는 신경염 TDP-43 중 하나 이상에 선택적으로 결합된다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 인간 FTLD-U 해마의 면역조직화학에서 해마 과립 세포 내 세포질 TDP-43 및 신경염 TDP-43 중 하나 이상에 선택적으로 결합된다. 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 병적 인간-TDP-43을 특이적으로 인식한다.

[0095] 다른 실시형태에서, 본 발명은: NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 기준 항체로서 TDP-43의 동일 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다. 추가적인 실시형태에서, NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 기준 항체로서 TDP-43의 동일 에피토프에 특이적으로 결합되는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다.

[0096] 다른 실시형태에서, 본 발명은: QYGDVMDVFIP(서열번호 123); AAIGWGSASNA(서열번호 124); DMTEDELREFF(서열번호 125), EDENDEP(서열번호 126), VQVKKDL(서열번호 127), KEYFSTF(서열번호 128), IIKGISV(서열번호 315), NQSGPSG(서열번호 316), FNGGFGS(서열번호 317), FGNSRGGGAGL(서열번호 318), SNAGSGSGFNG(서열번호 319), QLERSGRFNG(서열번호 320), EIPSEDD(서열번호 321), FNGGFGSSMDS(서열번호 322) 및 SINPAMMAAAQAALQSSWGMGMLASQ(서열번호 323)로부터 선택된 TDP-43 폴리펩타이드 서열에 특이적으로 결합되는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 폴리펩타이드 FGNSRGGGAGL(서열번호 318) 및 SNAGSGSGFNG(서열번호 319)에 특이적으로 결합되는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 폴리펩타이드 SINPAMMAAAQAALQSSWGMGMLASQ(서열번호 323)에 특이적으로 결합되지만, SINPGGAAAQAALQSSWGMGMLASQ(서열번호 314)에 특이적으로 결합되지 않는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다.

[0097] 추가적인 실시형태에서, 본 발명은: NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 기준 항체에 의해 TDP-43에 대한 결합을 경쟁적으로 저해하는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다.

[0098] 추가적인 실시형태에서, 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)는: NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 기준 항체에 의한 TDP-43에 결합을 경쟁적으로 저해한다.

[0099] 실시예에서 예시되는 바와 같이, 본 발명은 TDP-43의 상이한 부분 및 에피토프에 결합되는 항체를 포함한다. 일부 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 TDP-43의 선형 에피토프에 결합된다. 다른 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 TDP-43의 입체구조적 에피토프에 결합된다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 TDP-43 도메

인 I(서열번호 94의 아미노산 잔기 2-106), TDP-43 도메인 II(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204), TDP-43 도메인 III(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273) 및 TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414)로 이루어진 군으로부터 선택된 TDP-43 도메인에 선택적으로 결합된다. 다른 실시형태에서, 항-TDP-43 항체는 TDP-43의 절단된 형태를 인식하지 않는다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43의 N-말단1-259 단편을 인식하는 항-TDP-43 항체를 제공한다. 추가적인 실시형태에서, 항-TDP-43 항체는 병적 TDP-43에 선택적으로 결합된다. 추가적인 실시형태에서, 항-TDP-43 항체는 TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414)에 특이적으로 결합되지만, A321G, M322G, 및 M323G 치환을 포함하는 TDP-43 도메인 IV에 특이적으로 결합되지 않는다.

[0100] 본 발명은 따라서 진단적 및 치료적 목적을 위해 특히 유용한 이한 TPD-43 특이성을 갖는 인간 항-TDP-43 항체를 포함한다. 본 발명은 또한 NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 기준 항체에 존재하는 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 항원-결합 도메인을 포함하는 항체에 접근된다.

[0101] 실시예 및 도면은 도 1A-1K 및 도 3A-3R에 도시되고 표 2에 열거된 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하는 V_H 및/또는 V_L 가변 영역의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 그것의 결합 도메인에서 함유하는 것을 특징으로 하는 TDP-43 결합 분자를 개시한다. 이들 가변 영역을 암호화하는 대응되는 뉴클레오타이드 서열은 표 3에 제시된다. V_H 및/또는 V_L 영역의 상기 아미노산 서열의 CDR의 예시적인 세트는 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 도시된다. 그러나, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 추가적인 또는 대안의 CDR이 사용될 수 있는데, 이는 TDP-43에 특이적으로 결합되지만, CDR2 및 CDR3의 경우에 1, 2, 3 또는 훨씬 더 많은 아미노산만큼 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 제시된 것과 그것의 아미노산 서열이 다르다.

표 2

[0102]

TDP-43 특이적 항체의 V _H 영역, V _H CDR1, V _H CDR2, V _H CDR2, V _L 영역, V _L CDR2, V _L CDR2 및 V _L CDR3의 서열번호					
항체		V _H /V _L	CDR1	CDR2	CDR3
NI-205.3F10	V _H	서열번호 1	서열번호 3	서열번호 4	서열번호 5
	V _L	서열번호 6	서열번호 7	서열번호 8	서열번호 9
NI-205.51C1	V _H	서열번호 10	서열번호 11	서열번호 12	서열번호 13
	V _L	서열번호 14	서열번호 15	서열번호 16	서열번호 17
NI-205.21G2	V _H	서열번호 18	서열번호 19	서열번호 20	서열번호 21
	V _L	서열번호 22	서열번호 23	서열번호 24	서열번호 25
NI-205.8A2	V _H	서열번호 26	서열번호 28	서열번호 29	서열번호 30
	V _L	서열번호 31	서열번호 32	서열번호 33	서열번호 34
NI-205.15F12	V _H	서열번호 :35	서열번호 37	서열번호 38	서열번호 39
	V _L	서열번호 40	서열번호 42	서열번호 43	서열번호 44
NI-205.113C4	V _H	서열번호 45	서열번호 46	서열번호 47	서열번호 48
	V _L	서열번호 49	서열번호 50	서열번호 51	서열번호 52
NI-205.25F3	V _H	서열번호 53	서열번호 54	서열번호 55	서열번호 56
	V _L	서열번호 57	서열번호 58	서열번호 59	서열번호 60
NI-205.87E7	V _H	서열번호 61	서열번호 62	서열번호 63	서열번호 64
	V _L	서열번호 65	서열번호 66	서열번호 67	서열번호 68

NI-205.21G1	V _H	서열번호 69	서열번호 70	서열번호 71	서열번호 72
	V _L	서열번호 73	서열번호 74	서열번호 75	서열번호 76
NI-205.68G5	V _H	서열번호 77	서열번호 79	서열번호 80	서열번호 81
	V _L	서열번호 82	서열번호 84	서열번호 85	서열번호 86
NI-205.20A1	V _H	서열번호 87	서열번호 88	서열번호 89	서열번호 90
	V _L	서열번호 122	서열번호 91	서열번호 92	서열번호 93
NI205.41D1	V _H	서열번호 130	서열번호 131	서열번호 132	서열번호 133
	V _L	서열번호 134	서열번호 135	서열번호 136	서열번호 137
NI205.29E11	V _H	서열번호 138	서열번호 139	서열번호 140	서열번호 141
	V _L	서열번호 142	서열번호 143	서열번호 144	서열번호 145
NI205.9E12	V _H	서열번호 146	서열번호 147	서열번호 148	서열번호 149
	V _L	서열번호 150	서열번호 326	서열번호 327	서열번호 328
	V _L	서열번호 151	서열번호 152	서열번호 153	서열번호 154
NI205.98H6	V _H	서열번호 155	서열번호 156	서열번호 157	서열번호 158
	V _L	서열번호 159	서열번호 160	서열번호 161	서열번호 162
NI205.10D3	V _H	서열번호 163	서열번호 164	서열번호 165	서열번호 166
	V _L	서열번호 167	서열번호 168	서열번호 169	서열번호 170
NI205.44B22	V _H	서열번호 171	서열번호 172	서열번호 173	서열번호 174
	V _L	서열번호 175	서열번호 176	서열번호 177	서열번호 178
NI205.38H2	V _H	서열번호 179	서열번호 180	서열번호 181	서열번호 182
	V _L	서열번호 183	서열번호 184	서열번호 185	서열번호 186
NI205.36D5	V _H	서열번호 187	서열번호 188	서열번호 189	서열번호 190
	V _L	서열번호 191	서열번호 192	서열번호 193	서열번호 194
NI205.58E11	V _H	서열번호 195	서열번호 196	서열번호 197	서열번호 198
	V _L	서열번호 199	서열번호 200	서열번호 201	서열번호 202
NI205.14H5	V _H	서열번호 203	서열번호 204	서열번호 205	서열번호 206
	V _L	서열번호 207	서열번호 208	서열번호 209	서열번호 210
NI205.31D2	V _H	서열번호 211	서열번호 212	서열번호 213	서열번호 214
	V _L	서열번호 215	서열번호 216	서열번호 217	서열번호 218
NI205.8F8	V _H	서열번호 219	서열번호 220	서열번호 221	서열번호 222
	V _L	서열번호 223	서열번호 224	서열번호 225	서열번호 226
NI205.31C11	V _H	서열번호 227	서열번호 228	서열번호 229	서열번호 230
	V _L	서열번호 231	서열번호 232	서열번호 233	서열번호 234
NI205.8C10	V _H	서열번호 235	서열번호 236	서열번호 237	서열번호 238
	V _L	서열번호 239	서열번호 240	서열번호 241	서열번호 242
NI205.10H7	V _H	서열번호 243	서열번호 244	서열번호 245	서열번호 246
	V _L	서열번호 247	서열번호 248	서열번호 249	서열번호 250
NI205.1A9	V _H	서열번호 251	서열번호 252	서열번호 253	서열번호 254
	V _L	서열번호 255	서열번호 256	서열번호 257	서열번호 258

NI205.14W3	V _H	서열번호 259	서열번호 260	서열번호 261	서열번호 262
	V _L	서열번호 263	서열번호 264	서열번호 265	서열번호 266
NI205.19G5	V _H	서열번호 267	서열번호 268	서열번호 269	서열번호 270
	V _L	서열번호 271	서열번호 272	서열번호 273	서열번호 274

[0103] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3-5, 7-9, 11-13, 15-17, 19-21, 23-25, 28-30, 32-34, 37-39, 42-44, 46-48, 50-52, 54-56, 58-60, 62-64, 66-68, 70-72, 74-76, 79-81, 84-86, 88-93, 131-133, 135-137, 139-141, 143-145, 147-149, 152-154, 156-158, 160-162, 164-166, 168-170, 172-174, 176-178, 180-182, 184-186, 188-190, 192-194, 196-198, 200-202, 204-206, 208-210, 212-214, 216-218, 220-222, 224-226, 228-230, 232-234, 236-238, 240-242, 244-246, 248-250, 252-254, 256-258, 260-262, 264-266, 268-270, 272-274 및 326-328로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 적어도 하나의 CDR을 포함한다.

[0104] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3-5, 7-9, 11-13, 15-17, 19-21, 23-25, 28-30, 32-34, 37-39, 42-44, 46-48, 50-52, 54-56, 58-60, 62-64, 66-68, 70-72, 74-76, 79-81, 84-86, 88-93, 131-133, 135-137, 139-141, 143-145, 147-149, 152-154, 156-158, 160-162, 164-166, 168-170, 172-174, 176-178, 180-182, 184-186, 188-190, 192-194, 196-198, 200-202, 204-206, 208-210, 212-214, 216-218, 220-222, 224-226, 228-230, 232-234, 236-238, 240-242, 244-246, 248-250, 252-254, 256-258, 260-262, 264-266, 268-270, 272-274 및 326-328로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR을 포함한다.

[0105] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3-5 및 7-9, 11-13 및 15-17, 19-21 및 23-25, 28-30 및 32-34, 37-39 및 42-44, 46-48 및 50-52, 54-56 및 58-60, 62-64 및 66-68, 70-72 및 74-76, 79-81 및 84-86, 88-93, 131-133 및 135-137, 139-141 및 143-145, 147-149 및 152-154, 156-158 및 160-162, 164-166 및 168-170, 172-174 및 176-178, 180-182 및 184-186, 188-190 및 192-194, 196-198 및 200-202, 204-206 및 208-210, 212-214 및 216-218, 220-222 및 224-226, 228-230 및 232-234, 236-238 및 240-242, 244-246 및 248-250, 252-254 및 256-258, 260-262 및 264-266, 268-270 및 272-274, 및 147-149 및 326-328로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR을 포함한다.

[0106] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3-5, 11-13, 19-21, 28-30, 37-39, 46-48, 54-56, 62-64, 70-72, 79-81, 88-90, 131-133, 139-141, 147-149, 156-158, 164-166, 172-174, 180-182, 188-190, 196-198, 204-206, 212-214, 220-222, 228-230, 236-238, 244-246, 252-254, 260-262 및 268-270로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 1, 2 또는 3개의 VH CDR을 포함한다.

[0107] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 7-9, 15-17, 23-25, 32-34, 42-44, 50-52, 58-60, 66-68, 74-76, 84-86, 91-93, 135-137, 143-145, 152-154, 160-162, 168-170, 176-178, 184-186, 192-194, 200-202, 208-210, 216-218, 224-226, 232-234, 240-242, 248-250, 256-258, 264-266, 272-274 및 326-328로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 1, 2 또는 3개의 VH CDR을 포함한다.

[0108] 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268의 VH CDR1; 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269의 VH CDR2; 또는 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270의 VH CDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 실시형태에 따르면, 항체는 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326의 VL CDR1; 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327의 VL CDR2; 또는 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 실시형태에서, 항체는 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268의 VH CDR1; 서열번호 4, 12, 20, 29, 38,

47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269의 VH CDR2; 또는 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 및 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326의 VL CDR1; 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327의 VL CDR2; 또는 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함한다.

[0109] 실시형태에 따르면, 본 발명의 항체는 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268의 VH CDR1; 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269의 VH CDR2; 및 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270의 VH CDR3을 중쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 실시형태에 따라, 항체는 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326의 VL CDR1; 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327의 VL CDR2; 및 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 다른 실시형태에서, 항체는 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268의 VH CDR1; 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269의 VH CDR2; 및 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326의 VL CDR1; 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327의 VL CDR2; 및 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함한다.

[0110] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3의 VH CDR1, 서열번호 4의 VH CDR2 및 서열번호 5의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있고, 서열번호 7의 VL CDR1, 서열번호 8의 VL CDR2, 및 서열번호 9의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.

[0111] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 11의 VL CDR1, 서열번호 12의 VL CDR2, 및 서열번호 13의 VL CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 15의 VL CDR1, 서열번호 16의 VL CDR2, 및 서열번호 17의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.

[0112] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 19의 VH CDR1, 서열번호 20의 VH CDR2, 및 서열번호 21의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 23의 VL CDR1, 서열번호 24의 VL CDR2, 및 서열번호 25의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.

[0113] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 28의 VH CDR1, 서열번호 29의 VH CDR2, 및 서열번호 30의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 32의 VL CDR1, 서열번호 33의 VL CDR2, 및 서열번호 34의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.

[0114] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 37의 VH CDR1, 서열번호 38의 VH CDR2, 및 서열번호 39의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 42의 VL CDR1, 서열번호 43의 VL CDR2, 및 서열번호 44의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.

[0115] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 46의 VH CDR1, 서열번호 47의 VL CDR2, 및 서열번호 48의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 50의 VL CDR1, 서열번호 51의 VL CDR2, 및 서열번호

52의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.

- [0116] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 54의 VH CDR1, 서열번호 55의 VL CDR2, 및 서열번호 56의 VL CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 58의 VL CDR1, 서열번호 59의 VL CDR2 및 서열번호 60의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0117] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 62의 VH CDR1, 서열번호 63의 VL CDR2 및 서열번호 64의 VL CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 66의 VL CDR1, 서열번호 67의 VL CDR2 및 서열번호 68의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0118] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 70의 VH CDR1, 서열번호 71의 VL CDR2 및 서열번호 72의 VL CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 74의 VL CDR1, 서열번호 75의 VL CDR2 및 서열번호 76의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0119] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 79의 VH CDR1, 서열번호 80의 VL CDR2 및 서열번호 81의 VL CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 84의 VL CDR1, 서열번호 85의 VL CDR2 및 서열번호 86의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0120] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 88의 VH CDR1, 서열번호 89의 VH CDR2 및 VH 서열번호 90의 VL CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 91의 VL CDR1, 서열번호 92의 VL CDR2 및 서열번호 93의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0121] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 131의 VH CDR1, 서열번호 132의 VL CDR2 및 서열번호 133의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 135의 VL CDR1, 서열번호 136의 VL CDR2 및 서열번호 137의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0122] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 147의 VH CDR1, 서열번호 148의 VH CDR2, 및 서열번호 149의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 152의 VL CDR1, 서열번호 153의 VL CDR2, 및 서열번호 154의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0123] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 147의 VH CDR1, 서열번호 148의 VH CDR2, 및 서열번호 149의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 326의 VL CDR1, 서열번호 327의 VL CDR2 및 서열번호 328의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0124] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 156의 VH CDR1, 서열번호 157의 VH CDR2, 및 서열번호 158의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 160의 VL CDR1, 서열번호 161의 VL CDR2, 및 서열번호 162의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0125] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 164의 VH CDR1, 서열번호 165의 VH CDR2 및 서열번호 166의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 168의 VL CDR1, 서열번호 169의 VL CDR2, 및 서열번호 170의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0126] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 172의 VH CDR1, 서열번호 173의 VH CDR2 및 서열번호 174의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 176의 VL CDR1, 서열번호 177의 VL CDR2, 및 서열번호 178의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0127] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 180의 VH CDR1, 서열번호 181의 VH CDR2 및 서열번호 182의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 184의 VL CDR1, 서열번호 185의 VL CDR2, 및 서열번호 186의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0128] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 188의 VH CDR1, 서열번호 189의 VH CDR2 및 서열번호 190의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 192의 VL CDR1, 서열번호 193의 VL CDR2, 및 서열번호 194의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0129] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 196의 VH CDR1, 서열번호 197의 VH CDR2 및 서열번호 198의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 200의 VL CDR1, 서열번호 201의 VL CDR2, 및 서열번호 202의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0130] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 204의 VH CDR1, 서열번호 205의 VH CDR2 및 서열번호 206의 VH

CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 208의 VL CDR1, 서열번호 209의 VL CDR2, 및 서열번호 210의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.

- [0131] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 212의 VH CDR1, 서열번호 213의 VH CDR2 및 서열번호 214의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 216의 VL CDR1, 서열번호 217의 VL CDR2, 및 서열번호 218의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0132] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 220의 VH CDR1, 서열번호 221의 VH CDR2 및 서열번호 222의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 224의 VL CDR1, 서열번호 225의 VL CDR2, 및 서열번호 226의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0133] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 228의 VH CDR1, 서열번호 229의 VH CDR2 및 서열번호 230의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 232의 VL CDR1, 서열번호 233의 VL CDR2, 및 서열번호 234의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0134] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 236의 VH CDR1, 서열번호 237의 VH CDR2 및 서열번호 238의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 240의 VL CDR1, 서열번호 241의 VL CDR2, 및 서열번호 242의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0135] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 244의 VH CDR1, 서열번호 245의 VH CDR2 및 서열번호 246의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 248의 VL CDR1, 서열번호 249의 VL CDR2, 및 서열번호 250의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0136] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 252의 VH CDR1, 서열번호 253의 VH CDR2 및 서열번호 254의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 256의 VL CDR1, 서열번호 257의 VL CDR2, 및 서열번호 258의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0137] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 260의 VH CDR1, 서열번호 261의 VH CDR2 및 서열번호 262의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 264의 VL CDR1, 서열번호 265의 VL CDR2, 및 서열번호 266의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0138] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 268의 VH CDR1, 서열번호 269의 VH CDR2 및 서열번호 270의 VH CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있으며, 서열번호 272의 VL CDR1, 서열번호 273의 VL CDR2, 및 서열번호 274의 VL CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다.
- [0139] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 도시되는 바와 같은 VH 및/또는 VL 영역의 아미노산 서열을 포함하는 항체이다.
- [0140] 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 인간 B-세포에 존재하는 중쇄 및 경쇄의 동족쌍의 보존을 특징으로 한다.
- [0141] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 1, 10, 18, 26, 35, 45, 53, 61, 69, 77, 87, 130, 138, 146, 155, 163, 171, 179, 187, 195, 203, 211, 219, 227, 235, 243, 251, 259 및 267로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 중쇄 가변 영역(VH)을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 6, 14, 22, 31, 40, 49, 57, 65, 73, 82, 122, 134, 142, 150, 151, 159, 167, 175, 183, 191, 199, 207, 215, 223, 231, 239, 247, 255, 263 및 271로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 서열번호 1, 10, 18, 26, 35, 45, 53, 61, 69, 77, 87, 130, 138, 146, 155, 163, 171, 179, 187, 195, 203, 211, 219, 227, 235, 243, 251, 259 및 267로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하고, 서열번호 6, 14, 22, 31, 40, 49, 57, 65, 73, 82, 122, 134, 142, 150, 151, 159, 167, 175, 183, 191, 199, 207, 215, 223, 231, 239, 247, 255, 263 및 271로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어진 경쇄 가변 영역(VL)을 추가로 포함한다. 특이적 실시형태에서, 항체는 서열번호 1의 VH 및 서열번호 6의 VL; 또는 서열번호 10의 VH 및 서열번호 14의 VL; 또는 서열번호 18의 VH 및 서열번호 22의 VL; 또는 서열번호 26의 VH 및 서열번호 31의 VL; 또는 서열번호 35의 VH 및 서열번호 40의 VL, 또는 서열번호 45의 VH 및 서열번호 49의 VL; 또는 서열번호 53의 VH 및 서열번호 57의 VL; 또는 서열번호 61의 VH 및 서열번호 65의 VL; 또는 서열번호 69의 VH 및 서열번호 73의 VL; 또는 서열번호 77의 VH 및 서열번호 82의 VL, 또는 서열번호 87의 VH 및 서열번호 122의 VL, 또는 서열번호 130의 VH 및 서열번호 134의 VL, 또는 서열번호 138의 VH 및 서열번호 142의 VL, 또는 서열번호 146의 VH 및 서열번호 150의 VL, 또는 서열번호 146의 VH

및 서열번호 151의 VL, 또는 서열번호 155의 VH 및 서열번호 159의 VL, 또는 서열번호 163의 VH 및 서열번호 167의 VL, 또는 서열번호 171의 VH 및 서열번호 175의 VL, 또는 서열번호 179의 VH 및 서열번호 183의 VL, 또는 서열번호 187의 VH 및 서열번호 191의 VL, 또는 서열번호 195의 VH 및 서열번호 199의 VL, 또는 서열번호 203의 VH 및 서열번호 207의 VL, 또는 서열번호 211의 VH 및 서열번호 215의 VL, 또는 서열번호 219의 VH 및 서열번호 223의 VL, 또는 서열번호 227의 VH 및 서열번호 231의 VL, 또는 서열번호 235의 VH 및 서열번호 239의 VL, 또는 서열번호 243의 VH 및 서열번호 247의 VL, 또는 서열번호 251의 VH 및 서열번호 255의 VL, 또는 서열번호 259의 VH 및 서열번호 263의 VL, 또는 서열번호 267의 VH 및 서열번호 271의 VL을 포함한다.

[0142] 대안적으로, 본 발명의 TDP-결합 분자는 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 도시된 바와 같은 V_H 및/또는 V_L 영역을 갖는 적어도 하나의 항체를 지니는 TDP-43에 결합을 위해 경쟁하는 항체(항체의 항원-결합 단편 또는 이의 유도체 또는 변이체를 포함)와 같은 폴리펩타이드이다. 해당 항체는 특히 치료적 적용을 위해 마찬가지로 인간일 수 있다. 대안적으로, 항체는 동물에서 진단 방법 및 효능 및 안전성 연구에 특히 유용한 뮤린, 뮤린화 된 또는 키메라 뮤린 인간 항체이다.

[0143] 본 명세서에 논의되는 바와 같이, 완전한 인간 항체의 TDP-43 에피토프는 항체가 인간 면역 반응의 결과로서 초기에 생성되었다는 사실에 기인하여 진단적 및 치료적 적용에 특히 적절하다. 따라서, 본 발명의 인간 완전 인간 단클론성 항체는 통상적인 면역화 및, 예를 들어 마우스 단클론성 항체 및 파지 디스플레이 라이브러리의 시험관내 선별으로부터 유래된 항체의 생성을 위한 다른 항체 선별 방법을 사용하여 특정 생리학적 적절성을 가지면서, 접근가능하지 않거나 또는 덜 면역원성일 수 있는 에피토프를 인식한다. 따라서, 본 발명은 또한 일반적으로 TDP-43에 특이적 결합을 위해 본 발명의 인간 단클론성 항체와 경쟁하는 항-TDP-43 항체 및 다른 TDP-43 결합 분자로 확장된다. 실시형태에 따르면, 항체, 또는 다른 TDP-43 결합 분자는 TDP-43과 결합을 위해 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 개시된 가변 도메인을 함유하는 항체와 경쟁한다. 다른 실시형태에서, 항체 또는 다른 TDP-43 결합 분자는 TDP-43과 결합을 위해 NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 기준 항체와 경쟁한다.

[0144] 본 발명은 또한 본 발명의 인간 단클론성 항체로서 TDP-43의 동일 에피토프에 결합되는 항-TDP-43 항체 및 다른 TDP-43 결합 분자를 포함한다. 실시형태에 따르면, 항체(TDP-43 결합 항체 단편 및 이의 변이체 또는 유도체를 포함) 또는 다른 TDP-43 결합 분자는 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 개시된 가변 도메인을 함유하는 항체로서 TDP-43의 동일 에피토프에 결합된다. 다른 실시형태에서, 항체(TDP-43 결합 항체 단편 및 이의 변이체 또는 유도체를 포함) 또는 다른 TDP-43 결합 분자는 NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 기준 항체로서 TDP-43의 동일 에피토프에 결합된다.

[0145] 다른 실시형태에서, 본 발명은 QYGDVMDVFIP(서열번호 123); AAIGWGSASNA(서열번호 124); DMTDELREFF(서열번호 125), EDENDEP(서열번호 126), VQVKKDL(서열번호 127), KEYFSTF(서열번호 128), IIKGISV(서열번호 315), NQSGPSG(서열번호 316), FNGGFGS(서열번호 317), FGNSRGGGAGL(서열번호 318), SNAGSGSGFNG(서열번호 319), QLERSGRFNG(서열번호 320), EIPSEDD(서열번호 321), FNGGFGSSMDS(서열번호 322) 및 SINPAMMAAAQAALQSSWGMMGLASQ(서열번호 323)로부터 선택된 TDP-43 폴리펩타이드에 특이적으로 결합되는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 폴리펩타이드 FGNSRGGGAGL(서열번호 318) 및 SNAGSGSGFNG(서열번호 319)에 특이적으로 결합되는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 폴리펩타이드 SINPAMMAAAQAALQSSWGMMGLASQ(서열번호 323)에 특이적으로 결합되지만, SINPGGAAAQAALQSSWGMMGLASQ(서열번호 314)에 특이적으로 결합되지 않는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함한다.

[0146] 항체 간의 경쟁은 분석에 의해 결정되며, 이때 시험 하의 면역글로블린은 TDP-43과 같은 보통의 항원에 기준 항체의 특이적 결합을 저해한다. 경쟁적 결합 분석의 다수 유형은 당업계에 공지되어 있고, 항원에 결합을 위해 경쟁하는 두 화합물의 능력을 시험하도록 일상적으로 적용되거나 또는 변형될 수 있다, 예컨대, 고체상 직접 또는 간접 방사면역분석(radioimmunoassay: RIA), 고체상 직접 또는 간접 효소면역분석(enzyme immunoassay:

EIA), 샌드위치 경쟁분석; 문헌[Stahli *et al.*, *Methods in Enzymology* 9 (1983), 242-253] 참조; 고체상 직접 바이오틴-아비딘 EIA; 문헌[Kirkland *et al.*, *J. Immunol.* 137 (1986), 3614-3619 및 Cheung *et al.*, *Virology* 176 (1990), 546-552] 참조; 고체상 직접 표지 분석, 고체상 직접 표지 샌드위치 분석; 문헌[Harlow and Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)] 참조; I¹²⁵ 표지를 사용하는 고체상 직접 표지 RIA; 문헌[Morel *et al.*, *Molec. Immunol.* 25 (1988), 7-15 및 Moldenhauer *et al.*, *Scand. J. Immunol.* 32 (1990), 77-82] 참조. 전형적으로, 이러한 분석은 고체 표면에 결합되는 정제된 TDP-43 또는 이의 응집물 또는 이들 중 하나를 함유하는 세포, 미표지 시험 면역글로불린 및 표지된 기준 면역글로불린, 예를 들어 본 발명의 인간 단클론성 항체의 사용을 수반한다. 경쟁적 저해는 시험 면역글로불린의 존재에서 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정함으로써 측정된다. 보통 시험 면역글로불린은 과량으로 존재한다. 일 실시형태에서, 경쟁적 결합 분석은 첨부되는 실시예에서 ELISA 분석을 위해 기재되는 바와 같은 조건 하에 수행된다. 경쟁 분석에 의해 확인되는 항체(경쟁하는 항체)는 기준 항체와 동일한 에피토프에 결합되는 항체 및 입체 장애가 생기는 기준 항체에 의해 결합된 에피토프에 충분히 근위인 인접한 에피토프에 결합된 항체를 포함한다. 보통, 경쟁 항체가 과량으로 존재할 때, 적어도 50% 또는 75%만큼 보통의 항원에 대해 기준 항체의 특이적 결합을 저해할 것이다. 따라서, 본 발명은 NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5로 이루어진 군으로부터 선택된 기준 항체에 의해 TDP-43에 대한 결합을 경쟁적으로 저해하는 경우, 항체(예를 들어, 항체의 항원-결합 단편)로 추가로 접근된다.

[0147] 본 발명은 본 명세서에 기재된 항체 분자(예를 들어, V_H 영역 및/또는 V_L 영역)의 변이체(유도체를 포함)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 항체를 제공하되, 항체는 TDP-43 폴리펩타이드 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합된다. 당업계에 공지된 표준 기법은, 예를 들어 부위 지정 돌연변이 유발 및 아미노산 치환을 야기하는 PCR-매개 돌연변이유발을 포함하는, 본 발명의 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에서 돌연변이를 도입하는데 사용될 수 있다. 바람직하게는, 변이체(유도체를 포함)는 기준 V_H 영역, V_HCDR1, V_HCDR2, V_HCDR3, V_L 영역, V_LCDR1, V_LCDR2 또는 V_LCDR3에 대해 50개 미만의 아미노산 치환, 40개 미만의 아미노산 치환, 30개 미만의 아미노산 치환, 25개 미만의 아미노산 치환, 20개 미만의 아미노산 치환, 15개 미만의 아미노산 치환, 10개 미만의 아미노산 치환, 5개 미만의 아미노산 치환, 4개 미만의 아미노산 치환, 3개 미만의 아미노산 치환, 또는 2개 미만의 아미노산 치환을 암호화한다.

[0148] 실시형태에 따르면, 본 발명은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공하되, 중쇄 가변 영역의 V_H-CDR 중 적어도 하나 또는 중쇄 가변 영역의 V_H-CDR 중 적어도 2개는 본 명세서에 개시된 항체로부터 기준 중쇄 V_H-CDR1, V_H-CDR2 또는 V_H-CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다. 대안적으로, V_H의 V_H-CDR1, V_H-CDR2 및 V_H-CDR3 영역은 본 명세서에 개시된 항체로부터 기준 중쇄 V_H-CDR1, V_H-CDR2 및 V_H-CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다. 따라서, 본 실시형태에 따르면, 본 발명의 중쇄 가변 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 표시된 기와 관련된 V_H-CDR1, V_H-CDR2 및 V_H-CDR3 폴리펩타이드 서열을 가진다. 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R은 카바트 시스템에 의해 정해진 V_H-CDR을 나타내지만, 다른 CDR 정의, 예를 들어, 코티아 시스템에 의해 정해진 V_H-CDR은 또한 본 발명에 포함되며, 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 제시된 데이터를 사용하여 당업자에 의해 용이하게 확인될 수 있다. 일 실시형태에서, 기준 V_H CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268이며; 기준 V_H CDR2의 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269이고; 기준 V_H CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270이다.

[0149] 다른 실시형태에서, 본 발명은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공하되, 이때 V_H-CDR1, V_H-CDR2 및 V_H-CDR3 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도

3A 내지 도 3R에 나타낸 V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 기에 대해 동일한 폴리펩타이드 서열을 가진다. 일 실시형태에서, VH CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268이며; 기준 VH CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269이고; 기준 VH CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270이다.

[0150] 다른 실시형태에서, 본 발명은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공하되, V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 영역은 어떤 하나의 V_H -CDR에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 제외하고, 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 기에 대해 동일한 폴리펩타이드 서열을 가진다. 특정 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적이다. 일 실시형태에서, VH CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268이고; 기준 VH CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269이며; 기준 VH CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270이다.

[0151] 다른 실시형태에서, 본 발명은 면역글로불린 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공하되, 경쇄 가변 영역의 V_L -CDR의 적어도 하나 또는 경쇄 가변 영역의 V_L -CDR의 적어도 2개는 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 경쇄 V_L -CDR1, V_L -CDR2 또는 V_L -CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다. 대안적으로, V_L 의 V_L -CDR1, V_L -CDR2 및 V_L -CDR3 영역은 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 V_L -CDR1, V_L -CDR2 또는 V_L -CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다. 따라서, 본 실시형태에 따르면 본 발명의 경쇄 가변 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 폴리펩타이드에 관한 V_L -CDR1, V_L -CDR2 및 V_L -CDR3 폴리펩타이드 서열을 가진다. 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R이 카바트 시스템에 의해 정해진 V_L -CDR을 나타내지만, 다른 CDR 정의, 예를 들어, 코티아 시스템에 의해 정해진 V_L -CDR이 또한 본 발명에 포함된다. 일 실시형태에서, 기준 VL CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326이고; 기준 VL CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327이며; 기준 VL CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328이다.

[0152] 다른 실시형태에서, 본 발명은 면역글로불린 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공하되, V_L -CDR1, V_L -CDR2 및 V_L -CDR3 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 V_L -CDR1, V_L -CDR2 및 V_L -CDR3 기와 동일한 폴리펩타이드 서열을 가진다. 일 실시형태에서, VL CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326이고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327이며; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328이다.

[0153] 다른 실시형태에서, 본 발명은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공하되, V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 영역은 어떤 하나의 V_L -CDR에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 제외하고, 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸

V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 기에 대해 동일한 폴리펩타이드 서열을 가진다. 특정 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적이다. 일 실시형태에서, VL CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326이고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327이며; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328이다.

[0154] 실시형태에 따르면, 본 발명은 면역글로블린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공하되, 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 중쇄 가변 영역(V_H) 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다. 따라서, 본 실시형태에 따르면, 본 발명의 중쇄 가변 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 중쇄 가변 영역에 관련된 폴리펩타이드 서열을 가진다. 일 실시형태에서, 기준 중쇄 가변 영역(V_H)의 아미노산 서열은 서열번호 1, 10, 18, 26, 35, 45, 53, 61, 69, 77, 87, 130, 138, 146, 155, 163, 171, 179, 187, 195, 203, 211, 219, 227, 235, 243, 251, 259 또는 267이다.

[0155] 다른 실시형태에서, 본 발명은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 기준 중쇄 가변 영역과 동일한 면역글로블린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 일 실시형태에서, 기준 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 서열번호 1, 10, 18, 26, 35, 45, 53, 61, 69, 77, 87, 130, 138, 146, 155, 163, 171, 179, 187, 195, 203, 211, 219, 227, 235, 243, 251, 259 및 267이다.

[0156] 다른 실시형태에서, 본 발명은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 제외하고, 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 기준 중쇄 가변 영역(V_H)에 대해 동일한 폴리펩타이드 서열을 가지는 면역글로블린 중쇄 가변 영역(V_H)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 특정 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적이다. 일 실시형태에서, 기준 중쇄 가변 영역 서열의 아미노산 서열은 서열번호 1, 10, 18, 26, 35, 45, 53, 61, 69, 77, 87, 130, 138, 146, 155, 163, 171, 179, 187, 195, 203, 211, 219, 227, 235, 243, 251, 259 또는 267이다.

[0157] 실시형태에 따르면, 본 발명은 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 경쇄 가변 영역(V_L) 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 면역글로블린 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 따라서, 본 실시형태에 따르면, 본 발명의 경쇄 가변 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 경쇄 가변 영역에 관한 폴리펩타이드 서열을 가진다. 일 실시형태에서, 기준 경쇄 가변 영역(V_L)의 아미노산 서열은 서열번호 6, 14, 22, 31, 40, 49, 57, 65, 73, 82, 122, 134, 142, 150, 151, 159, 167, 175, 183, 191, 199, 207, 215, 223, 231, 239, 247, 255, 263 및 271이다.

[0158] 다른 실시형태에서, 본 발명은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 기준 경쇄 가변 영역에 대해 동일한 면역글로블린 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 일 실시형태에서, 기준 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 서열번호 6, 14, 22, 31, 40, 49, 57, 65, 73, 82, 122, 134, 142, 150, 151, 159, 167, 175, 183, 191, 199, 207, 215, 223, 231, 239, 247, 255, 263 및 271이다.

[0159] 다른 실시형태에서, 본 발명은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 제외하고, 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 기준 경쇄 가변 영역(V_L)에 대해 동일한 폴리펩타이드 서열을 가지는 면역글로블린 경쇄 가변 영역(V_L)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 특정 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적이다. 일 실시형태에서, 기준 경쇄 가변 영역 서열의 아미노산 서열은 서열번호 6, 14, 22, 31, 40, 49, 57, 65, 73, 82, 122, 134, 142, 150, 151, 159, 167, 175, 183, 191, 199, 207, 215, 223, 231, 239, 247, 255, 263 및 271이다.

[0160] 면역글로블린 또는 그것의 암호화 핵산(예를 들어, cDNA)은 추가로 변형될 수 있다. 따라서, 추가 실시형태에서, 본 발명의 방법은 키메라 항체, 무린화된 항체, 단일쇄 항체, Fab-단편, 이중특이성 항체, 융합

항체, 표지 항체 또는 이들 중 어느 하나의 유사체 중 어느 하나를 포함한다. 대응되는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌[Harlow and Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor (1988)]에 기재되어 있다. 상기 항체의 유도체가, 예를 들어 파지 디스플레이 기법에 의해 얻어질 때, 비아코어(BIAcore) 시스템에서 사용되는 바와 같은 표면 플라즈몬 공명은 본 명세서에 기재된 항체 중 어느 하나의 에피토프와 동일한 에피토프에 결합되는 파지 항체의 효율성을 증가시키도록 사용될 수 있다(Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13). 키메라 항체의 생성은, 예를 들어 국제특허출원 공개 제W089/09622호에 기재되어 있다. 인간화된 항체의 생성 방법은, 예를 들어 유럽특허 EP-A1 0 239 400호 및 국제특허출원 공개 제W090/07861호에 기재되어 있다. 본 발명에 따라 이용되는 항체의 추가적인 공급원은 소위 이중 항체이다. 마우스에서 인간 유사 항체와 같은 이중 항체의 생성을 위한 일반적 원칙은, 예를 들어 국제특허출원 공개 제W091/10741호, 제W094/02602호, 제W096/34096호 및 제W0 96/33735호에 기재되어 있다. 상기 논의된 바와 같이, 본 발명의 항체는 예를 들어, Fv, Fab 및 F(ab)₂뿐만 아니라 단일 쇄를 포함하는 완전한 항체 이외의 다양한 형태로 존재할 수 있다; 예를 들어, 국제출원 공개 제W088/09344호 참조.

[0161] 본 발명의 항체 또는 그것의 대응되는 면역글로불린 쇄(들)는 당업계에 공지된 통상적인 기법을 사용하여, 예를 들어 아미노산 결실(들), 삽입(들), 치환(들), 첨가(들) 및/또는 재조합(들) 및/또는 당업계에 공지된 임의의 다른 변형(들)을 단독으로 또는 조합으로 사용함으로써 추가로 변형될 수 있다. 면역글로불린 쇄의 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 서열에서 이러한 변형을 도입하기 위한 방법은 당업자에게 잘 공지되어 있으며; 예를 들어, 문헌[Sambrook, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. 및 Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994)] 참조. 본 발명의 항체의 변형은 측쇄 변형, 백본 변형, 및 아세틸화, 하이드록실화, 메틸화, 아미드화 및 탄수화물 또는 지질 모이어티의 부착을 포함하는 N- 및 C-말단 변형, 보조인자 등을 포함하는, 하나 이상의 구성적 아미노산에서 화학적 및/또는 효소적 유도체화를 포함한다. 마찬가지로, 본 발명은 카복실 말단에서 면역자극 리간드와 같은 이종성 분자에 융합된 아미노 말단에서, 항체와 같은 본 발명의 TDP-43 결합 폴리펩타이드를 포함하는 키메라 단백질(즉, 융합 단백질)의 생성을 포함한다; 예를 들어, 대응되는 기술적 상세한 설명에 대해 국제출원 공개 제W000/30680호 참조.

[0162] 추가적으로, 본 발명은 TDP-43에 특이적으로 결합되는 펩타이드 및 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어 언급된 항체 중 어느 하나의 가변 영역의 CDR3 영역, 특히 중쇄의 CDR3를 함유하는데, 중쇄 CDR3(HCDR3)이 항원-항체 상호작용에서 더 큰 정도의 가변성 및 미세한 참여를 갖는 영역이라는 것이 빈번하게 관찰되었기 때문이다. 이러한 펩타이드 및 폴리펩타이드는 본 발명의 TDP-43 결합 분자를 생성하기 위한 재조합 수단에 의해 용이하게 합성되거나 또는 생성될 수 있다. 이러한 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 펩타이드는, 예를 들어 상업적으로 입수가능한 자동화된 펩타이드 합성기를 사용하여 합성될 수 있다. 또한 펩타이드는 발현 벡터 내로 펩타이드를 발현시키는 DNA를 도입하고, 발현 벡터를 지니는 세포를 형질전환시켜 펩타이드를 생성하는 것에 의한 재조합 기법에 의해 생성될 수 있다.

[0163] 따라서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 TDP-43 결합 분자의 하나 이상의 특성을 나타내는 항체(예를 들어, 항체의 TDP-43 결합 단편)와 같은 TDP-43 결합 분자에 관한 것이다. 예를 들어, 이러한 항체 및 결합 분자는, 예를 들어 본 명세서에 기재된 바와 같은 ELISA 또는 웨스턴 블롯 및 면역조직화학법에 의해 그것의 결합 특이성 및 친화도에 대해 시험될 수 있다; 예를 들어, 실시예 참조. 실시예 2에서 개시된 바와 같이, NI-205.3F10, NI-205.51C1, NI-205.21G2, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.87E7, NI-205.21G1, NI-205.68G5, NI-205.20A1, NI205.41D1, NI205.29E11, NI205.9E12, NI205.98H6, NI205.10D3, NI205.44B2, NI205.38H2, NI205.36D5, NI205.58E11, NI205.14H5, NI205.31D2, NI205.8F8, NI205.31C11, NI205.8C10, NI205.10H7, NI205.1A9, NI205.14W3 및 NI205.19G5의 절반의 최대 유효 농도(EC₅₀)는 하위 중간 나노몰 EC₅₀(0.18 내지17.2nM)에서 높은 친화도로 인간 TDP-43에 결합되는 직접 ELISA에 의해 인간 TDP-43에 대해 결정되었다.

[0164] 불멸화된 B 세포 또는 B 기억 세포의 배양물로부터 직접적으로 면역글로불린을 얻기 위한 대안으로서, 불멸화된 세포는 후속 발현 및/또는 유전적 조작을 위한 재정렬된 중쇄 및 경쇄 좌위의 공급원으로서 사용될 수 있다. 재정렬된 항체 유전자는 cDNA를 생성하기 위한 적절한 mRNA로부터 역전사될 수 있다. 원한다면, 중쇄 불변 영역은 상이한 아이소타입의 중쇄 불변 영역으로 교환되거나 또는 함께 제거될 수 있다. 가변 영역은 단일 쇄 Fv 영역을 암호화하도록 연결될 수 있다. 다수 Fv 영역은 하나 이상의 표적에 결합 능력을 부여하도록 연결될 수 있거

나 또는 키메라 중쇄 및 경쇄 조합이 사용될 수 있다. 일단 유전적 물질이 이용가능하면, 원하는 표적에 결합되는 능력을 보유하는 유사체의 설계는 간단하다. 항체 가변 영역의 클로닝 및 재조합 항체의 생성을 위한 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌[Gilliland *et al.*, *Tissue Antigens* 47 (1996), 1-20; Doenecke *et al.*, *Leukemia* 11 (1997), 1787-1792]에 기재되어 있다.

[0165] 일단 적절한 유전적 물질이 얻어지고, 원한다면, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 최소로 암호화하는 것을 포함하는 암호 서열인 유사체를 암호화하도록 변형된다면, 표준 재조합 숙주 세포 내로 형질감염될 수 있는 벡터 상에 함유된 발현 시스템 내로 삽입될 수 있다. 다양한 이러한 숙주 세포가 사용될 수 있지만; 효율적인 처리를 위해, 포유류 세포가 고려될 수 있다. 본 목적에 유용한 포유류 세포주는 CHO 세포, HEK 293 세포 또는 NSO 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0166] 그 다음에 항체 또는 유사체의 생성은 숙주 세포의 생상 및 암호 서열의 발현에 적절한 배양 조건 하에 변형된 재조합 숙주를 배양시킴으로써 착수된다. 그 다음에 항체는 배양물로부터 그것들을 단리시킴으로써 회수된다. 발현 시스템은 신호 펩타이드를 포함하도록 설계되며, 따라서 얻어진 항체는 배지 내로 분비되지만; 그러나, 세포내 생성이 또한 가능하다.

[0167] 상기에 따르면, 본 발명은 또한 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 본 발명의 동등한 결합 분자에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 상기 기재된 항체의 면역글로불린 쇄의 적어도 가변 영역을 암호화한다. 전형적으로, 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 상기 가변 영역은 상기 항체의 가변 영역의 V_H 및 /또는 V_L 의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다.

[0168] 당업자는 상기 기재한 가변 도메인을 갖는 항체의 가변 도메인이 원하는 특이성 및 생물학적 기능의 다른 폴리펩타이드 또는 항체의 구성을 위해 사용될 수 있다는 것을 용이하게 인식할 것이다. 따라서, 본 발명은 상기 기재한 가변 도메인 중 적어도 하나의 CDR을 포함하고, 유리하게는 첨부되는 실시예에 기재된 바와 같은 항체와 동일 또는 유사한 결합 특성을 실질적으로 갖는 폴리펩타이드 및 항체를 포함한다. 당업계에서 일반적으로 이해되는 바와 같이, 결합 친화도는 CDR 내에서 또는 카바트에 의해 정의되는 바와 같은 CDR과 부분적으로 중복되는 추가 변 루프 내에서(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196 (1987), 901-917) 아미노산 치환을 만드는 것에 의해 향상될 수 있다; 예를 들어, 문헌[Riechmann, *et al.*, *Nature* 332 (1988), 323-327] 참조. 따라서, 본 발명은 또한 항체에 관한 것이되, 언급된 CDR 중 하나 이상은 하나 이상 또는 2 이하의 아미노산 치환을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 제시된 바와 같은 가변 영역의 가변 영역의 2개 또는 모두 3개의 CDR을 그것의 면역글로불린 중 하나 또는 둘 다에 포함한다.

[0169] 본 발명의 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체, 또는 유도체)와 같은 결합 분자는 하나 이상의 효과기 기능을 매개하는 불변 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체 불변 영역에 보체의 C1 성분의 결합은 보체 시스템을 활성화시킬 수 있다. 보체의 활성화는 세포 병원체의 흡소닌작용 및 용해에서 중요하다. 성분의 활성화는 또한 염증성 반응을 자극하며, 또한 자가면역 과민반응에 수반될 수 있다. 추가로, 항체는 세포 상의 Fc 수용기에 결합되는 항체 Fc 영역 상의 Fc 수용기 결합 부위를 지니는 Fc 영역을 통해 다양한 세포 상의 수용기에 결합된다. IgG(감마 수용기), IgE(엡실론 수용기), IgA(알파 수용기) 및 IgM(뮤 수용기)를 포함하는 상이한 분류의 항체에 특이적인 다수의 Fc 수용기가 있다. 세포 표면 상에 Fc 수용기의 항체 결합은 빨아들임(engulfment) 및 항체-코팅 입자의 파괴, 면역 복합체의 클리어런스, 킬러 세포에 의한 항체-코팅 표적 세포의 용해(항체-의존적 세포-매개 세포독성, 또는 ADCC로 불림), 염증성 매개자의 방출, 태반 수송 및 면역글로불린 생성의 제어를 포함하는, 다수의 중요하고 다양한 생물학적 반응을 촉발한다.

[0170] 따라서, 본 발명의 특정 실시형태는 항체(항체 항원-결합 단편, 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 포함하되, 감소된 효과기 기능, 비공유적으로 이합체화하는 능력, TDP-43 응집 및 침착 부위에 편재되는 증가된 능력, 감소된 혈청 반감기, 또는 전체와 비교할 때 증가된 혈청 반감기, 거의 동일한 면역원성의 미변형 항체와 같은 원하는 생물학적 특성을 제공하는 한 적어도 불변 영역 도메인의 하나 이상의 분획은 치환되거나, 결실되거나 또 다르게는 변경되었다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 진단적 및 치료 방법에서 사용을 위한 특정 항체는 면역글로불린 중쇄에 대해 유사한 폴리펩타이드 쇄를 포함하지만, 하나 이상의 중쇄 도메인의 적어도 일부를 결여하는 도메인 결실 항체이다. 예를 들어, 특정 실시형태에서 본 발명의 항체는 CH2 도메인의 모두 또는 부분과 같은 변형된 항체의 불변 영역의 전체 도메인이 없다. 다른 실시형태에서, 예를 들어 진단적 또는 치료적 방법에서 유용한 본 발명의 항체는 글라이코실화를 제거하도록 변경된 불변 영역, 예를 들어, IgG 중쇄 불변 영역을 가지며, 본 명세서의 다른 곳에서 비글라이코실화된 또는 "agly" 항체로서 지칭된다. 이러한 "agly" 항체는, 예를 들어 불변 영역 내 공통 글라이코실화 부위(들)을 유전자조작하는 것을 포함하는 당업계에 공지된 다수의 기

법에 의해 또는 효소적으로 제조될 수 있다. 이론에 의해 구속되지 않고, "agly" 항체는 생체내 개선된 안전성 및 안정성 프로파일을 가질 수 있다. 원하는 효과기 기능을 갖는 비글라이코실화된 항체를 생성하는 방법은, 예를 들어 본 명세서에 전문이 참조로서 포함되는 국제출원 공개 제W02005/018572호에서 찾는다.

[0171] 본 명세서에 기재된 항원-결합 항체 단편 및 변이체를 포함하는 특정 항체에서, Fc 부분은 당업계에 공지된 기법을 사용하여 효과기 기능을 감소시키도록 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 불변 영역 도메인의 결실 또는 불활성화(점돌연변이 또는 다른 수단을 통해)는 순환되는 변형된 항체의 Fc 수용기 결합을 감소시킴으로써 TDP-43 국소화를 증가시킬 수 있다. 다른 경우에, 본 발명과 일치되는 불변 영역 변형은 보체 결합을 조정하며, 따라서 혈청 반감기 및 컨쥬게이트된 세포독소의 비특이적 결합을 감소시킬 수 있다. 불변 영역의 또 다른 변형은 증가된 항원 특이성 또는 항체 가요성에 기인하여 국소화를 향상시키는 이항화결합 또는 올리고당 모이머티를 변형시키는데 사용될 수 있다. 얻어진 생리학적 프로파일, 생체이용가능성 및 변형의 다른 생화학적 효과, 예컨대 TDP-43 국소화, 생체분포 및 혈청 반감기는 당업계에 공지된 기법을 사용하여 일상적으로 측정될 수 있다.

[0172] 본 명세서에 기재된 특정 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체에서, Fc 부분은, 예로서 Fc γ 수용기, LRP, 또는 Thy1 수용기를 통해 항체의 수용기-매개 엔도사이토시스를 향상시킴으로써 또는 살아있는 세포를 손상시키지 않고 그 안에 항체가 서플링되게 할 수 있는 것으로 언급되는 '초항체 기법(SuperAntibody Technology)'에 의해 항체의 세포내 섭취를 증가시키는 대안의 단백질 서열로 돌연변이되거나 또는 교환될 수 있다(Muller, S., *et al.*, Expert Opin. Biol. Ther. (2005), 237-241). 예를 들어, 항체 결합 영역의 융합 단백질의 생성 및 세포 표면 수용기의 동족 단백질 리간드 또는 TDP-43에 결합되는 특이적 서열을 지니는 이중-또는 다중-특이적 항체뿐만 아니라 세포 표면 수용기는 당업계에 공지된 기법을 사용하여 유전자조작될 수 있다.

[0173] 본 명세서에 기재된 항원-결합 단편, 변이체를 포함하는 특정 항체에서, Fc 부분은 대안의 단백질 서열로 돌연변이되거나 또는 교환될 수 있고, 또는 항체는 화학적으로 변형되어 그것의 혈액 뇌 장벽 침투를 증가시킬 수 있다.

[0174] 본 발명의 항체(예를 들어, 항체의 항원-결합 단편 및 이의 변이체 또는 유도체)의 변형된 형태는 당업계에 공지된 기법을 사용하여 전체 전구체 또는 모 항체로부터 만들어질 수 있다. 대표적인 기법은 본 명세서에서 더욱 상세하게 논의된다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 당업계에 공지된 기법을 사용하여 만들어지거나 또는 제조될 수 있다. 특정 실시형태에서, 항체(항체 단편 및 유도체를 포함)는 "제조합적으로 생성되고", 즉, 제조합 DNA 기법을 사용하여 생성된다. 항체 분자 또는 이의 단편을 만들기 위한 대표적인 기법은 본 명세서의 다른 곳에서 더욱 상세하게 논의된다.

[0175] 본 발명의 항체(항체의 항원-결합 단편 및 이의 변이체 혹은 유도체)는 또한, 예를 들어 항체에 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형되는 유도체를 포함하므로, 공유적 부착은 항체가 그것의 동족 에피토프에 특이적으로 결합되는 것을 방지하지 않는다. 예를 들어, 제한되지 않고, 항체 유도체는, 예를 들어 글라이코실화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질 분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질 등에 결합에 의해 변형된 항체를 포함한다. 수많은 화학적 변형 중 어떤 것은 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포밀화, 튜니카마이신의 대사적 합성 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 공지된 기법에 의해 수행될 수 있다. 추가적으로, 유도체는 하나 이상의 비고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0176] 특정 실시형태에서, 본 발명의 TDP-43 결합 분자는 치료되는 동물, 예를 들어 인간에서 해로운 면역 반응을 유발하지 않는 항체(항원-결합 단편, 이의 변이체, 또는 유도체를 포함)와 같은 폴리펩타이드이다. 특정 실시형태에서, 결합 분자, 예를 들어 본 발명의 항체(항체의 항원-결합 단편을 포함)은 환자, 예를 들어 인간 환자로부터 유래되고, 그들이 유래된 동일 종, 예를 들어 인간에서 후속적으로 사용되어 유해한 면역 반응의 발생을 완화시키거나 또는 최소화한다.

[0177] 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 탈면역화가 또한 사용될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, 용어 "탈면역화"는 T 세포 에피토프를 변형시키기 위한 항체의 변형을 포함한다; 예를 들어, 국제특허출원 W098/52976호 및 W000/34317호 참조. 예를 들어, 시작 항체로부터 V_H 및 V_L 서열이 분석되고, 인간 T 세포 에피토프는 상보적 결정 영역(CDR)에 대한 에피토프의 위치를 나타내는 각각의 V 영역 및 서열 내의 다른 중요한 잔기로부터 "맵핑"된다. T 세포 에피토프 맵으로부터의 개개의 T 세포 에피토프는 최종 항체의 활성을 변형시키는 낮은 위험을 지니는 대안의 아미노산 치환을 확인하기 위해 분석된다. 아미노산 치환의 조합을 포함 대안의 V_H 및 V_L 서열의 범위가 설계되며, 이들 서열은 후속적으로 본 명세서에 개시된 진단적 및 치료적 방법에서 사용을 위해 결

합 폴리펩타이드, 예를 들어 TDP-43-특이적 항체(이의 면역특이적 단편을 포함)의 범위 내로 포함된 다음, 기능에 대해 시험된다. 전형적으로, 12 내지 24개의 변이체 항체가 만들어지고, 시험된다. 변형된 V 및 인간 C 영역을 포함하는 완전한 중쇄 및 경쇄 유전자는 그 다음에 발현 벡터 내로 클로닝되고, 후속 플라스미드는 전체 항체의 생성을 위해 세포주 내로 도입된다. 그 다음에 항체는 적절한 생화학적 및 생물학적 분석과 비교되고, 최적의 변이체가 확인된다.

[0178] 단클론성 항체는 하이브리도마, 재조합체 및 파지 디스플레이 기법 또는 이들의 조합의 사용을 포함하는 당업계에서 공지된 다양한 기법을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 단클론성 항체는 당업계에 공지되고, 예를 들어 문헌[Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. (1988); Hammerling *et al.*, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* Elsevier, N.Y., 563-681 (1981)]에 교시된 것을 포함하는 하이브리도마 기법을 사용하여 생성될 수 있으며, 상기 참고문헌은 전문이 참조로서 포함된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "단클론성 항체"는 하이브리도마 기법을 통해 생성된 항체로 제한되지 않는다. 용어 "단클론성 항체"는 임의의 진핵세포, 원핵세포 또는 파지 클론을 포함하며, 그것에 의해 생성된 방법이 아닌, 단일 클론으로부터 유래된 항체를 지칭한다. 따라서, 용어 "단클론성 항체"는 하이브리도마 기법을 통해 생성된 항체로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 엡스타인-바르 바이러스에 의한 형질전환을 통해 불멸인 인간 B 세포로부터 유래된다. 명확함을 위해, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "단클론성 항체"는 숙주 유기체의 혈장으로부터 단리될 수 있는 내인성 항체를 포함하지 않는다.

[0179] 잘 공지된 하이브리도마 과정에서(Kohler *et al.*, *Nature* 256 (1975), 495), 상대적으로 짧게 생존하거나 또는 사멸되는 포유류로부터의 림프구, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 인간 괴형체로부터 유래된 B 세포는 불멸 종양 세포주 내에 융합되고(예를 들어, 골수종 세포주), 따라서 불멸이며, B 세포의 유전적으로 암호화된 항체를 생성할 수 있는 혼성 세포 또는 "하이브리도마"를 생성한다. 얻어진 혼성체는 단일 항체의 형성을 위해 특이적인 유전자를 포함하는 각 개체의 균주에 의한 선별, 희석 및 재생장에 의해 단일 유전자 균주로 분리된다. 그들은 원하는 항원에 대해 동종인 항체를 생성하며, 그것의 순수한 유전적 혈통에 대해 "단클론성"으로 칭해진다.

[0180] 따라서 제조된 하이브리도마 세포는 비융합, 모 골수종 세포의 성장 또는 생존을 저해하는 하나 이상의 물질을 함유할 수 있는 적합한 배양 배지 내에 씨딩되고 성장된다. 당업자는 하이브리도마의 형성, 선별 및 성장을 위한 시약, 세포주 및 배지가 다수의 공급원으로부터 상업적으로 입수가능하고, 표준화된 프로토콜이 잘 확립되어 있다는 것을 인식할 것이다. 일반적으로, 하이브리도마 세포가 성장되는 배양 배지는 원하는 항원에 대해 단클론성 항체의 생성을 분석한다. 하이브리도마 세포에 의해 생성되는 단클론성 항체의 결합 특이성은 본 명세서에 기재된 바와 같은 시험관내 분석, 예컨대 면역침전법, 방사면역측정법(RIA) 또는 효소 결합 면역흡착 분석법(ELISA)과 같은 시험관내 분석에 의해 결정된다. 원하는 특이성, 친화도 및/또는 활성의 항체를 생성하는 하이브리도마 세포가 확인된 후, 클론은 희석 과정을 제한함으로써 서브클로닝될 수 있고, 표준 방법에 의해 성장된다; 예를 들어, 문헌[Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press, pp 59-103 (1986)] 참조. 서브클론에 의해 분비되는 단클론성 항체는 배양 배지, 복수 또는 혈청으로부터 통상적인 정제 과정, 예컨대 단백질-A, 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 또는 친화도 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다는 것이 추가로 인식될 것이다.

[0181] 다른 실시형태에서, 림프구는 미세조작 및 단리된 가변 유전자에 의해 선택될 수 있다. 예를 들어, 말초혈액 단핵세포는 면역화되거나 또는 자연적 면역 포유류, 예를 들어 인간으로부터 단리될 수 있고, 시험관내에서 약 7 일 동안 배양될 수 있다. PBMC 배양물은 선별 기준을 충족시키는 특이적 IgG에 대해 선별될 수 있다. 양성 세포로부터의 세포가 단리될 수 있다. 개개의 Ig-생성 B 세포는 FACS에 의해 또는 보체-매개 용혈성 플라크 분석에서 그들을 확인함으로써 단리될 수 있다. Ig-생성 B 세포는 튜브 내로 미세조작될 수 있고, V_H 및 V_L 유전자는, 예를 들어 RT-PCR을 사용하여 증폭될 수 있다. V_H 및 V_L 유전자는 항체 발현 벡터 내로 클로닝될 수 있고, 발현을 위해 세포(예를 들어, 진핵 또는 원핵 세포) 내로 형질감염될 수 있다.

[0182] 대안적으로, 항체-생성 세포주는 당업자에게 잘 공지된 기법을 사용하여 선별되고, 배양될 수 있다. 이러한 기법은 다양한 실험 매뉴얼 및 주요 간행물에 기재되어 있다. 이 점에서, 이하에 기재되는 본 발명에서 사용에 적합한 기법은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된 부록을 포함하는 문헌[*Current Protocols in Immunology*, Coligan *et al.*, Eds., Green Publishing Associates and Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, New York (1991)]에 기재되어 있다.

- [0183] 특이적 에피토프를 인식하는 항체 단편은 공지된 기법에 의해 만들어질 수 있다. 예를 들어, Fab 및 F(ab')₂ 단편은 파파인(Fab 단편을 생성) 또는 펩신(F(ab')₂ 단편을 생성)과 같은 효소를 사용하여, 면역글로불린의 단백질 분해 절단에 의해 또는 재조합적으로 생성될 수 있다. F(ab')₂ 단편은 가변 영역, 경쇄 불변 영역 및 중쇄의 CH1 도메인을 함유한다. 이러한 단편은, 예를 들어 방사성동위원소와 같은 검출 시약에 면역글로불린의 면역특이적 부분을 결합시키는 단계를 수반하는 면역진단적 절차에서 사용에 충분하다.
- [0184] 본 명세서에 기재된 바와 같은 완전한 인간 항체는 인간 환자의 치료적 처치에 특히 바람직하다. 본 발명의 인간 항체는 연령 때문에 장애, 예를 들어 근위축성 측색 경화증 및/또는 전측두엽 변성이 발생할 위험이 있는 것으로 의심될 수 있는 노인 피험체 또는 장애를 지니지만, 대단히 안정한 질병 과정에 있는 환자로부터 단리된다. 그러나, 노인 건강체 및 무증상 피험체가 각각 더 정기적으로 더 젊은 피험체보다 보호적 항-TDP-43 항체 항체가 발생될 것으로 예상하는 것은 신중하여야 하지만, 더 젊은 피험체가 본 발명의 인간 항체를 얻기 위한 공급원으로도 사용될 수 있다. 이는 특히 TDP-43 단백질성 질병의 가족성 형태가 발생할 성향을 가지지만, 그들의 면역계 및 반응이 더 나이트 성인에서 더 효율적으로 기능하기 때문에 무증상으로 남아있는 더 젊은 환자에 대해 특히 적용된다.
- [0185] 본 발명의 항체는 특히 화학적 합성 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 재조합 발현 기법을 포함하는, 항체의 합성을 위해 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다.
- [0186] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 합성 불변 영역을 포함하되, 하나 이상의 도메인은 부분적으로 또는 전체적으로 결실된다("도메인-결실 항체"). 특정 실시형태에서, 양립가능한 변형된 항체는 도메인 결실 작제물 또는 변이체를 포함할 것이되, 전체 CH2 도메인은 제거되었다(ΔCH2 작제물). 다른 실시형태에 대해, 짧은 연결 펩타이드는 가변 영역에 대한 이동의 자유 및 가요성을 제공하기 위해 결실 도메인으로 치환될 수 있다. 당업자는 이러한 작제물이 항체의 이화작용 속도에 대한 CH2 도메인의 조절 특성에 기인하여 바람직할 수 있다는 것을 인식할 것이다. 도메인 결실 작제물은 IgG₁ 인간 불변 도메인을 암호화하는 벡터를 사용하여 유래될 수 있다. 예를 들어, 국제특허출원 W002/060955 및 W002/096948A2 참조. 이 벡터는 CH2 도메인을 결실시키도록 유전자조작되고, 도메인 결실 IgG₁ 불변 영역을 발현시키는 합성 벡터를 제공한다.
- [0187] 특정 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 미니바디이다. 미니바디는 본 명세서에 기재된 방법을 사용하여 만들어질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,837,821호 또는 국제출원 공개 제WO 94/09817호 참조.
- [0188] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체(예를 들어, 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체)는, 그것이 단량체 서브유닛 사이의 결합을 허용하는 한, 소수의 또는 심지어 하나의 아미노산의 결실 또는 치환을 갖는 면역글로불린 중쇄를 포함한다. 예를 들어, CH2 도메인의 선별 영역에서 단일 아미노산의 돌연변이는 Fc 결합을 실질적으로 감소시키는데 충분할 수 있고, 이에 의해 TDP-43 국소화를 증가시킬 수 있다. 유사하게, 효과기 기능(예를 들어, 보체 결합)을 제어하는 하나 이상의 불변 영역 도메인이 검출될 수 있다. 불변 영역의 이러한 부분적 결실은 항체의 선별된 특징(혈청 반감기)을 개선시킬 수 있는 반면, 대상 불변 영역 도메인 무결합과 관련된 다른 바람직한 기능을 남겨둔다. 게다가, 상기 시사한 바와 같이, 개시된 항체의 불변 영역은 얻어진 작제물의 프로파일을 향상시키는 하나 이상의 아미노산의 돌연변이 또는 치환을 통해 합성될 수 있다. 이 점에서 보존된 결합 부위(예를 들어, Fc 결합)에 의해 제공된 활성을 파괴할 수 있는 반면, 변형된 항체의 구성 및 면역원성 프로파일을 실질적으로 유지할 수 있다. 또 다른 실시형태는, 효과기 기능과 같은 바람직한 특징을 향상시키거나 또는 더 많은 세포독성 또는 탄수화물 부착을 제공하기 위해 하나 이상의 아미노산의 첨가를 포함한다. 이러한 실시형태에서, 선택된 불변 영역 도메인으로부터 유래된 구체적 서열을 삽입하거나 또는 복제하는 것은 바람직할 수 있다.
- [0189] 본 발명은 또한 항체 또는 이의 단편이 TDP-43에 면역특이적으로 결합된, 본 명세서에 기재된 항체 분자(예를 들어, V_H 영역 및/또는 V_L 영역)의 변이체(유도체를 포함)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 항체를 제공한다. 부위 지정 돌연변이유발 및 아미노산 치환을 야기하는 PCR-매개 돌연변이 유발을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 표준 기법이 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에서 돌연변이를 도입하기 위해 사용될 수 있다. 변이체(유도체를 포함)는 기준 V_H 영역, V_H-CDR1, V_H-CDR2, V_H-CDR3, V_L 영역, V_L-CDR1, V_L-CDR2 또는 V_L-CDR3에 대해 50개 미만의 아미노산 치환, 40개 미만의 아미노산 치환, 30개 미만

의 아미노산 치환, 25개 미만의 아미노산 치환, 20개 미만의 아미노산 치환, 15개 미만의 아미노산 치환, 10개 미만의 아미노산 치환, 5개 미만의 아미노산 치환, 4개 미만의 아미노산 치환, 3개 미만의 아미노산 치환 또는 2개 미만의 아미노산 치환을 암호화할 수 있다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 전하를 지니는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 유사한 전하를 지니는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 당업계에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 알기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전 극성 측쇄(예를 들어, 글라이신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)을 지니는 아미노산을 포함한다. 대안적으로, 돌연변이는 포화 돌연변이유발에 의하는 것과 같은 암호 서열의 모두 또는 부분을 따라 무작위로 도입될 수 있고, 얻어진 돌연변이체는 활성을 보유하는 돌연변이체를 확인하기 위한 생물학적 활성(예를 들어, TDP-43에 결합되는 능력)에 대해 선별될 수 있다.

[0190] 예를 들어, 항체 분자의 프레임워크 영역에서만 또는 CDR 영역에서만 돌연변이를 도입할 수 있다. 도입된 돌연변이는 침묵 또는 중성 미스센스 돌연변이일 수 있으며, 예를 들어 항원에 결합하는 항체의 능력에 대한 효과를 전혀 또는 거의 갖지 않고, 사실 일부 이러한 돌연변이는 어떤 아미노산 서열도 변성시키지 않는다. 이들 유형의 돌연변이는 코돈 사용빈도를 최적화하거나 또는 하이브리도마의 항체 생성을 개선시키는데 유용할 수 있다. 본 발명의 항체를 암호화하는 코돈-최적화된 암호 영역은 본 명세서의 다른 곳에 개시되어 있다. 대안적으로, 비-중성 미스센스 돌연변이는 항원에 결합하는 항체의 능력을 변성시킬 수 있다. 대부분의 침묵 및 중성 미스센스 돌연변이의 위치는 프레임워크 영역 내에 있을 가능성이 있지만, 대부분의 비중성 미스센스 돌연변이의 위치는, 이것이 절대적으로 필요하지 않음에도 불구하고 CDR 내에 있을 가능성이 있다. 당업자는 항원-결합 활성 내 변성 없음 또는 결합 활성의 변성과 같은 원하는 특성(예를 들어, 항원-결합 활성의 개선 또는 항체 특이성의 변화)을 지니는 돌연변이체 분자를 설계하고, 시험할 수 있다. 돌연변이유발 후, 암호화된 단백질은 일상적으로 발현될 수 있고, 암호화된 단백질의 기능적 및/또는 생물학적 활성(예를 들어, TDP-43의 적어도 하나의 에피토프에 면역특이적으로 결합되는 능력)은 본 명세서에 기재된 기법을 사용하거나 또는 당업계에 공지된 기법을 일상적으로 변형시킴으로써 결정될 수 있다.

[0191] 본 발명의 항-TDP-43 항체는 TDP-43 단백질성 질병의 임의의 생체내 또는 시험관내 모델을 사용하여 특성규명될 수 있다. 당업자는 본 발명의 항-TDP-43 항체가, 예를 들어 실시예 5에 기재된 TDP-43 단백질성 질병에 대한 동물 모델 중 어느 하나이지만, 이들로 제한되지 않는 TDP-43 단백질성 질병에 대한 마우스 모델에서 특성규명될 수 있다. 문헌[Wegorzewska *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106 (2009), 18809-14; Gurney *et al.*, Science 264 (1994), 1772-75; Shan *et al.*, Neuropharmacol. Letters 458 (2009), 70-74; Wils *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 106 (2010), 3858-63; Duchen and Strich, J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 31 (1968), 535-42; Dennis and Citron, Neuroscience 185 (2009), 745-50; Swarup *et al.*, Brain 134 (2011), 2610-2626; Igaz *et al.*, J Clin Invest. 121(2):726-38 (2011); Caccamo *et al.*, Am J Pathol. 180(1):293-302 (2012), Cannon *et al.*, Acta Neuropathol. 123(6):807-23 (2012), Custer *et al.*, Hum Mol Genet. 19(9):1741-55 (2010); 및 Tatom *et al.*, Mol. Ther. 17 (2009), 607-613].

[0192] 당업자는 TDP-43 단백질성 질병의 실험적 모델이 예방적 설정에서 사용될 수 있거나 또는 치료적 설정에서 사용될 수 있다는 것을 이해한다. 예방적 설정에서, 동물의 투약은 TDP-43 단백질성 질병 또는 이의 증상의 개시 전 시작된다. 예방적 설정에서, 본 발명의 항-TDP-43 항체는 TDP-43 단백질성 질병 또는 이의 증상의 개시를 예방하거나, 감소시키거나 또는 지연시키는 그것의 능력에 대해 평가된다. 치료적 설정에서, 동물의 투약은 TDP-43 단백질성 질병 또는 이의 증상의 개시 후 시작된다. 치료적 설정에서, 본 발명의 항-TDP-43 항체는 TDP-43 단백질성 질병 또는 이의 증상을 치료하거나, 감소시키거나 또는 완화시키기 위한 그것의 능력에 대해 평가된다. TDP-43 단백질성 질병의 증상은 실험 대상의 뉴런, 뇌, 척수, 뇌척수액 또는 혈청에서 병적 TDP-43 침착물의 축적, 병적 TDP-43 분포, 인산화된 TDP-43, 또는 불용성 TDP-43 분획을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. TDP-43 단백질성 질병의 어떤 동물 모델에서 긍정적인 예방적 또는 치료적 결과가 특정 항-TDP-43 항체가 실험적 모델 유기체 이외의 피험체에서 예방적 또는 치료적 목적을 위해 사용될 수 있고, 예를 들어 치료가 필요한 인간 피험체에서 TDP-43 단백질성 질병을 치료하기 위해 사용될 수 있다는 것을 당업자는 이해한다.

[0193] 일 실시형태에서, 본 발명의 항-TDP-43 항체는 TDP-43 단백질성 질병 마우스 모델 및 대응되는 대조군 야생형 마우스에 투여될 수 있다. 투여되는 항체는 본 발명의 무린화된 항체 또는 본 발명의 항체의 인간-무린 키메라일 수 있다. 항-TDP-43 항체는 당업계에 공지된 임의의 수단에 의해, 예를 들어 복강내, 두개내, 근육내, 정맥

내, 피하, 경구 및 에어로졸 투여에 의해 투여될 수 있다. 실험 동물은 항-TDP-43 항체 또는 대조군 조성물, 예컨대 PBS의 1, 2, 3, 4, 5 이상의 투약이 주어질 수 있다. 일 실시형태에서, 실험 동물은 항-TDP-43 항체의 1 또는 2회 투약이 투여될 것이다. 다른 실시형태에서, 동물은 몇 주 또는 몇 개월에 걸쳐 항-TDP-43 항체로 만성적으로 투약된다. 당업자는 실험 목적에 적합한 투약 요법, 예를 들어 급성 연구를 위한 투약 요법, 만성 연구를 위한 투약 요법, 독성 연구를 위한 투약 요법, 예방적 또는 치료적 연구를 위한 투약 요법을 용이하게 설계할 수 있다. 실험 동물의 특정 조직 구획, 예를 들어 이하에 제한되는 것은 아니지만, 혈청, 혈액, 뇌척수액, 뇌 조직에서 항-TDP-43 항체의 존재는 당업계에 잘 공지된 방법을 사용하여 확립될 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항-TDP-43 항체는 혈액 뇌 장벽을 침투할 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항-TDP-43 항체는 뉴런에 유입될 수 있다. 당업자는 항-TDP-43 항체 용량 및 투약 빈도를 조절함으로써 원하는 항-TDP-43 항체 농도가 실험 동물에서 유지될 수 있다는 것을 이해한다. TDP-43 단백질성 질병 모델에서 본 발명의 항-TDP-43 항체의 임의의 효과는 치료되는 동물 및 대조군 동물에서 TDP-43의 수준, 생화학적 특징 또는 분포를 비교함으로써 평가될 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 동물 모델에서 뇌 또는 척수 내 TDP-43 포함의 수준, 양 또는 농도를 감소시킬 수 있다. 항체는 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 90% 이상만큼 TDP-43 포함의 수준, 양 또는 농도를 감소시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 동물 모델에서 뇌 또는 척수 내 TDP-43 포함-양성 뉴런의 수 또는 빈도를, 예를 들어 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 90% 이상만큼 감소시킬 수 있다. 본 발명의 항체의 효과는 또한 항체 투여 후 TDP-43의 분포 및 생화학적 특성을 시험함으로써 평가될 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 동물 모델에서 뇌 또는 척수 내 세포질 TDP-43 단백질의 양 또는 농도를, 예를 들어 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 90% 이상만큼 감소시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체는 동물 모델에서 뇌 또는 척수 내 신경염 TDP-43 단백질의 양 또는 농도를, 예를 들어 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 90% 이상만큼 감소시킬 수 있다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 항체는 동물 모델에서 뇌 또는 척수 내 인산화된 TDP-43 단백질의 양 또는 농도를, 예를 들어 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 90% 이상만큼 감소시킬 수 있다. 인산화된 TDP-43은 p403/p404 및 p409/p410 과 같은 TDP-43의 병리학적으로 인산화된 형태에 특이적인 항체를 사용하여 검출될 수 있다. 문헌[Hasegawa *et al.*, *Ann Neurol*, 64(1):60-70 (2008)]. 본 발명의 항체는 동물 모델에서 혈액, 혈청 또는 뇌척수액 내 TDP-43 농도를, 예를 들어 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 90% 이상만큼 변경, 예를 들어 감소 또는 증가시킬 수 있다. 일 실시형태에서, 감소 또는 증가는 처리 전 존재하는 수준, 수, 빈도, 양 또는 농도와 비교되거나, 또는 미처리/대조군 처리 피험체에서 존재하는 수준, 수, 빈도, 양 또는 농도에 비교된다.

[0194] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 피험체에서 TDP-43 단백질성 질병의 적어도 하나의 증상의 개시를 방지하거나 또는 지연시킬 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 항체는 피험체에서 TDP-43 단백질성 질병의 적어도 하나의 증상을 감소시키거나 또는 제거할 수 있다. 증상은 병적 TDP-43 침착물, 인산화된 TDP-43 침착물, 또는 불용성 TDP-43 침착물의 형성일 수 있다. 증상은 또한 혈청, 혈액, 소변 또는 뇌척수액 내 TDP-43의 존재 또는 상승된 농도 또는 양일 수 있되, 상승된 농도 양은 건강한 피험체와 비교한다. 증상은 건강한 피험체와 비교한다. 증상은 신경학적 증상, 예를 들어 변경된 조건 미각 혐오, 변경된 맥락 공포 조건화, 기억 손상, 운동 기능의 손실일 수 있다. 일 실시형태에서, 기억 손상은 2시험 Y-미로 작업을 사용하여 평가된다. 일 실시형태에서, 적어도 하나의 증상은 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 50%, 70% 또는 90%만큼 감소된다. 다른 실시형태에서, 2시험 Y-미로 작업 비는 대조군 피험체에서보다 항체 처리 피험체에서 유의하게 더 높다. 특이적 실시형태에서, 2시험 Y-미로 작업 비는 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%만큼 증가된다. 다른 실시형태에서, 2시험 Y-미로 작업 비는 적어도 약 2배, 3배, 4배, 5배, 10배 또는 20배 더 높다. 본 발명은 본 명세서에 기재된 항-TDP-43 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 피험체에서 TDP-43 단백질성 질병의 적어도 하나의 증상의 개시를 방지하거나 또는 지연시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 본 명세서에 기재된 항-TDP-43 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 치료가 필요한 피험체에서 TDP-43 단백질성 질병의 적어도 하나의 증상을 감소시키거나 또는 제거하는 방법을 추가로 제공한다. 일 실시형태에서, 피험체는 실험적 유기체, 예컨대 이하에 제한되는 것은 아니지만 유전자이식 마우스이다. 일 실시형태에서, 피험체는 인간이다.

[0195] **III. 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드**

[0196] 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 미변형 RNA 또는 DNA 또는 변형된 RNA 또는 DNA일 수 있는 임의의 리보뉴클레오타이드 또는 폴리데옥시리보뉴클레오타이드로 구성될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 단일- 및 이중-가닥 DNA, 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 DNA, 단일- 및 이중-가닥 RNA, 및 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 RNA, 단일-가닥 또는 더 전형적으로는 이중-가닥 또는 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합

물일 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하는 혼성체 분자로 구성될 수 있다. 추가로, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 RNA 또는 DNA 또는 RNA와 DNA를 둘 다 포함하는 삼중-가닥 영역으로 구성될 수 있다. 항체(이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 또한 하나 이상의 변형된 염기 또는 안정성 또는 다른 이유로 변형된 DNA 또는 RNA 백본을 함유할 수 있다. "변형된" 염기는, 예를 들어 트리플화된 염기 및 흔치 않은 염기, 예컨대 이노신을 포함한다. 다양한 변형은 DNA 및 RNA로 만들어질 수 있고; 따라서, "폴리뉴클레오타이드"는 화학적으로, 효소적으로 또는 대사적으로 변형된 형태를 포괄한다.

[0197] 면역글로불린(예를 들어, 면역글로불린 중쇄 부분 또는 경쇄 부분)으로부터 유래된 폴리펩타이드의 비천연 변이체를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 뉴클레오타이드 치환, 면역글로불린의 뉴클레오타이드 서열 내로 첨가 또는 결실을 도입함으로써 생성될 수 있으므로, 하나 이상의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실은 암호화된 단백질 내로 도입된다. 돌연변이는 부위 지정 돌연변이유발 및 PCR-매개 돌연변이유발과 같은 표준 기법에 의해 도입될 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 하나 이상의 비필수 아미노산 잔기에서 만들어질 수 있다.

[0198] RNA는 본래 B 세포, 하이브리도마 세포로부터 또는 표준 기법, 예컨대 가돌리늄 아이소티오시아네이트 추출 및 침전 후 원심분리 또는 크로마토그래피에 의한 다른 형질전환된 세포로부터 단리될 수 있다. 바람직하다면, mRNA는 올리고 dT 셀룰로스 상의 크로마토그래피와 같은 표준 기법에 의해 전체 RNA로부터 단리될 수 있다. 적합한 기법은 당업계에서 친숙하다. 일 실시형태에서, 항체의 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 cDNA는 잘 공지된 방법에 따라 역전사효소 및 DNA 폴리머라제를 사용하여 동시에 또는 개별적으로 만들어질 수 있다. PCR은 공통 불변 영역 프라이머에 의해 또는 공개된 중쇄 및 경쇄 DNA 및 아미노산 서열에 기반한 더 특이적인 프라이머에 의해 개시될 수 있다. 상기 논의한 바와 같이, PCR은 또한 항체 경쇄 및 중쇄를 암호화하는 DNA를 단리시키기 위해 사용될 수 있다. 이 경우에, 라이브러리는 공통 프라이머 또는 더 거대한 상동성 프로브, 예컨대 인간 불변 영역 프로브에 의해 선별될 수 있다.

[0199] DNA, 전형적으로 플라스미드 DNA는 당업계에 공지된 기법을 사용하여 세포로부터 단리되고, 상세한 설명에 제시된 표준의 잘 공지된 기법, 예를 들어 재조합 DNA 기법에 관해 앞서 언급한 기준에 따라 제한 맵핑되고, 시퀀싱될 수 있다. 물론, DNA는 단리 과정 또는 후속 분석 동안 임의의 시점에 본 발명에 따라 합성될 수 있다.

[0200] 일 실시형태에서, 본 발명은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 암호화하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하되, 중쇄 가변 영역의 CDR 중 적어도 하나 또는 중쇄 가변 영역의 V_H -CDR 중 적어도 2개는 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 중쇄 V_H -CDR1, V_H -CDR2 또는 V_H -CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 98% 또는 99% 동일하다. 대안적으로, V_H 의 V_H -CDR1, V_H -CDR2 또는 V_H -CDR3 영역은 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 중쇄 V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 98% 또는 99% 동일하다. 따라서, 본 실시형태에 따르면, 본 발명의 중쇄 가변 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 폴리펩타이드 서열에 관한 V_H -CDR1, V_H -CDR2 또는 V_H -CDR3 폴리펩타이드 서열을 가진다. 일 실시형태에서, 기준 V_H CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268이며; 기준 V_H CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269이고; 기준 V_H CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166, 174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270이다. 일 실시형태에서, 본 발명은 면역글로불린 중쇄 가변 영역(V_H)을 암호화하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하되, V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 영역은 어떤 하나의 V_H -CDR에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 제외하고, 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에서 나타낸 V_H -CDR1, V_H -CDR2 및 V_H -CDR3 기의 폴리펩타이드 서열을 가진다. 특정 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적이다. 일 실시형태에서, V_H CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 3, 11, 19, 28, 37, 46, 54, 62, 70, 79, 88, 131, 139, 147, 156, 164, 172, 180, 188, 196, 204, 212, 220, 228, 236, 244, 252, 260 또는 268이고; V_H CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 4, 12, 20, 29, 38, 47, 55, 63, 71, 80, 89, 132, 140, 148, 157, 165, 173, 181, 189, 197, 205, 213, 221, 229, 237, 245, 253, 261 또는 269이며; V_H CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 서열번호 5, 13, 21, 30, 39, 48, 56, 64, 72, 81, 90, 133, 141, 149, 158, 166,

174, 182, 190, 198, 206, 214, 222, 230, 238, 246, 254, 262 또는 270이다.

[0201] 다른 실시형태에서, 본 발명은 면역글로블린 경쇄 가변 영역(V_L)을 암호화하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하되, 경쇄 가변 영역의 V_L -CDR 중 적어도 하나 또는 경쇄 가변 영역의 V_L -CDR 중 적어도 2개는 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 경쇄 V_L -CDR1, V_L -CDR2 또는 V_L -CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 98% 또는 99% 동일하다. 대안적으로, V_L 의 V_L -CDR1, V_L -CDR2 또는 V_L -CDR3 영역은 본 명세서에 개시된 항체로부터의 기준 경쇄 V_L -CDR1, V_L -CDR2 및 V_L -CDR3 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 98% 또는 99% 동일하다. 따라서, 본 실시형태에 따르면, 본 발명의 경쇄 가변 영역은 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에 나타낸 폴리펩타이드 서열에 관한 V_L -CDR1, V_L -CDR2 또는 V_L -CDR3 폴리펩타이드 서열을 가진다. 일 실시형태에서, 기준 VL CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326이고; 기준 VL CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327이며; 기준 VL CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328이다.

[0202] 다른 실시형태에서, 본 발명은 면역글로블린 경쇄 가변 영역(V_L)을 암호화하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공하되, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3 영역은 어떤 하나의 V_L -CDR에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 제외하고, 도 1A 내지 도 1K 및 도 3A 내지 도 3R에서 나타낸 V_L -CDR1, V_L -CDR2 및 V_L -CDR3 기의 폴리펩타이드 서열을 가진다. 특정 실시형태에서, 아미노산 치환은 보존적이다. 일 실시형태에서, VL CDR1의 아미노산 서열은 서열번호 7, 15, 23, 32, 42, 50, 58, 66, 74, 84, 91, 135, 143, 152, 160, 168, 176, 184, 192, 200, 208, 216, 224, 232, 240, 248, 256, 264, 272 또는 326이고; VL CDR2의 아미노산 서열은 서열번호 8, 16, 24, 33, 43, 51, 59, 67, 75, 85, 92, 136, 144, 153, 161, 169, 177, 185, 193, 201, 209, 217, 225, 233, 241, 249, 257, 265, 273 또는 327이며; VL CDR3의 아미노산 서열은 서열번호 9, 17, 25, 34, 44, 52, 60, 68, 76, 86, 93, 137, 145, 154, 162, 170, 178, 186, 194, 202, 210, 218, 226, 234, 242, 250, 258, 266, 274 또는 328이다.

[0203] 당업계에서 공지된 바와 같이, 두 폴리펩타이드 또는 두 폴리뉴클레오타이드 간의 "서열 동일성"은 하나의 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 아미노산 또는 핵산 서열을 제2 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 서열과 비교함으로써 결정된다. 본 명세서에서 논의될 때, 임의의 특정 폴리펩타이드가 다른 폴리펩타이드에 적어도 약 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 동일한지 여부는, 이하로 제한되지 않지만, BESTFIT 프로그램(위스콘신 서열 분석 패키지(Wisconsin Sequence Analysis Package), 유닉스용 버전 8, 제네틱 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group), 유니버시티 리서치 파크(University Research Park), 위스콘신주 53711 메디슨 사이언스 드라이브 575에 소재)과 같은 당업계에 공지된 방법 및 컴퓨터 프로그램/소프트웨어를 사용하여 결정될 수 있다. BESTFIT은 두 서열 사이의 최고 상동성 세그먼트를 발견하기 위해 문헌[Smith and Waterman, Advances in Applied Mathematics 2 (1981), 482-489]의 국소 상동성 알고리즘을 사용한다. 특정 서열이 본 발명에 따른 기준 서열과, 예를 들어 95% 동일한지 여부를 결정하기 위해 BESTFIT 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 사용할 때, 변수는 물론 동일성 백분율이 기준 폴리펩타이드 서열의 전장에 걸쳐 계산되고 기준 서열 내 아미노산의 전체 수의 5%까지의 상동성 값이 허용되도록 설정된다.

[0204] 본 발명의 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 표 3에 열거된 바와 같은 TDP-43 결합 항체의 V_H 또는 V_L 영역의 폴리뉴클레오타이드 서열을 가는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진다. 이 점에서, 당업자는 적어도 경쇄 및/또는 중쇄의 가변 도메인을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 면역글로블린 쇄 둘다의 또는 단지 하나의 가변 도메인을 암호화할 수 있다는 것을 용이하게 인식할 것이다.

표 3

[0205]

TDP-43 특이적 항체의 V_H 및 V_L 영역의 뉴클레오타이드 서열	
항체	가변 중쇄(V_H) 및 가변 경쇄(V_L)의 뉴클레오타이드 서열
NI-205.3F10	V_H 서열번호 95

	V _L	서열번호 96
NI-205.51C1	V _H	서열번호 97
	V _L	서열번호 98
NI-205.21G2	V _H	서열번호 99
	V _L	서열번호 100
NI-205.8A2	V _H	서열번호 101
	V _L	서열번호 102
NI-205.15F12	V _H	서열번호 103
	V _L	서열번호 104
NI-205.113C4	V _H	서열번호 105
	V _L	서열번호 106
NI-205.25F3	V _H	서열번호 107
	V _L	서열번호 108
NI-205.87E7	V _H	서열번호 109
	V _L	서열번호 110
NI-205.21G1	V _H	서열번호 111
	V _L	서열번호 112
NI-205.68G5	V _H	서열번호 113
	V _L	서열번호 114
NI-205.20A1	V _H	서열번호 115
	V _L	서열번호 116
NI205.41D1	V _H	서열번호 275
	V _L	서열번호 276
NI205.29E11	V _H	서열번호 277
	V _L	서열번호 278
NI205.9E12	V _H	서열번호 279
	V _L	서열번호 280
	V _L	서열번호 281
NI205.98H6	V _H	서열번호 282
	V _L	서열번호 283
NI205.10D3	V _H	서열번호 284
	V _L	서열번호 285
NI205.44B22	V _H	서열번호 286
	V _L	서열번호 287
NI205.38H2	V _H	서열번호 288
	V _L	서열번호 289
NI205.36D5	V _H	서열번호 290
	V _L	서열번호 291
NI205.58E11	V _H	서열번호 292

	V _L	서열번호 293
NI205.14H5	V _H	서열번호 294
	V _L	서열번호 295
NI205.31D2	V _H	서열번호 296
	V _L	서열번호 297
NI205.8F8	V _H	서열번호 298
	V _L	서열번호 299
NI205.31C11	V _H	서열번호 300
	V _L	서열번호 301
NI205.8C10	V _H	서열번호 302
	V _L	서열번호 303
NI205.10H7	V _H	서열번호 304
	V _L	서열번호 305
NI205.1A9	V _H	서열번호 306
	V _L	서열번호 307
NI205.14W3	V _H	서열번호 308
	V _L	서열번호 309
NI205.19G5	V _H	서열번호 310
	V _L	서열번호 310

- [0206] 일 실시형태에서, 본 발명은 기준 중쇄 V_H에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 98% 또는 99% 또는 95% 동이한 변역글로불린 중쇄 가변 영역을 암호화하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 일 실시형태에서, 기준 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 서열번호 1, 10, 18, 26, 35, 45, 53, 61, 69, 77, 87, 130, 138, 146, 155, 163, 171, 179, 187, 195, 203, 211, 219, 227, 235, 243, 251, 259 또는 267이다.
- [0207] 일 실시형태에서, 본 발명은 기준 경쇄 V_L에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 98% 또는 99% 또는 95% 동이한 변역글로불린 경쇄 가변 영역을 암호화하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 일 실시형태에서, 기준 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 서열번호 6, 14, 22, 31, 40, 49, 57, 65, 73, 82, 122, 134, 142, 150, 151, 159, 167, 175, 183, 191, 199, 207, 215, 223, 231, 239, 247, 255, 263 또는 271이다.
- [0208] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 단편을 포함한다. 바람직하게는, TDP-43에 결합되는 폴리펩타이드를 암호화한다. 추가적으로, 본 명세서에 기재된 바와 같은 융합 폴리뉴클레오타이드, Fab 단편 및 다른 유도체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 또한 본 발명에 의해 고려된다.
- [0209] 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 공지된 임의의 적절한 방법에 의해 생성되거나 또는 제조될 수 있다. 예를 들어, 항체의 뉴클레오타이드 서열이 공지된다면, 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는, 예를 들어 문헌 [Kutmeier *et al.*, *BioTechniques* 17 (1994), 242]에 기재된 바와 같은 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드로부터 조립될 수 있는데, 이는 요약하면, 항체를 암호화하는 서열의 부분을 함유하는 중복 올리고뉴클레오타이드의 합성, 해당 올리고뉴클레오타이드의 어닐링 및 절찰, 그 다음에 절찰된 올리고뉴클레오타이드의 PCR에 의한 증폭을 수반한다.
- [0210] 대안적으로, 항체(항체의 항원-결합 단편, 또는 이의 변이체 혹은 유도체를 포함)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 적합한 공급원으로부터의 핵산으로부터 만들어질 수 있다. 특정 항체를 암호화하는 핵산을 함유하는 클론이 이용가능하지 않지만, 항체 분자의 서열이 공지되어 있다면, 항체를 암호화하는 핵산은 적합한 공급원(예

를 들어, 항체 cDNA 라이브러리 또는 항체를 발현시키기 위해 선택된 하이브리도마 세포와 같은 TDP-43-특이적 항체를 발현시키는 임의의 조직 또는 세포로부터 단리된 polyA⁺ RNA와 같은 핵산으로부터 생성된 cDNA 라이브러리)으로부터 서열의 3' 및 5' 단부에 혼성화가능한 합성 프라이머를 사용하여 PCR 증폭에 의해 또는, 예를 들어 항체를 암호화하는 cDNA 라이브러리로부터 cDNA 클론을 확인하기 위한 특정 유전자 서열에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프로브를 클로닝시킴으로써 화학적으로 합성되거나 또는 얻어질 수 있다. 그 다음에 PCR에 의해 생성된 증폭된 핵산은 당업계에 잘 공지된 임의의 방법을 사용하여 복제가능한 클로닝 벡터 내로 클로닝될 수 있다.

[0211] 일단 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체의 뉴클레오타이드 서열 및 대응되는 아미노산 서열이 결정되면, 그것의 뉴클레오타이드 서열은 뉴클레오타이드 서열의 조작을 위해 당업계에 잘 공지된 방법, 예를 들어, 재조합 DNA 기법, 부위 지정 돌연변이유발, PCR 등(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된 문헌[Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990) 및 Ausubel et al., eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1998)]에 기재된 기법 참조)을 사용하여 조작되어 상이한 아미노산 서열을 갖는 항체를 갖는 항체를 만들 수 있고, 예를 들어 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 만들 수 있다.

[0212] **IV. 항체 폴리펩타이드의 발현**

[0213] 본 발명의 항체(항체의 항원-결합 단편, 또는 이의 변이체 또는 유도체를 포함)를 제공하기 위한 단리된 유전적 물질의 조작 후, 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 전형적으로 원하는 양의 항체를 생성하기 위해 사용될 수 있는 숙주 세포 내로 도입을 위해 발현 벡터 내로 삽입된다. 항체 또는 이의 단편, 예를 들어 유도체 또는 유사체의 재조합 발현, 표적 분자에 결합된 항체의 중쇄 또는 경쇄는 본 명세서에 기재된다. 일단 본 발명의 항체 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 항체 또는 이의 부분의 중쇄 또는 경쇄(바람직하게는 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 함유)가 얻어지면, 항체 분자의 일부에 대한 벡터는 당업계에 잘 공지된 기법을 사용하여 재조합 DNA 기법에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 뉴클레오타이드 서열을 암호화하는 항체를 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시킴으로써 단백질을 제조하는 방법은 본 명세서에 기재된다. 당업자에게 잘 공지된 방법은 항체 암호 서열 및 적절한 전사 및 번역 제어 신호를 함유하는 발현 벡터를 구성하기 위해 사용될 수 있다. 이들 방법은, 예를 들어 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전자 재조합을 포함한다. 따라서 본 발명은 프로모터에 작동가능하게 연결된 본 발명의 항체 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제가능한 벡터 또는 이의 중쇄 또는 경쇄 또는 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 제공한다. 이러한 벡터는 항체 분자의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있으며(예를 들어 국제특허출원 WO 86/05807호; 및 미국 특허 제5,122,464호 참조), 항체의 가변 도메인은 전체 중쇄 또는 경쇄의 발현을 위해 이러한 벡터 내로 클로닝될 수 있다.

[0214] 용어 "벡터" 또는 "발현 벡터"는 숙주 세포 내에 원하는 유전자를 도입하거나 발현시키기 위한 비히클로서 본 발명에 따라 사용되는 벡터를 의미하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 당업자에게 공지된 바와 같이, 이러한 벡터는 플라스미드, 파지, 바이러스 및 레트로바이러스로 이루어진 군으로부터 용이하게 선택될 수 있다. 일반적으로, 본 발명과 양립가능한 벡터는 원하는 유전자의 클로닝을 가능하게 하는 적절한 제한 부위 및 진핵 또는 원핵 세포에 들어가고/가거나 복제되는 능력, 선택마커를 포함할 것이다. 본 발명의 목적을 위해, 수많은 발현 벡터 시스템이 사용될 수 있다. 예를 들어, 벡터 중 한 분류는 동물 바이러스, 예컨대 소 유두종 바이러스, 폴리오마 바이러스, 아데노바이러스, 백시니아 바이러스, 바칼로바이러스, 레트로바이러스(RSV, MMTV 또는 MOMLV) 또는 SV40 바이러스로부터 유래되는 DNA 구성요소를 이용한다. 다른 것은 내부 리보솜 결합 부위에 의한 다시트론성(polycistronic) 시스템의 사용을 수반한다. 추가적으로, DNA를 그것의 염색체 내로 통합시킨 세포는 형질감염된 숙주 세포를 선별시키는 하나 이상의 마커를 도입함으로써 선택될 수 있다. 마커는 영양요구성 숙주, 살생물제 내성(예를 들어, 항생제) 또는 구리와 같은 중금속에 대한 내성에 대해 원영양성(prototrophy)을 제공할 수 있다. 선택마커는 발현되는 DNA 서열에 직접 연결되거나 또는 공동 형질전환에 의해 동일 세포 내로 도입될 수 있다. 또한 mRNA의 최적 합성을 위해 추가적인 구성요소가 첨가될 수 있다. 이들 구성요소는 신호 서열, 분할 신호뿐만 아니라 전사 프로모터, 인핸서 및 종결 신호를 포함할 수 있다.

[0215] 특정 실시형태에서, 클로닝된 가변 영역 유전자는 상기 논의한 바와 같은 중쇄 및 경쇄 불변 영역 유전자(예를 들어, 인간)와 함께 발현 벡터 내로 삽입된다. 일 실시형태에서, 이는 미국 특허 제6,159,730호에 개시된 NEOSPLA로서 지칭되는 Biogen IDEC, Inc.의 등록상표 발현 벡터를 사용하여 달성된다. 이 벡터는 거대세포 바이러스 프로모터/인핸서, 마우스 베타 글로빈 주요 프로모터, SV40 복제원점, 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 서열,

네오마이신 포스포트랜스퍼라제 엑손 1 및 엑손 2, 다이하이드로엽산 환원효소 유전자 및 리더서열을 함유한다. 이 벡터는 가변 및 불변 영역 유전자의 포함 시 항체의 매우 고수준의 발현, CHO 세포 내 형질감염 그 다음에 배지 및 메토티렉세이트 증폭을 함유하는 G418 내 선별을 야기하는 것으로 발견되었다. 물론, 진핵 세포 내 발현을 유발할 수 있는 임의의 발현 벡터는 본 발명에서 사용될 수 있다. 적합한 벡터의 예는, 플라스미드 pcDNA3, pHCMV/Zeo, pCR3.1, pEF1/His, pIND/GS, pRc/HCMV2, pSV40/Zeo2, pTRACER-HCMV, pUB6/V5-His, pVAX1 및 pZeoSV2(캘리포니아주 샌디에고에 소재한 인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수가능), 및 플라스미드 pCI(위스콘신주 메디슨에 소재한 프로메가(Promega)로부터 입수가능)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일반적으로, 면역글로블린 중쇄 및 경쇄가, 예를 들어 로봇식 시스템에 의해 수행될 수 있는 일상적인 실험이라면 적절하게 고수준을 발현시키는 것에 대해 매우 다수의 형질전환된 세포를 선별한다. 벡터 시스템은 또한 미국 특허 제5,736,137호 및 제5,658,570호에서 교시되며, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다. 이 시스템은 고발현 수준, 예를 들어 > 30 pg/세포/일을 제공한다. 다른 예시적인 벡터 시스템은, 예를 들어 미국 특허 제6,413,777호에 개시되어 있다.

[0216] 다른 실시형태에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 본 명세서에 전문이 포함된 미국특허 출원 공개 제2003-0157641 A1호에 개시되어 있는 것과 같은 다시스트론성 작제물을 사용하여 발현될 수 있다. 이들 발현 시스템에서, 항체의 중쇄 및 경쇄와 같은 관심 대상의 다중 유전자 산물은 단일 다시스트론성 작제물로부터 생성될 수 있다. 이들 시스템은 유리하게는 내부 리보솜 유입 부위(internal ribosome entry site: IRES)를 사용하여 상대적으로 고수준의 항체를 제공한다. 양립가능한 IRES 서열은 또한 본 명세서에 포함된 미국 특허 제6,193,980호에 개시되어 있다. 당업자는 이러한 발현 시스템이 본 출원에 개시되어 있는 항체의 전체 범위를 효과적으로 만들기 위해 사용될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[0217] 더 일반적으로는, 일단 항체의 단량체 서브유닛을 암호화하는 벡터 또는 DNA 서열이 제조되었으면, 발현 벡터는 적절한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 숙주 세포 내로 플라스미드의 도입은 당업계에 잘 공지된 다양한 기법에 의해 수행될 수 있다. 이들은, 예를 들어, Fugene 또는 리포펙타민을 사용하는 지질형질감염(lipotransfection)을 포함하는 형질감염, 프로토플라스트 융합, 인산칼슘 침전, DNA로 피복된 세포 융합, 미세주입법 및 무결합 바이러스로 감염을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 전형적으로, 숙주 내로 플라스미드 도입은 표준 인산칼슘 공동 침전 방법을 통한다. 발현 작제물을 은닉하는 숙주 세포는 경쇄 및 중쇄의 생성에 적절한 조건 하에 성장되고, 중쇄 및/또는 경쇄 단백질 합성을 위해 분석된다. 대표적인 분석 기법은 효소-결합 면역흡착 분석법(ELISA), 방사면역측정법(RIA), 형광-활성화 세포 선별 분석법(FACS), 면역조직화학법 등을 포함한다.

[0218] 발현 벡터는 통상적인 기법에 의해 숙주 세포 내로 전달되고, 그 다음에 형질감염된 세포는 통상적인 기법에 의해 배양되어 본 명세서에 기재된 방법에서 사용을 위한 항체를 생성한다. 따라서, 본 발명은 이중성 프로모터에 작동가능하게 연결된 본 발명의 항체를 또는 이의 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 숙주 세포를 포함한다. 이중쇄 항체의 발현에 대한 특정 실시형태에서, 중쇄와 경쇄를 둘 다 암호화하는 벡터는 이하에 상술하는 바와 같은 전체 면역글로블린 분자의 발현을 위해 숙주 세포 내로 삽입될 수 있다.

[0219] 숙주 세포는 본 발명의 두 발현 벡터, 즉 중쇄 유래 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 벡터와 경쇄 유래 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 벡터 내로 공동형질감염될 수 있다. 두 벡터는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드의 동일한 발현을 가능하게 하는 동일한 선택마커를 함유할 수 있다. 대안적으로, 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드를 둘 다 암호화하는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 이러한 상황에서, 경쇄는 유리하게는 중쇄 앞에 위치되어 과량의 독성 유리 중쇄를 피한다; 문헌[Proudfoot, Nature 322 (1986), 52; Kohler, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980), 2197] 참조. 중쇄 및 경쇄에 대한 암호 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다.

[0220] 본 명세서에 사용된 바와 같은, "숙주 세포"는 재조합 DNA 기법을 사용하고 적어도 하나의 이중성 유전자를 암호화하여 구성된 벡터를 은닉하는 세포를 지칭한다. 재조합 숙주로부터 항체의 단리를 위한 공정의 설명에서, 용어 "세포" 및 "세포 배양물"은 달리 명확하게 구체화되지 않는다면, 항체의 공급원을 나타내기 위해 상호호환적으로 사용된다. 다시 말해서, "세포"로부터 폴리펩타이드의 회수는 스피ندا운된 전체 세포로부터 또는 배지와 현탁된 세포 둘 다를 함유하는 세포 배양물로부터의 회수를 의미할 수 있다.

[0221] 다양한 숙주-발현 벡터 시스템은 본 명세서에 기재된 방법에서 사용을 위해 항체 분자를 발현시키는데 이용될 수 있다. 이러한 숙주-발현 시스템은 관심 대상의 암호 서열이 생성되고 후속적으로 정제될 수 있는 비히클을 나타내지만, 또한 적절한 뉴클레오타이드 암호 서열로 형질전환되거나 또는 형질감염될 때 인시츄로 본 발명의 항체 분자를 발현시킬 수 있는 세포를 나타낸다. 이들은 항체 암호 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA,

플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질감염된 박테리아(예를 들어, 이콜라이, 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*))로 형질전환된 박테리아와 같은 미생물유기체; 항체 암호 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질감염된 효모(예를 들어, 사카로마이세스 피키아(*Saccharomyces, Pichia*)); 항체 암호 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 바콜로바이러스)로 감염된 곤충세포계; 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 꽃양배추 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 또는 항체 암호서열을 함유하는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들어, Ti 플라스미드)로 형질감염된 식물 세포계; 또는 포유류 세포의 게놈으로부터 유래된 프로모터(예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유류 바이러스로부터 유래된 프로모터(예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)로부터 유래된 프로모터를 함유하는 재조합 발현 작제물을 은닉하는 포유류 세포계(예를 들어, COS, CHO, NSO, BLK, 293, 3T3 세포)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위한 에스캐리키아 콜라이와 같은 박테리아 세포 또는 진핵 세포는 재조합 항체 분자의 발현을 위해 사용된다. 예를 들어, 인간 거대세포 바이러스로부터의 주요 중간체 조기 유전자 프로모터 구성요소와 같은 벡터와 함께 중국 햄스터 난소(Chinese Hamster Ovary: CHO) 세포와 같은 포유류 세포는 항체에 대해 효과적인 발현 시스템이다; 예를 들어, 문헌 [Foecking *et al.*, Gene 45 (1986), 101; Cockett *et al.*, Bio/Technology 8 (1990), 2] 참조.

[0222] 본 발명의 TDP-43 결합 분자의 단백질 발현을 위해 사용되는 숙주 세포주는 종종 포유류 유래이며; 당업자는 원하는 유전자 산물이 발현되는데 가장 적합한 특정 숙주 세포주를 결정하는 능력을 신뢰한다. 예시적인 숙주 세포주는, CHO(중국 햄스터 난소), DG44 및 DUXB11(중국 햄스터 난소 계열, DHFR 마이너스), HELA(인간 자궁암종), CVI(원숭이 신장 계열), COS(SV40 T 항원을 지니는 CVI의 유도체), VERY, BHK(새끼 햄스터 신장), MDCK, WI38, R1610(중국 햄스터 섬유아세포) BALBC/3T3(마우스 섬유아세포), HAK(햄스터 신장 계열), SP2/0(마우스 골수종), P3x63-Ag3.653(마우스 골수종), BFA-1c1BPT(소 내피 세포), RAJI(인간 림프구) 및 293(인간 신장)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 구체적 실시형태에서, 숙주 세포주는 CHO 또는 293 세포이다. 숙주 세포주는 전형적으로 상업적 서비스 기관인 미국 미생물보존센터(American Tissue Culture Collection) 또는 공개된 문헌으로부터 입수가 가능하다.

[0223] 추가로, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나 또는 원하는 특이적 형식으로 유전자 산물을 변형하고, 처리하는 숙주 세포 균주가 선택될 수 있다. 단백질 산물의 이러한 변형(예를 들어, 글라이코실화) 및 처리(예를 들어, 절단)은 단백질의 기능에 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포는 번역 후 처리 및 단백질 및 유전자 산물의 변형을 위한 특징적 및 특이적 메커니즘을 가진다. 적절한 세포주 또는 숙주 시스템은 발현되는 외래 단백질의 정확한 변형 및 처리를 보장하도록 선택될 수 있다. 이를 위하여, 유전자 산물의 1차 전사, 글라이코실화 및 인산화의 적절한 처리를 위한 세포 기작을 소유하는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다.

[0224] 재조합 단백질의 장기간 고수율 생성을 위해, 안정한 발현이 사용된다. 예를 들어, 항체 분자를 안정하게 발현시키는 세포주는 유전자 조작될 수 있다. 바이러스 복제원점을 함유하는 발현 벡터를 사용하는 것보다, 숙주 세포는 적절한 발현 제어 구성요소(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등) 및 선택마커에 의해 제어되는 DNA로 형질전환될 수 있다. 외래 DNA의 도입 후, 유전자조작된 세포는 풍부한 배지 내에서, 예를 들어 1 내지 2일 동안 성장된 다음, 선택적 배지로 전환된다. 재조합 플라스미드 내 선택마커는 선택에 내성을 부여하며, 세포는 플라스미드를 그것의 염색체 내로 안정하게 도입되게 하며, 차례로 클로닝되고 세포주로 확장될 수 있는 좌위를 형성하도록 성장한다. 이 방법은 항체 분자를 안정하게 발현시키는 세포주를 유전자 조작하기 위해 유리하게 사용될 수 있다.

[0225] 단순 헤르페스 바이러스 티미딘 키나제(Wigler *et al.*, Cell 11 (1977), 223), 하이포크산틴-구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Szybalska & Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48 (1992), 202) 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Lowy *et al.*, Cell 22 (1980), 817) 유전자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다수의 선별 시스템이 사용될 수 있으며, 이들은 각각 tk-, hgprrt- 또는 aprt-세포에서 사용될 수 있다. 또한, 항-대사산물 내성은 다음의 유전자에 대한 선별 기준으로서 사용될 수 있다: 메토타렉세이트에 내성을 부여하는 dhfr(Wigler *et al.*, Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980), 357; O'Hare *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1981), 1527); 마이코페놀산에 내성을 부여하는 gpt(Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1981), 2072); 아미노글라이코사이드 G-418에 내성을 부여하는 neo 문헌[Goldspiel *et al.*, Clinical Pharmacy 12 (1993), 488-505; Wu and Wu, Biotherapy 3 (1991), 87-95; Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32 (1993), 573-596; Mulligan, Science 260 (1993), 926-932; 및 Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62 (1993), 191-217; TIB TECH 11 (1993), 155-215]; 및 하이그로마이신에 내성을 부여하는 hygro(Santerre *et al.*, Gene 30 (1984), 147. 사용될 수 있는 재조합 DNA 기법의 당업계에 흔히 공지된 방법은 문헌[Ausubel *et al.*

(eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); Krieglner, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990)]; 및 [Chapters 12 and 13, Dracopoli *et al.* (eds.), *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin *et al.*, *J. Mol. Biol.* 150:1 (1981)]에 기재되어 있으며, 이들은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다.

[0226] 항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있으며, 검토를 위해 문헌[Bebbington and Hentschel, *The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning*, Academic Press, New York, Vol. 3. (1987)]을 참조한다. 항체를 발현시키는 벡터 시스템 내 마커가 증폭가능할 때, 숙주 세포의 배양물에 존재하는 저해제의 수준 증가는 마커 유전자의 복제 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역은 항체 유전자와 관련되기 때문에, 항체의 생성은 또한 증가될 것이다; 문헌[Crouse *et al.*, *Mol. Cell. Biol.* 3 (1983), 257] 참조.

[0227] 시험관내 생성은 원하는 매우 다량의 폴리펩타이드를 제공하도록 정물증가를 허용한다. 조직 배양 조건 하의 포유류 세포 배양을 위한 기법은 당업계에서 공지되어 있고, 예를 들어 에어리프트(airlift) 반응기 내 또는 연속 교반 반응기 또는 고정 또는 갇힌 세포 배양물 내, 예를 들어 중공섬유, 마이크로캡슐 내, 아가로스 마이크로비드 또는 세라믹 카트리지 상에서 균일한 현탁 배양물을 포함한다. 필요하고/하거나 원한다면, 폴리펩타이드의 용액은 관례적 크로마토그래피 방법에 의해, 예를 들어 겔 여과, 이온 교환 크로마토그래피, DEAE-셀룰로스에 걸친 크로마토그래피 또는 (변역-)친화도 크로마토그래피, 예를 들어 합성 힌지 영역 폴리펩타이드의 우선적인 생합성 후 또는 본 명세서에 기재된 HIC 크로마토그래피 전에 또는 후속적으로 정제될 수 있다.

[0228] 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체를 암호화하는 유전자는 또한 박테리아 또는 곤충 또는 효모 또는 식물 세포와 같은 비포유류 세포 내에서 발현될 수 있다. 핵산을 용이하게 취하는 박테리아는 엔테로박테리아세아에(enterobacteriaceae)의 구성원, 예컨대 에스캐리키아 콜라이 또는 살모넬라 (*Salmonella*)의 균주; 바실라세아에(*Bacillaceae*), 예컨대 바실러스 서브틸리스; 뉴모코커스(*Pneumococcus*); 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 및 헤모필러스 인플루엔자에(*Haemophilus influenzae*)를 포함한다. 박테리아에서 발현될 때, 이중성 폴리펩타이드는 전형적으로 봉입체의 부분이 된다는 것이 추가로 인식될 것이다. 이중성 폴리펩타이드는 단리되고, 정제된 다음 기능적 분자 내로 조립되어야 한다. 항체의 4가 형태가 요망된다면, 그 다음에 서브유닛은 4가 항체로 자기 조립될 것이다; 예를 들어, 국제특허 출원 W002/096948호 참조.

[0229] 박테리아 시스템에서, 다수의 발현 벡터는 항체 분자가 발현되도록 의도되는 사용에 의존하여 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 다량의 이러한 단백질이 생성될 때, 항체 분자의 약제학적 조성물의 생성을 위해, 용이하게 정제되는 고수준의 용합 단백질 산물의 발현을 지시하는 벡터가 사용될 수 있다. 이러한 벡터는, 이콜라이 발현 벡터 pUR278(Ruther *et al.*, *EMBO J.* 2 (1983), 1791)(여기서 항체 암호 서열은 lacZ 암호 영역을 지니는 프레임 내 벡터에 개별적으로 결합될 수 있고, 따라서 용합 단백질이 생성됨); pIN 벡터(Inouye & Inouye, *Nucleic Acids Res.* 13 (1985), 3101-3109; Van Heeke & Schuster, *J. Biol. Chem.* 24 (1989), 5503-5509); 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. pGEX 벡터는 또한 글루타티온 S-트랜스퍼라제(glutathione Stransferase: GST)에 의해 용합 단백질로서 외래 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 일반적으로, 이러한 용합 단백질은 가용성이며, 글루타티온-아가로스 비드의 매트릭스에 흡착 및 결합에 의해 용해된 세포로부터 용이하게 정제된 후 유리 글루타티온의 존재에서 용해될 수 있다. pGEX 벡터는 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 설계되며, 따라서 클로닝된 표적 유전자 산물은 GST 모이머티로부터 방출될 수 있다.

[0230] 원핵생물에 추가로, 진핵 미생물이 또한 사용될 수 있다. 사카로마이세스 세레비시아에(*Saccharomyces cerevisiae*) 또는 흔한 빵 효모는, 다수의 다른 균주, 예를 들어 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*)가 흔히 이용가능함에도 불구하고, 진핵생물 미생물유기체 중에서 가장 흔히 사용된다. 사카로마이세스에서 발현을 위해, 플라스미드 YRp7, 예를 들어(Stinchcomb *et al.*, *Nature* 282 (1979), 39; Kingsman *et al.*, *Gene* 7 (1979), 141; Tschemper *et al.*, *Gene* 10 (1980), 157)이 흔히 사용된다. 이 플라스미드는 트립토판 내에서 생장하는 능력을 결여하는 효모의 돌연변이체 균주에 대한 선별 마커를 제공하는 TRP1 유전자, 예를 들어 ATCC No. 44076 또는 PEP4-1(Jones, *Genetics* 85 (1977), 12)을 이미 함유한다. 효모 숙주 계통의 특징으로서 trp1 병변의 존재는 그 다음에 트립토판이 없을 때 생장에 의한 형질전환을 검출하는데 효과적인 환경을 제공한다.

[0231] 곤충계에서, 아우토그라파 칼리포니카(*Autographa californica*) 핵 다면체 바이러스(AcNPV)는 전형적으로 외래 유전자를 발현시키기 위한 벡터로서 사용된다. 바이러스는 스포도테라 프루지페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 성장한다. 항체 암호 서열은 바이러스의 비필수 영역(예를 들어, 다면체 유전자) 내로 개별적으로 클로

닝될 수 있고, AcNPV 프로모터(예를 들어 폴리헤드린 프로모터)의 제어 하에 놓인다.

[0232] 일단 본 발명의 항체 분자가 재조합적으로 발현되면, 전체 항체, 이들의 이합체, 개개의 경쇄 및 중쇄 또는 다른 본 발명의 다른 면역글로불린 형태는, 예를 들어, 크로마토그래피에 의해(예를 들어, 이온 교환, 친화도에 의해, 특히 단백질 A 후 특이적 항원에 대한 친화도 및 크기 컬럼 크로마토그래피에 의해), 원심분리, 차별적인 용해도, 예를 들어 황산 암모늄 침전에 의해 또는 단백질의 정제를 위한 임의의 다른 표준 기법에 의하는 것을 포함하는 당업계의 표준 절차에 따라 정제될 수 있다; 예를 들어, 문헌[Scopes, "Protein Purification", Springer Verlag, N.Y. (1982)] 참조. 대안적으로, 본 발명의 항체의 친화도를 증가시키는 방법은 미국 특허 공개 제2002-0123057 A1호에 개시되어 있다.

[0233] **V. 융합 단백질 및 컨주게이트**

[0234] 특정 실시형태에서, 항체 폴리펩타이드는 항체에 보통 결합되지 않는 아미노산 서열 또는 하나 이상의 모이어티를 포함한다. 예시적인 변형은 이하에 더욱 상세하게 기재된다. 예를 들어 일부 실시형태에서, 본 발명의 단일쇄 fv 항체 단편은 가요성 링커 서열을 포함할 수 있거나, 또는 기능적 모이어티(예를 들어, PEG, 약물, 독소 또는 표지, 예컨대 형광체, 방사성물질, 효소, 핵 자기, 중금속 등)를 첨가하도록 변형될 수 있다.

[0235] 본 발명의 항체 폴리펩타이드는 융합 단백질을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진다. 융합 단백질은, 예를 들어 적어도 하나의 표적 결합 부위, 및 적어도 하나의 이중성 부분, 즉, 본래 자연적으로 연결되지 않은 부분을 지니는 면역글로불린 TDP-43-결합 도메인을 포함하는 키메라 분자이다. 아미노산 서열은 보통 융합 폴리펩타이드에서 함께 초래되는 별개의 단백질 내에 존재할 수 있거나 또는 그들은 보통 동일 단백질에 존재할 수 있지만 융합 폴리펩타이드 내 새로운 배열로 위치될 수 있다. 융합 단백질은, 예를 들어 화학적 합성에 의해 또는 펩타이드 영역이 원하는 관계에서 암호화되는 폴리뉴클레오타이드를 만들고, 번역함으로써 만들어질 수 있다.

[0236] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드에 적용되는 바와 같은 용어 "이중성"은 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드가 그것이 비교되는 독립체의 나머지와는 별개의 독립체로부터 유래된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 또는 유사체에 융합되는 "이중성 폴리펩타이드"는 동일 종의 비면역글로불린 폴리펩타이드로부터 또는 상이한 종의 면역글로불린 또는 비면역글로불린 폴리펩타이드로부터 유래된다.

[0237] 본 명세서의 다른 곳에서 더 상세하게 논의되는 바와 같이, 본 발명의 항체(예를 들어, 항체의 항원-결합 단편, 및 이의 변이체 혹은 유도체)는 추가로 N- 또는 C-말단에서 이중성 폴리펩타이드에 대해 재조합적으로 융합되거나 또는 폴리펩타이드 또는 다른 조성물에 대해 화학적으로 컨주게이트(공유적 및 비공유적 컨주게이션을 포함)될 수 있다. 예를 들어, 항체는 검출 분석에서 표지로서 유용한 분자 및 효과기 분자, 예컨대 이중성 폴리펩타이드, 약물, 방사성 핵종 또는 독소에 재조합적으로 융합되거나 또는 컨주게이트될 수 있다; 예를 들어, 국제특허출원 W092/08495; W091/14438; W089/12624; 미국 특허 제5,314,995호; 및 유럽 특허 EP 0 396 387호 참조.

[0238] 본 발명의 항체(예를 들어, 항체의 항원-결합 단편 및 이의 변이체 혹은 유도체)는 펩타이드 결합 또는 변형된 펩타이드 결합, 즉, 펩타이드 등배전자체에 의해 서로 결합된 아미노산으로 구성될 수 있고, 20개 유전자-암호화된 아미노산 이외의 아미노산을 함유할 수 있다. 항체는 자연적 처리, 예컨대 번역후 처리에 의해 또는 당업계에 잘 공지된 화학적 변형 기법에 의해 변형될 수 있다. 이러한 변형은 기본적 문헌에 잘 기재되어 있고, 논문뿐만 아니라 방대한 연구 문헌에 더 상세하게 기재되어 있다. 펩타이드 백본 및 아미노 측쇄 및 아미노 또는 카복실 말단을 포함하는 항체 내 어디에서나 또는 탄수화물과 같은 모이어티 상에서 변형이 일어날 수 있다. 동일 유형의 변형이 주어진 항체 내 몇몇 부위에서 동일 또는 다른 정도로 존재할 수 있다는 것이 인식될 것이다. 또한 주어진 항체는 다수 유형의 변형을 함유할 수 있다. 항체는, 예를 들어 유비퀴틴화의 결과로서 분지될 수 있고, 그들은 분지와 함께 또는 분지되지 않고 고리화될 수 있다. 고리형, 분지형 분지된 고리형 항체는 번역 후 자연적 처리로부터 초래될 수 있거나 또는 합성 방법에 의해 만들어질 수 있다. 변형은 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아마이드화, 플라빈의 공유적 부착, 헴 모이어티의 공유적 부착, 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유도체의 공유적 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유적 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유적 부착, 가교, 고리화, 이황화 결합 형성, 탈메틸화, 공유적 가교의 형성, 시스테인의 형성, 피아로글루타메이트의 형성, 포밀화, 감마-카복실화, 글라이코실화, GPI 앵커 형성, 하이드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 폐길화, 단백질 분해 처리, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 설페이션, 아르기닐화과 같이 단백질에 아미노산의 전달-RNA 매개 첨가, 및 유비퀴틴화를 포함한다; 예를 들어, 문헌[Proteins - Structure And

Molecular Properties, T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York 2nd Ed., (1993); *Posttranslational Covalent Modification Of Proteins*, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pgs. 1-12 (1983); Seifter *et al.*, *Meth. Enzymol.* 182 (1990), 626-646; Rattan *et al.*, *Ann. NY Acad. Sci.* 663 (1992), 48-62] 참조.

[0239] 본 발명은 또한 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체, 및 이중성 폴리펩타이드를 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 융합 단백질은 본 발명의 항체의 V_H 영역 중 어느 하나 이상의 아미노산 서열 또는 본 발명의 항체의 V_L 영역 중 어느 하나 이상의 아미노산 서열 또는 이들의 단편 또는 변이체 및 이중성 폴리펩타이드 서열을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 진단 및 치료 방법에서 사용을 위한 융합 단백질은 항체, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체의 V_H -CDR 중 어느 1, 2, 3의 아미노산 서열, 또는 항체, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체 및 이중성 폴리펩타이드 서열의 V_L -CDR의 어느 1, 2, 3의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진다. 일 실시형태에서, 융합 단백질은 본 발명의 항체 또는 이의 단편, 유도체 또는 변이체의 V_H -CDR3의 아미노산 서열, 및 융합 단백질이 TDP-43에 특이적으로 결합되는 이중성 폴리펩타이드 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 본 발명의 항체의 적어도 하나의 V_H 영역의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드 및 본 발명의 항체의 적어도 하나의 V_L 영역 또는 이의 단편, 유도체 또는 변이체의 아미노산 서열, 및 이중성 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 융합 단백질의 V_H 및 V_L 영역은 TDP-43에 특이적으로 결합되는 단일 공급원 항체(또는 scFv 또는 Fab 단편)에 대응된다. 또 다른 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 진단 및 치료 방법에서 사용을 위한 융합 단백질은 항체의 V_H CDR 중 어느 1, 2, 3의 아미노산 서열 및 항체의 V_L CDR 중 어느 1, 2, 3의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드 또는 이의 단편 또는 변이체 및 이중성 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 특정 실시형태에서, V_H CDR(들) 또는 V_L -CDR(들) 중 2, 3, 4, 5, 6 이상은 본 발명의 단일 공급원 항체(또는 scFv 또는 Fab 단편)에 대응된다. 이들 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 본 발명에 의해 포함된다.

[0240] 문헌에 보고된 예시적인 융합 단백질은 T 세포 수용기(Gascoigne *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84(1987), 2936-2940; CD4(Capon *et al.*, *Nature* 337 (1989), 525-531; Traunecker *et al.*, *Nature* 339 (1989), 68-70; Zettmeissl *et al.*, *DNA Cell Biol.* USA 9 (1990), 347-353; 및 Byrn *et al.*, *Nature* 344 (1990), 667-670); L-셀렉틴(쿠소 수용기)(Watson *et al.*, *J. Cell. Biol.* 110 (1990), 2221-2229; 및 Watson *et al.*, *Nature* 349 (1991), 164-167); CD44(Aruffo *et al.*, *Cell* 61 (1990), 1303-1313); CD28 및 B7(Linsley *et al.*, *J. Exp. Med.* 173 (1991), 721-730); CTLA-4(Lisley *et al.*, *J. Exp. Med.* 174 (1991), 561-569); CD22(Stamenkovic *et al.*, *Cell* 66 (1991), 1133-1144); TNF 수용기(Ashkenazi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991), 10535-10539; Lesslauer *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 27 (1991), 2883-2886; 및 Poppel *et al.*, *J. Exp. Med.* 174 (1991), 1483-1489 (1991); 및 IgE 수용기(Ridgway and Gorman, *J. Cell. Biol.* 115 (1991), Abstract No. 1448)의 융합을 포함한다.

[0241] 본 명세서의 다른 곳에서 논의되는 바와 같이, 본 발명의 항체(예를 들어 무결합 항체, 및 항체의 항원-결합 단편, 이의 변이체 혹은 유도체)는 폴리펩타이드의 생체내 반감기를 증가시키기 위해 또는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 면역분석에서 사용을 위해 이중성 폴리펩타이드에 융합될 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, PEG는 그것의 생체내 반감기를 증가시키기 위해 본 발명의 항체에 컨쥬게이트될 수 있다; 예를 들어, 문헌 [Leong *et al.*, *Cytokine* 16 (2001), 106-119; *Adv. in Drug Deliv. Rev.* 54 (2002), 531; 또는 Weir *et al.*, *Biochem. Soc. Transactions* 30 (2002), 512] 참조.

[0242] 게다가, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 그것의 정제 또는 검출을 가능하게 하는 펩타이드와 같은 마커 서열에 융합될 수 있다. 특정 실시형태에서, 마커 아미노산 서열은 특히 헥사-히스티딘 펩타이드(HIS), 예컨대 pQE 벡터에 제공되는 태그(QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311)이며, 이중 다수는 상업적으로 입수가능하다. 문헌[Gentz *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86(1989), 821-824]에 기재된 바와 같이, 예를 들어, 헥사-히스티딘은 융합 단백질의 편리한 정제를 제공한다. 정제에 유용한 다른 펩타이드 태그는, "HA" 태그를 포함하지만, 이것으로 제한되지 않으며, 이는 인플루엔자 혈구 응집소 단백질(Wilson *et al.*, *Cell* 37 (1984), 767) 및 "플래그" 태그로부터 유래되는 에피토프에 대응된다.

- [0243] 융합 단백질은 당업계에 잘 공지된 방법을 사용하여 제조될 수 있으며; 예를 들어 미국 특허 제5,116,964호 및 제5,225,538호를 참조한다. 융합이 만들어지는 정확한 부위는 융합 단백질의 분비 또는 결합 특징을 최적화하도록 경험적으로 선택될 수 있다. 융합 단백질을 암호화하는 DNA는 그 다음에 발현을 위해 숙주 세포 내로 형질감염된다.
- [0244] 본 발명의 항체는, 예를 들어 분자의 치료적 특성을 개선시키기 위해, 표적 검출을 가능하게 하기 위해 또는 환자의 영상화 또는 치료를 위해, 비컨쥬게이트 형태로 사용될 수 있거나 또는 다양한 분자 중 적어도 하나에 컨쥬게이트될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 정제가 수행될 때 정제 전 또는 정제 후 표지되거나 또는 컨쥬게이트될 수 있다. 특히, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 치료적 작용제, 프로드러그, 펩타이드, 단백질, 효소, 바이러스, 지질, 생물학적 반응 변형제, 약제학적 작용제 또는 PEG에 컨쥬게이트될 수 있다.
- [0245] 통상적인 항체를 포함하는 면역독소인 컨쥬게이트는 당업계에 널리 기재되어 있다. 독소는 통상적인 결합 기법에 의해 항체에 결합될 수 있거나 또는 단백질 독소 부분을 함유하는 면역독소는 융합 단백질로서 생성될 수 있다. 본 발명의 항체는 이러한 면역독소를 얻기 위한 대응되는 방법으로 사용될 수 있다. 예시적인 이러한 면역독소는 문헌[Byers, *Seminars Cell. Biol.* 2 (1991), 59-70 및 Fanger, *Immunol. Today* 12 (1991), 51-54]에 의해 기재된 것이다.
- [0246] 당업자는 또한 선택된 작용제가 컨쥬게이트되는 것에 따라서 컨쥬게이트가 다양한 기법을 사용하여 조립될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 바이오틴과의 컨쥬게이트는, 예를 들어 TDP-43 결합 폴리펩타이드를 바이오틴 N-하이드록시숙신이미드 에스테르와 같은 바이오틴의 활성화된 에스테르와 반응시킴으로써 제조된다. 유사하게, 형광 마커와의 컨쥬게이트는 결합제, 예를 들어 본 명세서에 열거된 것의 존재에서 또는 아이소티오시아네이트, 에켄대 형광-아이소티오시아네이트와 반응에 의해 제조될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체의 컨쥬게이트는 유사한 방식으로 제조된다.
- [0247] 본 발명은 진단제 또는 치료제에 컨쥬게이트된 본 발명의 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체를 추가로 포함한다. 항체는, 예를 들어 주어진 치료 및/또는 예방 요법의 효능을 결정하기 위한 임상 시험 절차의 부분으로서, 예를 들어 신경계 질환의 존재를 증명하기 위해, 신경계 질병에 걸릴 위험을 나타내기 위해, 신경계 질병, 즉, TDP-43 단백질성 질환의 발생 또는 진행을 모니터링하기 위해 진단적으로 사용될 수 있다. 검출 물질에 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체를 결합시킴으로써 검출이 가능하게 될 수 있다. 검출가능한 물질의 예는, 다양한 효소, 보결분자단, 형광 물질, 발광 물질, 생발광 물질, 방사성 물질, 다양한 양전자 방출 단층촬영을 사용하는 양전자 방출 금속 및 비방사성 상자성 금속 이온을 포함한다; 예를 들어, 본 발명에 따른 진단제로서 사용을 위한 항체에 컨쥬게이트될 수 있는 금속 이온에 대해 미국 특허 제4,741,900호 참조. 적합한 효소의 예는 호스래디쉬 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타제, β -갈락토시다제, 또는 아세틸콜린에스테라제를 포함하며; 적합한 보결분자단 복합체의 예는 스트렙타비딘/바이오틴 및 아비딘/바이오틴을 포함하고; 적합한 형광 물질의 예는 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 아이소티오시아네이트, 로다민, 다이클로로 트라이아지닐아민 플루오레세인, 염화단실 또는 피코에리트린을 포함하며; 발광 물질의 예는 루미놀을 포함하고; 생발광 물질의 예는 루시페라제, 루시페린 및 에퀴린을 포함하며; 적합한 방사성 물질의 예는 ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹¹¹In 또는 ⁹⁹Tc를 포함한다.
- [0248] 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 또한 화학발광성 화합물에 그것을 결합시킴으로써 검출 가능하게 표지될 수 있다. 그 다음에 화학발광성 태그 항체의 존재는 화학적 반응의 과정 동안 일어나는 발광의 존재를 검출함으로써 결정된다. 특히 유용한 화학발광성 표지 화합물의 예는 루미놀, 아이소루미놀, 써모매틱 (theromatic) 아크리디늄 에스테르, 이미다졸, 아크리디늄 염 및 옥살레이트 에스테르이다.
- [0249] 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 검출가능하게 표지되는 한 방법은 효소에 동일물을 연결하고, 효소 면역 분석법(EIA)에서 연결된 산물을 사용하는 것에 의한다(Voller, A., "The Enzyme Linked Immunosorbent Assay(ELISA)" Microbiological Associates Quarterly Publication, Walkersville, Md., *Diagnostic Horizons* 2 (1978), 1-7); Voller *et al.*, *J. Clin. Pathol.* 31 (1978), 507-520; Butler, *Meth. Enzymol.* 73 (1981), 482-523; Maggio, E. (ed.), *Enzyme Immunoassay*, CRC Press, Boca Raton, Fla., (1980); Ishikawa, E. *et al.*, (eds.), *Enzyme Immunoassay*, Kaku Shoin, Tokyo (1981). 항체에 결합된 효소는, 예를 들어 분광광도법적, 형광계에 의해 또는 시각적 수단에 의해 검출될 수 있는 화학적 모이티를 생성하기 위한 방법에서 발색 기질과 같은 적절한 기질과 반응할 것이다. 항체를 검출가능하게 표지하기 위해 사용

될 수 있는 효소는, 말레이트 탈수소효소, 스타필로코커스 뉴클레아제, 델타-5-스테로이드 아이소머라제, 효모 알코올 탈수소효소, 알파-글라이세로포스페이트, 탈수소효소, 트라이오스 포스페이트 아이소머라제, 호스래디쉬 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타제, 아스파라기나제, 글루코스 옥시다제, 베타-갈락토시다제, 리보뉴클레아제, 유레아제, 카탈라제, 글루코스-6-포스페이트 탈수소효소, 글루코아밀라제 및 아세틸콜린에스터라제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가적으로, 검출은 효소에 대해 발색 기질을 사용하는 비색 방법에 의해 수행될 수 있다. 검출은 또한 유사하게 제조된 표준과 비교하여 기질의 효소적 반응의 시각적 비교에 의해 수행될 수 있다.

[0250] 검출은 또한 임의의 다양한 다른 면역분석법을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 항체, 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체를 방사성으로 표지함으로써, 방사면역측정법(RIA)의 사용을 통해 항체를 검출할 수 있다(예를 들어, 본 명세서에 참조로서 포함되는, 문헌[Weintraub, B., *Principles of Radioimmunoassays, 7th Training Course on Radioligand Assay Techniques*, The Endocrine Society, (March, 1986)] 참조). 방사성 동위원소는 감마 계측기, 신틸레이션 계측기 또는 자기방사법을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 수단에 의해 검출될 수 있다.

[0251] 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체는 형광 방출 금속, 예컨대 ¹⁵²Eu, 또는 란타넘 계열의 다른 것을 사용하여 검출가능하게 표지될 수 있다. 이들 금속은 다이에틸렌트라이아민펜타아세트산(DTPA) 또는 에틸렌다이아민테트라아세트산(EDTA)로서 이러한 금속 킬레이트 기를 사용하여 항체에 부착될 수 있다.

[0252] 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 혹은 유도체에 다양한 모이어티를 컨쥬게이트하기 위한 기법은 잘 공지되어 있다, 예를 들어 문헌[Arnon *et al.*, "*Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy*", in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. (1985); Hellstrom *et al.*, "*Antibodies For Drug Delivery*", *Controlled Drug Delivery* (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), Marcel Dekker, Inc., pp. 623-53 (1987); Thorpe, "*Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review*", in *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); "*Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy*", in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin *et al.* (eds.), Academic Press pp. 303-16 (1985), 및 Thorpe *et al.*, "*The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates*", *Immunol. Rev.* 62 (1982), 119-158] 참조.

[0253] 언급한 바와 같이, 특정 실시형태에서, 결합 분자, 예를 들어 결합 폴리펩타이드, 예를 들어 항체 또는 이의 면역특이적 단편의 안정성 또는 효능을 향상시키는 모이어티가 컨쥬게이트될 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, PEG는 본 발명의 결합 분자에 컨쥬게이트되어 그것의 생체내 반감기를 증가시킬 수 있다. 문헌[Leong *et al.*, *Cytokine* 16 (2001), 106; *Adv. in Drug Deliv. Rev.* 54 (2002), 531; 또는 Weir *et al.*, *Biochem. Soc. Transaction* 30 (2002), 512].

[0254] **VI. 조성물 및 사용방법**

[0255] 본 발명은 앞서 언급한 TDP-43 결합 분자, 예를 들어 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 이의 유도체 또는 변이체, 또는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 세포를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 더 나아가, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적 조성물의 의도된 사용에 따라서 인터류킨 또는 인터페론과 같은 작용제를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, TDP-43 단백질성 질병의 치료에서 사용을 위해, 추가적인 작용제는 작은 유기 분자, 항-TDP-43 항체 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 발명은 TDP-43 결합 분자, 예를 들어, TDP-43 단백질성 질병의 예방적 및 치료적 처치를 위하여, 피험체에서 TDP-43 단백질성 질병의 진행의 모니터링 또는 TDP-43 단백질성 질병 치료에 대한 반응의 모니터링 또는 TDP-43 단백질성 질병이 발생할 위험에 있는 피험체의 결정을 위한 약제학적 또는 진단적 조성물의 제조를 위한 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 이들 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 결합 특이성을 갖는 결합 분자, 폴리뉴클레오타이드, 본 발명의, 벡터 또는 세포의 사용에 관한 것이다.

[0256] 따라서, 일 실시형태에서 본 발명은 뇌 및 신경계에서 각각 TDP-43의 비정상적 축적 및/또는 침착을 특징으로 하는 신경학적 장애를 치료하는 방법에 관한 것이되, 해당 방법은 앞서 기재한 TDP-43 결합 분자, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 세포의 치료적 유효량을 치료가 필요한 피험체에게 투여하는 단계를 포함한다. 용어 "TDP-43 단백질성 질병"은 TDP-43 단백질성 질병, 예컨대 은친화성 입자 질병, 알츠하이머병, 근위축성 측색 경

화증(ALS), 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 콤플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅턴병, 루이바디병, 운동 뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 콤플렉스 및 피크병뿐만 아니라 다른 운동 장애, 신경퇴행성 질병 및 중추 신경계(CNS)의 질병을 일반적으로 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 달리 언급되지 않는다면, 용어 신경퇴행성, 신경학적 또는 신경 정신병적은 본 명세서에서 상호호환적으로 사용된다.

[0257] 본 발명의 치료적 접근의 특정 이점은 본 발명의 항체가 ALS 및/또는 FTLD의 징후가 없는 노인 피험체로부터의 B세포 또는 B 기억 세포로부터 유래되고, 따라서 어떤 개인성을 지니거나, 임상적으로 명백한 TDP-43 단백질성 질병을 방지할 수 있거나, 또는 임상적으로 명백한 질병의 발생 위험을 감소시킬 수 있거나 또는 임상적으로 명백한 질병의 개시 또는 진행을 지연시킬 수 있다는 사실에 놓여있다. 전형적으로, 본 발명의 항체는 이미 성공적으로 체성 성숙(somatic maturation), 즉, 항체의 가변 영역의 체성 변화에 의한 표적 TDP-43 분자에 높은 친화도 결합에서 선택성 및 유효성에 대한 최적화를 고려하였다.

[0258] 생체내, 예를 들어 인간에서 이러한 세포가 자가면역적 또는 알레르기성 반응의 의미에서 관련된 또는 다른 생리학적 단백질 또는 세포 구조에 의해 활성화되지 않는다는 지식은 또한 큰 의학적 중요성을 가지는데, 이것이 임상적 시험 단계를 통해 성공적으로 생존하는 상당히 증가된 기회를 의미하기 때문이다. 말하자면, 허용가능성 및 내약성은 적어도 하나의 인간 피험체에서 예방적 또는 치료적 항체의 임상전 및 임상적 개발 전 이미 증명되었다. 따라서 본 발명의 인간 항-TDP-43 항체는 치료제로서 그것의 표적 구조 특이적 효율성과 그것의 감소된 부작용의 가능성은 둘 다에서 그것의 임상적 성공 확률을 증가시키는 것으로 예상될 수 있다.

[0259] 본 발명은 또한 상기 기재된 성분, 예를 들어 본 발명의 항-TDP-43 항체, 이의 결합 단편, 유도체 또는 변이체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 세포로 충전된 하나 이상의 용기를 포함하는 약제학적 및 진단적 팩 또는 키트를 각각 제공한다. 약제 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 조절하는 정부 기관에 의해 처방되는 형태에서 이러한 용기(들)와 관련된 경고가 있을 수 있으며, 경고는 제조기관에 의한 승인, 인간 투여용의 용도 또는 판매를 반영한다. 추가로 또는 대안적으로, 키트는 적절한 진단 분석에서 사용을 위한 시약 및/또는 설명서를 포함한다. 조성물, 예를 들어 본 발명의 키트는 물론 TDP-43의 존재를 수반하는 장애의 위험 평가, 진단, 예방 및 치료에 특히 적절하고, 신경퇴행성 질병, TDP-43 단백질성 질병, 은친화성 입자 질병, 알츠하이머병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 콤플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅턴병, 루이바디병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 봉입물에 의한 전측두엽 변성, 해마경화증, 봉입체 근육병, 봉입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 콤플렉스 및 피크병의 치료에 특히 적절하다.

[0260] 특이적 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 멸균 수용액이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 조성물 성분의 하나 이상은 동결건조되었다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 혈청을 함유하지 않는다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명의 조성물에 함유된 하나 이상의 항체는 제조합적으로 생성된다. 다른 실시형태에서, 조성물 내 본 발명의 항체의 집단은 조성물 내 면역글로불린 집단의 적어도 10%를 구성한다.

[0261] 본 발명의 약제학적 조성물은 당업계에 잘 공지된 방법에 따라 제형화될 수 있다; 예를 들어 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2000) by the University of Sciences in Philadelphia, ISBN 0-683-306472] 참조. 적합한 약제학적 담체의 예는 당업계에 잘 공지되어 있고, 인산염 완충 식염수 용액, 물, 에멀전, 예컨대 오일/물 에멀전, 다양한 유형의 습윤제, 멸균 용액 등을 포함한다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 잘 공지된 통상적인 방법에 의해 제형화될 수 있다. 이들 약제학적 조성물은 적합한 용량으로 피험체에 투여될 수 있다. 적합한 조성물의 투여는 다양한 방법, 예를 들어 정맥내, 복막내, 피하, 근육내, 비강내, 국소 또는 피내 투여 또는 척추 또는 뇌 전달에 의해 달성될 수 있다. 비강 분무 제형과 같은 에어로졸 제형은 정제수 또는 보존제 및 등장제를 지니는 활성제의 다른 용액을 포함한다. 이러한 제형은 pH 및 비강 점막과 양립가능한 등장 상태로 조절될 수 있다. 직장 또는 질 투여를 위한 제형은 적합한 담체와 함께 좌약으로서 제공될 수 있다.

[0262] 더 구체적으로, 주사용에 적합한 약제학적 조성물은 멸균 수용액(수용성인 경우) 또는 분산물 및 멸균 주사용 용액 또는 분산물의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 이러한 경우에, 조성물은 멸균이어야 하며, 용이한 주사능력이 존재하는 정도로 유동되어야 한다. 이는 제조 및 저장 조건 하에 안정하여야 하며, 박테리아 및 진균과 같은 미생물유기체의 오염 작용에 대해 바람직하게 보존될 것이다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글라이콜, 프로필렌 글라이콜 및 액체 폴리에틸렌 글라이콜 등) 및 이의 적합한 혼합물을 함유하

는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산물의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.

[0263] 더 나아가, 본 발명은 본 발명의 약물의 투여를 위해 두개골에 작은 구멍을 뚫는 현재의 표준(다행히 빈번하지 않음에도 불구하고) 과정을 포함하는 반면, 일 양태에서, 결합 분자, 특히 본 발명의 항체 또는 항체 기반 약물은 정맥내 또는 경구 투여를 허용하는 혈액-뇌 장벽을 가로지를 수 있다.

[0264] 투약 요법은 주치의 및 임상적 요인에 의해 결정될 것이다. 의학적 기술에서 잘 공지된 바와 같이, 임의의 환자에 대한 투약량은 환자의 크기, 신체 표면적, 연령, 투여되는 특정 화합물, 성별, 투여 시간 및 경로, 일반적 건강상태 및 동시에 투여되는 다른 약물에 의존한다. 전형적인 용량은, 예를 들어 0.001 μ g 내지 1000 μ g의 범위(또는 이 범위에서 발현을 위한 핵산의 또는 발현의 저해를 위해) 있을 수 있지만; 그러나, 이 예시적 범위 미만 또는 초과 용량은 특히 앞서 언급한 요인을 고려하여 생각된다. 일반적으로, 투약량은 숙주 체중의, 예를 들어, 약 0.0001 내지 100mg/kg, 더 보통으로는 0.01 내지 5mg/kg(예를 들어, 0.02mg/kg, 0.25mg/kg, 0.5mg/kg, 0.75mg/kg, 1mg/kg, 2mg/kg 등)의 범위에 있을 수 있다. 예를 들어 투약량은 1mg/kg 체중 또는 10mg/kg 체중 또는 1-10mg/kg 또는 적어도 1mg/kg의 범위 내 일 수 있다. 상기 범위 내 중간의 용량은 또한 본 발명의 범주 내인 것으로 의도된다. 피험체는 매일, 또는 격일로, 매주 또는 경험적 분석에 의해 결정되는 어떤 다른 스케줄에 따라 이러한 용량이 투여될 수 있다. 예시적인 치료는, 예를 들어 적어도 6개월의 장기간에 걸쳐 다회 투약량에서 투여를 수반한다. 추가적인 예시적 치료 요법은 2주에 1회 또는 1개월에 1회 또는 3 내지 6개월마다 1회 투여를 수반한다. 예시적 투약량 스케줄은 연일 1-10mg/kg 또는 15mg/kg, 격일로 30mg/kg 또는 매주 60mg/kg을 포함한다. 일부 방법에서, 상이한 결합 특이성을 지니는 2 이상의 단클론성 항체는 동시에 투여되며, 이 경우에 투여되는 각 항체의 투약량은 표시되는 범위 내에 속한다. 진행은 주기적 평가에 의해 모니터링될 수 있다.

[0265] 비경구 투여를 위한 제제는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 현탁액 및 에멀전을 포함한다. 비수성 용매의 예는 프로필렌 글라이콜, 폴리에틸렌 글라이콜, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일 및 주사가능한 유기 에스터, 예컨대 에틸 올레이트이다. 수성 담체는 물, 알코올/수성 용액, 에멀전 또는 식염수와 완충 매질을 포함하는 현탁액을 포함한다. 비경구 비히클은 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 락트산 링거액 또는 고정유를 포함한다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양소 보충제, 전해질 보충제(예컨대 링거 텍스트로스에 기반한 것) 등을 포함한다. 예를 들어 향미생물제, 향산화제, 킬레이트제 및 비활성 기체 등과 같은 보존제 및 다른 첨가제가 또한 존재할 수 있다. 더 나아가, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적 조성물의 의도된 사용에 따라서 도파민 또는 정신약리학적 약물과 같은 추가적인 작용제를 포함할 수 있다.

[0266] 더 나아가, 본 발명의 특정 실시형태에서, 예를 들어 본 발명의 약제학적 조성물이 수동 번역화를 위한 항-TDP-43 항체 또는 이의 결합 단편, 유도체 또는 변이체를 포함한다면, 약제학적 조성물은 백신으로서 제형화될 수 있다. 인간 항 TDP-43 항체 및 동등한 본 발명의 TDP-43 결합 분자가 근위축성 측색 경화증(ALS) 은친화성 입자 질병, 알츠하이머병, 광의 ALS-파킨슨 증상 치매 컴플렉스, 피질기저핵퇴화, 루이소체 치매, 헌팅턴병, 루이바디병, 운동뉴런병, 전측두엽 변성(FTLD), 전두측두엽 치매, 유비퀴틴-양성 붕입물에 의한 전측두엽 변성, 해마 경화증, 붕입체 근육병, 붕입체 근염, 파킨슨병, 파킨슨병 치매, 기이반도에서 파킨슨-치매 컴플렉스, 피크병, 마카도-조셉병 등과 같은 TDP-43 단백질성 질병의 예방 또는 개선을 위한 백신으로서 특히 유용하다는 것을 예상하는 것은 조심스럽다.

[0267] 일 실시형태에서, 세포막을 더 용이하게 침투하는 본 발명의 항체의 재조합 Fab(rFab) 및 단일쇄 단편(scFv)을 사용하는 것이 유리할 수 있다. 예를 들어, 앞서 온라인에 공개된 문헌[Robert *et al.*, Protein Eng. Des. Sel. (2008) Oct 16; S1741-0134]은 A β 의 N-말단 영역에서 에피토프를 인식하는 단클론성 항체 WO-2의 키메라 재조합 Fab(rFab) 및 단일쇄 단편(scFv)의 사용이 기재되어 있다. 유전자 조작된 단편은 (i) 아밀로이드 피브릴화를 방지할 수 있고, (ii) 사전형성된 A β 1-42 피브릴을 분해할 수 있으며, (iii) 전체 IgG 분자와 효율적으로 시험관내 A β 1-42 올리고머-매개 신경독성을 저해할 수 있다. 효과기 기능이 없는 작은 Fab 및 scFv 유전자조작 항체 형식을 사용하는 것의 인식된 이점은 혈액-뇌 장벽을 가로지르는 더 효율적인 통과 및 염증 반응을 촉발시킬 위험의 최소화를 포함한다. 더 나아가, scFv 및 단일-도메인 항체가 전장 항체의 결합 특이성을 보유하는 것 이외에, 그들은 그것의 표적의 폴딩, 상호작용, 변형 또는 하위세포 국소화의 변성에 대한 가능성을 지니는 내부체로서 포유류 세포에서 세포내로 및 단일 유전자로서 발현될 수 있다; 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Miller and Messer, Molecular Therapy 12 (2005), 394-401] 참조.

[0268] 상이한 접근에서, 문헌[Muller *et al.*, Expert Opin. Biol. Ther. (2005), 237-241]는 살아있는 세포 내로 그

들을 손상시키지 않고 항체가 서투르되게 할 수 있는 것으로 언급되는, '초항체 기법'으로 불리는 기술 플랫폼을 기재한다. 이러한 세포-침투 항체는 새로운 진단적 및 치료적 창을 개방한다. 용어 '트랜스맵스(TransMaps)'는 이들 항체에 대해 만들어졌다.

[0269] 추가 실시형태에서, TDP-43 단백질성 질병을 치료하는데 유용한 다른 신경보호제의 공동투여 또는 순차적 투여가 바람직하다. 일 실시형태에서, 추가적인 작용제는 본 발명의 약제학적 조성물에 포함된다. 피험체를 치료하기 위해 사용될 수 있는 신경보호제의 예는 아세틸콜린에스터라제 저해제, 글루타민산성 수용기 길항물질, 키나제 저해제, HDAC 저해제, 항염증제, 다이발프로엑스 나트륨, 또는 이들의 임의의 조합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명의 약제학적 조성물과 동시에 사용될 수 있는 다른 신경보호제의 예는 당업계에 기술되어 있다; 예를 들어 국제특허출원 WO2007/011907호 참조. 일 실시형태에서, 추가적인 작용제는 도파민 또는 도파민 수용기 작용물질이다.

[0270] 치료적 유효 용량 또는 유효량은 증상 또는 질환을 완화하는데 충분한 활성 성분의 양을 지칭한다. 이러한 화합물의 치료적 효능 및 독성은 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차, 예를 들어, ED₅₀(집단의 50%에서 치료적으로 유효한 용량) 및 LD₅₀(집단의 50%에 대한 치사 용량)에 의해 결정될 수 있다. 치료적 효과와 독성 효과 사이의 용량비는 치료 지수이며, 이는 LD₅₀/ED₅₀의 비로서 표현될 수 있다. 특정 실시형태에서, 조성물 내 치료제는 ALS 및/또는 FTL D 또는 다른 TDP-43 단백질성 질병의 경우에 정상 거동 및/또는 인지 특성을 회복하거나 또는 보존하는데 충분한 양으로 존재한다.

[0271] 앞의 언급으로부터, 본 발명은 특히 상기 언급한 바와 같은 TDP-43 단백질성 질병, 특히 근위축성 측색 경화증 및/또는 전측두엽 변성의 진단 및/또는 치료를 위해, 상기 기재한 항체의 적어도 하나의 CDR을 포함하는 TDP-43 결합 분자의 어떤 사용을 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 결합 분자는 본 발명의 항체 또는 이의 면역글로블린쇄일 수 있다. 추가로, 본 발명은 본 명세서에 기재된 언급된 항체 중 어느 하나의 항-유전자형 항체에 관한 것이다. 항-유전자형 항체는 항원-결합 부위 근처의 항체 가변 영역에 위치한 독특한 항원 펩타이드 서열에 결합되고, 예를 들어 피험체의 샘플에서 항-TDP-43 항체의 검출에 대해 유용한 항체 또는 다른 결합 분자이다.

[0272] 다른 실시형태에서, 본 발명은 상기 기재된 본 발명의 TDP-43 결합 분자, 항체, 항원-결합 단편, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 세포 및 선택적으로 면역 또는 핵산 기반 진단 방법에서 통상적으로 사용되는 시약과 같은 검출에 적합한 수단 중 어느 하나를 포함하는 진단 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 항체는, 예를 들어 면역분석법에서 사용에 적합하며, 이들은 액체상에서 이용될 수 있거나 또는 고체상 담체에 결합될 수 있다. 본 발명의 항체를 이용할 수 있는 면역분석법의 예는 직접적 또는 간접적 형식인 경쟁적 및 비경쟁적 면역분석법이다. 이러한 면역분석법의 예는 방사면역측정법(RIA), 샌드위치(면역계수 분석법), 유세포분석기 및 웨스턴 블롯 분석법이다. 본 발명의 항원 및 항체는 다수의 상이한 담체에 결합될 수 있고, 그것이 특이적으로 결합된 세포를 단리하기 위해 사용된다. 잘 공지된 담체의 예는 유리, 폴리스타이렌, 염화폴리비닐, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 폴리카보네이트, 텍스트란, 나일론, 아밀로스, 천연 및 변형된 셀룰로스, 폴리아크릴아마이드, 아가로스 및 마그네타이트를 포함한다. 담체의 특성은 본 발명의 목적을 위해 가용성이거나 또는 불용성일 수 있다. 다수의 상이한 표지 및 당업자에게 공지된 표지 방법이 있다. 본 발명에서 사용될 수 있는 표지 유형의 예는 효소, 방사성동위원소, 콜로이드성 금속, 형광 화합물, 화학발광 화합물 및 생발광성 화합물을 포함하며; 본 명세서에서 상기 논의한 실시형태를 참조한다.

[0273] 추가적인 실시형태에 의해, TDP-43 결합 분자, 특히 본 발명의 항체는 혈액 샘플, 림프 샘플 또는 임의의 다른 체액 샘플일 수 있는 시험 개체로부터 체액 샘플을 얻고, 항체-항원 복합체의 형성을 가능하게 하는 조건 하에서 본 발명의 항체와 체액 샘플을 접촉시킴으로써 개체 내 장애의 진단을 위한 방법이 사용된다. 그 다음에 이러한 복합체의 수준은 당업계에 공지된 방법에 의해 대조군 샘플에서 형성된 것보다 상당히 더 높은 수준으로 결정되며, 이는 시험한 개체에서 질병을 나타낸다. 동일한 방법으로, 본 발명의 항체에 의해 결합되는 특이적 항원이 또한 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 결합분자를 포함하는 시험관내 면역분석, 예를 들어 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0274] 이 내용에서, 본 발명은 또한 이 목적을 위해 구체적으로 설계된 수단에 관한 것이다. 예를 들어, TDP-43을 특이적으로 인식하는 본 발명의 항체 또는 동일한 항원-결합 분자와 함께 부하되는, 항체 기반 분석이 사용될 수 있다. 마이크로어레이 면역분석법의 설계는 문헌[Kusnezow *et al.*, Mol. Cell Proteomics 5 (2006), 1681-1696]에서 요약된다. 따라서, 본 발명은 또한 본 발명에 따라 확인되는 TDP-43 결합 분자와 함께 부하되는 마이크로어레이에 관한 것이다.

- [0275] 일 실시형태에서, 본 발명은 피험체에서 TDP-43 단백질성 질병을 진단하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은,
- [0276] (a) 본 발명의 항체, 이의 TDP-43 결합 단편 또는 이들의 어느 하나의 실질적으로 동일한 결합 특이성을 갖는 TDP-43 결합 분자로 진단되는 피험체로부터의 샘플 내 TDP-43의 수준을 평가하는 단계
- [0277] (b) 하나 이상의 대조군 피험체 내 TDP-43의 수준을 나타내는 기준 표준과 TDP-43의 수준을 비교하는 단계를 포함하되,
- [0278] TDP-43의 수준과 기준 표준 간의 차이 또는 유사성은 피험체가 TDP-43 단백질성 질병으로 고통받는다거나 하는 것을 나타낸다.
- [0279] 진단되는 피험체는 질병에 대해 무증상이거나 또는 잠복기일 수 있다. 기준 표준은 TDP-43 단백질성 질병, 예를 들어 ALS 또는 FTL을 지니는 환자로부터 유래될 수 있되, TDP-43의 수준과 기준 표준 사이의 유사성은 진단되는 피험체가 TDP-43 단백질성 질병을 가진다는 것을 나타낸다. 제2 대조군에 대안적으로, 또는 추가로, 대조군 피험체는 TDP-43 단백질성 질병을 가지지 않되, TDP-43 수준과 기준 표준 사이의 차이는 진단되는 피험체가 TDP-43 단백질성 질병을 가진다는 것을 나타낸다. 진단되는 피험체 및 대조군 피험체(들)는 연령-매칭된다. 분석되는 샘플은 TDP-43을 함유하는 것으로 의심되는 임의의 체액, 예를 들어 혈액, CSF 또는 소변 샘플일 수 있다.
- [0280] TDP-43의 수준은, 예를 들어, 웨스턴 블롯, 면역침전법, 효소 결합 면역흡착분석법(ELISA), 방사면역측정법(RIA), 형광-활성화 세포 선별 분석법(FACS), 2차원 겔 전기영동, 질량 분석법(MS), 기질-보조 레이저 탈착/이온화-비행 시간-MS(MALDI-TOF), 표면-향상 레이저 탈착 이온화-비행시간(SELDITOF), 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 고속 단백질 액체 크로마토그래피(FPLC), 다차원 액체 크로마토그래피(LC) 다음에 이중질량 분석법(MS/MS) 및 레이저 텐시토메트리로부터 선택되는 하나 이상의 기법에 의해 TDP-43을 분석하는 것을 포함하는, 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 평가될 수 있다. 일 실시형태에서, TDP-43의 상기 생체내 영상화는 양전자 방출 단층촬영(positron emission tomography: PET), 단일 광자 방출 단층촬영(single photon emission tomography: SPECT), 근적외선(near infrared: NIR) 광학 영상화 또는 자기 공명 영상화(magnetic resonance imaging: MRI)를 포함한다.
- [0281] TDP-43 단백질성 질병 진행을 모니터링하기 위해 AD, 파킨슨병, ALS, 헌팅턴병, 루이소체 치매 또는 FTL과 같은 신경퇴행성 질병을 진단하고, 본 발명에 따라 적합할 수 있는 항체 및 관련된 수단을 사용하여 TDP-43 단백질성 질병 치료를 모니터링하는 방법은 또한 본 명세서에 전문가 참조로서 포함되는 국제특허출원 공개 제WO 2010/111587호 및 제WO2007/011907호에 기재되어 있다. 해당 방법은 본 발명의 TDP-43 특이적 항체, 결합 단편, 유도체 또는 변이체에 의하는 것을 제외하고 기재된 바와 같이 적용될 수 있다.
- [0282] 이들 및 다른 실시형태는 본 발명의 설명 및 실시예에 의해 개시되고 포함된다. 본 발명에 따라 사용되는 물질, 방법, 용도 및 화합물 중 어느 하나에 관한 추가 문헌은, 예를 들어 전자적 장치를 사용하여 공공 도서관 및 데이터베이스로부터 검색될 수 있다. 예를 들어 미국 국가생물공학센터(National Center for Biotechnology Information) 및/또는 미국 국립보건원의 국립 의학 도서관에 의해 호스팅되는, 공공 데이터베이스 "Medline"이 이용될 수 있다. 추가 데이터베이스 및 웹 주소, 예컨대 유럽 분자 생물학 연구소(European Molecular Biology Laboratory: EMBL)의 부서인 유럽 생물학 정보학 연구소(European Bioinformatics Institute: EBI)의 것은 당업자에게 공지되어 있고, 또한 인터넷 검색 엔진을 사용하여 얻어질 수 있다. 생물공학의 특허 정보의 검토 및 기존의 검색 및 현존하는 인식에 유용한 특허 정보의 적절한 공급원의 조사는 문헌[Berks, TIBTECH 12 (1994), 352-364]에 제공된다.
- [0283] 상기 개시내용은 일반적으로 본 발명의 설명한다. 달리 언급되지 않는다면, 본 명세서에서 사용되는 용어는 문헌[Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Oxford University Press, 1997, 개정판 2000 및 재인쇄 2003, ISBN 0 19 850673 2]에 제공되는 것과 같은 정의로 주어진다. 몇몇 문헌은 본 명세서의 내용을 통해 인용된다. 모든 인용된 참고문헌의 내용(본 출원 및 제조업자의 명세서, 설명서 등을 통해 인용된 바와 같은 참고문헌, 인용된 특허, 공개된 특허출원을 포함)은 본 명세서에 참조로서 명확하게 포함되지만; 인용되는 어떤 문헌이 사실 본 발명에 대한 선행 기술이라는 용인은 아니다.
- [0284] 더 완전한 이해가 단지 예시의 목적을 위해 본 명세서에 제공되는 다음의 구체적 실시예를 참고로 하여 얻어질 수 있으며, 이는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0285] **실시예**

[0286] **재료 및 방법**

[0287] 본 명세서에 사용된 것과 같은 통상적인 방법의 상세한 설명은 인용 문헌에서 찾을 수 있다. 이하에 달리 표시하지 않는다면, TDP-43-특이적 B 세포의 확인 및 관심 대상의 특이성을 나타내는 TDP-43 항체의 분자 클로닝뿐만 아니라 이들의 제조법 발현 및 기능적 특징은 W02008/081008로서 공개된 국제특허출원 PCT/EP2008/000053호의 실시예 및 보충 방법 부문에 기재되어 있는 바와 같이 수행될 수 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다.

[0288] **인간 TDP-43 항체 선별**

[0289] **ELISA**

[0290] 96 웰 절반 영역 마이크로플레이트(코닝(Corning))를,

[0291] (a) 제조법 전장 His-태그 인간 TDP-43(미국에 소재한 바이오젠 아이벡(미국에 소재한 바이오젠 이데크)); 또는

[0292] (b) 잔기 409 및 410(덴마크에 소재한 샤페어-엔(Shafer-N))에서 인산화 변형을 지니는 TDP-43의 C-말단 도메인의 잔기 390-414로 이루어진 합성 펩타이드

[0293] 중 하나로 4°C에서 밤새 탄산 ELISA 코팅 완충제 중에서(pH 9.6) 각각 5µg/ml 및 3.3µg/ml 농도에서 코팅하였다

[0294] 플레이트를 PBS-Tween(pH 7.6) 중에서 세척하였고, 비특이적 결합 부위를 2% BSA(스위스 북스에 소재한 시그마(Sigma))를 함유하는 PBS-T로 실온에서 1시간 동안 차단시켰다. B 세포 조건화 배지를 기억 B 세포 배양 플레이트로부터 ELISA 플레이트로 옮겼고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. ELISA 플레이트를 PBS-T 중에서 세척한 다음, 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-컨쥬게이트된 항-인간 면역글로블린 다클론성 항체(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch))와 함께 인큐베이션시켰다. PBS-T로 세척한 후, 인간 항체의 결합을 표준 비색 분석에서 HRP 활성의 측정에 의해 결정하였다.

[0295] **MSD**

[0296] 표준 96 웰 10-스팟 MULTI-SPOT 플레이트(미국에 소재한 메조 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery))를 각각 아미노산 1-259, 260 내지 277 및 350-366(영국 Abcam plc)에 대응되는 TDP-43 단백질 단편의 혼합물로 코팅하였다. 10µg/ml의 각각의 펩타이드를 사용하였고 PBS 중에서 제형화하였다. 비특이적 결합 부위를 3% BSA를 함유하는 PBS-T에 의해 실온에서 1시간 동안 차단시킨 후 실온에서 1시간 동안 B 세포 조건화 배지로 인큐베이션시켰다. 플레이트를 PBS-T 중에서 세척한 다음, 설폰-태그 컨쥬게이트된 항-인간 다클론성 항체(미국에 소재한 메조스케일 디스커버리(Mesoscale Discovery))와 함께 인큐베이션시켰다. PBS-T로 세척시킨 후, 결합 항체를 SECTOR 영상화기 6000(미국에 소재한 메조스케일 디스커버리)을 사용하는 전기화학발광 측정에 의해 검출하였다.

[0297] **인간 TDP-43 항체의 분자 클로닝**

[0298] 기억 B 세포를 함유하는 샘플을 건강한 인간 피험체로부터 얻었다. 선택한 기억 B 세포 배양물의 살아있는 B 세포를 채취하였고, mRNA를 단리시켰으며, cDNA를 역전사효소(미국에 소재한 클론테크(Clontech))에 의해 준비하였다. 그 다음에 면역글로블린 중쇄 및 경쇄 서열을 네스티드(nested) PCR 접근을 사용하여 얻었다.

[0299] 인간 면역글로블린 생식계열 레퍼토리의 모든 서열 패밀리를 나타내는 프라이머의 조합을 리더 펩타이드, V-세그먼트 및 J-세그먼트의 증폭을 위해 사용한다. 5'-단부에서 리더 펩타이드-특이적 프라이머 및 3'-단부에서 불변 영역-특이적 프라이머를 사용하여 제1 라운드 증폭을 수행한다(Smith *et al.*, Nat Protoc. 4 (2009), 372-384). 중쇄 및 카파 경쇄에 대해, 5'-단부에서 V-세그먼트-특이적 프라이머 및 3'-단부에서 J-세그먼트-특이적 프라이머를 사용하여 제2 라운드 증폭을 수행한다. 람다 경쇄에 대해, 5'-단부에서 V-세그먼트-특이적 프라이머 및 3'-단부에서 C-영역-특이적 프라이머를 사용하여 제2 라운드 증폭을 수행한다(Marks *et al.*, Mol. Biol. 222 (1991), 581-597; de Haard *et al.*, J. Biol. Chem. 26 (1999), 18218-18230).

[0300] 완전한 항체의 제조법 발현 시 ELISA에 대해 재선별함으로써 원하는 특이성을 지니는 항체 클론의 확인을 수행한다. 완전한 인간 IgG1 항체 또는 키메라 IgG2a 항체의 제조법 발현은 5'-단부에서 리더 펩타이드를 암호화하는 서열을 지니면서 3'-단부에서 적절한 불변 도메인(들)을 암호화하는 서열을 지니는 가변 영역 서열의 보체인 발현 벡터 내로 "정확한 리딩 프레임 내" 가변 중쇄 및 경쇄 서열의 삽입 시 달성된다. 이를 위하여, 프라이머 함유 제한 부위는 항체 발현 벡터 내로 가변 중쇄 및 경쇄 서열의 클로닝을 용이하게 하도록 설계하였다. 중쇄

면역글로블린은 신호 펩타이드 및 인간 면역글로블린 감마 1 또는 마우스 면역글로블린 감마 2a의 불변 도메인을 함유하는 중쇄 발현 벡터 내로 프레임내 면역글로블린 중쇄 RT-PCR 산물을 삽입함으로써 발현된다. 카파 경쇄 면역글로블린은 신호 펩타이드 및 인간 카파 경쇄 면역글로블린의 불변 도메인을 제공하는 경쇄 발현 벡터 내로 프레임내 카파 경쇄 RT-PCR-산물을 삽입함으로써 발현된다. 람다 경쇄 면역글로블린은 신호 펩타이드 및 인간 또는 마우스 람다 경쇄 면역글로블린의 불변 도메인을 제공하는 람다 경쇄 발현 벡터 내로 프레임내 람다 경쇄 RT-PCR-산물을 삽입함으로써 발현된다.

[0301] 기능적 재조합 단클론성 항체를 Ig-중쇄 발현 벡터 및 카파 또는 람다 Ig-경쇄 발현 벡터의 HEK293 또는 CHO 세포(또는 인간 또는 마우스 유래의 어떤 다른 적절한 수용 세포주) 내로 공동형질감염시 얻는다. 재조합 인간 단클론성 항체를 후속적으로 표준 단백질 A 컬럼 정제를 사용하여 조건화 배지로부터 정제한다. 재조합 인간 단클론성 항체는 일시적으로 또는 안정하게 형질감염된 세포를 사용하여 제한되지 않은 양에서 생성할 수 있다. 재조합 인간 단클론성 항체를 생성하는 세포주는 직접적으로 Ig-발현 벡터를 사용하거나 또는 상이한 발현 벡터 내로 Ig-가변 영역의 재클로닝에 의해 확립될 수 있다. F(ab), F(ab)₂ 및 scFv와 같은 유도체는 또한 이들 Ig-가변 영역으로부터 만들 수 있다.

[0302] His-태그 TDP-43의 정제 및 특성규명

[0303] 6XHis-태그 TDP-43(pCGB026)에 대한 발현 벡터를 pRSET A 발현 벡터(인비트로젠(Invitrogen)) 내로 TDP-43 서열을 클로닝함으로써 만들었다. BL21 Star (DE3)pLysS 이콜라이 세포(인비트로젠)을 pCGB026로 형질전환시켰다. LB 브로스를 함유하는 1ℓ 진탕 플라스크 내에서 대략 1 OD로 37°C에서 성장시킨 후, IPTG를 0.5 mM에 첨가하였고, 세포를 18°C에서 밤새 성장시켰다. 세포를 저속 원심분리에 의해 펠렛화시켰고, 상청액을 디캔팅하였으며, 세포 펠렛을 -20°C에서 저장 동안 냉동시켰다.

[0304] 세포 펠렛을 실온으로 평형상태로 만들고, 프로테아제 저해제(protease inhibitor: PI)(최종 농도 PI: 1mM PMSF, 5 μM 펩스타틴 A, 1mM 벤즈아마이드, 10 μM 베스타틴, 10 μM E64, 20 μM 류펩틴, 1.5 μM 아프로티닌)을 함유하여 50ml의 50mM 트리스(Tris)-HCl pH 7.5, 20mM 이미다졸, 150mM NaCl 중에서 재현탁시켰다. 거대 입자를 파괴하기 위해 5분 동안 균질화시킨 후, 마이크로플루이디저(마이크로플루이딕스 인코포레이티드(Microfluidics, Inc.))를 사용하여 고압하에 세포를 파괴하였다. 세포 용해물을 10,000rpm에서 4°C에서 30분 동안 원심분리시켰다. 불용성 his-태그 TDP-43을 함유하는 펠렛을 2mM MgCl₂, 완전 무 EDTA PI 정제(로슈(Roche)), 100 μg/ml 라이소자임, 5U/ml DNase(써모 사이언티픽(Thermo Scientific))을 함유하는 5ml B-PER 용액(써모 사이언티픽) 중에서 재현탁시켰고, 실온에서 15분 동안 인큐베이션시켰다. 추가적인 B-PER/2mM MgCl₂/PI 정제 용액을 50ml의 최종 용적에 첨가하였고, 혼합물을 10,000rpm에서 10분 동안 원심분리시켰다. 단리시킨 펠렛을 50mM 트리스(Tris)-HCl pH 7.5, 20mM 이미다졸, 150mM NaCl, PI 완충제의 20ml 중에서 2회 세척한 후 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리시켰다. 그 다음에 단리된 펠렛을 PI를 함유하는 8M 유레아, 20mM 인산나트륨 pH 7.8 중에서 재현탁시켰고, 균질화에 의해 5분 동안 혼합하였으며, 10,000rpm에서 10분 동안 원심분리시켰다.

[0305] 상청액을 단리시키고, 0.45 μm 필터를 통해 여과시켰으며, PI를 지니는 8 M 유레아, 20mM 인산나트륨 pH 7.8, 0.5 M NaCl 중에서 평형상태로 만든 4ml의 Ni-NTA 수지(인비트로젠)와 합하였고, 인큐베이션시키는 한편, 4°C에서 밤새 로킹(rocking)하였다. 관류를 수집하였고, 수지를 8M 유레아, 20mM 인산나트륨 pH 5.3, 0.5 M NaCl의 10개 컬럼 용적으로 세척하였다. His-태그 TDP-43을 8M 유레아, 20mM 인산나트륨 pH 4, 0.5M 염화나트륨으로 0.5 컬럼 용적 분획 중에서 용리시켰다. 피크 분획을 폴딩시켰고, 단백질 농도를 UV 분광학을 사용하여 결정하였다. 전체 정제 수율은 ~8 mg/l 배양물이었다.

[0306] 정제된 단백질의 SDS-PAGE 분석은 ~ 47kDa(데이터는 제공하지 않음)에서 주요 밴드를 나타내었으며, 이는 46.5 kDa의 예측 분자량과 일치된다. 정제 단백질 상의 무결함 질량 분석법은 46538Da에서 주요 피크를 나타내었는데, 이는 46529.9Da의 예측 질량과 일치된다. 정제된 단백질에 결합되는 TDP-43에 대해 공지된 상업적으로 입수가능한 항체의 능력은 ELISA에 의해 결정된다. 아미노산 205-222를 인식하는 마우스 단클론성 항체 2E2-D3(Zhang, H.-X. et al., 2008, Neuroscience Lett., 434, 170-74), 및 아미노산 Ala-260 및 Gly-400 주위의 서열을 각각 인식하는 토끼 다클론성 항체 A260 및 G400을 모두 정제된 His-태그 TDP-43에 결합시켰다(데이터는 제공하지 않음).

[0307] 인간 TDP-43 도메인의 재조합 발현

[0308] 인간 TDP-43 도메인 암호 서열을 전장 cDNA 서열(Q13148, TARDBP_인간)로부터 PCR에 의해 증폭시켰고, 발현 벡

터 pRSET-A(미국에 소재한 인비트로젠) 내로 클로닝시켰다. 4개의 발현 벡터(His-huTDP-43 도메인 I, His-huTDP-43 도메인 II, His-huTDP-43 도메인 III 및 His-huTDP-43 도메인 IV)는 4개의 TDP-43 도메인에 대해 암호화한다: 각각 N-말단 도메인(서열번호 94의 아미노산 잔기 2-106), RNA 결합 도메인 1(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204), RNA 결합 도메인 2(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273) 및 글라이신 풍부 도메인(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414). T7 프로모터의 제어하에 TDP-43 도메인을 암호화하는 cDNA를 포함하는 DNA 작제물을 사용하여 적절한 에스케리키아 콜라이 균주, 예컨대 BL21(DE3)(미국에 소재한 뉴잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs))를 형질전환시켰고, 0.5mM 아이소프로필 β-D-티오갈락토피라노사이드(IPTG)의 첨가에 의해 15ml 세포 배양물의 발현을 유도하였다. 37°C에서 4시간 유도 후 세포를 채취한 다음, 1ml 100mM KCl, 50mM HEPES, 2mM EGTA, 1mM MgCl₂, 1mM 다이티오프레이틀, 0.1mM PMSF, 10% 글라이세롤 및 0.1mg/ml 라이소자임, pH 7.5 중에서 재현탁시킨 후 초음파처리하였다. 9000rpm에서 4°C에서 45분 동안 원심분리시킨 후 가용성 및 불용성 분획을 수집하였다. 유사하게, 모의(mock) 에스케리키아 콜라이로부터의 9000g 상청액을 수집하였다. 필요하다면(TDP-43 도메인 IV), 불용성 분획을 1ml 8M 유레아, 20mM 트리스(Tris), 200mM KCl 및 1mM β-머캅토에탄올 중에서 가용화시켰다. 가용성 및 가용화된 분획을 Ni-NTA 슈퍼플로 컬럼(Superflow Columns)(미국에 소재한 퀴아젠(Qiagen)) 상에 부하하였고, 제조업자의 프로토콜에 따라 His-TDP-43 도메인을 정제하였다. 제조합 단백질의 정제 등급을 SDS-PAGE 및 쿠마씨 염색에 의해 추정하였다. 정제시킨 단백질의 농도를 280nm 흡광도 측정에 의해 결정하였다.

[0309] 직접 ELISA

[0310] 96 웰 마이크로플레이트(코닝)를 인간 전장 TDP-43, TDP-43 도메인 I(서열번호 94의 아미노산 잔기 2-106), TDP-43 도메인 II(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204), TDP-43 도메인 III(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273), TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414)로 또는 TDP-43의 C-말단 도메인의 잔기 390 내지 414(서열번호 94 참조)를 포괄하는 합성 펩타이드로, 각각 6.6μg/ml 또는 3.3μg/ml의 농도로 희석시킨 잔기 409/410(덴마크에 소재한 샤페-N)에서 인산화 변형을 지니며, 4°C에서 밤새 탄산염 ELISA 코팅 완충제(pH 9.6) 중에서 코팅시켰다. 비특이적 결합 부위를 2% BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)를 함유하는 PBST로 실온에서 1시간 동안 차단시켰다. 항체를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. HRP(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)와 컨쥬게이션된 당나귀 항-인간 IgG γ-특이적 항체 또는 HRP(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)와 컨쥬게이션된 염소-항 마우스 IgG(H+L)-특이적 2차 항체를 사용하여 결합을 결정한 후 표준 비색 분석에서 HRP 활성을 측정하였다.

[0311] 웨스턴 블롯 분석

[0312] 제조합 전장 TDP-43, TDP-43 도메인 I(서열번호 94의 아미노산 잔기 2-106), TDP-43 도메인 II(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204), TDP-43 도메인 III(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273), TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414), 각각의 300ng을 SDS-PAGE(NuPAGE 12% 비스-트리스(Bis-Tris) 겔; 스위스 바젤에 소재한 인비트로젠)에 의해 분석한 후 나이트로셀룰로소막 상에서 일렉트로블롯팅(electroblotting)시켰다. 비특이적 결합 부위를 2% BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)를 함유하는 PBST로 실온에서 1시간 동안 차단시켰다. 블롯을 1차 항체(10nM)와 함께 밤새 인큐베이션시킨 후, HRP(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)와 컨쥬게이트된 당나귀 항-인간 IgG γ-특이적 2차 항체 또는 HRP(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)와 컨쥬게이트된 염소 항 마우스 IgG(H+L)-특이적 2차 항체와 함께 인큐베이션시켰다. ECL 및 이미지퀀트(ImageQuant) 350 검출(스위스 오텔핀겐에 소재한 GE 헬스케어)를 사용하여 블롯을 만들었다.

[0313] 2 시험 Y-미로 작업

[0314] 항체 처리 TDP-43 단백질성 질병 마우스 모델에서 작업 기억의 개선은 2 시험 Y-메이즈 작업을 사용하여 시험할 수 있다(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된 문헌[Penanen, Genes Brain Behav. 5 (2006), 369-79]). 미로의 3개의 암(arm)은 22cm 길이, 5cm 폭 및 15cm 깊이이다. 검정색 및 백색의 추상적 단서를 미로를 둘러싸는 검정색 커튼 상에 둔다. 암 단계 동안 6 lux의 주변광 수준으로 실험을 수행한다. 각 실험은 훈련기간과 관찰기간을 포함한다. 훈련기간 동안, 마우스에 3개의 암 중 2개(시작 암 및 제2 암)를 부여하는데, 이는 4분 동안 자유롭게 탐색할 수 있으며, 제3 암(신규한 암)에 대한 접근은 없다. 그 다음에 마우스를 미로로부터 제거하고, 1.5 내지 5분 동안 보유 우리에서 유지하는 한편, 미로를 70% 에탄올로 철저히 세정하여 임의의 후각 단서를 제거한다. 그 다음에 마우스를 모두 3개의 암으로 4분 동안 관찰을 위해 다시 미로에 넣는다. 독립체의 서열, 각 암에 대한 유입의 수 및 각 암에서 소모한 시간을 기록한다. 그것으로부터, 다른 두 암(시작 암 및 제2 암)에서 소모한 평균을 초과하는 신규한 제3 암에서 소모한 시간의 비를 계산하고, 타우병증 마우스 모델 및

대응되는 대조군 야생형 마우스에서 상이한 처리군 간에 비교한다. 설치류는 전형적으로 이전에 방문한 것으로 복귀하기보다는 미로의 새로운 암을 탐색하는 것을 선호한다. 마우스의 장애 관련 작업 기억 손상에 기인하는 미처리 마우스의 차별적이지 않은 거동과 비교하여 처리한 TDP-43 단백질성 질병 모델 마우스에 의한 이 선호도를 다시 획득하는 것에 대해 항체의 효과를 모니터링할 수 있다. 따라서 1에 근접한 비는 손상된 작업 기억을 나타낸다. 더 높은 비는 더 양호한 작업 기억을 나타낸다. TDP-43 단백질성 질병 모델 마우스에서 손상된 작업 기억은 인간 TDP-43의 과발현으로부터 초래된 TDP-43 병리학에 기인하는 것으로 고려한다. 따라서, 대조군 마우스에서보다 항-TDP-43 항체 처리 마우스에서 관찰한 유의하게 더 높은 비는 항-TDP-43 항체가 TDP-43 병리에 대해 치료적 효과를 가진다는 것을 나타낼 것이다.

[0315] **폴(Pole) 시험**

[0316] 마우스가 가장 활동적일 때, 암 단계의 시작에서 마우스를 시험한다. 클라이밍을 용이하게 하도록 천으로 덮은 50cm 길이 및 1cm 폭을 지나는 나무 막대로 폴을 만든다. 폴의 기저는 마우스의 우리에 넣는다. 마우스를 폴의 상부에 넣고, 아래쪽으로 배향되는 시간 및 우리로 내려오는 시간을 30분 시행간 간격으로 5회 시행에 걸쳐 기록한다. 최고의 수행 시행을 분석한다.

[0317] **고위십자미로 시험**

[0318] 마우스가 가장 활동적일 때, 암 단계의 시작에서 마우스를 시험한다. 어두운 광(40lux)에서 시험을 수행한다. 고위십자미로는 2개의 개방 및 2개의 폐쇄 암(암 길이: 30cm; 폭: 5cm)으로 이루어진다. 개방암은 작은 1cm dpt 지를 가지면, 폐쇄 암은 15cm 벽에 의해 경계를 이룬다. 작업의 시작 시, 마우스를 개방 암과 접하는 고위십자미로의 중앙에 둔다. 마우스를 비디오 기록하는 한편 5분 동안 미로를 탐색시켰다. 개방 및 폐쇄 암에서 시간을 소모하였고, 보행 거리를 측정하고 분석한다.

[0319] **실시예 1: ELISA 및 웨스턴 블롯팅에 의한 인간 TDP-43 항체 결합 분석**

[0320] **직접적 ELISA**

[0321] 96 웰 마이크로플레이트(코닝)을 서열번호 94의 잔기 409/410에서 인산화 변형을 지니고, 서열번호 94의 TDP-43 아미노산 잔기 2-106(TDP-43 도메인 I), 서열번호 94의 잔기 99-204(TDP-43 도메인 II), 서열번호 94의 잔기 183-273(TDP-43 도메인 III), 서열번호 94의 잔기 258-414(TDP-43 도메인 IV), 서열번호 94의 잔기 2-414(전장 TDP-43)를 포함하는 폴리펩타이드 및 잔기 390-414를 함유하는 합성 폴리펩타이드로 코팅시켰다. 폴리펩타이드를 6.6µg/ml(제조합 TDP-43 및 TDP-43 단편) 또는 3.3µg/ml(합성 펩타이드)의 동일한 코팅 농도에서 ELISA 플레이트 상에 코팅시켰다. 인간 유래 항체의 결합을 직접 ELISA에 의해 결정하였다.

[0322] 항체 NI-205.51C1(도 2A) 및 NI-205.3F10(도 2C)은 TDP-43 도메인 III(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273)에 특이적으로 결합되었다. 항체 NI-205.8A2(도 2D), NI-205.15F12(도 2E), NI-205.25F3(도 2G) 및 NI-205.21G1(도 2I)은 TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414)에 특이적으로 결합되었다. 항체 NI-205.87E7(도 2H)는 TDP-43 도메인 I(서열번호 94의 아미노산 잔기 2-106)에 특이적으로 결합되었다. 항체 NI-205.21G2(도 2B) 및 NI-205.113C4(도 2F)는 TDP-43 도메인 II(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204)에 특이적으로 결합되었다. 모든 인간 유래 TDP-43 특이적 항체는 전장 TDP-43을 특이적으로 인식하였다. 상이한 TDP-43 도메인의 코팅 효율을 제어하기 위해, 전장 TDP-43 및 특이적 TDP-43 도메인에 결합되는 상업적으로 입수가 가능한 항체를 사용하였다: Ab50930(영국에 소재한 Abcam), TDP-43 도메인-1; TARDBP 단클론성 항체(M01), 클론 2E2-D3(대만에 소재한 압노바(Abnova)), TDP-43 도메인 III 및 Ab82695 (Abcam, US), TDP-43 도메인 IV. 대조군 항체는 전장 TDP-43 및 그것의 특이적 TDP-43 도메인에 결합되었다.

[0323] **웨스턴 블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합**

[0324] 제조합 전장 TDP-43, TDP-43 도메인 I(서열번호 94의 아미노산 잔기 2-106), TDP-43 도메인 II(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204), TDP-43 도메인 III(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273) 및 TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414)를 SDS-PAGE에 의해 재용해시켰다. 상업적으로 입수가 가능한 TDP-43 특이적 항체 TARDBP(M01), 클론 2E2-D3(대만에 소재한 압노바)를 인간 TDP-43 검출을 위한 양성 대조군으로서 사용한 반면, 항-인간 IgG Fcγ-특이적 항체를 음성 대조군으로서 사용하였다. 특이적 TDP-43 도메인에 대한 인간 유래 항체의 결합을 웨스턴 블롯 분석에 의해 결정하였다.

[0325] 웨스턴 블롯팅은 항체 (a) TDP-43 도메인 III(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273)에 특이적으로 결합된 NI-205.51C1 및 NI-205.3F10 항체; (b) TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414)에 특이적으로 결

합된 NI-205.8A2 및 NI-205.21G1; (c) TDP-43 도메인 II(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204)을 특이적으로 인식하는 NI-205.21G2; (d) TDP-43의 도메인에 추가로 전장 인간 TDP-43을 인식하는 NI-205.51C1, NI-205.3F10, NI-205.8A2, NI-205.21G1, NI-205.21G2; 및 (e) 전장 TDP-43을 인식하지만 특이적 TDP-43 도메인(데이터는 제공하지 않음)에 결합을 나타내지 않는 인간-유래 항체 NI-205.25F3, NI-205.15F12 및 NI-205.87E7를 나타낸다. 추가적으로, 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드에 우선적으로 또는 배타적으로 결합된 항체 NI-205.68G5 및 NI-205.20A1(실시에 2 참조)은 재조합 전장 TDP-43 또는 그것의 어떤 단편(데이터는 제공하지 않음)을 인식하는 것으로 나타나지 않았다.

[0326] 실시예 2: 인간 TDP-43 결합 항체에 대한 EC₅₀ 결정

[0327] 절반의 최대 유효 농도(EC₅₀)의 결정

[0328] 인간 TDP-43에 대한 인간 유래 TDP-43-특이적 항체의 절반 최대 유효 농도(EC₅₀)를 결정하고, 표적 특이성을 평가하기 위해, 96 웰 마이크로플레이트(코닝)을 재조합 전장 TDP-43(미국에 소재한 바이오젠 이테크), 에스케리키아 콜라이 추출물 및 BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)로 코팅하였고, 4°C에서 밤새 탄산염 ELISA 코팅 완충제(pH 9.6) 중에서 5µg/ml의 농도로 희석시켰다. 대안적으로, 96 웰 절반 면적 마이크로플레이트(코닝)를 잔기 409/410에서 인산화 변형(텐마크에 소재한 새퍼-N)을 지니는 TDP-43의 C-말단 도메인의 잔기 390 내지 414를 포괄하는 합성 펩타이드 및 BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)로 코팅하였고, 4°C에서 밤새 탄산염 ELISA 코팅 완충제(pH 9.6) 중에서 3.3µg/ml의 농도로 희석시켰다. 비특이적 결합 부위를 2% BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)를 함유하는 PBS로 실온에서 1시간 동안 차단시켰다. 인간 TDP-43-특이적 항체를 표시한 농도로 희석시켰고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. HRP(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)와 컨주게이션시킨 당나귀 항-인간 IgG γ-특이적 2차 항체를 사용하여 결합을 결정한 후, 표준 비색 분석에서 HRP 활성을 측정하였다. 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 소프트웨어(미국 샌디에이고)를 사용하여 비선형 회귀에 의해 EC₅₀ 값을 추정하였다.

[0329] 표 4에서 개시하는 바와 같이, 항체 NI-205.51C1 및 NI-205.21G2는 각각 180pM 및 240pM의 서브나노몰 EC₅₀에서 고친화도로 인간 TDP-43에 결합된다. 이들 항체에 대해 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드의 결합은 관찰되지 않았다. 항체 NI-205.3F10, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.113C4, NI-205.25F3 및 NI-205.87E7은 인간 TDP-43에 결합되었지만, 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드에는 결합되지 않았다. 인간 TDP-43 단백질에 대한 이들 항체의 EC₅₀ 값은 1 내지 18nM의 범위에 있다. NI-205.21G1은 4.1nM EC₅₀에서 전장 TDP-43에 결합되며, 49.5nM EC₅₀에서 저친화도로 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드를 인식한다. 항체 NI-205.68G5 및 NI-205.20A1은 각각 16.9 및 15.8nM EC₅₀에서 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드에 대한 결합을 선호하거나 또는 배제하는 것으로 나타났는데, 이는 TDP-43의 위치 409에서 세린의 및/또는 위치 410에서 세린의 인산화가 NI-205.68G5 및 NI-205.20A1에 의한 결합에 필요하다는 것을 시사한다.

표 4

[0330]

TDP-43 및 인산화된 TDP-43에 대한 항체 친화도		
항체	전장 TDP-43 EC ₅₀ (nM)]	포스포-TDP-43 펩타이드 EC ₅₀ (nM)
NI-205.51C1	0.18	N.A.
NI-205.21G2	0.24	N.A.
NI-205.3F10	1.4 - 2.8	N.A.
NI-205.8A2	7.2	N.A.
NI-205.15F12	7.2	N.A.
NI-205.113C4	13.2	N.A.
NI-205.25F3	13.3	N.A.
NI-205.87E7	17.2	N.A.
NI-205.21G1	4.1	49.5
NI-205.68G5	>100	16.9
NI-205.20A1	N.A.	15.8

표 4: 재조합 TDP-43 및 포스포-TDP-43 펩타이드에 대한 인간 유래 TDP-43 결합 항체의 EC₅₀ 결정

[0331] 실시예 3: 합성 펩타이드에 의한 에피토프 맵핑(펩스팟팅(PepSpotting))

[0332] 중복 펩타이드의 스캔을 사용하여 인간 유래 TDP-43 특이적 항체에 의해 인식된 인간 TDP-43 단백질 내의 에피토프를 맵핑하였다. 11개 아미노산 중복 서열의 101개의 선형 15량체 펩타이드를 지니는 펩스칸(Pepscan) 막(펩스팟스(PepSpots), 독일 베를린에 소재한 JPT 펩타이드 테크놀로지스(Peptide Technologies))은 인간 TDP-43의 전체 서열(Q13148, TARDBP_인간)을 총괄적으로 나타낸다. 펩타이드를 나이트로셀룰로스 막 상에 스팟팅한 다음, 메탄올 중에서 5분 동안 활성화시켰고, 후속적으로 실온에서 10분 동안 TBS 중에서 세척하였다. 비특이적 결합 부위를 로티(Roti)(등록상표)-블록(독일 칼스루에에 소재한 카를로스 게엠바하(Carl Roth GmbH Co. KG))으로 실온에서 2시간 동안 차단시켰다. 인간 유래 TDP-43 특이적 항체(1 μ g/ml)를 로티(Roti)(등록상표)-블록 중에서 실온에서 3시간 동안 인큐베이션시켰다. HRP 컨쥬게이트된 당나귀-항 인간 IgG γ -특이적 2차 항체(미국에 소재한 잭슨 이뮤로리서치)를 사용하여 1차 항체의 결합을 결정하였다. ECL 및 이미지퀀트 350 검출(스위스 오텔핀겐에 소재한 GE 헬스케어)를 사용하여 블롯을 만들었다.

[0333] 표 4는 펩스팟을 사용하여 확인한 상이한 인간 유래 TDP-43-특이적 항체에 대한 확인된 결합 에피토프를 요약한다.

표 5

[0334]

인간 TDP-43 단백질 서열 내에서 확인된 결합 에피토프	
항체	결합 에피토프
NI-205.3F10	213-QYGDVMDVFI-223 (서열번호 123)
NI-205.8A2	381-AAIGWGSASNA-391 (서열번호 124)
NI-205.51C1	201-DMTEDELREFF-211 (서열번호 125)
NI-205.87E7	9-EDENDEP-15 (서열번호 126)
NI-205.113C4	133-VQVKKDL-139 (서열번호 127)
NI-205.21G2	121-KEYFSTF-127 (서열번호 128)

[0335] 실시예 4: 인간 척수 및 뇌 조직에서 TDP-43의 병적 형태에 대한 인간 재조합 TDP-43 항체의 결합

[0336] TDP-43 항체-결합 능력의 타당성 검사를 위해, 인간 ALS 환자 또는 FTLD를 지니는 환자로부터 유래된 척수 및 뇌 절편을 사용하였다. TDP-43 병적 측면에 대한 항체 결합을 면역조직화학적 염색에 의해 평가하였다. 인간 재조합 TDP-43 항체의 결합은 인간 FTLD-TDP-43 사례 조직을 특징으로 한다(10명 환자의 사례, 7명 대조군 사례). 5 μ m 두께 파라핀 포매 절편 상에서 면역조직화화법을 수행하였고, DAB(피어스(Pierce))를 지니는 엘리트(Elite) ABC 키트(벡터 라보러토리즈(Vector Laboratories))에 의한 다른 표준 면역표지제 절차를 수행하기 전 EDTA 계 에피토프 회수의 사용을 포함하였다. 다음의 1차 항체를 사용하였다: 양성 대조군으로서 인간 TDP-43에 대해 상승된 마우스 단클론성 항체 2E2-D3(압노바); 본 명세서에/상기 기재된 재조합 인간 TDP-43 항체 NI205.3F10, NI205.51C1, NI205.21G2, NI205.8A2, NI205.15F12, NI205.25F3, NI205.87E7, NI205.21G1, NI205.68G5, NI205.20A1. 세포 핵을 드러내는 헤마톡실린으로 절편을 대비염색하였다.

[0337] 항체 NI205.8A2, NI205.3F10, NI205.21G2 및 NI205.21G1은 핵 TDP-43을 거쳐서 세포질 TDP-43(즉, TDP-43의 병적 형태)에 우선적으로 결합된다. 대조적으로, 상업적으로 입수가능한 양성 대조군 항체, 2E2(대만에 소재한 압노바)를 핵과 세포질 TDP-43 둘 다에서 관찰하였다. 흥미롭게도, 항체 NI205.21G1의 결합은 인산화된 TDP-43을 인식하는 대조군 항체에 대해 관찰한 결합과 비슷한 것으로 나타나는 매우 특이적인 결합을 보여주었다(도 11E 및 H).

[0338] 실시예 5: TDP-43 항체의 생체내 타당성 검사

[0339] TDP-43 항체의 전임상 타당성 검사에 대한 실험을 TDP-43 단백질성 질병의 마우스 모델에서 수행한다. 인간 TDP-43 항체를 삼투 미니펌프를 통해 말초 주사 또는 심실내 뇌 주입에 의해 투여한다. 혈액 및 CSF 샘플의 분석 및 체중의 분석, 일반적 임상 인상, 및 오픈 필드, Y-미로, 고위십자미로, 신규한 물체 인식, 악력, 발 악력 지구력, 폴 시험, 평균대 걷기 도전, 로타로드(rotarod) 또 다른 당업계에 공지된 것을 포함하는 거동 시험을 통해 알 수 있는 바와 같은 운동 또는 인지 장애의 징후에 의해 처리 효과를 모니터링한다.

[0340] 처리 연구의 완료 시, 수집한 혈액 및 CSF 중에서 TDP-43의 변화를 측정하고, 뇌 및 척수 조직을 생리학적 및 병적 TDP-43 및 일반적 신경병리학의 뇌 및 척수 함량에 대해 정량적 면역조직화학적 및 생화학적 기법에 의해 평가한다.

[0341] 항체 및 다른 본 발명의 TDP-43 결합 분자의 타당성을 검사하는데 유용한 전임상 모델은 문헌[Wegorzewska et

al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106 (2009), 18809-14]에 기재되어 있는 바와 같은 TDP-43-A315T 마우스 모델 시스템을 포함한다. A315T 마우스는 TDP-43 단백질성 질병의 유전자이식 모델이되, 마우스의 표현형은 ALS와 유비퀴틴 응집물을 지니는 전측두엽 변성(FTLD-U) 둘 다의 특징을 나타낸다.

[0342] 추가적인 적합한 방법은 문헌[Gurney *et al.*, Science 264 (1994), 1772-75]에 기재되어 있는 바와 같은 B6.Cg-Tg (SOD1*G93A)1Gur/J 마우스 모델 시스템을 포함한다. 이 마우스 계통은 인간 수퍼옥사이드 디스무타제 1의 G93A 돌연변이체 형태를 발현시키며, 운동뉴런병의 징후를 발생시킨 다음 6 내지 8개월 내에 사망으로 진행된다. 이들 마우스는 운동 뉴런의 세포질에 대한 TDP-43의 특징적 재분포 및 TDP-43 면역반응적 봉입물의 발생을 나타내며, 따라서 TDP-43을 표적화하는 약리학적 개체를 연구하기 위한 적합한 모델이다; 예를 들어, 문헌[Shan *et al.*, Neuropharmacol. Letters 458 (2009), 70-74] 참조.

[0343] TDP-43 항체의 타당성을 검사하기 위한 추가적인 실험을 문헌[Wils *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 106 (2010), 3858-63]에 기재되어 있는 바와 같은 TDP43WT 마우스 모델 시스템에서 수행한다. 이 마우스 계통은 야생형 인간 TDP-43을 발현시키고, 피질 및 척추 운동 뉴런의 변성을 발생시키며, ALS의 경련성 사지마비 연상을 발생시킨다. FTLD의 특징인 비운동 피질 및 피질하 뉴런의 용량 의존적 변성을 또한 이 마우스 계통에서 관찰한다. 병에 걸린 척수 및 뇌 영역 내 뉴런은 ALS/FTLD 환자에서 관찰되는 바와 같이 유비퀴틴화되고 인산화된 TDP-43 핵 및 세포질 응집물의 축적을 나타낸다.

[0344] TDP-43 항체의 타당성을 검사하기 위한 추가적인 실험을 문헌[Duchen and Strich, J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 31 (1968), 535-42]에 기재되어 있는 바와 같이 운동뉴런병의 독립적 모델인 워블러(Wobbler) 마우스 모델(B6.B-Vps54wr/J, 잭슨 래버러토리즈(Jackson Laboratories)로부터 입수가가능)에서 수행한다. 이 마우스 모델은 광범위 세포내 유비퀴틴 봉입물 및 산발성 ALS에 대한 TDP-43 연상의 비정상 세포질 분포를 나타내는 것으로 보고되었다, 예를 들어, 문헌[Dennis and Citron, Neuroscience 185 (2009), 745-50] 참조.

[0345] TDP-43 항체의 타당성을 검사하기 위한 추가적인 실험을 내인성 프로모터의 제어 하에 인간 게놈 TDP-43_G348C를 과발현시키는 최근에 특성규명된 TDP-43_G348C 유전자이식 마우스에서 수행한다. 문헌[Swarup *et al.*, Brain 134 (2011), 2610-2626].

[0346] TDP-43 항체의 타당성을 검사하기 위한 추가적인 실험을 TDP-43를 발현시키거나 또는 과발현시키는 유전자이식 세포주 및 유전자이식 동물, TDP-43 돌연변이체, 예컨대 TDP-43의 C-말단 절단, 인간 집단에서 보이는 TDP-43 돌연변이 또는 세포 국소화, 예를 들어 TDP-43의 핵 국소화를 달성하는 돌연변이체를 포함하는, 모델 시스템에서 수행한다. TDP-43 항체의 타당성을 검사하기 위한 TDP-43 모델 시스템, 예를 들어, 세포주 및 동물 모델은 상이한 유전자의 발현에서 변화로부터 초래되는 입증된 TDP-43 상향조절 또는 축적을 지니는 시스템, 예를 들어 프로그래놀린의 하향조절을 지니는 워블러 마우스 및 모델을 추가로 포함한다. 일 실시형태에서, TDP-43 항체의 타당성을 검사하기 위한 추가적인 실험을 전뇌 내 결합있는 핵 국소화 신호를 지니는 인간 TDP-43을 발현시키는 마우스(Igaz *et al.*, J Clin Invest. 121(2):726-38 (2011)); 뉴런 내 TDP-43의 25-kDa C-말단 단편을 선택적으로 발현시키는 유전자이식 마우스(Caccamo *et al.*, Am J Pathol. 180(1):293-302 (2012)), 전뇌 내 야생형 인간 TDP-43(hTDP-43)을 조건적으로 발현시키는 유전자이식 마우스(Cannon *et al.*, Acta Neuropathol. 123(6):807-23 (2012)), 및 야생형 및 인간 VCP/p97의 질병 원인 형태의 혼한 발현을 지니는 유전자이식 마우스(Custer *et al.*, Hum Mol Genet. 19(9):1741-55 (2010))에서 수행한다. 다른 실시형태에서, TDP-43 항체의 타당성을 검사하기 위한 추가적인 실험을 야생형 TDP-43을 암호화하는 AAV 벡터에 의해 형질감염시킨 마우스, 핵 국소화 신호 결합 TDP-43, 또는 서열번호 94의 잔기 220-414를 포함하는 TDP-43의 절단된 C-말단 단편에서 수행한다. 문헌[Tatom *et al.*, Mol. Ther. 17 (2009), 607-613].

[0347] **만성 효능 연구:** 본 명세서에 개시된 인간 항-TDP-43 항체의 약리학적 효과를 평가하기 위해, TDP-43_G348C 유전자이식 마우스(Swarup *et al.*, Brain 134 (2011), 2610-2626)를 16주 내지 24주의 기간 동안 인간 항-TDP-43 항체 또는 비히클 대조군의 10mg/kg i.p. 주사에 의해 매주 처리한다. 12주의 처리 후, 혈액 샘플을 꼬리 정맥 출혈에 의해 수집한다. 혈액 항-TDP-43 항체 수준을 ELISA에 의해 결정한다. 처리의 12주 및 22주 후, 오픈 필드 시험, Y-미로 시험, 고위십자미로 시험, 신규한 물체 인식 시험, 악력 시험, 발 악력 지구력(PAGE) 시험, 폴 시험, 평균대 걷기 도전 시험 또는 로타로드 시험을 사용하여 신경학적 및 인지/운동 거동을 평가한다. 항체 처리 및 대조군 동물에 대한 신경학적 및 인지/운동 거동 시험 결과를 비교한다. 항체 처리 동물의 개선된 수행은 항-TDP-43 항체의 치료적 효능을 나타낸다.

[0348] **급성 효능 연구:** TDP-43_G348C 유전자이식 마우스(Swarup *et al.*, Brain 134 (2011), 2610-2626)를 1주의 기간 내에 50mg/kg까지의 항-TDP-43 항체 또는 비히클 대조군 1 내지 4회 i.p. 주사로 처리한다. 처리 기간의 마지막

에, 혈액 샘플을 꼬리 정맥 출혈에 의해 수집한다. 혈청 항-TDP-43 항체 수준을 ELISA에 의해 결정한다. 1주 처리 기간의 마지막에, 오픈 필드 시험, Y-미로 시험, 고위험자미로 시험, 신규한 물체 인식 시험, 약력 시험, 발약력 지구력(PAGE) 시험, 폴 시험, 평균대 걷기 도전 시험 또는 로타로드 시험을 사용하여 신경학적 및 인지/운동 거동을 평가한다. 항체 처리 및 대조군 동물에 대한 신경학적 및 인지/운동 거동 시험 결과를 비교한다. 항체 처리 동물의 개선된 수행은 항-TDP-43 항체의 치료적 효능을 나타낸다.

[0349] 실시예 6: 직접 ELISA에 의한 인간 TDP-43 항체에 대한 결합 친화도(EC₅₀) 결정.

[0350] 인간 TDP-43에 대한 인간 유래 TDP-43-특이적 항체 및 그것의 표적 특이성의 절반 최대 유효 농도(EC₅₀)를 실험적으로 상기 실시예 2에 기재한 바와 같이 결정하였다. 요약하면, 96 웰 마이크로플레이트(코닝)을 재조합 전장 TDP-43(미국에 소재한 바이오젠 이테크), 에스케리키아 콜라이 추출물 및 BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)로 코팅하였고, 4°C에서 밤새 탄산염 ELISA 코팅 완충제(pH 9.6) 중에서 5µg/ml의 농도로 희석시켰다. 대안적으로, 96 웰 절반 면적 마이크로플레이트(코닝)를 잔기 409/410에서 인산화 변형(덴마크에 소재한 샤페-N)을 지니는 TDP-43의 C-말단 도메인의 잔기 390 내지 414를 포괄하는 합성 펩타이드 및 BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)로 코팅하였고, 4°C에서 밤새 탄산염 ELISA 코팅 완충제(pH 9.6) 중에서 3.3µg/ml의 농도로 희석시켰다. 비특이적 결합 부위를 2% BSA(스위스 북스에 소재한 시그마)를 함유하는 PBS로 실온에서 1시간 동안 차단시켰다. 인간 TDP-43-특이적 항체를 표시한 농도로 희석시켰고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. HRP(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)와 컨쥬게이션시킨 당나귀 항-인간 IgG γ-특이적 2차 항체를 사용하여 결합을 결정한 후, 표준 비색 분석에서 HRP 활성을 측정하였다. 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 소프트웨어(미국 샌디에이고)를 사용하여 비선형 회귀에 의해 EC₅₀ 값을 추정하였다. 41D1, 21G1, 31D2, 및 8F8 항체로 얻은 예시적 적정 곡선을 도 4에 나타낸다.

[0351] 도 6에 개시하는 바와 같이, 항체 NI-205.41D1(도 4A 및 E), NI-205.51C1 및 NI.205-21G2는 각각 60pM, 180pM 및 240pM의 서브나노몰 EC₅₀에서 고친화도로 인간 TDP-43에 결합된다. 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드에 대한 결합은 관찰되지 않았다. 항체 NI-205.1A9, NI-205.3F10, NI-205.14W3, NI-205.98H6, NI-205.44B2, NI-205.9E12A, NI-205.8A2, NI-205.15F12, NI-205.10D3, NI-205.38H2, NI-205.29E11, NI-205.9E12D, NI-205.31C11, NI-205.113C4, NI-205.25.25F3, NI-205.10H7, NI-205.8C10 및 NI-205.87E7은 인간 TDP-43에 결합되었지만, 나노몰 EC₅₀으로 포스포-TDP-43 C-말단에 결합되지 않는다. 이들 항체에 대해 EC₅₀ 값은 1 내지 18nM의 범위에 있다(표 6 참조). 항체 NI-205.21G1(도 4B 및 F)은 4.1nM EC₅₀에서 전장 TDP-43에 결합되었고, 49.5 nM EC₅₀에서 더 낮은 친화도로 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드를 인식하였다. 항체 NI-205.31D2(도 4C 및 G), NI-205.14H5, NI-205.36D5, NI-205.19G5 및 NI-205.68G5는 0.7 내지 17nM의 범위에 있는 EC₅₀ 값으로 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드에 우선적인 결합을 나타내었다(표 6 참조). 대조적으로, 항체 NI-205.8F8, NI-205.8F8(도 4D 및 H) 및 NI-205.20A1은 각각 5nM, 7nM 및 16nM의 나노몰 EC₅₀에서 고친화도로 인간 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드에 배타적으로 결합되는데(표 6 참조), 이는 세린 409 및/또는 세린 410의 인산화가 결합을 필요로 한다는 생각과 일치된다.

표 6

[0352]

재조합 인간 TDP-43 및 포스포 TDP-43 C-말단 펩타이드에 대한 인간 유도 TDP-43 항체의 EC ₅₀ 결합		
항체	EC ₅₀ [nM]	
	전장 TDP-43	포스포-TDP-43 펩타이드
NI-205.41D1	0.06	결합 없음
NI-205.51C1	0.18	결합 없음
NI-205.21G2	0.24	결합 없음
NI-205.1A9	1.0	결합 없음
NI-205.3F10	1.4	결합 없음
NI-205.14W3	1.5	결합 없음
NI-205.98H6	2.6	결합 없음
NI-205.44B2	2.8	결합 없음
NI-205.9E12A	3.7	결합 없음
NI-205.8A2	7.2	결합 없음
NI-205.15F12	7.2	결합 없음

NI-205.10D3	7.3	결합 없음
NI-205.38H2	8.2	결합 없음
NI-205.29E11	10.4	결합 없음
NI-205.9E12D	11.2	결합 없음
NI-205.31C11	11.0	결합 없음
NI-205.113C4	13.2	결합 없음
NI-205.25F3	13.3	결합 없음
NI-205.10H7	15.3	결합 없음
NI-205.8C10	15.6	결합 없음
NI-205.87E7	17.2	결합 없음
NI-205.21G1	4.1	49.5
NI-205.31D2	> 41.0	0.69
NI-205.14H5	> 100	0.90
NI-205.36D5	> 72.0	4.3
NI-205.19G5	> 200	13.6
NI-205.68G5	> 100	16.9
NI-205.8F8	결합 없음	5.1
NI-205.58E11	결합 없음	6.9
NI-205.20A1	결합 없음	15.8

[0353] 실시예 7: ELISA 및 웨스턴 블롯팅에 의한 인간 TDP-43 항체 결합 분석

[0354] 직접 ELISA

[0355] 실질적으로 실시예 1에 기재한 바와 같이 직접 ELISA 분석을 수행하였다. 요약하면, 아미노산 2-106(도메인 I), 99-204(도메인 II), 183-273(도메인 III), 258-414(도메인 IV)을 포함하는 TDP-43(서열번호 94)의 단편 및 전장 TDP-43(2-414)를 6.6µg/ml의 동일한 코팅 농도에서 ELISA 플레이트 상에 코팅하였다. 인간-유래 항체의 결합을 직접 ELISA에 의해 결정하였다. 얻어진 결과의 예를 도 5에 나타낸다. 항체 NI-205.41D1(도 5A), NI-205.14W3(도 5C), NI-205.44B2(도 5E), NI-205.10D3(도 5G), 및 NI-205.10H7(도 5L)는 TDP-43 도메인 IV(aa 258-414)에 특이적으로 결합되었다. 항체 NI- NI-205.98H6(도 5D)은 TDP-43 도메인 III(aa 183-273)에 특이적으로 결합되었다. 항체 NI-205.1A9(도 5B), NI-205.38H2(도 5H) 및 NI-205.31C11(도 5K)은 TDP-43 도메인 II(aa 99-204)를 특이적으로 인식한 반면, 항체 NI-205.9E12A(도 5F), NI-205.29E11(도 5I), NI-205.9E12D(도 5J) 및 NI-205.8C10(도 5M)은 TDP-43 도메인 I(aa 2-106)에 결합되었다. 모든 인간 유래 TDP-43 특이적 항체는 또한 전장 인간 TDP-43을 인식하였다. 상이한 제조합 TDP-43 도메인의 코팅 효율에 대한 제어를 위해, 전장 TDP-43 및 특이적 TDP-43 도메인에 결합되는 상업적으로 입수가 가능한 항체를 사용하였다(도 5W): i) Ab50930(Abcam, UK), TDP-43 도메인 I; ii) TARDBP 단클론성 항체(M01), 클론 2E2-D3(압노바 23435, 대만에 소재한 압노바), TDP-43 도메인 III 및 iii) Ab82695(영국에 소재한 Abcam), TDP-43 도메인 IV. 대조군 항체는 전장 TDP-43 및 그것의 특이적 TDP-43 도메인에 결합되었다.

[0356] 웨스턴 블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합

[0357] 제조합 전장 TDP-43, TDP-43 도메인 I(서열번호 94의 아미노산 잔기 2-106), TDP-43 도메인 II(서열번호 94의 아미노산 잔기 99-204), TDP-43 도메인 III(서열번호 94의 아미노산 잔기 183-273) 및 TDP-43 도메인 IV(서열번호 94의 아미노산 잔기 258-414)를 SDS-PAGE에 의해 분석하였다. 인간-유래 항체의 특이적 TDP-43 도메인에 대한 결합을 웨스턴 블롯 분석에 의해 결정하였다.

[0358] 얻어진 결과의 실시예를 도 6에 나타낸다. 항체 NI-205.41D1(도 6A), NI-205.14W3(도 6F), NI-205.8A2(도 6H), NI-205.15F12(도 6I), NI-205.10D3(도 6J), NI-205.10H7(도 6L) 및 NI-205.21G1(도 6M)는 TDP-43 도메인 IV(aa 258-414)에 특이적으로 결합되었다. 항체 NI-205.51C1(도 6B), NI-205.3F10(도 6E) 및 NI-205.98H6은 TDP-43 도메인 III(aa 183-273)에 특이적으로 결합되는 반면, 항체 NI-205.21G2(도 6C), NI-205.1A9(도 6D) 및 NI-205.31C11(도 6K)는 TDP-43 도메인 II(99-204 aa)을 특이적으로 인식하였다. 이들 13개의 인간 유래 TDP-43 특이적 항체는 또한 전장 인간 TDP-43을 인식하였다. 항체 NI-205.10D3(도 6J)만이 추가적인 비특이적 신호를 인식하였고, 거의 대부분 이콜라이-유래 단백질 오염물이었다. 포스포-TDP-43 C-말단 펩타이드에 우선적인 또는 배타적인 결합을 나타내는 2개의 항체 NI-205.68G5(도 6N) 및 NI-205.20A1(도 6O)은 제조합 전장 TDP-43 또는 그것의 어떤 단편을 인식하지 않았다. 상업적으로 입수가 가능한 TDP-43 특이적 항체 2E2-D3(압노바 23435, 대만에

소재한 압노바)(도 6P)을 인간 TDP-43 검출을 위한 양성 대조군으로서 사용한 한편, 항-인간 IgG Fc γ -특이적 항체(도 6Q)를 음성 대조군으로서 사용하였다.

[0359] 인간 유래 항체 NI-205.44B2, NI-205.9E12A, NI-205.38H2, NI-205.29E11, NI-205.9E12D, NI-205.113C4, NI-205.25F3, NI-205.8C10 및 NI-205.87E7은 전장 TDP-43은 인식하지 않았지만, 특이적 TDP-43 단편을 확인하지 않았다(데이터는 나타내지 않음).

[0360] **실시예 8: 합성 펩타이드에 의한 에피토프 맵핑(웹스팟팅)**

[0361] 인간 TDP-43 단백질 내에서 인간 유래 TDP-43 특이적 항체에 의해 인식되는 에피토프를 전체 인간 TDP-43 단백질 서열을 포괄하는 개개 펩타이드 간에 11 aa 중복이 있는 101개의 선형 15량체 펩타이드를 지니는 웹스캔 막(웹스팟, 독일 베를린에 소재한 JPT 펩타이드 테크놀로지즈)을 사용하여 맵핑하였다. 웹스캔 맵핑을 실질적으로 실시예 3에 기재한 바와 같이 수행하였다. 요약하면, 펩타이드를 나이트로셀룰로스 막 상에 스팟팅한 다음, 5분 동안 메탄올 중에서 활성화시켰고, 후속적으로 TBS 중에서 실온에서 10분 동안 세척하였다. 표 7은 웹스팟을 사용하여 확인한 상이한 인간 유래 TDP-43-특이적 항체에 대한 결합 에피토프를 요약한다.

표 7

[0362]

웹스팟을 사용하여 확인한 상이한 인간 유래 TDP-43-특이적 항체에 대한 인간 TDP-43 단백질 서열 내의 결합 에피토프. NA- 해당없음		
항체	결합 에피토프	Ser409 및/또는 Ser410 잔기에서 인산화 효과
NI-205.41D1	317- SINPAMMAAAQAAL QSSWGMGMLASQ-343(서열번호 323)	NA
NI-205.51C1	201-DMTEDELREFF-211(서열번호 125)	NA
NI-205.21G2	121-KEYFSTF-127(서열번호 128)	NA
NI-205.3F10	213-QYGDVMDVFIIP-223(서열번호 123)	NA
NI-205.98H6	249-IIKGISV-255(서열번호 315)	NA
NI-205.44B2	345-NQSGPSG-351(서열번호 316)	NA
NI-205.8A2	381-AAIGWGSASNA-391(서열번호 124)	NA
NI-205.15F12	397-FNGGFGS-403(서열번호 317)	NA
NI-205.10D3	289-FGNSRGGGAGL-299(서열번호 318) 389-SNAGSGSGFNG-399(서열번호 319)	NA
NI-205.113C4	133-VQVKDL-139(서열번호 127)	NA
NI-205.10H7	269-QLERSGRFGGN-279(서열번호 320)	NA
NI-205.8C10	17-EIPSEDD-23(서열번호 321)	NA
NI-205.87E7	9-EDENDEP-15(서열번호 126)	NA
NI-205.21G1	390-414	결합이 부분적으로 저해된 Ser409/Ser410 인산화
NI-205.31D2	390-414	Ser409 및 Ser410에서 인산화된 펩타이드에 결합
NI-205.14H5	390-414	Ser409 및/또는 Ser410에서 인산화된 펩타이드에 결합; 또한 약한 결합이 인산화와 독립적으로 관찰됨
NI-205.36D5	390-414	Ser409에서 인산화된 펩타이드에 결합; 동시에 Ser410 인산화는 결합을 제거함
NI-205.19G5	390-414	Ser409에서 인산화된 펩타이드에 결합; 동시에 Ser410 인산화는 결합을 제거함
NI-205.68G5	390-414	Ser409 및/또는 Ser410에서 인산화된 펩타이드에 결합
NI-205.8F8	390-414	결정되지 않음
NI-205.58E11	390-414	결정되지 않음
NI-205.20A1	390-414	Ser409 및 Ser410에서 인산화된 펩타이드에 결합

[0363] **ELISA 분석에 의한 NI-205.41D1 결합 에피토프의 결정.**

[0364] 전장 TDP-43 (2-414) 및 아미노산 258-414(도메인 IV), 258-384, 258-375, 258-362, 258-353, 258-319, 317-414 및 340-414를 포함하는 TDP-43 C 말단 단편을 10 μ g/ml의 동일한 코팅 농도에서 ELISA 플레이트 상에 코팅하

였다. 특이적 TDP-43 단편에 NI-205.41D1 항체의 결합을 직접 ELISA에 의해 결정하였다. 얻은 데이터의 실시예를 도 7A에서 제공한다. NI-205.41D1는 단편 258-319 및 340-414를 제외하고 모든 재조합 단편에 결합되었는데, 이는 NI-205.41D1 결합 에피토프가 C-말단 TDP-43 영역 317-353에 있다는 것을 나타낸다. NI-205.41D1 항체는 전장 TDP-43에 결합되었다.

[0365] 잔기 321에서 A의 G로 치환, 잔기 322에서 M의 G로 치환, 잔기 323에서 M의 G로치환을 수행하는 전장 TDP-43(2-414), 서열번호 94(TDP-43 258-414)의 잔기 258-414를 포함하는 야생형 TDP-43 도메인 IV 및 돌연변이체 TDP-43 도메인 IV(TDP-43 258-414 AMM321GGG)를 10 μ g/ml의 동일 코팅 농도에서 ELISA 플레이트 상에 코팅하였다. 특이적 TDP-43 도메인 IV 변이체에 NI-205.41D1 항체의 결합을 직접 ELISA에 의해 결정하였다(도 7B). NI-205.41D1는 전장 TDP-43에 및 야생형 TDP-43 도메인 IV에 특이적으로 결합되었지만, 돌연변이체 TDP-43 도메인 IV에 특이적으로 결합되지 않았고, 이는 돌연변이된 잔기 중 하나 이상이 인간 TDP-43에 대한 NI-205.41D1 결합에 대해 필수적이라는 것을 나타낸다. 상이한 재조합 TDP-43 종의 코팅 효율을 제어하기 위해, 전장 TDP-43에 대한 상업적으로 입수가 가능한 항체 12892-1-AP 결합을 사용하였다.

[0366] 서열번호 94의 잔기 316-353(TDP-43 316-353), 316-343(TDP-43 316-343) 및 316-333(TDP-43 316-333)을 포함하는 합성 바이오티닐화된 펩타이드를 10 μ g/ml의 동일 코팅 농도에서 스트렙타비딘-코팅 플레이트 상에 코팅하였다. 특이적 TDP-43 C-말단 펩타이드에 NI-205.41D1 항체의 결합을 직접 ELISA에 의해 결정하였다(도 7C). NI-205.41D1는 펩타이드 TDP-43 316-353 및 TDP-43 316-343에 특이적으로 결합되었지만, 펩타이드 TDP-43 316-333에 특이적으로 결합되지 않았다. 이 결과는 TDP-43 C-말단 영역에서 서열번호 94의 잔기 334-343이 인간 TDP-43에 대한 NI-205.41D1 항체 결합에 수반된다는 생각과 일치된다. 본 발명자들의 결과는 항체 NI-205.41의 결합 에피토프가 서열번호 94의 잔기 317 내지 343 간에 불연속적이며, 2개의 독립적 결합 영역(서열번호 94의 잔기 321-323을 포함하는 제1의 결합 영역 및 서열번호 94의 잔기 334-343을 포함하는 제2의 결합 영역)에 의해 형성된다는 이해와 일치된다.

[0367] **실시예 9: 천연 TDP-43과 상호작용하는 인간 유래 TDP-43 특이적 항체.**

[0368] 순수한 전장 TDP-43 단백질은 응집되는 자연적 경향을 가진다. 따라서, 매우 소량의 가용성, 전장 TDP-43 만이 표준 정제 조건 하에 회수되었다. 따라서 본 발명자는 KSCN 및 아르기닌, 천연 단백질 구조를 보존하는 한편 단백질 응집을 방지하는 것으로 알려진 온화한 카오트로픽 작용제를 사용하여 에스케리키아 콜라이로부터 다량의 기능성 6xHis-SUMO-태그 전장 인간 TDP-43을 단리시키기 위한 재조합 발현 및 정제 전략을 만들었다.

[0369] **플라스미드:** 인간 전장 TDP-43(서열번호 94의 1-414) 및 그것의 절단 잔기 101-265 및 서열번호 94의 잔기 220-414를 암호화하는 폴리펩타이드를 표준 절차를 사용하여 증폭시켰고, 증폭시킨 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 단백질의 N-말단에서 6xHis 및 SUMO 태그를 야기하는 변형된 pET19-b(Novagen) 벡터 내로 서브클로닝시켰다. 6xHis/SUMO 태그된 재조합 폴리펩타이드의 개략적 표현을 도 8B에 나타낸다.

[0370] **단백질 발현 및 정제:** 6xHis/SUMO 태그 TDP-43 발현 플라스미드를 BL21(DE3) 스타 에스케리키아 콜라이(Star Escherichia coli)(인비트로젠)내로 형질전환시켰다. 박테리아 배양물을 37 $^{\circ}$ C에서 1.0의 OD600으로 성장시켰고, 18 $^{\circ}$ C에서 16시간 동안 1mM IPTG로 유도하였다. 펠렛화 후, 세포를 프로테아제 저해제(40mM HEPES(pH 7.5), 1.5M KSCN, 및 1mM 트리스(2-카복시에틸)포스핀(TCEP), 1mM PMSF, 5 μ M 펩스타틴, 1mM 벤즈아민, 10 μ M 베스타틴, 10 μ M E-64, 20 μ M 류펩틴, 1.5 μ M 아프로티닌)를 지니는 정제 완충제 중에서 미세유동화에 의해 용해시켰다. 적절하게 폴딩된 전장 TDP-43, TDP-43(101-265) 및 TDP-43(220-414)를 만들기 위해, 대응되는 6xHis-SUMO 태그 융합 단백질을 제조업자의 설명서에 따라, 결합 및 세척을 위한 정제 완충제를 사용하여 Ni-NTA 아가로스 수지(퀴아젠) 상에서 정제하였다. 결합 단백질을 250mM 이미다졸을 함유하는 동일 완충제로 Ni-NTA 수지로부터 용리시켰고, 정제 완충제를 사용하여 제조업자의 설명서에 따라 보존적 S200 크기 배제 컬럼(GE 헬스케어) 상에서 추가로 정제하였다. 모노머 TDP-43 단백질을 함유하는 분획을 폴링시켰고, 40mM HEPES (pH 7.5), 400mM 아르기닌, 1mM TCEP를 함유하는 완충제 중에서 투석에 의해 다시 제형화하였다. 6xHis-SUMO-TDP43(101-265)을 동일 정제 전략을 사용하지만, 1.5 M KSCN을 0.5M KCl로 대체함으로써 완충제 조성물을 변경하여 추가적으로 정제하였다. 미폴딩 6xHis-TDP-43을 준비하기 위해, 세포를 프로테아제 저해제를 지니는 트리스(Tris)-이미다졸 완충제(50mM 트리스(Tris)(pH 7.5), 20mM 이미다졸, 150mM NaCl) 중에서 미세유동화에 의해 용해시켰다. 불용성 펠렛을 프로테아제 저해제를 함유하는 다음의 완충제로 순차적으로 세척하였다: 2mM MgCl₂, 다음에 트리스(Tris)-이미다졸 완충제를 함유하는 B-PER 완충제(피어스). 세척한 펠렛을 다음에 8M 유레아, 20mM 인산나트륨 (pH 7.8) 중에서 가용화시켰다. 그 다음에 유레아 용해성 물질을 변성 세척 및 용리 조건을 사용하여 제조업자의 설명서에 따라 Ni-NTA 아가로스 수지 상에서 정제하였다. 침전 및 확산 계수 결정(도 8C)뿐만 아니라 SDS-PAGE 분

리(도 8A)를 표준 방법에 의해 수행하였다(Laue, T. *et al.*. (1992) in Analytical Ultracentrifugation in Biochemistry and Polymer Science (Harding, S. E., ed) Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK).

[0371] **포획 ELISA:** 96 웰 플레이트(써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific))을 4°C에서 밤새 PBS 완충제 (137mM NaCl, 8.05mM Na₂HPO₄, 1.5mM KH₂PO₄, 2.7mM KCl, pH 7.4)중의 1μg/ml 농도로 희석시킨 항 6xHis 마우스 단클론성 항체(클론테크(Clontech))로 코팅하였다. 비특이적 결합 부위를 1% BSA(시그마) 및 0.05% Tween-20(피셔 사이언티픽(Fisher Scientific))을 함유하는 PBS로 실온에서 1시간 동안 차단시켰다. 1.7 μM의 농도에서 6xHis-SUMO-TDP43 단백질을 1 % BSA, 300mM 아르기닌 및 0.1% PEG 5000, pH 7.5을 함유하는 PBS 완충제 중에서 실온에서 1시간 동안 항체-코팅 플레이트에 결합시켰다. 플레이트를 본 발명의 인간 항체로 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰고, 3배 단계 희석 후, 1% BSA를 함유하는 PBST 중의 HRP 컨주게이트된 항-인간 IgG Fc γ (잭슨 이뮤노리서치)으로 적정하였다. HRP 활성을 표준 비색 분석에서 측정하였다. EC₅₀ 값을 소프트맥스 프로 (Softmax pro) 소프트웨어(몰레큘러 디바이스(Molecular Devices)) 상의 4 모수 로지스틱 곡선 적합을 사용하여 계산하였다.

[0372] **RNA 결합 분석:** RNA에 대한 TDP-43 작제물의 평형 결합 친화도를 형광 편광을 사용하여 결정하였다. 5'TYETM 형광단 표지 RNA 기질, 특이적 RNA(TYETM- UGUGUGUGUGUG)(서열번호 312) 및 RNA 대조군(TYETM-UUUUUUUUUUU)(서열번호 313)(인테그레이티드 DNA 테크놀로지(Integrated DNA Technologies))을 나타낸 바와 같이 인큐베이션 완충제 중에서 TDP-43(최종 농도 0 내지 20 μM)과 함께 25°C에서 30분 동안 5nM의 농도에서 인큐베이션시켰다. 645nm에서 여기 및 665에서 방출로 96웰 플레이트 내 TDP-43의 각각의 농도에서 플레이트 판독기 형광계 엔비전 (Envision)(펄킨엘머(PerkinElmer))에 의해 형광 편광을 측정하였다. 시그마플롯(Sigmaplot)(시스템 소프트웨어 인코포레이티드 (Systat Software Inc.))를 사용하여 밀착 결합을 위한 2차 방정식(모리슨(Morrison) 방정식)을 사용하여 K_d를 계산하였다. RNA/TDP-43 결합의 화학량론을 결정하기 위해, 전체 100nM RNA 농도(앞서 결정한 K_d 값보다 >7x 더 큼)에 대해 동일 서열의 미표지 RNA의 95nM 첨가와 함께 동일한 형광 편광 실험적 설정을 사용하였다. 두 직선의 절편을 측정함으로써 화학량론을 계산하였는데, 하나는 부분적으로 결합된 상태의 데이터 지점을 사용하여 적합화하고, 다른 것은 완전히 결합된 상태의 데이터 지점을 사용한다.

[0373] 재조합 전장 TDP-43은 400mM 아르기닌을 함유하는 완충제 중에서 침강 분석에 의한 모노머였다(도 8C). 모노머 천연 TDP-43이 요망될 때, 최소 300mM 아르기닌을 분석적 분석에서 유지하였는데, 더 낮은 아르기닌 농도에서 응집이 관찰되었기 때문이다. TDP-43 활성에 해로운 영향을 미치지 않는 아르기닌과 일치되게, 본 발명자들의 재조합체, 전장 TDP-43은 일반적 비특이적 서열(UUUUUUUUUUU(서열번호 313))보다 적어도 30배 더 큰 친화도로 앞서 확립한 특이적 서열(UGUGUGUGUGUG(서열번호 312))의 RNA에 결합된다(도 9).

[0374] 본 발명자들은 또한 서열번호 94의 아미노산 잔기 101-265를 포함하는 TDP-43의 6xHis/SUMO 태그 단편을 정제하였는데, 이로부터 응집을 매개하는 것으로 알려진 C-말단 도메인(아미노산 265 내지 414)이 제거되었다. 6xHis/SUMO 태그 101-265는 TDP-43 단편을 절단하였고, 매우 상이한 분석 방법이 사용되었음에도 불구하고 앞서 기록한 K_D(~ 14 nM)와 매우 유사한 특이적 RNA 서열에 대해 결합 친화도를 유지한 카오트로픽으로 또는 카오트로픽 없이 정제하였다(도 9). 문헌[Kou Nucleic Acids Res. 2009, 37:1799-808] 참조. RNA/TDP-43 결합의 화학량론은 또한 정제 전략에도 불구하고 동일하였는데, 이는 두 체제 간의 변성된 단백질 집단에서 유의한 차이가 없다는 것을 나타낸다(도 9). 함께, 이들 데이터는 정제한 재조합 순수 전장 TDP-43이 그것의 천연 폴딩 상태에 있다는 것을 나타내었다.

[0375] 본 발명자들은 포획 ELISA를 사용하여 적절하게 폴딩된 6xHis/SUMO 태그 TDP-43에 대한 본 명세서에 제공된 인간 유래 TDP-43 특이적 항체의 결합 친화도를 측정하였는데, 이때 천연 TDP-43은 ELISA 플레이트의 표면 상에서 직접 흡착 없이 고정되었다. 이는 항 6xHis 항체를 고정시킨 다음 포획 천연 TDP-43을 고정시킴으로써 달성되었다. 폴딩된 6xHis/SUMO 태그된 전장 인간 TDP-43에 의한 항 6xHis 태그에 대한 결합은 300mM 아르기닌 농도에서 달성되었는데, 이는 TDP-43의 단량체 상태를 보장한다. 이 고정 단계 후, 인간 항체에 의한 결합을 TDP-43 응집의 방해 없이 조절 완충제 중에서 시험하였다. 만들어진 적정 곡선의 예를 도 10에 나타낸다. 표 8은 폴딩되고 6xHis/SUMO 태그된 TDP-43에 대한 또는 이 포획 ELISA 방법에 의해 TDP-43(서열번호 94의 잔기 220-414)의 응집되기 쉬운 영역인 C-말단을 함유하는 6xHis/SUMO 태그된 절단 작제물에 대한 친화도(EC₅₀[nM])를 요약한다.

표 8

[0376]

적절하게 폴딩된 재조합 6xHis/SUMO 태그된 전장 TDP-43 및 잔기 220-414를 포함하는 6xHis/SUMO 태그된 절단 TDP-43에 대한 인간 유래 TDP-43 항체의 EC ₅₀ [nM] 결합		
항체	전장 TDP-43	TDP-43 잔기 220-414
NI-205.41D1	0.07	0.10
NI-205.51C1	1.1	결합 없음
NI-205.21G2	3.6	결합 없음
NI-205.1A9	>98	결합 없음
NI-205.3F10	>90	결합 없음
NI-205.14W3	7.4	1.6
NI-205.98H6	46	20
NI-205.44B2	>125	33.5
NI-205.9E12A	결합 없음	-
NI-205.8A2	34	4.6
NI-205.15F12	16.3	9.7
NI-205.10D3	>90	20.5
NI-205.38H2	>120	결합 없음
NI-205.29E11	>100	>97
NI-205.9E12D	결합 없음	결합 없음
NI-205.31C11	21.1	결합 없음
NI-205.113C4	결합 없음	결합 없음
NI-205.25F3	>120	>100
NI-205.10H7	30.9	6.45
NI-205.8C10	결합 없음	-
NI-205.87E7	결합 없음	결합 없음
NI-205.21G1	4.4	0.33
NI-205.31D2	41.0	19.4
NI-205.14H5	> 100	-
NI-205.36D5	> 72.0	>60
NI-205.19G5	결합 없음	-
NI-205.68G5	결합 없음	-
NI-205.8F8	>94	-
NI-205.58E11	결합 없음	-
NI-205.20A1	결합 없음	-

[0377]

실시예 10: FTLD-U 사례 및 대조군 해마 조직에서 TDP-43에 대한 인간 유래 TDP-43 항체의 평가.

[0378]

인간 피질, 해마 및 척수 FTLD-U 및 대조군 조직을 IDIBAPS 바이오뱅크(Biobank)(바르셀로나에 소재한 Banc de Teixits Neurologics)로부터 얻었다. 면역조직화학법을 DAB(쓰모 싸이언티픽)에 의한 엘리트(Elite) ABC 키트(벡터 래버러토리즈(Vector Laboratories))에 의한 다른 표준 면역조직화학적 절차를 수행하기 전 EDTA계 에피토프 회수를 사용하여 5µm 두께 파라핀 포매 절편 상에서 수행하였다. 50nM 농도에서 인간 TDP-43 항체를 사용하여 본 발명의 면역조직화학법을 수행하였다. 인간 TDP-43에 대한 마우스 단클론성 항체 2E2(압노바), TDP-43 p409/p410에 대해 상승된 토끼 다클론성 항체 p409/p410(코스모바이오(CosmoBio)) 및 TDP-43 p409/p410에 대해 상승된 토끼 다클론성 항체 p409/p410(코스모바이오)을 사용하여 대조군 염색을 행하였다.

[0379]

TDP-43의 천연 및 병적 형태를 인식하기 위해 본 명세서에 기재된 인간 유래 항-TDP-43 항체의 능력을 인간 FTLD-U 사례(10) 및 대조군(7) 해마 조직 상의 면역조직화학법 실험에 의해 특성규명하였다. TDP-43은 세포질에 및 세포질로부터 왕복하는 대부분 핵 단백질이다. 병적 조건 하에 이는 핵 및 특히 세포질에서 축적되고, 병적 측면은 전형적으로 세포 위치; NCI - 뉴런 세포질 봉입물, NII - 뉴런 핵내 봉입물 및 이영양성 신경염 병리학(문헌[Mackenzie *et al.*, Lancet Neurology, 9: 995-1007 (2010)] 검토)을 기반으로 특성규명되고/분류된다. FTLD-U 및 ALS 환자 조직에서, 단백질은 또한 인산화되는 것으로 발견되었다. 본 명세서에 개시된 항체의 인간 TDP-43 결합 특징을 사후 분석을 진단하는데 흔히 사용되는 상업적으로 입수가능한 항체의 결합 특징과 비교하였다. 2E2-D3 대조군 항체(aa205-222에 맵핑된 에피토프; Zhang *et al.*, Neurosci. Lett., 434:170-174 (2008))는 해마 피라미드 뉴런(도 11A) 및 과립 세포(도 11B)뿐만 아니라 이영양성 신경돌기 내 TDP-43(도 11C)에서 핵 및 세포질 TDP-43 축적을 인식하였다. 대조군 사례 조직에서, 2E2-D3는 대부분 핵 TDP-43을 인식하였

다. 인산화 특이적 항체, p403/p404(CNGGFGS(p)S(p)MDSK(서열번호 324)에 대해 상승됨; Hasegawa *et al.*, *Ann Neurol*, 64(1):60-70 (2008))는 (도 11D) 추상 세포 내 세포질 TDP-43, (도 11E) 과립 세포 내 핵 및 세포질 축적뿐만 아니라 (도 11F) 이영양성 신경돌기 내 TDP-43을 인식하였다. 제2 인산화 특이적 항체, p409/p410(CMDSKS(p)S(p)GWGM(서열번호 325)에 대해 상승됨; Hasegawa *et al.*, *Ann Neurol*, 64(1):60-70 (2008))은 (도 11G) 피라미드 세포 및 (도 11H) 과립 세포뿐만 아니라 (도 11I) 이영양성 신경돌기 내 TDP-43의 핵 및 세포질에서 TDP-43 축적에 결합되었다.

[0380] 본 명세서에 기재된 인간 유래 항-TDP-43 항체는 TDP-43의 핵, 세포질 및 신경염 형태에 대한 결합을 포함하는 다양한 염색 형태를 나타내었다. 본 명세서에 기재된 몇몇 인간 유래 항-TDP-43 항체는 TDP-43의 질병 형태에 특이적으로 결합되었고, 건강한 개체로부터의 대조군 사례에 대한 염색과 비교하였다(도 11 및 표 9). 예를 들어, 항체 NI-205.68G5, NI-205.14W3, NI-205.21G1, 및 NI-205.41D1은 병적 형태, 즉 신경염 TDP-43 에 및 해마 과립 세포 내 핵 및 세포질 TDP-43에 선택적으로 결합된다. 항체 NI-205.14W3, NI-205.21G1 및 NI-205.41D1은 대조군 사례 조직에 결합되지 않고 FTLD-U 환자 조직 내 TDP-43의 병적 형태에 특이적으로 결합된다(FTLD-U 환자 조직(도 11Y)과 대조군 사례 조직(도 11Z) 내 NI-205.41D1 염색을 비교).

[0381] 항체(도 11J) NI-205.10D3은 대부분 핵 TDP-43에 결합된 반면(도 11K) NI-205.8C10은 세포질 및 축색 돌기 내 TDP-43에 결합되었다. 분석한 대조군 항-TDP-43 항체와 달리, 본 명세서에 보고된 인간 항-TDP-43 항체의 서브 세트는 핵 TDP-43보다는 대부분 세포질 TDP-43에 결합되었다. 대부분 세포질 TDP-43에 결합된 항체는 (도 11L) NI-205.15F12, (도 11M) NI-205.8A2, (도 11N) NI-205.3F10, (도 11O) NI-205.21G2, (도 11P) NI-205.8F8, (도 11Q) NI-205.31C11, (도 11R) NI-205.36D5, (도 11S) NI-205.31D2, (도 11T) NI-205.10H7 및 (도 11U) NI-205.14H5를 포함한다. 항체(도 11V) NI-205.68G5, (도 11W) NI-205.14W3, (도 11X) NI-205.21G1 및 (도 11Y) NI-205.41D1은 해마 과립 세포 내 핵 및 세포질에 축적되는 신경염 TDP-43 및 TDP-43에 결합되었다.

표 9

[0382] FTLD-U 사례 및 대조군 해마 조직에서 TDP-43에 대한 인간 유래 TDP-43 항체의 평가. 사례 및 대조군 샘플을 또한 2E2-D3, p403/p404, p409/p410 대조군 항-TDP-43 항체로 염색하였다. ND-결정되지 않음

항체	면역조직화학에 의한 항체 염색	
	FTLD-U 사례 조직	대조군 조직
NI-205.41D1	과립 세포 내 세포질 및 핵 + 신경염	결합 없음
NI-205.51C1	결합 없음	ND
NI-205.21G2	세포질	ND
NI-205.1A9	결합 없음	ND
NI-205.3F10	세포질	세포질
NI-205.14W3	과립 세포 내 세포질 및 핵 + 신경염	결합 없음, 뉴런 내 세포질(일부 사례에서)
NI-205.98H6	결합 없음	ND
NI-205.44B2	결합 없음	ND
NI-205.9E12A	결합 없음	ND
NI-205.8A2	세포질	세포질
NI-205.15F12	과립 세포 내 세포질	ND
NI-205.10D3	핵	핵
NI-205.38H2	결합 없음	ND
NI-205.29E11	결합 없음	ND
NI-205.9E12D	결합 없음	ND
NI-205.31C11	세포질	세포질
NI-205.113C4	결합 없음	ND
NI-205.25F3	결합 없음	ND
NI-205.10H7	세포질	세포질
NI-205.8C10	세포질 + 신경돌기(하나의 사례)	결합 없음
NI-205.87E7	결합 없음	ND
NI-205.21G1	과립 세포 내 세포질 및 핵 + 신경염	결합 없음
NI-205.31D2	세포질	세포질
NI-205.14H5	세포질	세포질
NI-205.36D5	세포질	세포질

NI-205.19G5	결합 없음	ND
NI-205.68G5	세포질 + 신경염 (하나의 사례)	ND
NI-205.8F8	세포질	세포질
NI-205.58E11	결합 없음	ND
NI-205.20A1	결합 없음	ND
2E2-D3	핵, 세포질 및 신경염	핵 (일부 대조군에서 세포질)
p403/p404	핵, 세포질 및 신경염	결합 없음
p409/p410	핵, 세포질 및 신경염	결합 없음

[0383]

잔기 S409 및 S410에서 인산화된 변성 재조합 TDP-43 및 TDP-43 390-414 펩타이드를 사용하는 인간 항-TDP-43 항체에 대한 선별은 인간 TDP-43의 대부분의 천연 및 질병-관련 에피토프를 포괄하는 항체의 생성을 초래하였다. 본 명세서에 개시된 인간 항-TDP-43 항체는 TDP-43의 새로운 및 관심 대상의 에피토프를 확인하였고, TDP-43 단백질질병의 질병 과정에 특이적인 신규한 입체구조적 정보를 제공한다. 예를 들어, NI-205.14W3, NI-205.21G1, 및 NI-205.41D1은 고친화도로 TDP-43에 결합되었고, 대조군 사례에 비해 FTLD-U 조직 상에서 TDP-43의 병적 형태에 특이적이었다. 이들 3개 항체는 면역조직화학법에서 유사한 병적 TDP-43 특이적 염색을 가졌지만, 그것들은 응집 경향이 있는 TDP-43의 C-말단 영역에서 별개의 에피토프를 인식하였고: NI-41D1은 TDP-43의 C-말단 부분에서 불연속적 에피토프에 결합되었으며, NI-21G1은 TDP-43의 인산화 경향이 있는 영역에 결합되었다. 추가적으로, NI-205.14H5 및 NI-205.31D2 항체는 잔기 S409 및 S410 중 하나 또는 둘 다에서 인산화된 TDP-43에 대해 고친화도를 가졌으며, 면역조직화학법에서 세포질 TDP-43을 특이적으로 염색하였다. 더 나아가, NI-205.21G2 및 NI-205.51C1은 또한 TDP-43에 대해 고친화도를 보여주었고, RNA-인식 모티프 2(RRM2)에 대해 NI-205.51C1 결합과 함께 예측된 카파제 절단 부위에 대한 에피토프 N-말단에 결합되었다. NI-205.10D3은 FTLD-U와 대조군 사례 조직 둘 다에서 핵 TDP-43을 특이적으로 염색하였는데, 이는 TDP-43의 내인성/천연 형태에 결합되었다는 것을 시사한다.

[0384]

실시예 11: 급성 뇌 침투 연구

[0385]

TDP-43_G348C 유전자이식 마우스(Swarup *et al.*, Brain 134 (2011), 2610-2626)는 제1일 및 제4일에 30mg/kg 인간 항-TDP-43 항체 또는 동일 용적의 PBS로 복강내로 주사된다. 제5일에, 마우스는 1 단위/ml 헤파린을 함유하는 PBS로 마취하에 관류시켰다. 혈액, 뇌 및 척수를 분석을 위해 수집하였다. 뇌의 우반구를 -80°C에서 냉동시키고, 뇌의 좌반구 및 척수를 파라핀 차단 중에서 포매 및 절편화하기 전 4°C에서 10% 중화시킨 포르말린 중에서 2일 동안 후 고정시킨다. 혈장을 알리퀴트 중에서 -80°C에서 저장한다.

[0386]

뇌 단백질 추출: 뇌 단백질 분획을 표준 실험 방법을 사용하여 추출하고, 예를 들어, 냉동 우반구를 칭량하고, 50mM NaCl, 0.2% 다이에틸아민, 프로테아제 저해제(로슈 다이아그노스틱스(Roche Diagnostics) GmbH) 및 포스파타제 저해제(로슈 다이아그노스틱스 GmbH)를 함유하는 5 용적(5ml/g의 축축한 조직)의 용액 중에서 균질화시킨다. 그 다음에 샘플을 폴리카보네이트 관에 옮기고, 다른 5 용적의 균질화 용액에 첨가하며, 30분 동안 얼음 상에서 유지시킨다. 그 다음에 100,000 g, 4°C에서, 30분 동안 원심분리시킨 후 가용성 분획을 수집한다. 이 가용성 분획을 인간 IgG 분석에서 사용한다. 펠렛을 프로테아제 및 포스파타제 저해제와 함께 3용적의 PBS 중에서 재현탁시킨다. 16,000 g, 4°C에서 30분 동안 원심분리시킨 후, 상청액 및 펠렛을 -80°C에서 추가 불용성 TDP-43 추출 동안 별개로 저장한다.

[0387]

인간 항체 및 TDP-43을 검출하고, 표준 실험 방법을 사용하여 뇌 단백질 추출물에서 정량화한다. 예를 들어, 인간 IgG-특이적 샌드위치 ELISA: 50mM 탄산염 ELISA 코팅 완충제(pH9.6) 중의 2µg/ml의 염소 항-인간 IgG Fab(Jackson)를 포획 항체로서 사용한다. 절반 면적 96-웰 마이크로타이터 플레이트를 4°C에서 밤새 포획 항체에 의해 30µl/웰로 코팅한다. 그 다음에 0.1% Tween 20을 함유하는 PBS로 플레이트를 4회 세척한 후 실온에서 1시간 동안 2% BSA를 함유하는 50 µl/웰 PBS과 함께 인큐베이션시킨다. 뇌 추출물의 가용성 분획, 혈장 샘플 및 인간 항체 표준을 2% BSA 및 0.1% Tween 20을 함유하는 PBS 중에서 희석시킨다. 30µl의 희석 샘플을 각 웰에 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시킨다. 그 다음에 플레이트를 0.1% Tween 20을 함유하는 PBS로 4회 세척한 후 실온에서 1시간 동안 HRP-컨쥬게이트된 당나귀 항-인간 Fcγ (잭슨(Jackson), 2% BSA 및 0.1% Tween 20을 함유하는 PBS 중에서 1:10,000에서 희석시킴)와 함께 인큐베이션시킨다. 그 다음에 플레이트를 0.1% Tween 20을 함유하는 200 µl/웰 PBS로 4회 세척한 후 20 µl/웰 TMB(10mM 시트레이트 용액 중에서 1:20 pH=4.1)을 첨가한다. 그 다음에 각 웰에 10µl 1M H₂SO₄를 첨가함으로써 반응을 중단시킨다. 항체 표준 곡선을 대조군 항체의 단계 희석으로부터 얻는다. 혈장 및 뇌 샘플 내 항체 농도를 표준에 따라 계산한다. 그 다음에 뇌 인간

IgG 수준을 μg 항체/그램 신선한 뇌 조직으로 전환시킨다.

[0388] 투여한 인간 항-TDP-43 항체의 뉴런 침투는 인간 항-TDP-43 항체 처리 및 대조군 동물로부터 얻은 뇌 조직 절편의 면역조직화학적 염색에 의해 검출한다. 예를 들어, 자유 유동 조직 절편을 트리스-트리톤(Tris-Triton) pH7.4 (50mM 트리스(Tris), 150mM NaCl, 0.05% Triton X-100)에서 세척하고, 30분 동안 1% H_2O_2 PBS 중에서 인큐베이션시키며, 트리스-트리톤(Tris-Triton) 중의 2% 정상 염소- 및 말 혈청을 함유하는 차단 용액과 함께 그리고 실온에서 1시간 동안 추가적인 0.2% 트리톤(Triton) X-100와 함께 인큐베이션시킨다. 그 다음에 절편을 뉴런 인간 IgG를 검출하기 위해 100 rpm에서 교반하면서 4°C에서 16시간 동안 1:200에서 바이오티닐화된 당나귀 항-인간 IgG(H+L)(잭슨 면역노리서치 랩스(Jackson ImmunoResearch Labs), 709-065-149)와 함께 인큐베이션시킨다. 조직 결합 바이오티닐화된 항체를 벡타스타틴 엘리트 ABC(Vectastain Elite ABC) 키트(벡터 래버러토리즈(Vector Laboratories), PK6100, 1:100)를 사용하여 퍼옥시다제 색원체 반응에 의해 시각화한다. 효소적 반응을 빙냉 PBS로 중단시키고, 절편을 PBS 중에서 3회 세척한다. 그 다음에 절편을 유리 슬라이드 상에 장착하고, 밤새 공기 건조시킨 후, 그것들을 해말롭 용액(카를로스 게엠바하 + Co. T865.1)으로 대비염색하였다. 탈수 단계 후, 슬라이드를 커버슬립으로 뒤덮은 후 올림푸스 도트슬라이드(Olympus dotSlide) 2.1 가상 현미경 시스템으로 스캔한다. 항체 처리 동물에서 관찰되지만, 대조군 동물에서 관찰되지 않는 뉴런 항-인간 IgG 염색은 인간 항-TDP-43 항체가 뉴런에 유입된다는 것을 나타낸다.

[0389] **실시예 12: 항-TDP-43 항체에 의한 만성 연구.**

[0390] TDP-43_G348C 유전자이식 마우스(Swarup *et al.*, Brain 134 (2011), 2610-2626)를 10mg/kg, 3mg/kg의 항체 용액 또는 동일 용적의 PBS 대조군으로 복강내로 주사한다. 각각의 처리군은 20 내지 25마리 마우스를 가진다. 26주 동안 1주 1회 처리를 수행한다. 대안적으로, 처리를 13주 동안 2회 수행한다. 체중을 2주마다 모니터링한다. 마우스를 처리 기간의 마지막에 마취하에 관류시킨다. 뇌, 척수 및 혈액을 수집한다. 절반의 뇌 및 척수를 3일 동안 10% 포르말린 중에서 후고정시킨 후, 파라핀 차단 중에서 포매시킨다. 이들 조직으로부터 절단한 4 내지 6 μm 두께 절편을 면역조직화학법 연구를 위해 사용한다. 다른 절반의 뇌를 칭량하고, 생화학적 분석을 위해 -80°C에서 급속 냉동시킨다.

[0391] 면역조직화학법을 사용하여 항체 처리 및 대조군 동물 중에서 TDP-43의 병적 형태의 수준 및 분포를 포함하는, TDP-43의 수준과 분포를 비교함으로써 약물 효과를 평가한다. 항체 처리 및 대조군 동물로부터 얻은 조직 샘플을 표준 조직학적 방법을 사용하여, 항-TDP-43 항체, 예를 들어 TDP-43의 병적 형태에 특이적인 항-TDP-43 항체로 염색한다. 일 실시형태에서, 조직화학적 분석에서 사용한 항체는 동물에 투여한 항체와 동일하다. 다른 실시형태에서, 조직화학적 분석에서 사용한 항체는 동물에 투여한 항체와 상이하다. 본 명세서에 개시한 인간 항-TDP-43 항체의 치료적 효능은 대조군 동물에 비해 항체 처리 동물에서 TDP-43의 수준의 감소, 또는 병적 형태의 부재에 의해 나타난다.

[0392] 약물 효과를 또한 ELISA 또는 웨스턴 블롯을 사용하여 항체 처리 및 대조군 동물에서 TDP-43의 병적 형태 수준을 포함하는 TDP-43의 수준을 비교함으로써 평가한다. 본 명세서에 개시된 인간 항-TDP-43 항체의 치료적 효능은 대조군 동물에 비해 항체 처리 동물에서 TDP-43의 수준의 감소 또는 병적 형태의 부재에 의해 나타난다.

[0393] 본 발명은 본 발명의 개개 양태의 단일 예시로서 의도되는 기재된 구체적 실시형태에 의해 범주가 제한되지 않으며, 기능적으로 동등한 임의의 조성물 또는 방법은 본 발명의 범주 내이다. 사실, 본 명세서에 나타내고 기재된 것에 추가로 본 발명의 다양한 변형은 앞서 언급한 설명 및 수반되는 도면으로부터 당업자에게 명백하게 될 것이다. 이러한 변형은 첨부되는 특허청구범위의 범주 내에 속한다.

도면

도면1abc

1A

NI-205.3F10-VH(가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 1,2))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 EVQLLESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSQAMSWVRQAPGKGLEWVSALSRTGDYTWYAD
 V
 -----FR3-----CDR3-----JH-
 SVRGRFTVSRDDSKNIFYLEMNSLRAEDTAVYYCAKNIYSSFGYNWAAFHIWGQGMVTVSS

NI-205.3F10-VK(가변 경쇄 서열 VK(서열번호 6))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQDVNNNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGVPDR
 ---FR3-----CDR3-----JK-----
 FSGRGSSTDFTLTINRLEPEDFAMYFCQQYGGSPPYTFGQGTKLEIK

1B

NI-205.51C1-VH(가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 10))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCTTSGFIFSDYWMHWVRQAPGKGLTWVSRINLDGSDTI
 -----FR3-----CDR3-----JH-----
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRVEDTAIYYCARSRKSVMWGQGMVTVSS

NI-205.51C1-VL(가변 경쇄 서열 VL(서열번호 14))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSNTDVGAYDYVSWSQQLPGKAPKFVIFDVDVVRPSGIS
 ---FR3-----CDR3-----JL-----
 DRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTKSGTLVFGGGTKVTVV

1C

NI-205.21G2-VH(가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 18))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYSFTSYTLHWVRQAPGHRPEWGMWINAAAFINT
 -----FR3-----CDR3-----JH-----
 KYSQKFQGRITETRDTSANIAYLELRSLTTEDTAVYYCARRASGSNGLDVWGQGMVTVSS

NI-205.21G2-VK(가변 경쇄 서열 VK(서열번호 22))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 DIQMTQSPSSLSASVGRITITCQASRDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASYLETG
 FR3-----CDR3-----JK-----
 VPSTFSGSGSTHFTLTISSLQPDDFATYYCQQYDSVPLTFGGGTKVEIK

도면1def

1D

NI-205.8A2-VH (가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 26, 27))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2--
 QVQLVESGGGVVQP GKSLRLS CAASGFTFRDHGMHWVRQAPGKLEWVAVIWL DGSS
 E
 -----FR3-----CDR3-----JH--
 RFYADSV EGRFTISRDN SKNTLYLQLTSLRAEDTAIYYCARDRVASEGTAFDVWGQGTMTVTVSS
 T

NI-205.8A2-VK (가변 경쇄 서열 VK(서열번호 K 31))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCWASQNVNHYLVWYQQRPGQAPRLLLYDTSVRAAGIP
 -----FR3-----CDR3-----JK--
 ARFIGSGSGTHTLTISLLEPEDSAVYYCQHRSDWTFGGGTKVEIK

1E

NI-205.15F12-VH (가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 35, 36))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2--
 QVQLVQSGTAVK KPGASVKV SCKASGF SFGYYMHWVRQAPGQLEWGMGVINPNGG
 E E
 -----FR3-----CDR3-----JH-----
 STNYAQKFKGRITMSADTPARSVSMELGSLRSDDTAMYCARLPVNI EVDLWLGQGTLVTVSS

NI-205.15F12-VK (가변 경쇄 서열 VK(서열번호 40,41))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2
 DEVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQTVLFS SNDKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASV
 E L
 -----FR3-----CDR3-----JK-----
 RASGV PDRFSGSGSGTDFSLTINGLQAEDVAVYYCQQSSTAPLTFGGGTKVEIK

1F

NI-205.113C4-VH (가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 45))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2--
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTF TNYMHWVRQAPGQLEWGMGLINPSGGR
 -----FR3-----CDR3-----
 TSYAQKFQGRASMT RD TSTSTVYMEVISLRSEDTAVYYCARQRPSGYSYGYGPS ESYGNP
 -----JH-----
 TDDAFDVGQGT TVTVSS

NI-205.113C4-VL (가변 경쇄 서열 VL(서열번호 49))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---FR3
 SYVLPQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSRGVHWYQQRPGQAPVLVVDSDRPSGIPE
 -----CDR3-----JL--
 RFGSNSGDTATLTISRVEVGDEADYYCQVWDNSSDHLVVFGGGTKLTVL

도면1ghi

1G

NI-205.25F3-VH (가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 53,129))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYVMYWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNK
E
 -----FR3-----CDR3-----
 YYPDSVKGRFTISRDNMNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCARDTYQYDSSTIYPYFYFY
 -----JH-----
 MDVWGQGTITVTVSS

NI-205.25F3-VL (가변 경쇄 서열 VL(서열번호 57))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 QSALTQPASVSGSPGQSITISCIQTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGV
 -----FR3-----CDR3-----JL-----
 SSRFSGSKSGNTASLTISGLQSEDEADYYCSSFASSTSVTFGGGKLTVL

1H

NI-205.87E7-VH (가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 61))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGGDRT
 -----FR3-----CDR3-----
 YSADSVKGRFTISRDNKNTLYLQINSLRVEDTAVYYCAQGGGEMTAVTMDGTYYG
 -----JH-----
 MDVWGQGTITVTVSS

NI-205.87E7-VL (가변 경쇄 서열 VL(서열번호 65))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 QSALTQPRSVSGSPGQSITISCTGTSSNVGTYKFSWYQQHPGKAPKLMIDVTKRPSGV
 -----FR3-----CDR3-----JL-----
 PDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTYVFGSGTKVTVL

1I

NI-205.21G1-VH (가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 69))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 QVQLVESGGGVVQPGMSLRLSCAASGFSFSSHGMMWVRQTPGKLEWLAVISYDASNK
 -----FR3-----CDR3-----JH-----
 SYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMDSLRVEDTALYYCANAFSSASGGYWGQGTITVTVSS

NI-205.21G1-VK: (가변 경쇄 서열 VK(서열번호 73))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGVTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRD
 FR3-----CDR3-----JK---
 SGVPDRFSGSGSGLDFTLEISRVEAEDVGIYYCMQGTHTWPPWTFGQGTKEIK

도면1jk

1J

NI-205.68G5-VH (가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 77,78))

FR1-----CDR1----FR2-----CDR2---
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIYYDSSQR
E
 -----FR3-----CDR3-----
YYADSVKGRFTISRDNSKNALYLQMNSLRAEDTALYYCARDLPFHYHRSASFAPSDTW
 JH-----
 GQGTLVTVSS

NI-205.68G5-VK (가변 경쇄 서열 VK(서열번호 82,83))

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQAVTNNYLAWYQQKPGQAPRLLVYAASSRATGIP
M
 FR3-----CDR3-----JK--
 RFYGSGSGADFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGTSPITFGQTRLEIK

1K

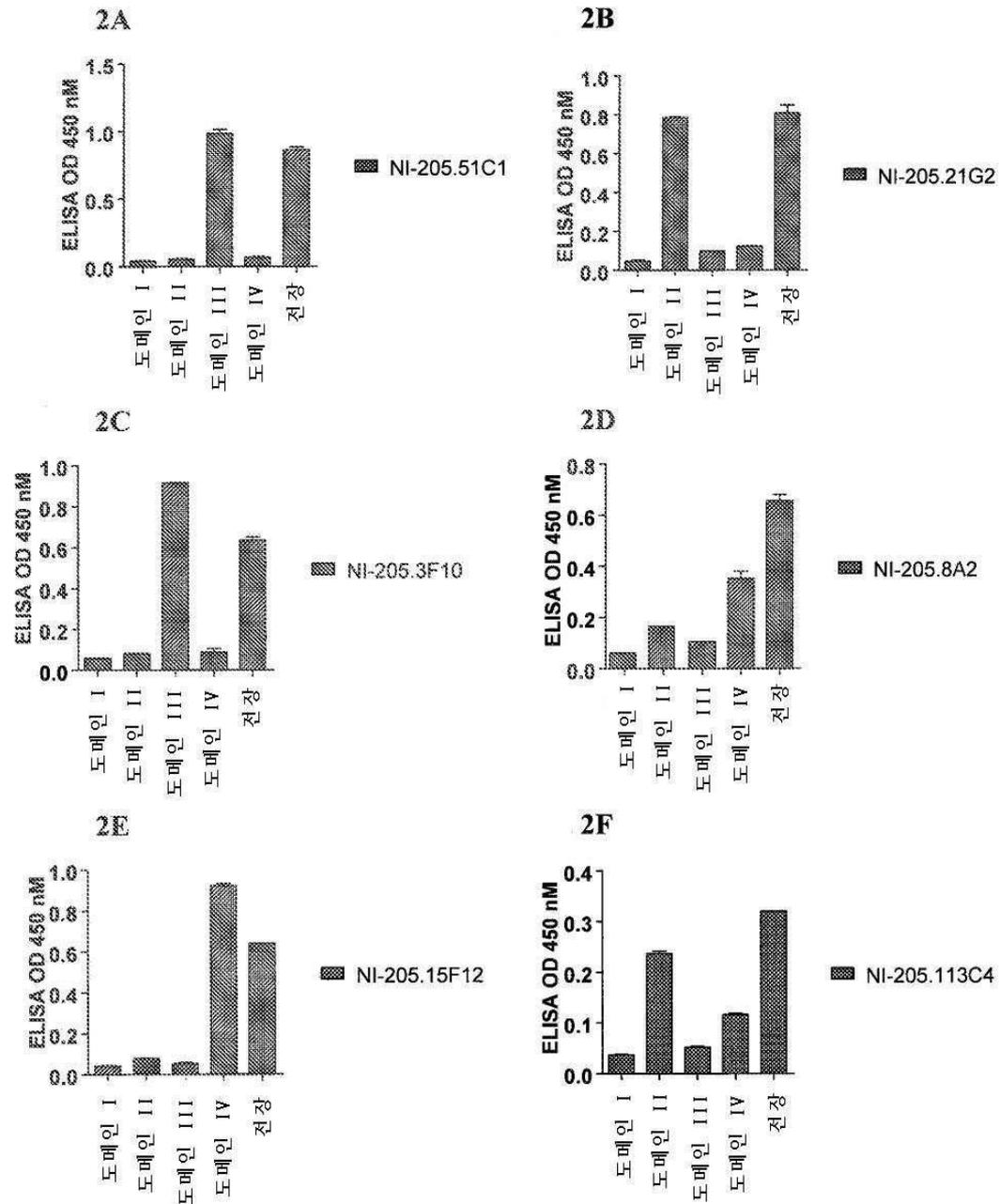
NI-205.20A1-VH(가변 중쇄 서열 VH(서열 번호 87))

FR1-----CDR1----FR2-----CDR2---
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYRMNWVRQAPGKGLEWVSYISTSSSTIY
 -----FR3-----CDR3-----JH----
YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFDYWGQTLVTVSS

NI-205.20A1-VK (가변 경쇄 서열 VK(서열번호 122))

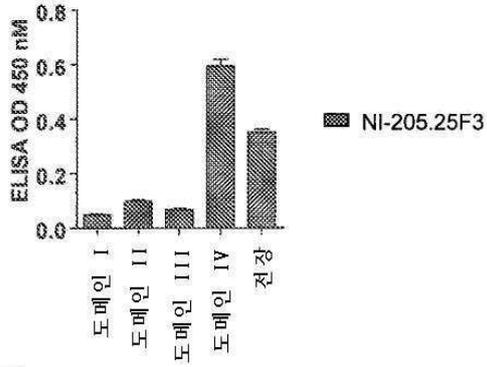
FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---FR3
 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD
 -----CDR3-----JK----
 RFSGSGSGTDFLTIIIRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGQTKVEIK

도면2af

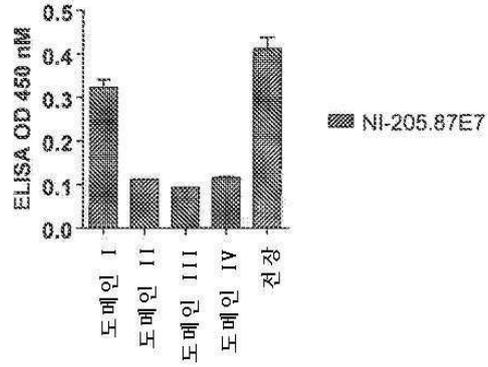


도면2gj

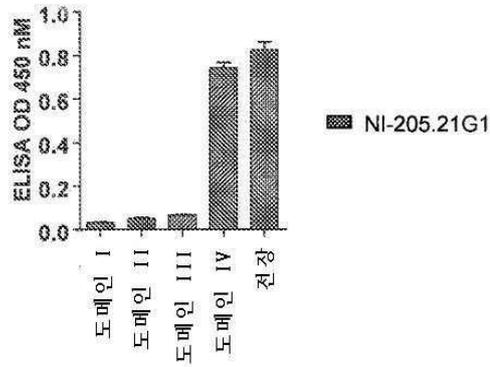
2G



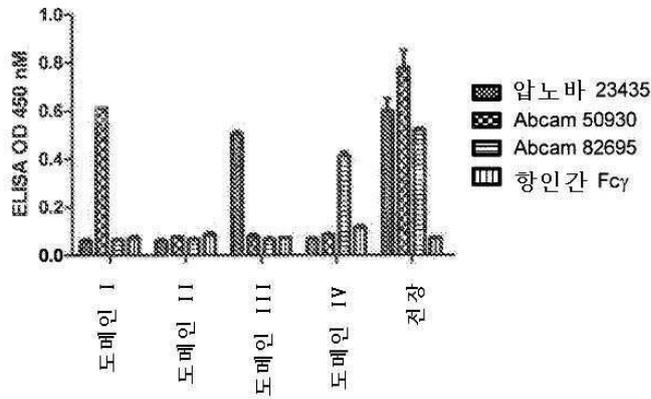
2H



2I



2J



도면3abc

3A

NI-205.41D1-VH (서열번호130):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYYMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTIS
RDNARNSLYLQMHSLRAEDTAVYYCASPPGWWGQGTLTVSS

NI-205.41D1-VK (서열번호134):

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLYWYLQKPGQPPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSG
TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSIQLPVTFGGGTKVEIK

3B

NI-205.29E11-VH (서열번호138):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTDYFIHWIRQAPGQGLEWMGWIKPKSGGTDYAEKFGQGRVTL
TRDTSITTVYMELSRNLNSDDTAVYYCARLKYSVPDSYWGQGTLTVSS

NI-205.29E11-VK (서열번호142):

DVVMTQSPSLPVTLGQSASISCRSSQGLVHSDGNTYLNWFHQRPQGSPRRLIYKVFNRDSGVSDRFSGSGS
GSDFTLMISRVEAEDVGIYYCMQGTWPLTFGQGTKVEIK

3C

NI-205.9E12-VH (서열번호146):

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFNFSNVWISWVRQAPGKGLEWVGRIKSKNDGGTTEYAAPVKGRF
TISRDDSKNTVYLQMNLSLKTEDAGVYYCTFD~~DPYHYFDMGGPGFGPWGQGTLTVSS~~

NI-205.9E12A-VK (서열번호150):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYRSNNRNYIAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG
SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSNRWTFGQGTKVEIK

NI-205.9E12D-VK (서열번호151):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVSYSSNNKNFLSWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG
SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYSSLPISFGQGTRLEIK

도면3def

3D

NI-205.98H6-VH (서열번호155):

EVQLLESGGALVQPGGSLRLSCAASGLTFSRHAFSWVRQAPGKGLEWVAISSGSGGNTYYAASVKGRFTISR
DESKNTLYLQMNSLRVEDTALYYCAKEVLEWSLLSRYMDVWGKGTTVTVSS

NI-205.98H6-VL (서열번호159):

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNIGGNTVNWYHQLPGTAPKLLVYSTNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA
SLAISGLQAEDEADYCATWDDSLNGWVFGGGTKLTVL

3E

NI-205.10D3-VH (서열번호163):

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITDYYWSWIRQPPGKLEWIGYIHDSGTRYNPSLTSRLSMSLDT
STNQVSLRLTSVTAADTAVYYCAKVPDYWGQGTLTVTVSS

NI-205.10D3-VK (서열번호167):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSDNKNYLAWLQKPGQPPKVIYWASTREFGVPDRFSGS
GSGDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSVPFTFGGGTKVEIK

3F

NI-205.44B2-VH (서열번호171):

QVQLQESGPGVVKPSQTSLTCTVSGVSVGSDYYWSWIRHHPGKLEWIGYISFFGSSNYNPSLKGRVSM
SVDTSNNQFSLNLKSVTAADTAVYFCATGNAYSFWGQGTMVTVSS

NI-205.44B2-VL (서열번호175):

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGTHNLVSWYQQHPGKAPKLIYEIFERPSGISSRFTGSKSGNTASLT
ISGLQAEDEADYFCCAYSVTVIFGGGTKLTVL

도면3ghi

3G

NI-205.38H2-VH (서열번호179):

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCTASGFNLDYWMHWVRQVPGKGLVWVSRISSDGASVSYADFEVGRFTI
SRGNARNTLFLELNSRLDDTAVYYCAMGVVWGQGTLLTVSS

NI-205.38H2-VL (서열번호183):

SYELTQPPSVSVSPGQTATISCSGDALPKRYAYWYKQKSGQVPVLIYEDNKRPSGIPARFSGSSSGTMTLTI
TGAQVDDEADYYCYSSDNSDTYSVFGGGTKLTVL

3H

NI-205.36D5-VH (서열번호187):

QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASRFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALIYYDATQKYYADSVKGRFTIS
RDNSKNALYLQMTSLRADDTAVYYCARDLPYHYHRSASFAPADTWGQGTLLTVSS

NI-205.36D5-VK (서열번호191):

EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQTISNNYLAWYQQKPGQAPRLLVYAASSRATGIPDRFYGSGSGADFTL
TISRLEPEDFVYYCQYGGSPITFGQGTREIK

3I

NI-205. 58E11-VH (서열번호195):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMSWVRQAPGKGLEWVATVGYGGTIYYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLEMNSLRAEATAVYYCAKANYGGNRFGLDVWGQGTLLTVSS

NI-205. 58E11-VL (서열번호199):

QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHQP GKAPKLMIIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGN
TASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGSNLGVFGTGTEVTVL

도면3jk1

3J

NI-205. 14H5-VH (서열번호203):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMAWVRQAPGKGLEWVSAIPARGDKTYYADSVRGRFTIS
 RDISKSALYLQMNSLRVEDTAVYYCAKAHHLNKNFDYWGQGTLLTVSS

NI-205. 14H5-VK (서열번호207):

EIVLTQSPGTLSPGETVTLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGRGSGTDFTL
 TISRLEPEDFAVYYCQHYGTFGQGTKVDIK

3K

NI-205. 31D2-VH (서열번호211):

EVQLLESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYVMSWVRQAPGKGLEWVSAISRRGSTYYADSVKGRFTISR
 DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRWLTGRTGGVFDIWGQGTMVTVSS

NI-205. 31D2-VK (서열번호215):

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTF
 TISSLPEDTATYYCQYDNLPLTFGGGTKVEIK

3L

NI-205. 8F8-VH (서열번호219):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGDSGSTTHYADSVKGRFTISR
 DNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGLGPVAAIGDYWGQGTLLTVSS

NI-205. 8F8-VL (서열번호223):

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNVYQQLPGTAPKLLVYRNNQRPSGVPDRVSGSKSGSSA
 SLAISGLRSEADYYCAAWDDSLRGYVFGTGTKVTVL

도면3mo

3M

NI-205.31C11 VH (서열번호227):

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFDNYGMHWVRQAPGKGLEWLVAVISYGGDHQFYGDSVKDRFT
ISRDN5KNTAYLQMHSRLRPDDTAVYYCATGVTPDFWGWGQGLTVTVSS

NI-205.31C11 VK (서열번호231):

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLLIYKVSHRDSGVPDRFSGSGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLOGTHWPPFTFGQGTKLEIK

3N

NI-205.8C10 VH (서열번호235):

EVQLVESGGGLVNPGGSLRLSCTASGFSFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSLITSSGSYIYADSVKGRFTISR
DAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCANMLAAAGSHYFHYWGWGQGLTVTVSS

NI-205.8C10 VK (SEQ ID NO:239):

DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYKISERFSGVPDRFSGSGAG
TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQVTQFPITFGQGTRLEIK

3O

NI-205.10H7 VH (서열번호243):

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYDGSKKYYGDSVKGRFT
ISRDNPKNTLYLQMNSLRVEDTAIYCVPDADFDMWGWGQGMVTVSS

NI-205.10H7 VK (서열번호247):

DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHTDGKTYLSWLHQRPGQPPRPLIYKMSKRFSGVPDRFSGSGA
ETEFTLKISRVEAEDVGIYYCQLTQFPITFGQGTRLEIK

도면3pq

3P

NI-205.1A9 VH (서열번호251):

QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRF
VFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDRIDGSSWSSWFDPWGQGLTVTVSS

NI-205.1A9 VL (서열번호255):

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAITGLQAEDVAVYYCQSFDSLSVFGGGTKLTVL

3Q

NI-205.14W3 VH (서열번호259):

QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYPVNNYAINWVRQAPGQGLEWMGFINTNTGIPTYAQGFTGRFV
SLDTSVNTAYLQISGLKADDTAVYYCCARVIGVIVFDYWGQGLTVTVSS

NI-205.14W3 VK (서열번호263):

DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSSSKNKNHLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGYWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSPSVTFGGGKVEIK

3R

NI-205.19G5 VH (서열번호267):

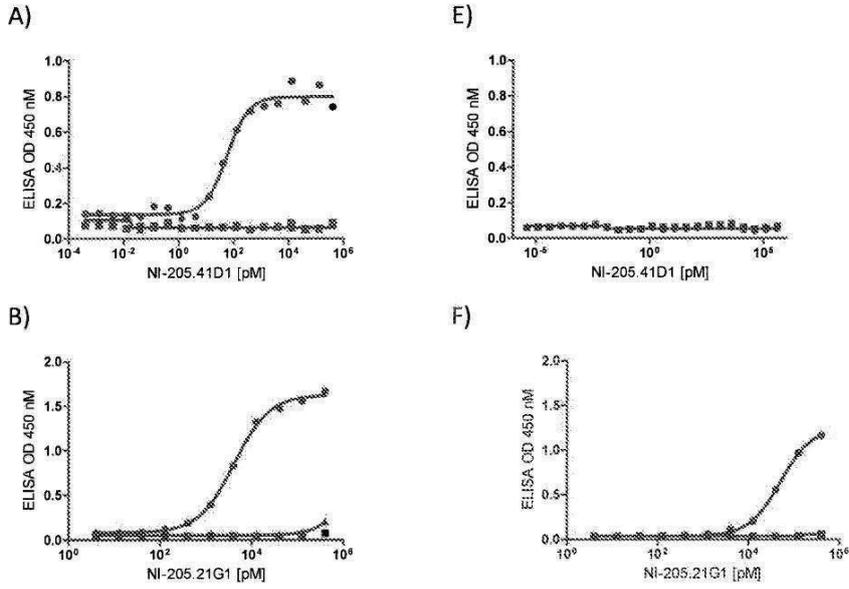
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIYYDSSQRYYADSVKGRFTIS
RDNSKNALYLQMNLSRAEDTALYYCARDLPFHYHRSASFAPSDTWGQGLTVTVSS

NI-205.19G5 VK (서열번호271):

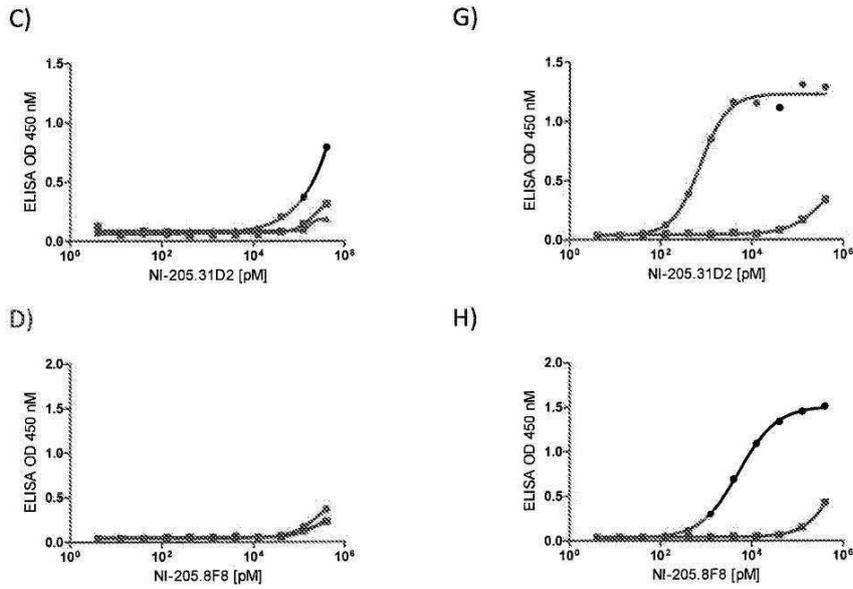
EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQAVTNNYLAWYQQKPGQAPRLLVYAAASSRATGIPDRFYGSGSGADFT
LTISRLEPEDFAVYYCQQYGTSPITFGGTRLEIK

도면4

인간 TDP-43에 대한 결합 친화도 (EC₅₀)의 결정

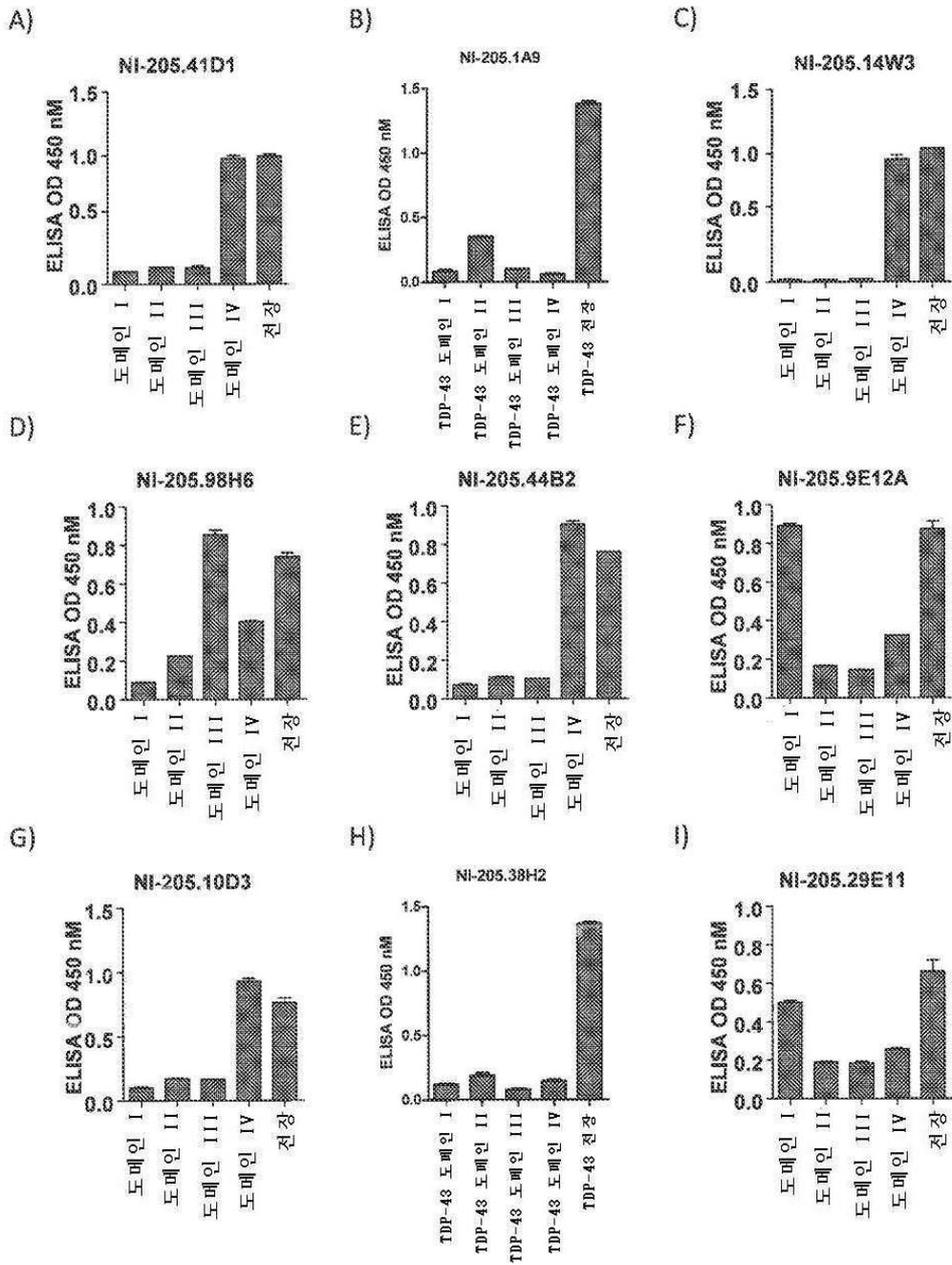


인간 TDP-43에 대한 결합 친화도 (EC₅₀)의 결정



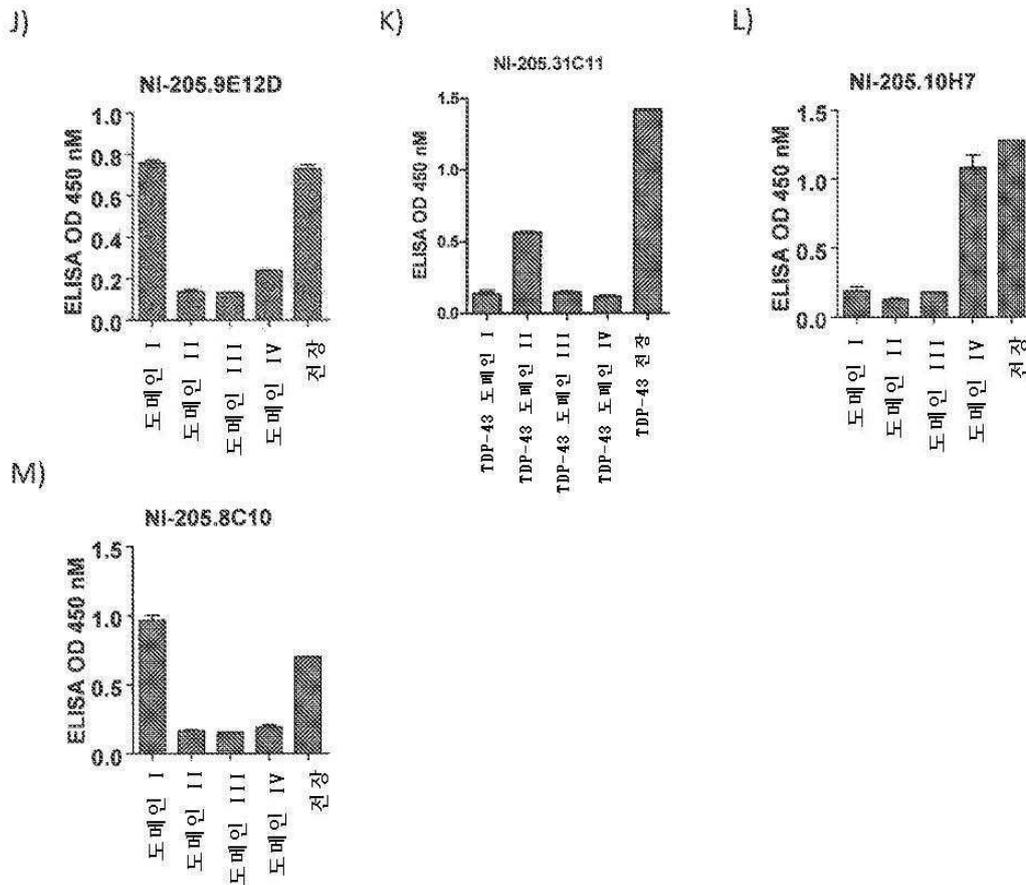
도면5a1

별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합



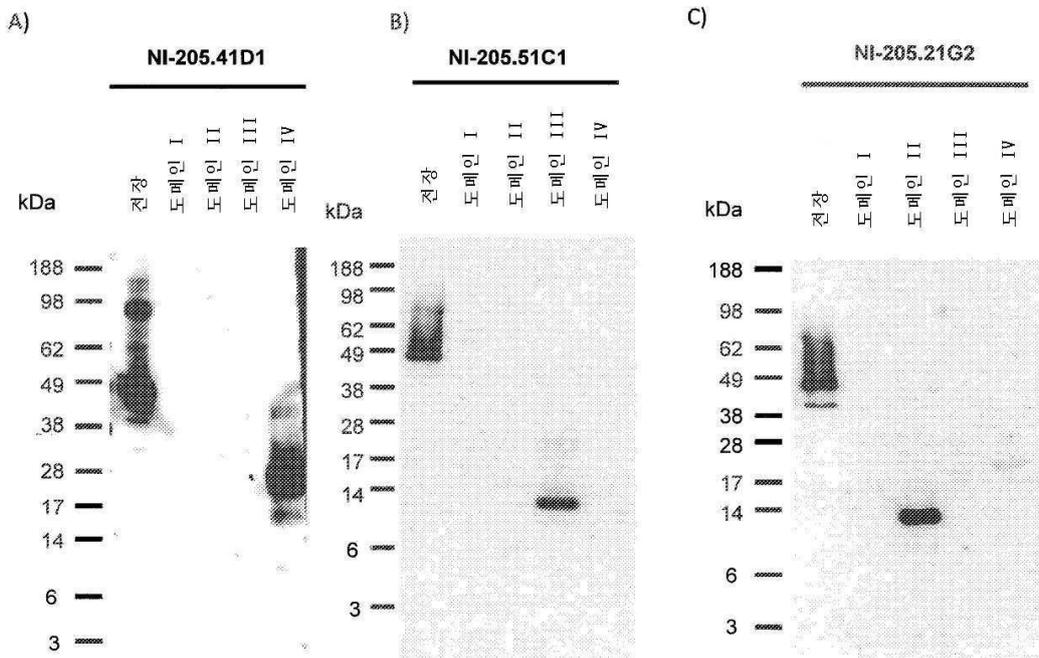
도면5jm

별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합



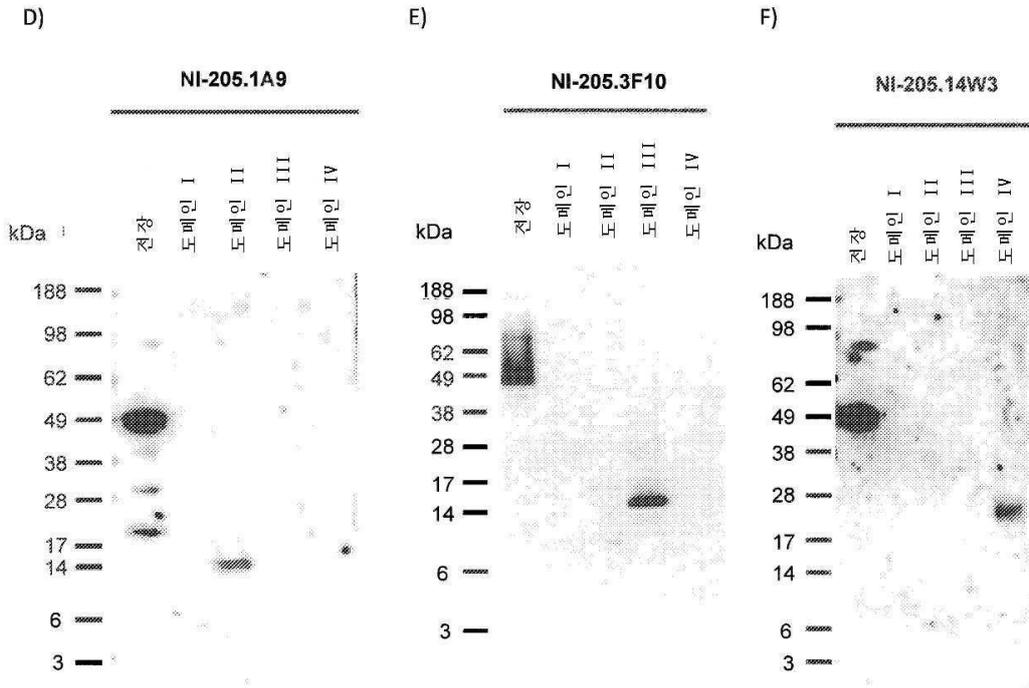
도면6abc

면역블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합



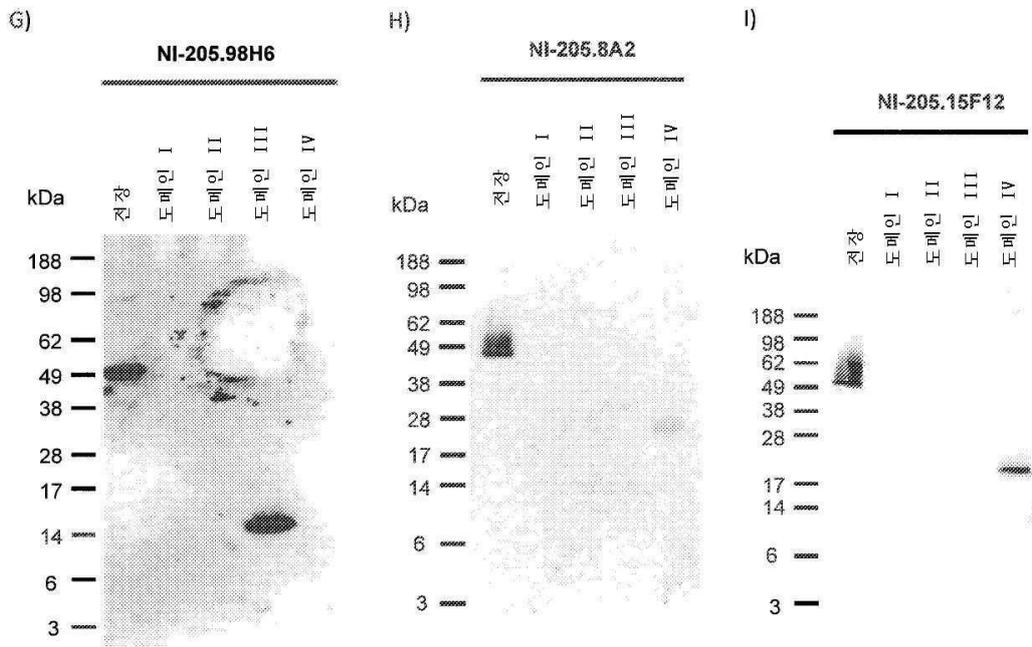
도면6def

면역블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합



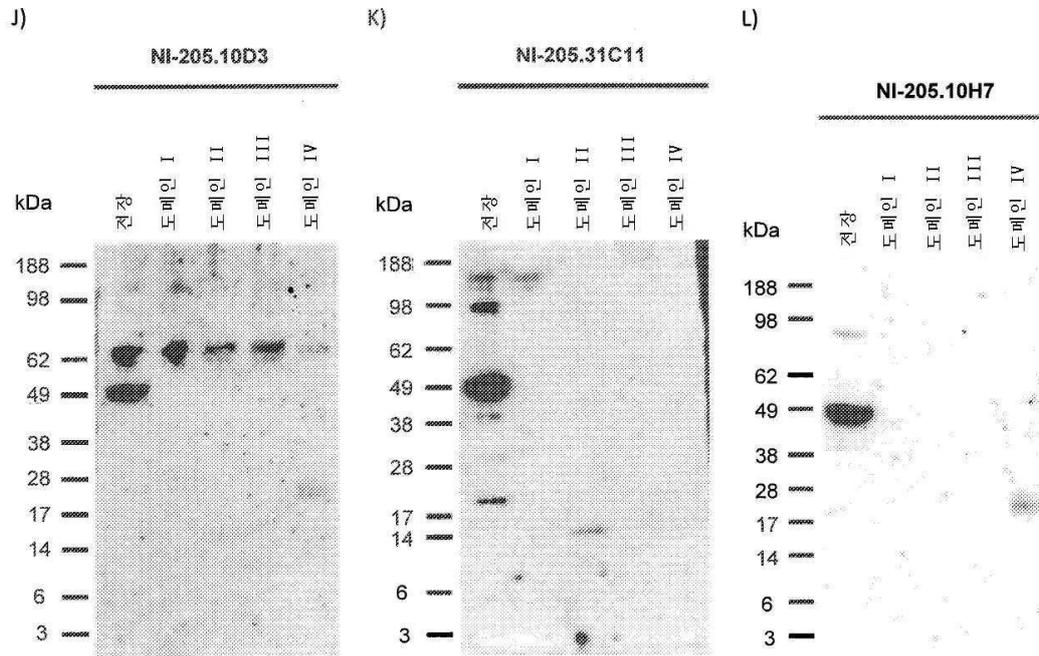
도면6ghi

면역블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합



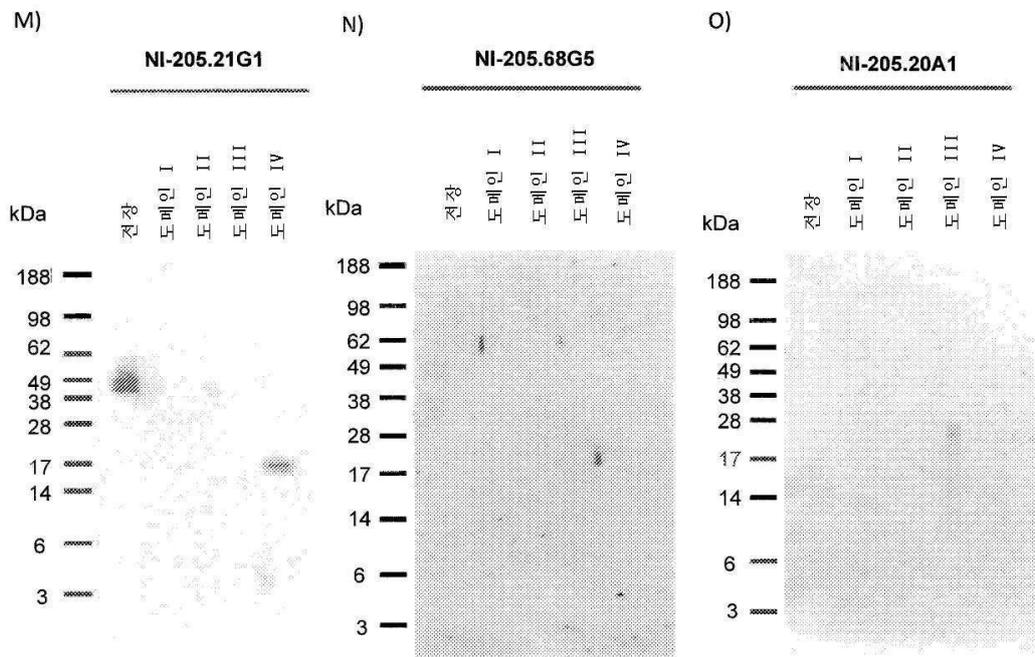
도면6jk1

면역블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합



도면6mn0

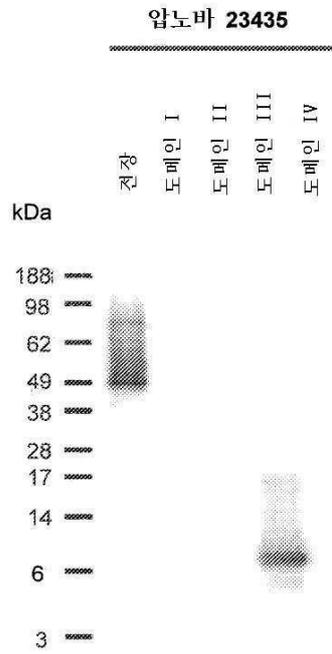
면역블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합



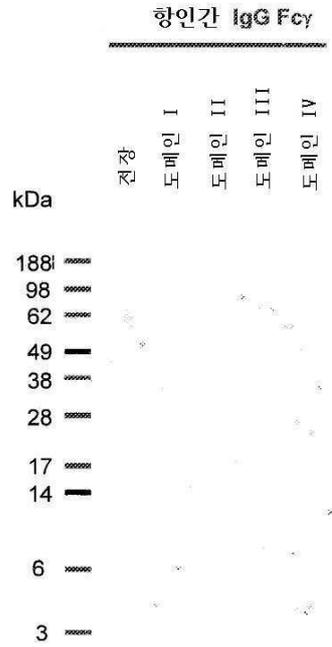
도면6pq

면역블롯에 의한 별개의 TDP-43 도메인에 대한 결합

P)



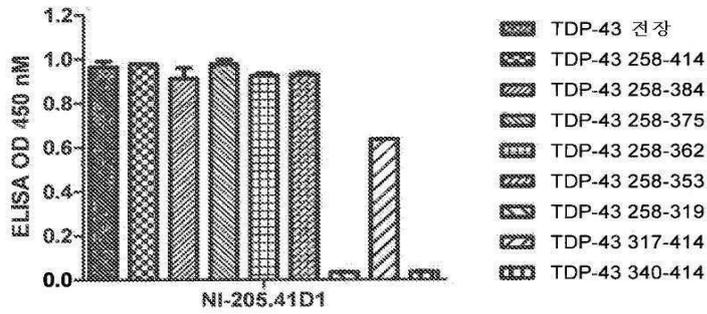
Q)



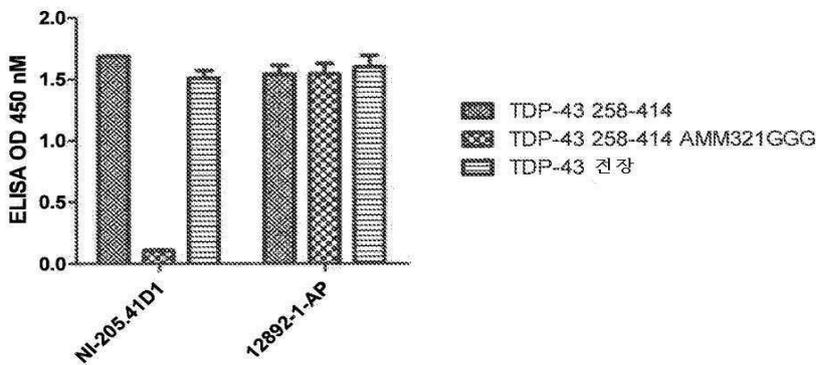
도면7

NI-205.41D1 결합 에피토프의 결정

A)

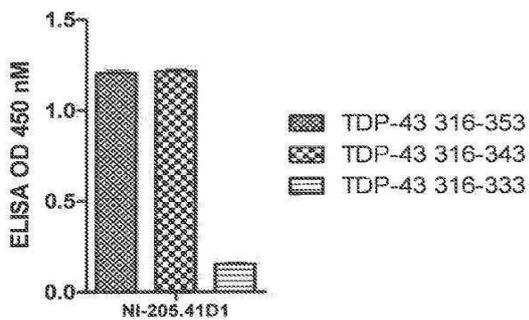


B)



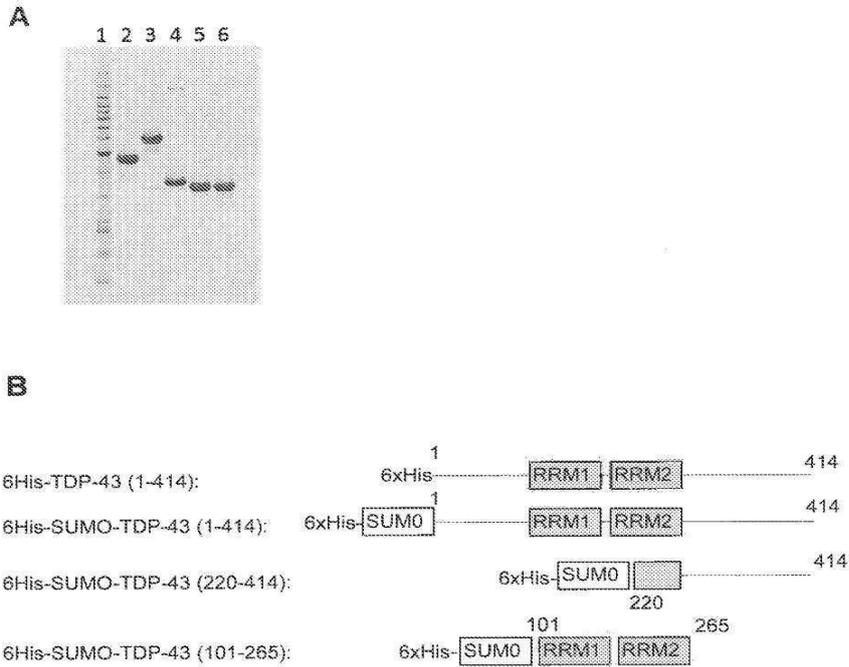
NI-205.41D1 결합 에피토프의 결정

C)

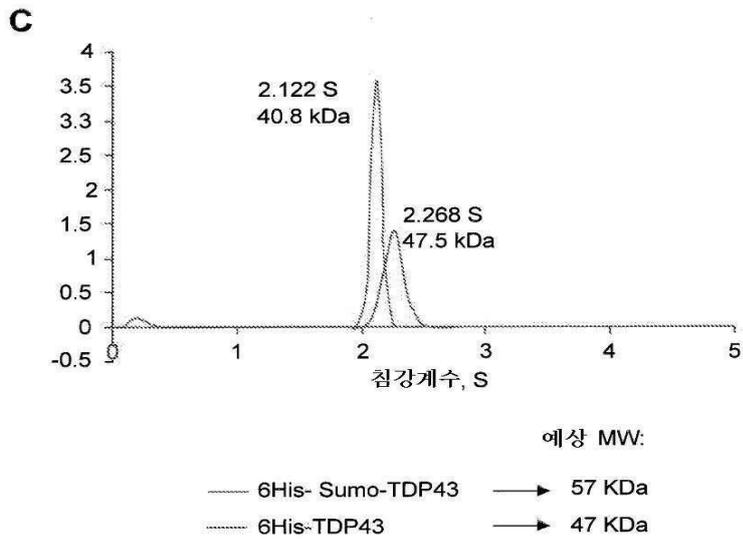


도면8

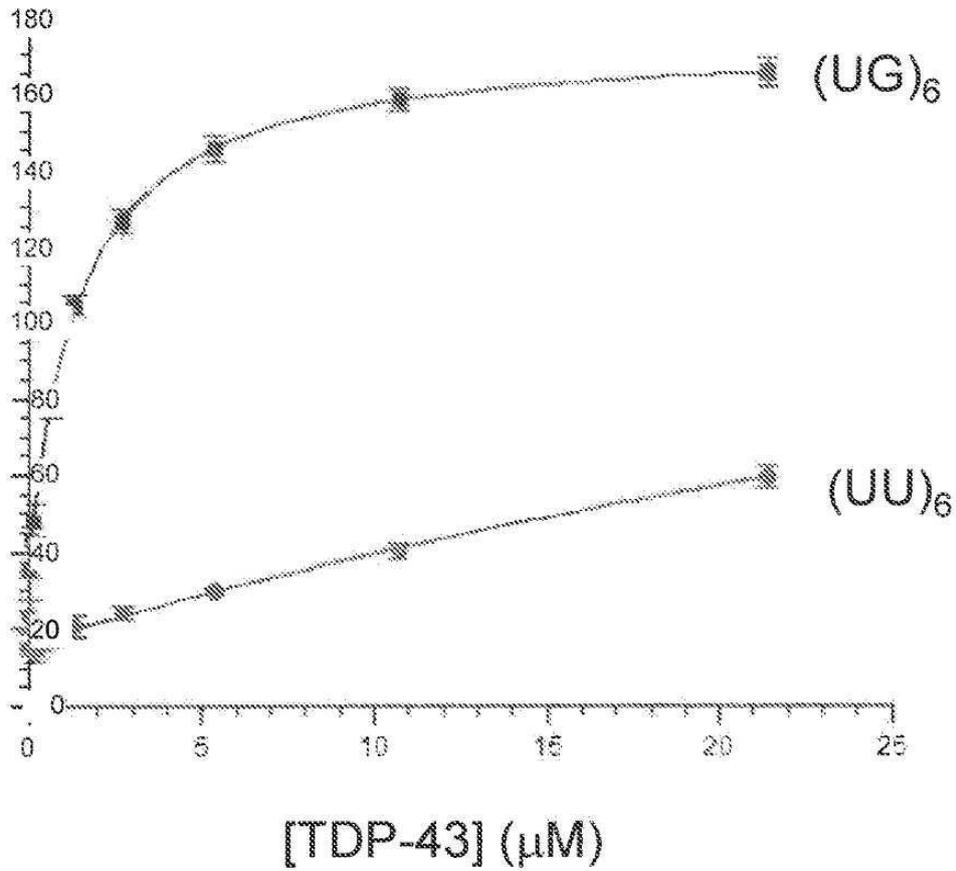
온화한 카오트로픽 조건을 사용하는 TDP-43의 모노머 형태의 정제



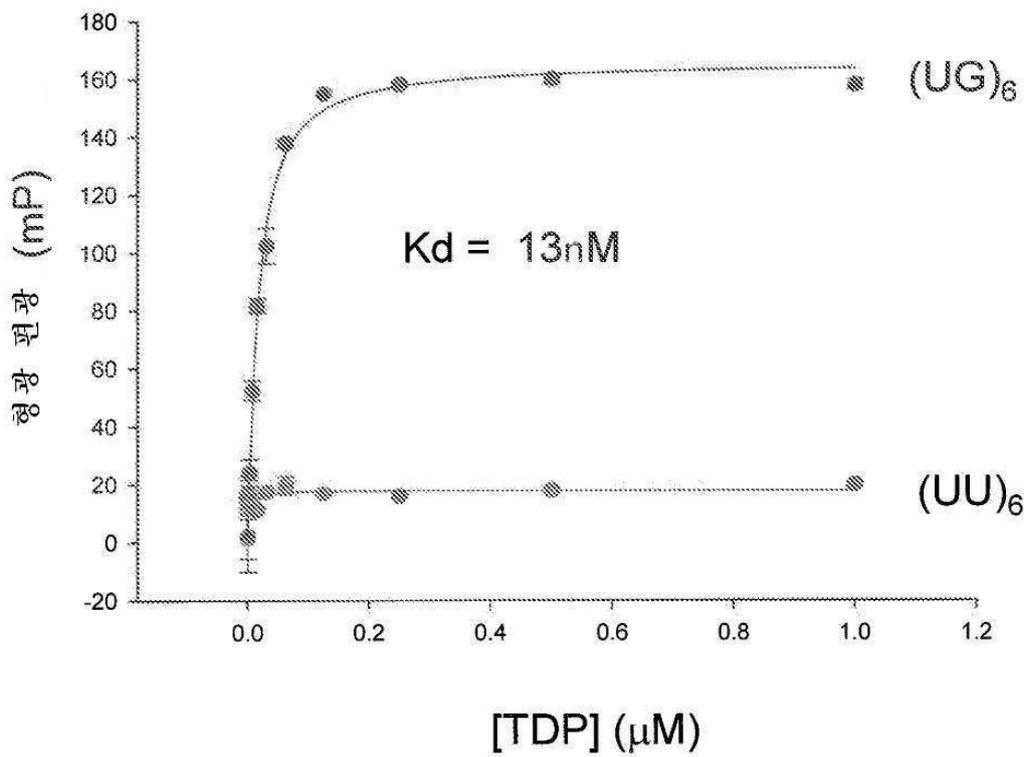
온화한 카오트로픽 조건을 사용하는 TDP-43의 모노머 형태의 정제



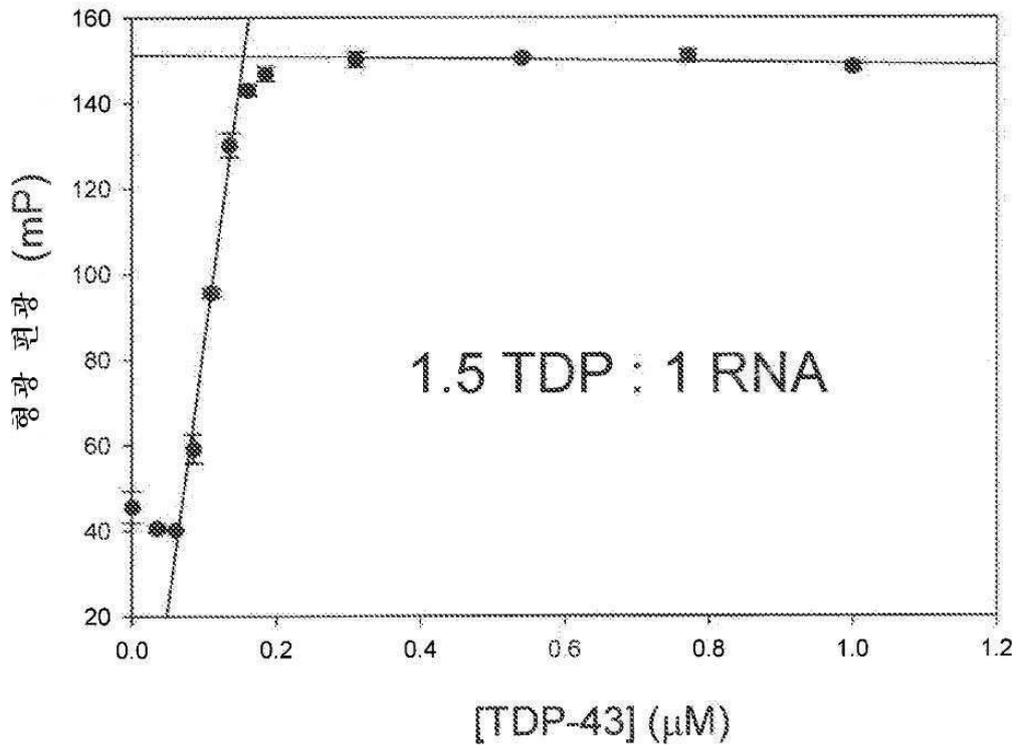
도면9a



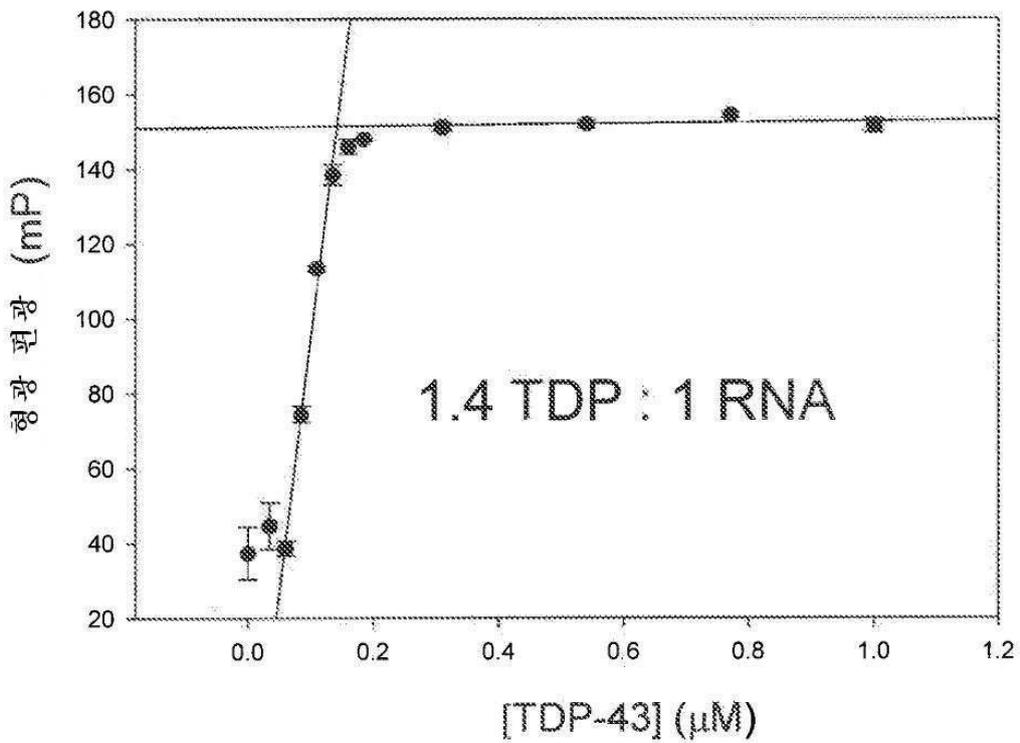
도면9b



도면9c



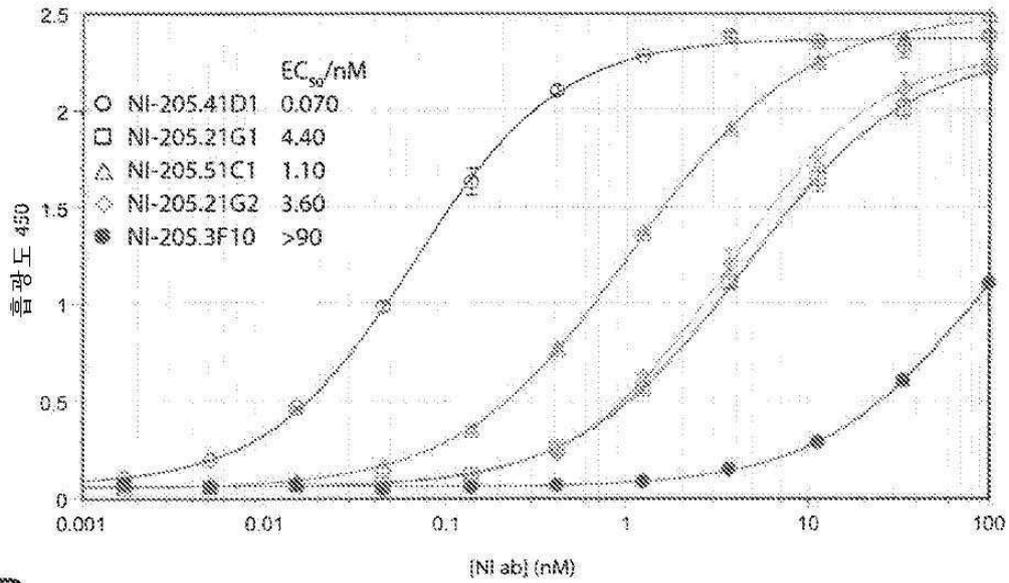
도면9d



도면10

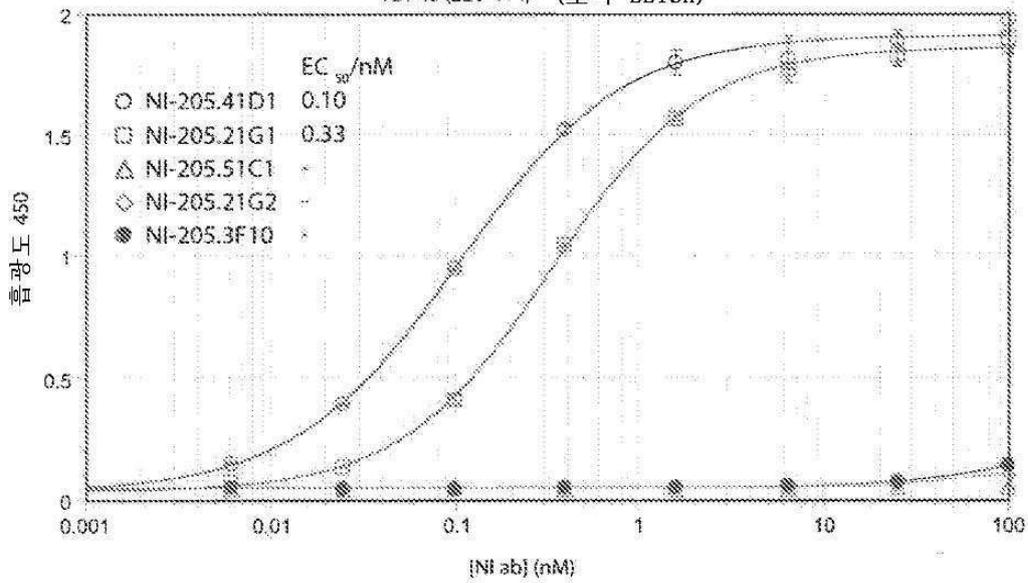
A

전장-TDP43 (1-414)-폴딩 (포획 ELISA)

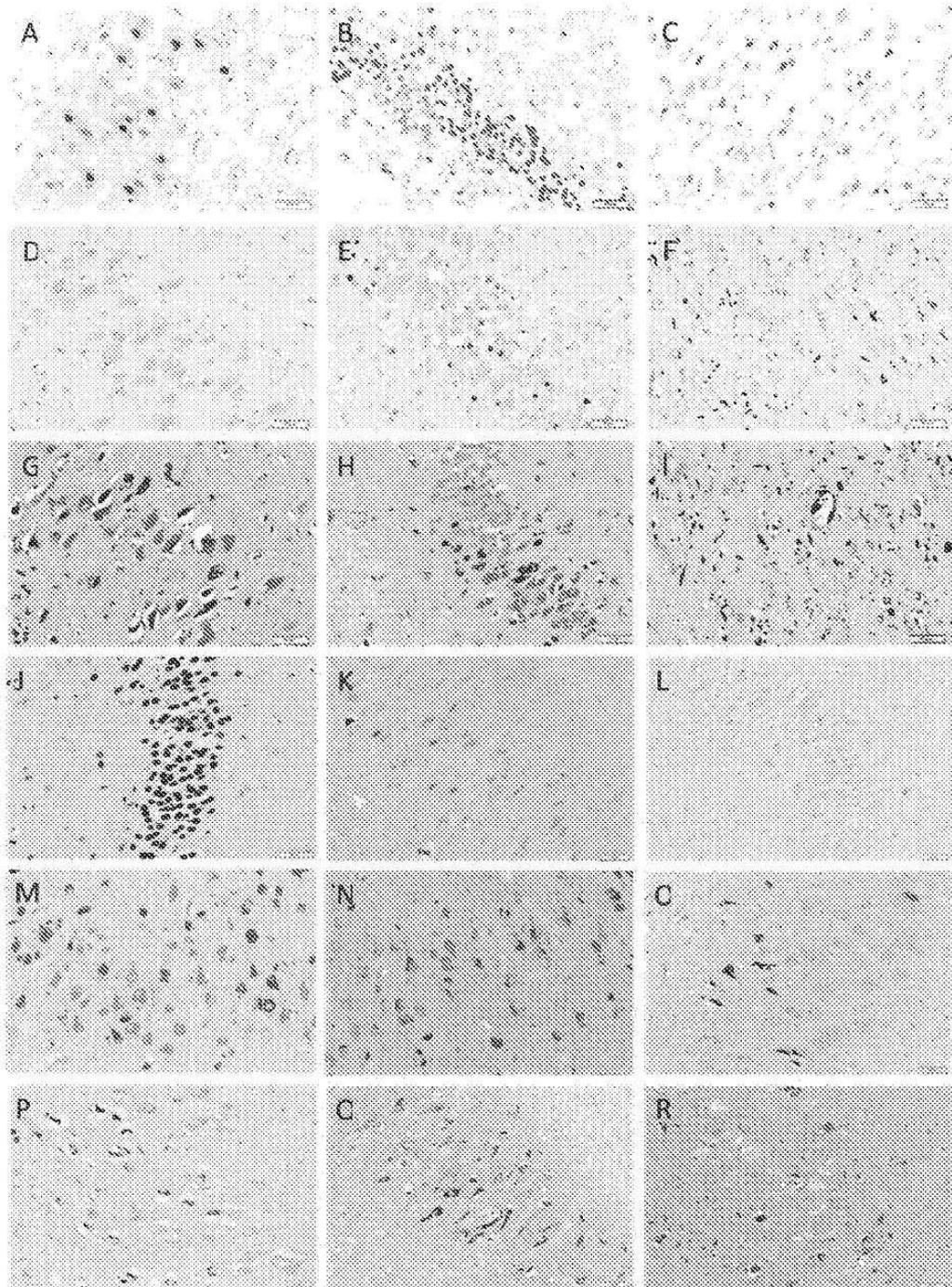


B

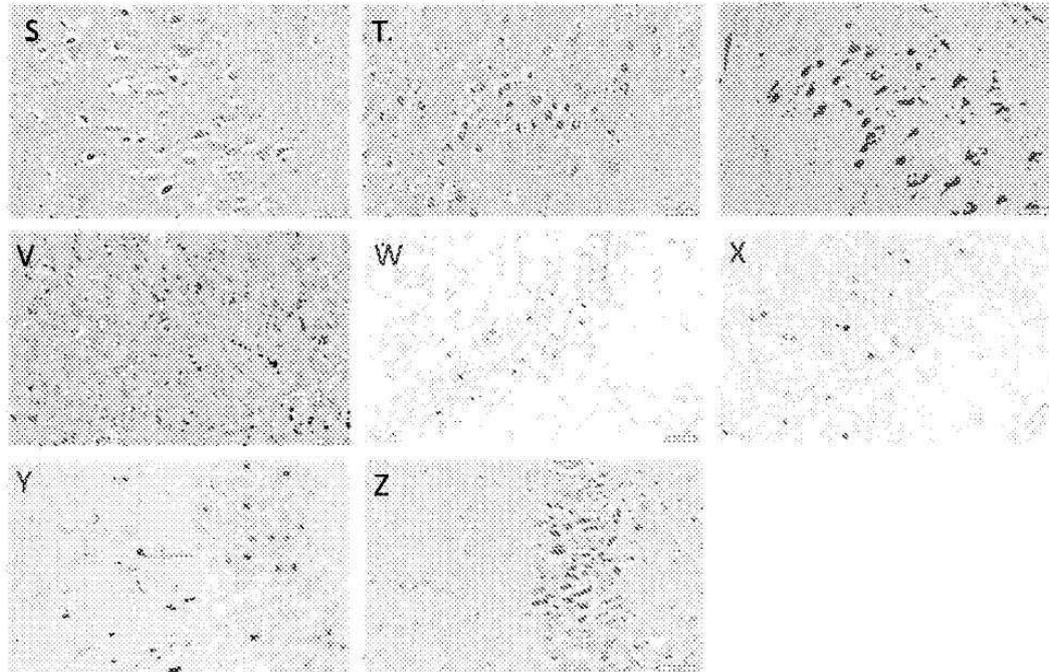
TDP43 (220-414)- (포획 ELISA)



도면11a



도면11sz



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Biogen IDEC International Neuroscience GmbH
University of Zurich

<120> TDP-43 SPECIFIC BINDING MOLECULES

<130> WO/2013/061163

<140> PCT/IB2012/002905

<141> 2012-10-26

<150> US 61/553,113

<151> 2011-10-28

<160> 328

<170> PatentIn version 2.0

<210> 1

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

1 5 10 15

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

 Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asn Tyr Tyr Ser Ser Phe Gly Tyr Asn Trp Ala Ala Phe His
 100 105 110
 Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 2
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

85 90 95
 Ala Lys Asn Tyr Tyr Ser Ser Phe Gly Tyr Asn Trp Ala Ala Phe His
 100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 3
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3

Ser Gln Ala Met Ser
 1 5

<210> 4
 <211> 17
 <212> PRT

<213> Homo sapiens
 <400> 4

Ala Leu Ser Arg Thr Gly Asp Tyr Thr Trp Tyr Ala Asp Ser Val Arg
 1 5 10 15

Gly

<210> 5
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5

Asn Tyr Tyr Ser Ser Phe Gly Tyr Asn Trp Ala Ala Phe His Ile
 1 5 10 15

<210> 6
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

 50 55 60

Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Gly Ser Pro

 85 90 95

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Asn Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr

1 5

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Gln Gln Tyr Gly Gly Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5 10

<210> 10

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Thr Thr Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Arg Lys Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

100 105 110

Ser Ser

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Asp Tyr Trp Met His

1 5

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens
 <400> 12
 Arg Ile Asn Leu Asp Gly Ser Asp Thr Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 13
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 13
 Ser Arg Lys Ser Val
 1 5

<210> 14
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Asn Thr Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30
 Asp Tyr Val Ser Trp Ser Gln Gln Leu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe
 35 40 45
 Val Ile Phe Asp Val Asp Val Arg Pro Ser Gly Ile Ser Asp Arg Phe

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

<210> 15

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

15

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

1 5 10

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Asp Val Asp Val Arg Pro Ser

1 5

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Ser Ser Tyr Thr Lys Ser Gly Thr Leu Val

1 5 10

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Arg Asp Ile Thr Asn Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Tyr Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Thr Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

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

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Gln Ala Ser Arg Asp Ile Thr Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Asp Ala Ser Tyr Leu Glu Thr
 1 5

<210> 25

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 25
 Gln Gln Tyr Asp Ser Val Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 26
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 26
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp His
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Leu Asp Gly Ser Ser Arg Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Val Ala Ser Glu Gly Thr Ala Phe Asp Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 27
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 27
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp His
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Leu Asp Gly Ser Ser Arg Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Val Ala Ser Glu Gly Thr Ala Phe Asp Val Trp Gly

 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Asp His Gly Met His

1 5

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Val Ile Trp Leu Asp Gly Ser Ser Arg Phe Tyr Ala Asp Ser Val Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Asp Arg Val Ala Ser Glu Gly Thr Ala Phe Asp Val

1 5 10

<210> 31

<211> 105

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Trp Ala Ser Gln Asn Val Asn His Tyr

 20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Leu

 35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Val Arg Ala Ala Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ile Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Arg Ser Asp Trp Thr Phe

 85 90 95

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Trp Ala Ser Gln Asn Val Asn His Tyr Leu Val

1 5 10

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Asp Thr Ser Val Arg Ala Ala

1 5

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Gln His Arg Ser Asp Trp Thr

1 5

<210> 35

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

Lys Gly Arg Ile Thr Met Ser Ala Asp Thr Pro Ala Arg Ser Val Ser

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Leu Pro Val Asn Ile Glu Val Leu Asp Leu Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115
 <210> 36
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 36
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Thr Ala Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

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

115
 <210> 37
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 37
 Gly Tyr Tyr Met His

1 5
 <210>
 > 38
 <211> 17
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Val Ile Asn Pro Asn Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Leu Pro Val Asn Ile Glu Val Leu Asp Leu
 1 5 10

<210> 40

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

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

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

Ile Asn Gly Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 Ser Ser Thr Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys

<210> 41

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Thr Val Leu Phe Ser

20 25 30

Ser Asn Asp Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Val Arg Ala Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Gly Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Arg Ser Ser Gln Thr Val Leu Phe Ser Ser Asn Asp Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Trp Ala Ser Val Arg Ala Ser

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Gln Gln Ser Ser Thr Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 45

<211> 134

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Arg Pro Ser Gly Tyr Ser Gly Tyr Gly Pro Ser Glu Ser

100 105 110

Tyr Gly Asn Pro Thr Asp Asp Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Arg Gly Val

 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

 35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

 50 55 60

Asn Ser Gly Asp Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Val Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Ser Ser Asp His

 85 90 95

Leu Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

 100 105

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Arg Gly Val His

1 5 10

<210> 51

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 52

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gln Val Trp Asp Asn Ser Ser Asp His Leu Val Val

1 5 10

<210> 53

<211> 130

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Asp Thr Tyr Gln Tyr Asp Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Tyr Phe

 100 105 110

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

 115 120 125

Ser Ser

 130

<210> 54

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Asn Tyr Val Met Tyr

1 5

<210> 55

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

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

1 5 10 15

Gly

<210> 56

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Asp Thr Tyr Gln Tyr Asp Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Tyr Phe Tyr Tyr

1 5 10 15

Tyr Gly Met Asp Val

20

<210> 57

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ile Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65

70

75

80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Ala Ser Ser

85 90 95

Ser Thr Ser Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 58

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Ile Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210>

> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Ser Ser Phe Ala Ser Ser Ser Thr Ser Val Thr

1 5 10

<210> 61

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

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

1 5 10 15

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

1 5 10

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr Thr Tyr Val

1 5 10

<210> 69

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser His

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Ala Ser Asn Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Asn Ala Phe Ser Ser Ser Ala Ser Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly

100

105

110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 70

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Ser His Gly Met His

1 5

<210> 71

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Val Ile Ser Tyr Asp Ala Ser Asn Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Ala Phe Ser Ser Ser Ala Ser Gly Gly Tyr

1 5 10

<210> 73

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

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

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

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

Lys

<210> 74

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

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

1 5 10 15

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser

1 5

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Met Gln Gly Thr His Trp Pro Pro Trp Thr
 1 5 10

<210> 77

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Ile Ile Tyr Tyr Asp Ser Ser Gln Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ala Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Leu Pro Phe His Tyr His Arg Ser Ala Ser Phe Ala Pro
 100 105 110

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

115 120 125

<210> 78

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Ile Ile Tyr Tyr Asp Ser Ser Gln Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ala Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Leu Pro Phe His Tyr His Arg Ser Ala Ser Phe Ala Pro
 100 105 110

Ser Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 80

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Ile Ile Tyr Tyr Asp Ser Ser Gln Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 81

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

81

Asp Leu Pro Phe His Tyr His Arg Ser Ala Ser Phe Ala Pro Ser Asp

1 5 10 15

Thr

<210> 82

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ala Val Thr Asn Asn

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Val Tyr Ala Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Tyr

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 83

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ala Val Thr Asn Asn

20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

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

<210> 84

<

211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Arg Ala Ser Gln Ala Val Thr Asn Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Ala Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Ile Thr
 1 5

<210> 87

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

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

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

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

<210> 88

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Ser Tyr Arg Met Asn

1	5
---	---

<210> 89

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Tyr Ile Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 90

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Ala Phe Asp Tyr

1

<210> 91

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Thr

1 5

<210> 94

<211> 414

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Met Ser Glu Tyr Ile Arg Val Thr Glu Asp Glu Asn Asp Glu Pro Ile

1 5 10 15

Glu Ile Pro Ser Glu Asp Asp Gly Thr Val Leu Leu Ser Thr Val Thr

 20 25 30

Ala Gln Phe Pro Gly Ala Cys Gly Leu Arg Tyr Arg Asn Pro Val Ser

 35 40 45

Gln Cys Met Arg Gly Val Arg Leu Val Glu Gly Ile Leu His Ala Pro

 50 55 60

Asp Ala Gly Trp Gly Asn Leu Val Tyr Val Val Asn Tyr Pro Lys Asp

65 70 75 80

Asn Lys Arg Lys Met Asp Glu Thr Asp Ala Ser Ser Ala Val Lys Val

 85 90 95

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

 100 105 110

Trp Lys Thr Thr Glu Gln Asp Leu Lys Glu Tyr Phe Ser Thr Phe Gly

 115 120 125

Glu Val Leu Met Val Gln Val Lys Lys Asp Leu Lys Thr Gly His Ser

 130 135 140

Lys Gly Phe Gly Phe Val Arg Phe Thr Glu Tyr Glu Thr Gln Val Lys

145 150 155 160

Val Met Ser Gln Arg His Met Ile Asp Gly Arg Trp Cys Asp Cys Lys

 165 170 175

Leu Pro Asn Ser Lys Gln Ser Gln Asp Glu Pro Leu Arg Ser Arg Lys

 180 185 190

Val Phe Val Gly Arg Cys Thr Glu Asp Met Thr Glu Asp Glu Leu Arg

 195 200 205

Glu Phe Phe Ser Gln Tyr Gly Asp Val Met Asp Val Phe Ile Pro Lys

 210 215 220

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

Phe Gly Asn Ser Arg Gly Gly Gly Ala Gly Leu Gly Asn Asn Gln Gly
 290 295 300
 Ser Asn Met Gly Gly Gly Met Asn Phe Gly Ala Phe Ser Ile Asn Pro
 305 310 315 320
 Ala Met Met Ala Ala Ala Gln Ala Ala Leu Gln Ser Ser Trp Gly Met
 325 330 335
 Met Gly Met Leu Ala Ser Gln Gln Asn Gln Ser Gly Pro Ser Gly Asn
 340 345 350

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

<210> 95

<211> 372

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 95

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag ccctctggatt cacctttagc agccaggcca tgagttgggt cgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcgcc cttagtcgca ctggtgatta cacatggtac 180

gcagactccg tgaggggccg gttcacccg tccagagacg attccaaaaa catcttttat 240
ctggaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attattgtgc gaaaaactac 300
tatagtagtt ttggttataa ttgggctgct tttcatatct ggggccaagg gacaatggtc 360

accgtctcct cg 372

<210> 96

<211> 327

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 96

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca ggatgttaac acaactact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatccc gcagggccac tggcgtccca 180
gacaggttca gtggccgtgg gtctgggaca gacttactc tcaccatcaa cagactggag 240
cctgaagatt ttgcaatgta tttctgtcag cagtatggtg gctcacctcc gtacactttt 300

ggccagggga ccaagctgga gatcaaa 327

<210> 97

<211> 342

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 97

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttagttcagc ctggggggtc cctgagaatc 60
tcttcacaaa cgtcaggatt cattttcagc gactattgga tgactgggt cgcgaagct 120
ccaggaagg ggctcacttg ggtctcacgt attaactctg atgggagtga caccatctat 180
gcggactccg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgacaagaa cacactatat 240
ttacaaatga acagtctgag agtcgaggac acggctatctt attactgtgc aaggtcaaga 300

aagagtgtct ggggccaagg gacaatggtc accgtctctt cg 342

<210> 98

<211> 330

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 98

cagtctgcc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tccctgactg gaagcaacac tgacgttggg gcttatgact atgtctcctg gtcccaacaa 120
 ctccccggca aagcccccaa atttgtgatt tttgatgtcg atgttcggcc ctccaggatt 180
 tctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacat ctctgggctc 240
 caggctgagg acgaggctga ttattattgc agttcatata caaagagcgg cactctggtt 300

ttcgggtggag ggaccaaggt gaccgtcgta 330

<210> 99

<211> 357

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 99

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tccctgaaga ccctggata ctccttcaact agttataactt tacattgggt gcgccaggcc 120
 cccggacaca ggctgagtg gatgggatgg atcaacgctg ccttcattaa cacaaaatat 180
 tcacagaagt tccagggcag aatcacctt accagggaca cgtccgcgaa catagcctac 240
 ctggagttaga gaagcctgac aactgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgggct 300

tcagggagta acggtttgga cgtctggggc caagggacca cggtcacctg ctctctg 357

<210> 100

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 100

gacatccaga tgaccagtc gccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagaatcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtcg tgacattacc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatcctatt tggaacaggg ggtcccatca 180
 acgttcagtg gaagtggatc tggcacacat ttacttttaa ccatcagcag cctccagcct 240
 gacgattttg caacatatta ctgtcaacag tatgattctg tcccctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 101

<211> 363

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 101

caggtgcagc tggtagagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaagtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgctcgggtt caccttcaga gatcatggca tgcactgggt cggccaggct 120
 ccaggcaaag ggctggagtg ggtggcagta atatggcttg atggaagtag tcgcttctat 180
 gcagactccg tagaaggccg gttcaccatc tccagagaca actccaagaa tacactatat 240
 ctacaactga cgagcctgag agccgaggac acggctatth attactgtgc gagagaccgt 300

gtggcatcag aagggactgc ttttgatgic tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
 tcg 363

<210> 102

<211> 315

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 102

gaaattgtgc tgactcagtc tccagccacc ctgtccttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctctgct gggccagtc gaattgtaac cttacttag tctggtatca acagagacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct cctctatgat acatccgta gggccgctgg catcccagcc 180
 aggttcattg gctctgggic tgggacacac ttactctca ccatcagcag cctggagcct 240

gaagattctg cagtttatta ctgtcagcac cgtagcgact ggacgttcgg ccaagggacc 300
 aaggtggaga tcaa 315

<210> 103

<211> 357

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 103

caggtgcagc tggtagaac tggtagtcg gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgtaagg catctggatt cagtttcaac ggctattata tgcatgggt gcgacaggcc 120
 cctggacagg ggcttgagtg gatgggagtc attaaccta atggtggcag taaaactac 180
 gcacaaaaat tcaagggtag aatcacatg agcgcggaca cggccgag gtcagtctcc 240

atggagttgg gcagtctgag atctgacgac acggccatgt attactgtgc gagacttccc 300
 gtgaatatag aagtcctga cctctggggc cagggcaccc tggtcaccgt ctctcgc 357

<210> 104

<211> 339

<212> DNA

<213> Homo sapiens
 <400> 104
 gatattgtga tgaccagag tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca ggicgagcca gactgttttg ttcagctcca acgataagaa ttacttagca 120
 tggatcagc agaaaccagg acagcctcct aaattgctca tttactgggc atctgtccgg 180
 gcatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cagtctcacc 240

 atcaacggcc tgcaggctga agatgtggca gtttactatt gtcagcaatc ttctactgct 300
 ccgctcacct tcggcggagg gaccaagtg gaaatcaaa 339
 <210> 105
 <211> 402
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 105
 caggtgcagc tggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg catctggata caccttcacc aactactata tgcaactggg gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaatccta gtggggggag gacaagctac 180
 gcacagaagt tccaggcagc agcctccatg accagggaca cgtccaccag cacagtctac 240

 atggaggtga tcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc tagacaacgc 300
 ccgtcgggat atagtggcta cgggcctca gactcatacg gtaacccgac agatgatgct 360
 ttgatgtct ggggccaagg gaccacggtc accgtctcct cg 402
 <210> 106
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 106
 tcctatgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggacagac ggccaggatt 60
 acgtgtgggg gaaacaacat tggaaagtagg ggtgtacact ggtaccagca gaggccaggc 120
 caggcccctg tgttggctgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat cctgagcga 180

 ttctctggct ccaactctgg ggacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagtcggg 240
 gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gataatagta gtgatcatct tgtggttttc 300
 ggcgagggga ccaagctgac cgtccta 327
 <210> 107

<211> 390
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 107
 caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aattatgtta tgtattgggt cgcaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggctttt atatcatatg atggaagcaa taaatactac 180

 ccagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccatgaa cagcgtgtat 240
 ctgcaaatgg acagcctgag agctgaggac acggctgtct attactgtgc gagagacacg 300
 tatcaatatg atagtagcac ttattaccg tacttctact actacggtat ggacgtctgg 360
 ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctcg 390

 <210> 108
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 108
 cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcctgtattg gaaccagcag tgacgttggg ggttataact atgtctcctg gtaccagcag 120

 caccaggca aagccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctgagggtt 180
 tctagtcgct tctcaggctc caagctggc aacacggcct ccctgacat ctctgggctc 240
 cagtctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattg caagcagcag cacttctgtg 300
 acgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

 <210> 109
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 109
 gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agttatgcca tgagttgggt cgcaggct 120

 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggtg gaggtgatag aacttactcc 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240
 ctgcaataa acagcctgag agttgaggac acggccgtat attactgtgc gcaagggggg 300

ggggggaaa tgaccgcagt aactatggac gggacctact acggtatgga cgtctggggc 360
 caagggacca cggtcaccgt ctctctcg 387
 <210> 110
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 110
 cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc aatcaccatc 60

 tctctgactg gaaccagcag taatgttggc acttataagt ttgtctcctg gtaccaacaa 120
 caccctggca aagcccccaa actcatgatt tatgatgtca ctaagcggcc ctcaggggtc 180
 cctgatcgtt tctctggctc caagctcggc aacacggcct cctgacat ctctggactc 240
 caggctgaag atgaggctga ttattactgc tgctcatatg caggcagtta cacttatgtc 300
 ttcggaagtg ggaccaaggt caccgtccta 330
 <210> 111
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 111
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggatgct cctgagactc 60

 tctctgtcag ccctctggatt cagcttcagt agtcatggca tgactgggt cgcagact 120
 ccaggcaagg ggctggagtg gttggcagta atttcatatg atgcaagtaa caaaagtat 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa gacgctgtat 240
 ttgcaaatgg acagcctgag agttgaagac acggctctgt attactgtgc gaatgcgttc 300
 agcagttcgg catctggggg ctactggggc cagggcaccc tggtcaccgt ctctctcg 357
 <210> 112
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 112
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgccctca ccttggaca gccggcctcc 60

 atctctgca ggiccagtc aagcctcgtt cacagtgatg gagtcaccta ctgaattgg 120
 tttcaacaga ggccaggcca atctcaagg cgcctaattt ataaggtttc taatcgggac 180

tctggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actggaaatc 240
 agcagggtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaaggtac aactggcct 300
 ccctggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

<210> 113
 <211> 378
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 113

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tctctgtcag cgctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcgatt atatactatg attcaagtca gagatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cgcgctgtat 240
 ctgcaaatga atagcctgag ggccgaggac accgctctgt attactgtgc gagagatctt 300
 ccgtttcact atcatagaag tgcccttttc gcaccttcgg acacctgggg ccagggaacc 360
 ctggtcaccg tctcctcg 378

<210> 114
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 114

gaaattgtgc tgactcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccggggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtcg ggctgttacc aacaactact tagcctggta ccagcaaaaa 120
 cctggccagg ctcccagact cctcgtctat gctgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacagattct atggcagtgg gtctggggcg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caatatggta cctcacgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 115
 <211> 339
 <212> DNA

<213> Homo sapiens
 <400> 115

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctctgtcag ccctcggatt caccttcagt agctatagga tgaactgggt ccgtcaggct 120
 ccaggaagg ggctggagt ggtttcatac attagtacta gtagtagtac catatactac 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagcattc 300
 gactactggg gccaggaac cctggtcacc gtctctctcg 339

<210> 116

<211

> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 116

gaaattgtgc tgactcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctctgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctgta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcaggccac tggcatccca 180
 gagagttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcat cagactggag 240
 cctgaagact ttgcagtga ttactgtcag cagtatggta gctcaccgtt cacttttggc 300
 caggggacca aggtggagat caaa 324

<210> 117

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> His-huTDP43 domain I

<400> 117

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Leu Val Pro Arg Gly
 1 5 10 15
 Ser Ser Glu Tyr Ile Arg Val Thr Glu Asp Glu Asn Asp Glu Pro Ile
 20 25 30
 Glu Ile Pro Ser Glu Asp Asp Gly Thr Val Leu Leu Ser Thr Val Thr
 35 40 45
 Ala Gln Phe Pro Gly Ala Cys Gly Leu Arg Tyr Arg Asn Pro Val Ser
 50 55 60
 Gln Cys Met Arg Gly Val Arg Leu Val Glu Gly Ile Leu His Ala Pro
 65 70 75 80

<220><223> His-huTDP43 domain III

<400> 119

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Leu Val Pro Arg Gly

1 5 10 15

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

 20 25 30

Cys Thr Glu Asp Met Thr Glu Asp Glu Leu Arg Glu Phe Phe Ser Gln

 35 40 45

Tyr Gly Asp Val Met Asp Val Phe Ile Pro Lys Pro Phe Arg Ala Phe

 50 55 60

Ala Phe Val Thr Phe Ala Asp Asp Gln Ile Ala Gln Ser Leu Cys Gly

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ile Ile Lys Gly Ile Ser Val His Ile Ser Asn Ala Glu

 85 90 95

Pro Lys His Asn Ser Asn Arg Gln Leu Glu Arg Ser

 100 105

<210> 120

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> His-huTDP43 domain IV

<400> 120

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Leu Val Pro Arg Gly

1 5 10 15

Ser Ser Asn Ala Glu Pro Lys His Asn Ser Asn Arg Gln Leu Glu Arg

 20 25 30

Ser Gly Arg Phe Gly Gly Asn Pro Gly Gly Phe Gly Asn Gln Gly Gly

 35 40 45

Phe Gly Asn Ser Arg Gly Gly Gly Ala Gly Leu Gly Asn Asn Gln Gly

 50 55 60

Ser Asn Met Gly Gly Gly Met Asn Phe Gly Ala Phe Ser Ile Asn Pro

65 70 75 80

Ala Met Met Ala Ala Ala Gln Ala Ala Leu Gln Ser Ser Trp Gly Met
 85 90 95

Met Gly Met Leu Ala Ser Gln Gln Asn Gln Ser Gly Pro Ser Gly Asn
 100 105 110

Asn Gln Asn Gln Gly Asn Met Gln Arg Glu Pro Asn Gln Ala Phe Gly
 115 120 125

Ser Gly Asn Asn Ser Tyr Ser Gly Ser Asn Ser Gly Ala Ala Ile Gly
 130 135 140

Trp Gly Ser Ala Ser Asn Ala Gly Ser Gly Ser Gly Phe Asn Gly Gly
 145 150 155 160

Phe Gly Ser Ser Met Asp Ser Lys Ser Ser Gly Trp Gly Met
 165 170

<210> 121
 <211> 430
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> His-huTDP43 full-length
 <400> 121

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Leu Val Pro Arg Gly

1 5 10 15
 Ser Ser Glu Tyr Ile Arg Val Thr Glu Asp Glu Asn Asp Glu Pro Ile
 20 25 30

Glu Ile Pro Ser Glu Asp Asp Gly Thr Val Leu Leu Ser Thr Val Thr
 35 40 45

Ala Gln Phe Pro Gly Ala Cys Gly Leu Arg Tyr Arg Asn Pro Val Ser
 50 55 60

Gln Cys Met Arg Gly Val Arg Leu Val Glu Gly Ile Leu His Ala Pro

65 70 75 80
 Asp Ala Gly Trp Gly Asn Leu Val Tyr Val Val Asn Tyr Pro Lys Asp
 85 90 95

Asn Lys Arg Lys Met Asp Glu Thr Asp Ala Ser Ser Ala Val Lys Val
 100 105 110

Lys Arg Ala Val Gln Lys Thr Ser Asp Leu Ile Val Leu Gly Leu Pro
 115 120 125
 Trp Lys Thr Thr Glu Gln Asp Leu Lys Glu Tyr Phe Ser Thr Phe Gly
 130 135 140
 Glu Val Leu Met Val Gln Val Lys Lys Asp Leu Lys Thr Gly His Ser
 145 150 155 160
 Lys Gly Phe Gly Phe Val Arg Phe Thr Glu Tyr Glu Thr Gln Val Lys
 165 170 175
 Val Met Ser Gln Arg His Met Ile Asp Gly Arg Trp Cys Asp Cys Lys
 180 185 190
 Leu Pro Asn Ser Lys Gln Ser Gln Asp Glu Pro Leu Arg Ser Arg Lys
 195 200 205
 Val Phe Val Gly Arg Cys Thr Glu Asp Met Thr Glu Asp Glu Leu Arg
 210 215 220
 Glu Phe Phe Ser Gln Tyr Gly Asp Val Met Asp Val Phe Ile Pro Lys
 225 230 235 240
 Pro Phe Arg Ala Phe Ala Phe Val Thr Phe Ala Asp Asp Gln Ile Ala
 245 250 255
 Gln Ser Leu Cys Gly Glu Asp Leu Ile Ile Lys Gly Ile Ser Val His
 260 265 270
 Ile Ser Asn Ala Glu Pro Lys His Asn Ser Asn Arg Gln Leu Glu Arg
 275 280 285
 Ser Gly Arg Phe Gly Gly Asn Pro Gly Gly Phe Gly Asn Gln Gly Gly
 290 295 300
 Phe Gly Asn Ser Arg Gly Gly Gly Ala Gly Leu Gly Asn Asn Gln Gly
 305 310 315 320
 Ser Asn Met Gly Gly Gly Met Asn Phe Gly Ala Phe Ser Ile Asn Pro
 325 330 335
 Ala Met Met Ala Ala Ala Gln Ala Ala Leu Gln Ser Ser Trp Gly Met
 340 345 350
 Met Gly Met Leu Ala Ser Gln Gln Asn Gln Ser Gly Pro Ser Gly Asn

<400> 123

Gln Tyr Gly Asp Val Met Asp Val Phe Ile Pro

1 5 10

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Ala Ala Ile Gly Trp Gly Ser Ala Ser Asn Ala

1 5 10

<210> 125

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Asp Met Thr Glu Asp Glu Leu Arg Glu Phe Phe

1 5 10

<210> 126

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Glu Asp Glu Asn Asp Glu Pro

1 5

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Val Gln Val Lys Lys Asp Leu

1 5

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Lys Glu Tyr Phe Ser Thr Phe

1 5

<210> 129

<211> 130

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Thr Tyr Gln Tyr Asp Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Tyr Phe

100 105 110

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

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 130

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

Ser

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 132

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 133
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 133
 Pro Pro Gly Trp
 1

<210> 134
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 134
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 35 40 45

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

<210> 135
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 135

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

1 5 10 15

<210> 136

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Glu Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Met Gln Ser Ile Gln Leu Pro Val Thr

1 5

<210> 138

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Ile His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Lys Pro Lys Ser Gly Gly Thr Asp Tyr Ala Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

Gln Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Gly Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe His Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Phe Asn Arg Asp Ser Gly Val Ser
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Met Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
 85 90 95
 Thr Leu Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 143
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 143
 Arg Ser Ser Gln Gly Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 144
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 144
 Lys Val Phe Asn Arg Asp Ser

1 5
 <210> 145
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 145
 Met Gln Gly Thr Leu Trp Pro Leu Thr
 1 5

<210> 146

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

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

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

65 70 75 80
 Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Ala Gly Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr Asp Pro Tyr His Tyr Phe Asp Met Gly Gly Pro Gly
 100 105 110
 Phe Gly Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 147

Gly Phe Asn Phe Ser Asn Val Trp Ile Ser

1 5 10

<210> 148

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

Arg Ile Lys Ser Lys Asn Asp Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Pro

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 149

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Asp Pro Tyr His Tyr Phe Asp Met Gly Gly Pro Gly Phe Gly Pro

1 5 10 15

<210> 150

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ser Asn Arg Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 151

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Ser Tyr Ser

 20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

 85 90 95

Tyr Ser Ser Leu Pro Ile Ser Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile

 100 105 110

Lys

<210> 152

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

Lys Ser Ser Gln Ser Val Ser Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu

1 5 10 15

Ser

<210> 153

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 154

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

Gln Gln Tyr Ser Ser Leu Pro Ile Ser

1 5

<210> 155

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Lys Glu Val Leu Glu Trp Ser Leu Leu Ser Arg Tyr Met Asp Val

 100 105 110

Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Gly Leu Thr Phe Ser Arg His Ala Phe Ser

1 5 10

<210> 157

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

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

1 5 10 15

Gly

<210> 158

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Glu Val Leu Glu Trp Ser Leu Leu Ser Arg Tyr Met Asp Val

1 5 10

<210> 159

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Gly Asn

 20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr His Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

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

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

65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 160

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Gly Asn Thr Val Asn

1 5 10

<210> 161

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Ser Thr Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 162

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 162

Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Trp Val

1 5 10

<210> 163

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile His Asp Ser Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu Thr

50 55 60

Ser Arg Leu Ser Met Ser Leu Asp Thr Ser Thr Asn Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 164

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

Gly Gly Ser Ile Thr Asp Tyr Tyr Trp Ser

1 5 10

<210> 165

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

Tyr Ile His Asp Ser Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu Thr Ser

1 5 10 15

<210> 166

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Val Pro Asp Tyr

1

<210> 167

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Asn

 20 25 30

Ser Asp Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Gln

 35 40 45

Pro Pro Lys Val Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Phe Gly Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln

 85 90 95

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

 100 105 110

Lys

<210> 168

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Asn Ser Asp Asn Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 169

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Phe

1 5

<210> 170

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

His Gln Tyr Tyr Ser Val Pro Phe Thr

1 5

<210> 171

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg His His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

 35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Phe Phe Gly Ser Ser Asn Tyr Asn Pro Ser

 50 55 60

Leu Lys Gly Arg Val Ser Met Ser Val Asp Thr Ser Asn Asn Gln Phe

65 70 75 80

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

 85 90 95

Cys Ala Thr Gly Asn Ala Tyr Ser Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 172

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Gly Val Ser Val Gly Ser Gly Asp Tyr Tyr Trp Ser
 1 5 10

<210> 173

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

Tyr Ile Ser Phe Phe Gly Ser Ser Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 174

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Gly Asn Ala Tyr Ser Phe
 1 5

<210> 175

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Thr His

20 25 30
 Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45
 Ile Ile Tyr Glu Ile Phe Glu Arg Pro Ser Gly Ile Ser Ser Arg Phe

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

65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Cys Ala Tyr Ser Val Thr

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

100 105
 <210> 176

<211> 14
 <212> PRT

<213> Homo sapiens
 <400> 176

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Thr His Asn Leu Val Ser

1 5 10
 <210> 177

<211> 7
 <212> PRT

<213> Homo sapiens
 <400> 177

Glu Ile Phe Glu Arg Pro Ser
 1 5

<210> 178
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 178
 Cys Ala Tyr Ser Val Thr Val Ile

1 5
 <210> 179

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Leu Gly Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Arg Ile Ser Ser Asp Gly Ala Ser Val Ser Tyr Ala Asp Phe Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly Asn Ala Arg Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Gly Phe Asn Leu Gly Asp Tyr Trp Met His

1 5 10

<210> 181

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

Arg Ile Ser Ser Asp Gly Ala Ser Val Ser Tyr Ala Asp Phe Val Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 182

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

Gly Val Val

1

<210> 183

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

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

1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Ser Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Arg Tyr Ala

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Ser Asp Asn Ser Asp Thr Tyr

 85 90 95

Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

 100 105

<210> 184

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Arg Tyr Ala Tyr

1 5 10

<210> 185

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

Glu Asp Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

Tyr Ser Ser Asp Asn Ser Asp Thr Tyr Ser Val

1 5 10

<210> 187

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Asp Leu Pro Tyr His Tyr His Arg Ser Ala Ser Phe Ala Pro
 100 105 110

Ala Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

Arg Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His

1 5 10

<210> 189

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

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

1 5 10 15

Gly

<210> 190

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

Asp Leu Pro Tyr His Tyr His Arg Ser Ala Ser Phe Ala Pro Ala Asp

1 5 10 15

Thr

<210> 191

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Asn

 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

 35 40 45

Val Tyr Ala Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Tyr

 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Val Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 192

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 193

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Ala Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 194

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 195

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Thr Val Gly Tyr Gly Gly Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ala Asn Tyr Gly Gly Asn Arg Phe Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Ser

1 5 10

<210> 197

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 197
 Thr Val Gly Tyr Gly Gly Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 198
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 198
 Ala Asn Tyr Gly Gly Asn Arg Phe Gly Leu Asp Val
 1 5 10

 <210> 199
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 199
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30
 Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Gln Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Met Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ser
 85 90 95
 Asn Asn Leu Gly Val Phe Gly Thr Gly Thr Glu Val Thr Val Leu
 100 105 110
 <210> 200

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 201

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 202

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn Leu Gly Val

1 5 10

<210> 203

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ser Ala Ile Pro Ala Arg Gly Asp Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Ala His His Leu Tyr Asn Lys Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 204

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala Met Ala

1 5 10

<210> 205

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 205

Ala Ile Pro Ala Arg Gly Asp Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 206

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 206

Ala His His Leu Tyr Asn Lys Asn Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 207

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 207

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

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

65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Thr Phe Gly
 85 90 95
 Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100

<210> 208

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 208

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 209

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 209

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 210

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 210
 Gln His Tyr Gly Thr
 1 5
 <210> 211
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 211
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

 Ala Lys Asp Arg Trp Leu Thr Gly Arg Thr Gly Gly Val Phe Asp Ile
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 212
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 212
 Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Val Met Ser

1 5 10
 <210> 213
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 213
 Ala Ile Ser Arg Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
 Gly
 <210> 214
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 214
 Asp Arg Trp Leu Thr Gly Arg Thr Gly Gly Val Phe Asp Ile

1 5 10
 <210> 215
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 215
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

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

Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 216

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 217

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 218

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 218

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 219

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

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

1 5 10 15

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

20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Thr Ile Gly Asp Ser Gly Ser Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Gly Leu Gly Pro Val Ala Ala Ile Gly Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 220

Gly Tyr Thr Phe Ser Tyr Tyr Ala Met Ser
 1 5 10

<210> 221

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 221

Thr Ile Gly Asp Ser Gly Ser Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 222

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 222

Gly Leu Gly Pro Val Ala Ala Ile Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 223

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 223

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

 20 25 30

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

 35 40 45

Val Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Val Ser

 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65 70 75 80

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

 85 90 95

Arg Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

 100 105 110

<210> 224

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 224

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

1 5 10

<210> 225

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 225

Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 226

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 226

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Arg Gly Tyr Val

1 5 10

<210> 227

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 227

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Asp His Gln Phe Tyr Gly Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met His Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Gly Val Thr Pro Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 228

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 228
 Asn Tyr Gly Met His

1 5
 <210> 229
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 229
 Val Ile Ser Tyr Gly Gly Asp His Gln Phe Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Asp

<210> 230
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 230
 Gly Val Thr Pro Asp Phe
 1 5
 <210> 231
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 231
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser His Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
 85 90 95

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

Lys

<210> 232

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 232

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 233

<211> 7

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 233

Lys Val Ser His Arg Asp Ser
 1 5

<210> 234

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 234

Leu Gln Gly Thr His Trp Pro Pro Phe Thr
 1 5 10

<210> 235

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 235

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Asn Met Leu Ala Ala Ala Gly Ser His Tyr Phe His Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 236

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 236

Thr Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 237

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 237

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

1 5 10 15
 Gly

<210> 238
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 238

Met Leu Ala Ala Ala Gly Ser His Tyr Phe His Tyr

1 5 10

<210> 239
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 239

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Val

85 90 95

Thr Gln Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 240
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 240

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 241

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

Lys Ile Ser Glu Arg Phe Ser
 1 5

<210> 242

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 242

Met Gln Val Thr Gln Phe Pro Ile Thr
 1 5

<210> 243

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 243

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Val Pro Asp Ala Phe Asp Met Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

100 105 110
 Ser Ser

<210> 244
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 244

Asn Tyr Ala Met His
 1 5

<210> 245
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 245

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly
 <210> 246
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 246

Asp Ala Phe Asp Met
 1 5

<210> 247
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 247

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Ser Trp Leu His Gln Arg Pro Gly Gln Pro
 35 40 45
 Pro Arg Pro Leu Ile Tyr Lys Met Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Glu Thr Glu Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
 85 90 95
 Thr Gln Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 248

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 248

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 249

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 249

Lys Met Ser Lys Arg Phe Ser
 1 5

<210> 250

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 250

Leu Gln Leu Thr Gln Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 251

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 251

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Ile Asp Gly Ser Ser Trp Ser Ser Trp Phe Asp Pro

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 252

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 252

Tyr Ala Met Asn

1

<210> 253

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 253

Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe Thr

1 5 10 15

Gly

<210> 254

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 254

Asp Arg Ile Asp Gly Ser Ser Trp Ser Ser Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 255

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 255

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly

20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Ser Ser

85 90 95

Leu Ser Ser Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 263

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Ser

20 25 30

Ser Lys Asn Lys Asn His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Tyr

50 55 60

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

65 70 75 80

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu

85 90 95

Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Pro Ser Val Thr

100 105 110

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120

<210> 264

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 264

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Ser Ser Lys Asn Lys Asn His Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 265

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens
 <400> 265
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5
 <210> 266
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 266
 Gln Gln Tyr Tyr Ser Pro Ser Val Thr
 1 5
 <210> 267
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 267
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ile Ile Tyr Tyr Asp Ser Ser Gln Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ala Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Leu Pro Phe His Tyr His Arg Ser Ala Ser Phe Ala Pro
 100 105 110
 Ser Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 268

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 268

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 269

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 269

Ile Ile Tyr Tyr Asp Ser Ser Gln Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 270

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 270

Asp Leu Pro Phe His Tyr His Arg Ser Ala Ser Phe Ala Pro Ser Asp

1 5 10 15

Thr

<210> 271

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 271

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ala Val Thr Asn Asn

20

25

30

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

85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 272
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 272

Arg Ala Ser Gln Ala Val Thr Asn Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 273
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 273

Ala Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

<210> 274
 <211> 9
 <212> PRT

<
 213> Homo sapiens
 <400> 274

Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Ile Thr
 1 5

<210> 275
 <211> 339

<212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 275

gaggtgcagc tggtagtc tgggggagc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt acctattata tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
 gtggactctg tgaagggccg attcacatc tccagagaca acgccaggaa ctcactgtat 240
 ctgcagatgc acagcctgag agccaggac acggctgtgt attactgtgc gagtccccct 300

gggtggtggg gccagggcac cctggtcacc gtctcctcg 339

<210> 276
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 276

gatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgta agtctagica gacccctctg catagtgatg gaaagaccta ttgtattgg 120
 tactgcaga agccaggcca gcctccacag ctctgatct atgaagtffc caaccggttc 180
 tctggagtgc cagataggtt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
 agccgggtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaaagtat acagcttccc 300

gtgactttcg gcggaggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 277
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 277

caggtgcagc tggtagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagtc 60
 tcctgcaagg ctccggata catcttcacc gactatttta tacactggat aagacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggggtg atcaagccta aaagtgggtg cacagactat 180
 gcagagaaat ttcagggcag ggtcaccttg actagggaca cgtccatcac cacagtttat 240
 atggaattga gcaggctgaa ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagacttaag 300

tactcagtgc ctgattcaga ttattggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctcctg 357

<210> 278

<211> 336
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 278
 gatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgta agtctagtc gagcctcctg catagtgatg gaaagaccta ttigtattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gcctccacag ctctgatct atgaagtffc caaccggttc 180
 tctggagtgc cacataggtt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
 agccgggtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaaagtat acagcttccc 300

 gtgactttcg gcggaggac caaggtggag atcaaa 336
 <210> 279
 <211> 378
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 279
 gaggtgcagc tggtagtgc tgggggaggc ttggtaaagc ctggggggtc ccttagactc 60
 tcctgtgcaa cctctggatt caatttcagt aacgtctgga taagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaaatgatgg tgggacaaca 180
 gaatatgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaatagc 240
 gtgtatctcc aaatgaacag cctgaaaacc gaagacgcag gcgtttacta ctgtaccaca 300

 gaccctatc attactttga tatggggggg cctgggttcg gccctgggg ccagggcacc 360
 ctggtcaccg tctcctcg 378
 <210> 280
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 280
 gatattgtga tgactcaatc accagactcc ctggctgtgt ctctgggcca gagggccacc 60
 atcaactgca agtccggcca gagtgtttta tacaggcca ataataggaa ctatatagct 120
 tggatcagc agaaaccagg acagcctcct aagtgtctca tttactgggc atctaccgg 180
 gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcaacaata ttatagtaat 300

cgttggacgt tcggccaagg gaccaagggtg gagatcaaa 339

<210> 281

<211> 339

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 281

gatattgtga tgactcaatc accagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttcg tacagctcca acaataagaa cttcttatct 120

tgttaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaccgg 180

gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttctagtctc 300

ccgatctcct tcggccaagg gacacgactg gagattaaa 339

<210> 282

<211> 369

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 282

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggagcc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggact cacttttagc aggcatgcct ttagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcgcaatt agtagtggta gtgggggtaa cacatactac 180

gcagcctccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagacg aatcaaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agtcgaggac acggccctgt attactgtgc gaaagaggtc 300

ttggagtggg cattattgag tcgatacatg gacgtctggg gcaaaggac cacggtcacc 360

gtctcctcg 369

<210> 283

<211> 330

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 283

cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc cggggcagag ggtcaccatc 60

tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga ggttaactg tgaactgta ccaccagctc 120

ccaggaacgg ccccaact cctcgtctat agtactaatc agcggcctc aggggtcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
gctgaggatg aggctgatta ttactgtgca acatgggatg acagcctgaa tggttgggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtcctg 330

<210> 284
<211> 336
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 284

caggtgcage tgcaggagtc gggcccaggg ctggtgaagc cttcggagac cetgtccctc 60
acctgactg tccttgggtg ctccatcact gattactact ggagttggat cggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattggctat atccatgaca gtgggaccac caggtacaac 180

ccctccctca cgagtcgact cagcatgtca ttagacacgt ccacgaacca ggtctccctg 240
aggttgacct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgaa agttcctgac 300
tactggggcc agggcacct ggteaccgtc tcctcg 336

<210> 285
<211> 339
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 285

gatattgtga tgactcaatc accagactcc ctggctgtgt ctctgggcca gagggccacc 60
atcaactgca agtccagtc gagtgttttg tacaactccg acaataagaa ctacttagct 120
tggttgcage agaagccagg acagcctcct aagtcctca tttactgggc atctaccgg 180

gaattcgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcatcaata ttatagtgtt 300
cccttcactt tcggcggagg gaccaaggtg gagatcaaa 339

<210> 286
<211> 348
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 286

caggtgcage tgcaggagtc gggcccagga gtggtgaagc cttcacagac cetgtccctc 60
acctgactg tccttgggtg ctccgtcggc agtgggtgatt actactggag ttggatccgc 120

caccaccag ggaaggcct ggagtggatt ggatacatct cttttttgg gagttccaat 180

tacaaccgt cctcaagg tcgagtttcc atgtcagtag acacgtctaa caaccagttc 240

tcctgaatt tgaagtctgt gactgccgcg gacacggccg tctatttctg tgccacggga 300

aatgcctatt ctttctgggg ccaggggaca atggtcaccg tctcttcg 348

<210> 287

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 287

cagtctgcc tgactcagcc tgcctccgtg tgggggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tctgtcactg gaaccagcag tgatattggg acccataacc ttgtctctg gtaccaacia 120

caccccgca aagccccaa actcatcatt tatgagatct ttgagcggcc ttcagggatt 180

tcttctcgt tcaactggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacaat ctctgggctc 240

cagctgagg acgagctga ttatttctgc tgcgcatatt cagttactgt tatattcggc 300

ggagggacca aattgaccgt cctt 324

<210> 288

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 288

gaggtgcagc tggaggagtc cgggggagac ctagttcagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctgtacag cctctggatt caacttaggt gactactgga tgactgggt cgcacaagtt 120

ccaggaagg ggctggtgtg ggtctcacgt attagtagtg atggagcttc tgtaagttac 180

gcggacttcg tggagggccg attcaccatc tccagaggca acgccaggaa tacacttttt 240

ctggaactga acagtctgag actcgacgac acggctgtgt attattgtgc catgggggtg 300

gtctggggcc agggcacct ggtcaccgtc tctctg 336

<210> 289

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 289

tcctatgagc tgactcagcc accctcgtg tcagtgtccc caggacaaac ggccacgac 60

tctgtctctg gagatgcatt gccaaaaaga tatgcttatt ggtataagca gaagtccaggc 120
caggtccctg ttctgatcat ctatgaggac aacaaacgac cctccgggat cctgcgaga 180

ttctctggct ccagctccgg gacaatggcc acattgacta tcaactggggc ccaggtggac 240
gatgaagctg actactactg ttactcatca gacaatagtg atacttacag tgtgttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 290
<211> 378
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 290

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tctgtgcag cgiccagatt caccttcagt agctatggca tgactgggt ccgccaggcg 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatactatg atgcgactca aaaatattat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cgcgctgtat 240
ctgcaaatga ctaccctgag ggccgacgac accgctgtct attactgtgc gagagatctt 300
ccgtatcact atcatagaag tgccctcttc gcacctgcgg acacctgggg ccaggggaacc 360
ctggtcaccg tctctctg 378

<210> 291
<211> 324
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 291

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctctgca gggccagtc gaccattagc aacaactact tagcctgta ccagcaaaaa 120

cctggccagg ctcccagact cctcgtctat gctgcatcca gcagggccac aggcatccca 180
gacagatctt atggcagtag gtctggggcg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgtagtcta ttactgtcag caatacggta gctcaccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 292
<211> 360
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 292
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ctggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctattcca tgagctgggt ccgccaggct 120

cctgggaagg ggctggagtg ggtcgcaact gttggttatg gtggtactat ctactacgcc 180
gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240
gaaatgaaca gcctgagagc cgaggccacg gccgtatatt actgtgcgaa agcgaactac 300
ggtggttaacc gcttcggttt ggacgtctgg ggccagggga ccacggtcac cgtctcctcg 360
<210> 293
<211> 333
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 293
cagtctgcc tgcactcagc tcctccgcg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggg ggttataact atgtctcctg gtaccaaac 120

cagccaggca aagccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaagcggcc ctgagggtc 180
cctgatcgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccgt ctctgggctc 240
caggctgagg atgaggctga ttactattgc agctcatatg caggcagtaa caatttggga 300
gtcttcgaa ctgggaccga ggtcacctgc cta 333
<210> 294
<211> 360
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 294
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttaga aactatgcca tggcctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagcc attcctgcta ggggtgataa gacatactac 180
gcagactccg tgaggggccc gttcaccatc tccagagaca tttccaagag cgcactgtat 240
ttgcaaatga acagcctgag agtcgaggac acggccgtat actactgtgc gaaageccac 300
cacctgtaca acaaaaactt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctcg 360
<210> 295
<211> 312
<212> DNA

<213> Homo sapiens
 <400> 295
 gaaattgtgc tgactcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga gacagtcacc 60
 ctctcctgta gggccagtc gagtgtagc agcagcaact tagcctggta ccagcagaaa 120

 cctggccagg ctcccaggt cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggccgtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cactatggca cttttggcca ggggacaaaa 300
 gtggatatca aa 312
 <210> 296
 <211> 369
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 296
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggagc tcggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttagc acctatgtca tgagctgggt cgccaggct 120

 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtcgtc gtggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttccaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcgt 300
 tggctaactg gaaggacggg ggggtgtttt gatatctggg gccaaaggac aatggtcacc 360
 gtctcttcg 369
 <210> 297
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 297
 gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

 atcacttgcc aggcgagtc ggacattagc aactatftaa attggtatca gcagaagcca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcaccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagtag cctgcagcct 240
 gaagatactg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcccgtcac tttcgcgga 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321
 <210> 298

<211> 360
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 298
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

 tcctgtgcag cctctggata cacctttagc tactatgcca tgagctgggt cgcagcagct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaacc attggtgata gtggttctac cacacactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagag cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaagggactt 300
 ggaccagtgg ctgctattgg tgactactgg ggccaggaa ccctggtcac cgtctcctcg 360
 <210> 299
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 299
 cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggacc cgggcagag ggtcaccatc 60

 tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaataatg tatactggta ccagcagctc 120
 ccaggaacgg ccccaact cctcgtctat aggaataatc agcggcctc aggggtccct 180
 gaccgagtct ctggctcaa gtctggctcc tcagcctccc tggccatcag tgggctccgg 240
 tccgaggatg aggtgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgcg tggttatgtc 300
 ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta 330
 <210> 300
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 300
 caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

 tcctgtgtag cctctggatt caccttcgat aactatggca tgcaactgggt acgccagct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg gctggcagtt atatcatatg gtggagatca tcaattctat 180
 ggagactccg tgaaggaccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacagcgtat 240
 ctgcaaatgc acagcctgag acctgacgac acggctgtct actactgtgc gacgggggtg 300
 acccctgatt tttggggcca gggcacctg gtcaccgtct cctcg 345

<210> 301
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 301
 gatgttgta tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccttggaca gccggcctcc 60

 atctcctgca ggtctagta aagcctcgta cacagtgatg ggaataccta cttgaattgg 120
 tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgcctaattt ataagtttc tcaccgggac 180
 tctgggggcc cagatagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
 agcagggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgcc tgcaaggaac aactgcct 300
 ccgttcactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa 339

 <210> 302
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 302
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtcaacc ctggggggtc cctgagactc 60

 tcctgtacag cctctggatt cagcttcagt acctatagca tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcattg attactagta gtggtagtta catatactac 180
 gcagactcag tgaagggccg attcaccatc tccagagacg acgccaagaa ctcactctat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccaggac acggctgtgt attactgtgc gaatatgttg 300
 gcagcagctg gtagtcacta ctttactac tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 360
 tcg 363

 <210> 303
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 303
 gatatttgta tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctct 60
 atctcctgca ggtccagta aagcctcgta cacagtgatg gaaacaccta cttgagttgg 120
 cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctctaattt ataagatttc tgaacggttc 180
 tctgggggcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240

agcagggtgg aagctgagga tgtcgggggtt tattactgca tgcaagttac acaatttcct 300
atcaccttcg gcccaaggac acgactggag attaaa 336

<210> 304
<211> 342
<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 304

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgictggatt caccttcagt aattatgcca tgcaactgggt cgcaccagct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atttggatg atggaagtaa aaaatattat 180
ggcgactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atccaagaa cacgttgat 240
ctacagatga acagtctgag agtcgaagac acggctatat attactgtgt ccccgacgct 300
tttgatatgt ggggccaagg gacaatggtc accgtctctt cg 342

<210> 305

<211>
> 337

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 305

ggatattgtg atgaccaga ctctctctc ctcacctgac acccttgggc agccggcctc 60
catctctctc aggtctagtc aaagcctcgt acacactgat ggaaagacct acttgagttg 120
gcttcatcag aggccaggcc agcctccaag acccctaatt tataagatgt ctaagcggtt 180
ctctggggtc ccagacagat tcagtggcag tggggcagag acagagttca cactgaaaat 240
cagcagggtg gaagctgagg atgtcggaat ttattactgc ttgcaactta cacaatttcc 300
gatcaccttc ggccaaggga cagactgga gattaaa 337

<210> 306

<211> 369

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 306

caggtgcagc tgggtgcagtc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaagtt 60
tcctgcaagg ctctggata caccttcact agctatgcta tgaattgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacacca acactgggaa cccaacgtat 180

gcccagggct tcacaggacg gtttgtcttc tccttggaca cctctgtcag cacggcatat 240
 ctgcagatca gcagcctaaa ggctgaggac actgccgtgt attactgtgc gagagatcgg 300
 attgatggca gcagctggtc gtccctggttc gacccctggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctcg 369

<210> 307

<211> 334

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 307

ccagtctgtg ctgacgcagc cgccctcagt gtctggggcc ccagggcaga gggtcaccat 60
 ctctgcaact gggagcagct ccaacatcgg ggcaggttat gatgtacct ggtaccagca 120
 acttccagga acagcccca aactcctcat ctatggtaac agcaatcggc cctcaggggt 180
 ccctgaccga ttctctggct ccaagtctgg cacctcagcc tccttggcca tcaactggct 240
 ccaggctgag gatgaggctg attattactg ccagtccttt gacagtagcc tgagtagttc 300

ggtattcggc ggagggacca agctgaccgt ccta 334

<210> 308

<211> 361

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 308

ccaggtgcag ctggtgcaat ctgggtctga gttgaagaag cctggggcct cagtgaaggt 60
 ttcttcaag gcttctggat acccctcaa caactatgcc attaattggg tgcgacaggc 120
 ccctggacaa gggcttgagt ggatgggctt catcaacacc aacctggga tccccacgta 180
 tgcccagggc ttacaggac ggtttgtctt ctcttagac acctctgtca acacggcata 240
 tctgcagatc agtggcctaa aggctgacga cactgccgtg tattactgtg cgagagtccg 300

tatagtggga gttattgttt ttgactactg gggccagggga accctgggtca ccgtctcctc 360
 g 361

<210> 309

<211> 366

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 309

gatgttgtga tgactcagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tccagctcca agaataagaa ccacttagcc 120
tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tctactgggc atctaccgg 180
gaatccggct acigggcadc taccgggaa tccgggtcc ctgaccgatt cagtggcagc 240

gggtctggga cagatthtac tctcaccatc agcagcctgc aggctgaaga tgtggcagtt 300
tattactgtc agcaatatta tagtccttcg gtcactttcg gcggaggac caaggtggaa 360
atcaaa 366

<210> 310
<211> 378
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 310

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tctgtgagc cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcgatt atatactatg attcaagtca gagatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cgcgctgtat 240
ctgcaaatga atagcctgag ggccgaggac accgctctgt attactgtgc gagagatctt 300
ccgtttcact atcatagaag tgccctttc gcaccttcgg acacctgggg ccaggggaacc 360
ctggtcaccg tctcctcg 378

<210> 311
<211> 324
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 311

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccggggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc ggctgttacc aacaactact tagcctggta ccagcaaaaa 120

cctggccagg ctccagact cctcgtctat gctgcatcca gcaggccac tggcatcca 180
gacagattct atggcagtg gtctggggcg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgagtgta ttactgtcag caatatggta cctcaccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 312
<211> 12

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 312
 ugugugugug ug 12
 <210> 313
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 313
 uuuuuuuuuu uu 12
 <210> 314
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 314
 Ser Ile Asn Pro Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gln Ala Ala Leu Gln Ser
 1 5 10 15
 Ser Trp Gly Met Met Gly Met Leu Ala Ser Gln
 20 25
 <210> 315
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 315
 Ile Ile Lys Gly Ile Ser Val
 1 5

 <210> 316
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 316
 Asn Gln Ser Gly Pro Ser Gly
 1 5

<210> 317

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 317

Phe Asn Gly Gly Phe Gly Ser

1 5

<210> 318

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 318

Phe Gly Asn Ser Arg Gly Gly Gly Ala Gly Leu

1 5 10

<210> 319

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 319

Ser Asn Ala Gly Ser Gly Ser Gly Phe Asn Gly

1 5 10

<210> 320

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 320

Gln Leu Glu Arg Ser Gly Arg Phe Gly Gly Asn

1 5 10

<210> 321

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 321

Glu Ile Pro Ser Glu Asp Asp

1 5
 <210> 322
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 322
 Phe Asn Gly Gly Phe Gly Ser Ser Met Asp Ser
 1 5 10
 <
 210> 323
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 323
 Ser Ile Asn Pro Ala Met Met Ala Ala Ala Gln Ala Ala Leu Gln Ser
 1 5 10 15
 Ser Trp Gly Met Met Gly Met Leu Ala Ser Gln
 20 25
 <210> 324
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MOD_RES
 <222> (7)..(8)
 <223> PHOSPHORYLATION
 <400> 324
 Cys Asn Gly Gly Phe Gly Ser Ser Met Asp Ser Lys
 1 5 10
 <210> 325
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MOD_RES
 <222> (6)..(7)

<223> PHOSPHORYLATION

<400> 325

Cys Met Asp Ser Lys Ser Ser Gly Trp Gly Met

1 5 10

<210> 326

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 326

Lys Ser Gly Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Tyr Ile

1 5 10 15

Ala

<210> 327

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

> 327

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 328

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 328

Gln Gln Tyr Tyr Ser Asn Arg Trp Thr

1 5