



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0127199
(43) 공개일자 2015년11월16일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>C07K 16/28</i> (2006.01) <i>A61K 39/00</i> (2006.01)
 <i>G01N 33/532</i> (2006.01) <i>G01N 33/574</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>C07K 16/2827</i> (2013.01)
 <i>A61K 47/48376</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-7028126
 (22) 출원일자(국제) 2014년03월13일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2015년10월08일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2014/025285
 (87) 국제공개번호 WO 2014/159835
 국제공개일자 2014년10월02일</p> <p>(30) 우선권주장
 61/784,877 2013년03월14일 미국(US)
 (뒷면에 계속)</p> | <p>(71) 출원인
 제넨테크, 인크.
 미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
 쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1</p> <p>(72) 발명자
 령, 스티븐 알.
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1
 폴슨, 앤드류
 미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
 엔에이 웨이 1
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 양영준, 이귀동</p> |
|--|--|

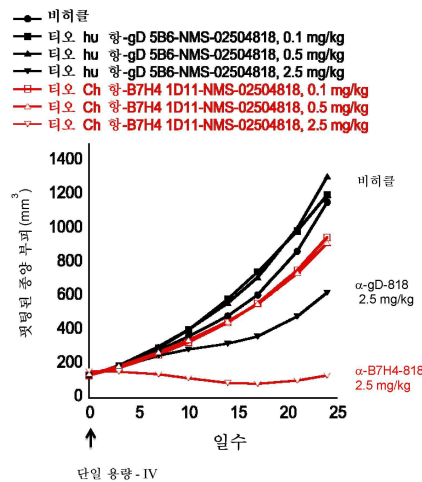
전체 청구항 수 : 총 57 항

(54) 발명의 명칭 **항-B7-H4 항체 및 면역접합체**

(57) 요약

본 개시내용은 항-B7-H4 항체 및 면역접합체 및 그의 사용 방법을 제공한다.

대표도 - 도17



(52) CPC특허분류

A61K 47/48407 (2013.01)

A61K 47/48561 (2013.01)

G01N 33/532 (2013.01)

G01N 33/574 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/77 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

플라키스, 폴

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1

우, 안

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1

리양, 웨이-칭

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1

파이어스타인, 론

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1

(30) 우선권주장

61/785,811 2013년03월14일 미국(US)

61/874,175 2013년09월05일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 특성:

(a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성, 및

(b) B7-H4에 ≤ 50 nM의 친화도로 결합하는 특성

중 하나 이상을 갖는, B7-H4에 결합하는 단리된 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 모노클로날 항체인 항체.

청구항 3

제1항에 있어서, 인간, 인간화 또는 키메라 항체인 항체.

청구항 4

제1항에 있어서, B7-H4에 결합하는 항체 단편인 항체.

청구항 5

제1항에 있어서, B7-H4가 서열 73의 인간 B7-H4인 항체.

청구항 6

제1항에 있어서,

(a) (i) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는

(b) (i) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는

(c) (i) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는

(d) (i) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는

(e) (i) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는

(f) (i) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2

를 포함하는 항체.

청구항 7

제1항에 있어서,

- (a) (i) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는
- (b) (i) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는
- (c) (i) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는
- (d) (i) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는
- (e) (i) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는
- (f) (i) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3
- 을 포함하는 항체.

청구항 8

제7항에 있어서, 서열 51, 52 또는 53의 중쇄 프레임워크 FR3 서열을 추가로 포함하는 항체.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서,

- (a) (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (b) (i) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (c) (i) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (d) (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (e) (i) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (f) (i) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3
- 을 추가로 포함하는 항체.

청구항 10

제1항에 있어서,

- (a) (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (b) (i) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (c) (i) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는
- (d) (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는

(e) (i) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는

(f) (i) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3

을 포함하는 항체.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 서열 65 또는 66의 경쇄 프레임워크 FR2 서열 또는 서열 47의 경쇄 프레임워크 FR3 서열을 추가로 포함하는 항체.

청구항 12

제1항에 있어서,

(a) 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열;

(b) 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(c) (a)에서와 같은 VH 서열 및 (b)에서와 같은 VL 서열; 또는

(d) 서열 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는

(e) 서열 11의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(f) (d)에서와 같은 VH 서열 및 (e)에서와 같은 VL 서열; 또는

(g) 서열 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는

(h) 서열 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(i) (g)에서와 같은 VH 서열 및 (h)에서와 같은 VL 서열; 또는

(j) 서열 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는

(k) 서열 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(l) (j)에서와 같은 VH 서열 및 (k)에서와 같은 VL 서열; 또는

(m) 서열 36의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는

(n) 서열 35의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(o) (m)에서와 같은 VH 서열 및 (n)에서와 같은 VL 서열; 또는

(p) 서열 37의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는

(q) (p)에서와 같은 VH 서열 및 (n)에서와 같은 VL 서열; 또는

(r) 서열 38의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는

(s) (r)에서와 같은 VH 서열 및 (n)에서와 같은 VL 서열; 또는

(t) 서열 56의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는

(u) 서열 55의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(v) (t)에서와 같은 VH 서열 및 (v)에서와 같은 VL 서열; 또는

(w) 서열 57의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(x) (t)에서와 같은 VH 서열 및 (w)에서와 같은 VL 서열

을 포함하는 항체.

청구항 13

제12항에 있어서, 서열 4의 VH 서열, 서열 12의 VH 서열, 서열 20의 VH 서열, 서열 4, 28의 VH 서열, 서열 36의 VH 서열, 서열 37의 VH 서열, 서열 38의 VH 서열, 또는 서열 56의 VH 서열을 포함하는 항체.

청구항 14

제12항에 있어서, 서열 3의 VL 서열, 서열 11의 VL 서열, 서열 19의 VL 서열, 서열 27의 VL 서열, 서열 35의 VL 서열, 서열 55의 VL 서열, 또는 서열 57의 VL 서열을 포함하는 항체.

청구항 15

(a) 서열 4의 VH 서열 및 서열 3의 VL 서열; 또는 (b) 서열 20의 VH 서열 및 서열 19의 VL 서열; 또는 (c) 서열 28의 VH 서열 및 서열 27의 VL 서열; 또는 (d) 서열 36의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (e) 서열 37의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (f) 서열 38의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (g) 서열 56의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열; 또는 (h) 서열 56의 VH 서열 및 서열 57의 VL 서열을 포함하는 단리된 항체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1, IgG2a 또는 IgG2b 항체인 항체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체를 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 18

제17항의 핵산을 포함하는 숙주 세포.

청구항 19

항체가 생산되도록 제18항의 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, 항체를 생산하는 방법.

청구항 20

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체 및 세포독성제를 포함하는 면역접합체.

청구항 21

제20항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 면역접합체.

Ab-(L-D)_p

상기 식에서,

(a) Ab는 제1항 내지 15 항 중 하나의 항체이고;

(b) L은 링커이고;

(c) D는 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 칼리케아미신, 피롤로벤조디아제핀 및 네모루비신 유도체로부터 선택된 약물이고;

(d) p는 1-8의 범위이다.

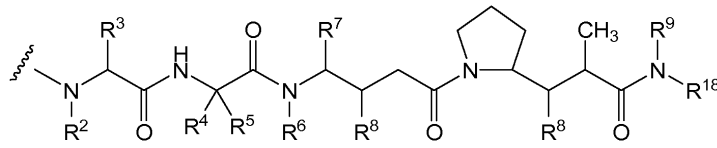
청구항 22

제21항에 있어서, D가 아우리스타틴인 면역접합체.

청구항 23

제22항에 있어서, D가 하기 화학식 D₁를 갖는 것인 면역접합체.

<화학식 D_E>



상기 식에서, R² 및 R⁶은 각각 메틸이고, R³ 및 R⁴는 각각 이소프로필이고, R⁵는 H이고, R⁷은 sec-부틸이고, 각각의 R⁸은 독립적으로 CH₃, O-CH₃, OH 및 H로부터 선택되고; R⁹는 H이고; R¹⁸은 -C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-아틸이다.

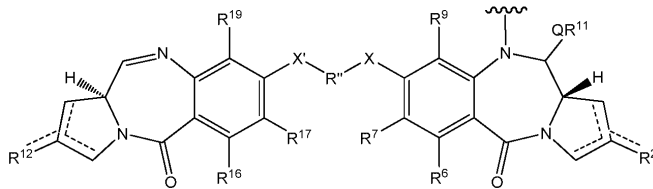
청구항 24

제21항에 있어서, 약물이 MMAE인 번역접합체.

청구항 25

제22항에 있어서, D가 하기 화학식 A의 피롤로벤조디아제핀인 번역접합체.

<화학식 A>



상기 식에서, 점선은 C1 및 C2 또는 C2 및 C3 사이의 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

R²는 독립적으로 H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R 및 COR로부터 선택되고, 임의로 할로 또는 디할로로부터 추가로 선택되고, 여기서 R^D는 독립적으로 R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H 및 할로로부터 선택되고;

R⁶ 및 R⁹는 독립적으로 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고;

R⁷은 독립적으로 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고;

Q는 독립적으로 O, S 및 NH로부터 선택되고;

R¹¹은 H 또는 R이거나, 또는 Q가 O인 경우에 SO₃M이고, 여기서 M은 금속 이온이고;

R 및 R'는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C₁₋₈ 알킬, C₃₋₈ 헤테로시클릴 및 C₅₋₂₀ 아릴 기로부터 선택되고, 임의로 NRR'와 관련하여, R 및 R'는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 임의로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클릭 고리를 형성하고;

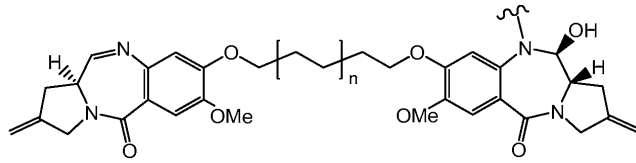
R¹², R¹⁶, R¹⁹ 및 R¹⁷은 각각 R², R⁶, R⁹ 및 R⁷에 대해 정의된 바와 같고;

R''는 C₃₋₁₂ 알킬렌 기이고, 상기 쇠에는 하나 이상의 헤테로원자 및/또는 임의로 치환된 방향족 고리가 개재될 수 있고;

X 및 X'는 독립적으로 O, S 및 N(H)로부터 선택된다.

청구항 26

제25항에 있어서, D가 하기 구조를 갖는 것인 면역접합체.



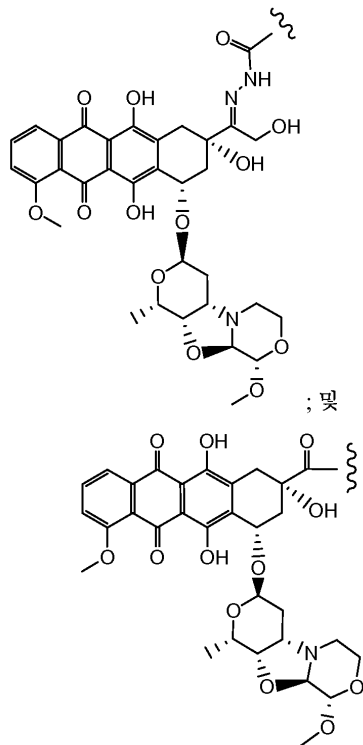
상기 식에서, n은 0 또는 1이다.

청구항 27

제21항에 있어서, D가 네모루비신 유도체인 면역접합체.

청구항 28

제27항에 있어서, D가 하기로부터 선택된 구조를 갖는 것인 면역접합체.



청구항 29

제21항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 프로테아제에 의해 절단가능한 것인 면역접합체.

청구항 30

제29항에 있어서, 링커가 val-cit 디펩티드 또는 Phe-호모Lys 디펩티드를 포함하는 것인 면역접합체.

청구항 31

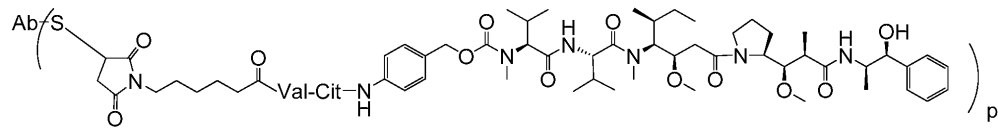
제21항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 산-불안정성인 면역접합체.

청구항 32

제31항에 있어서, 링커가 히드라존을 포함하는 것인 면역접합체.

청구항 33

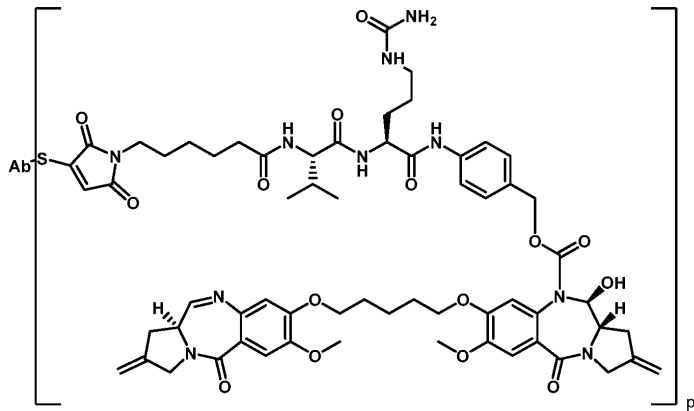
제23항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 면역접합체.



상기 식에서, S는 황 원자이다.

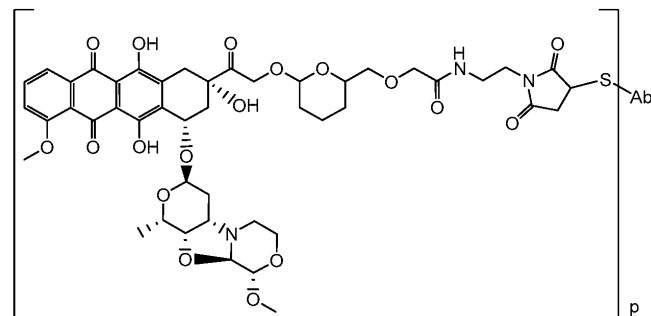
청구항 34

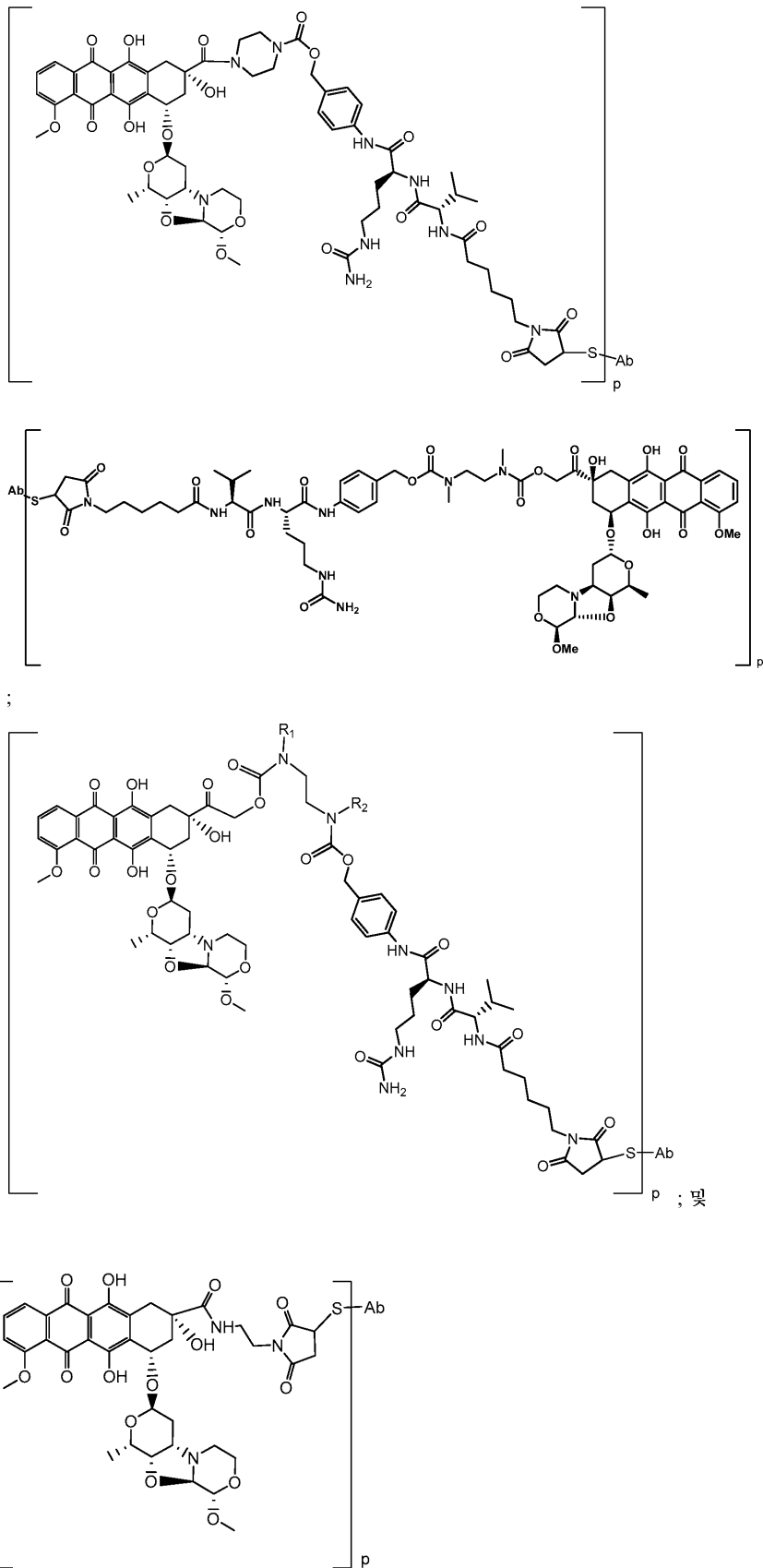
제26항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 면역접합체.



청구항 35

제28항에 있어서, 하기로부터 선택된 화학식을 갖는 면역접합체.





청구항 36

제21항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, p가 2-5 범위인 면역접합체.

청구항 37

제21항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 제9항의 항체를 포함하는 면역접합체.

청구항 38

제21항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 제15항의 항체를 포함하는 면역접합체.

청구항 39

제21항 내지 제38항 중 어느 한 항의 면역접합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 제제.

청구항 40

제39항에 있어서, 추가의 치료제를 추가로 포함하는 제약 제제.

청구항 41

제40항에 있어서, 추가의 치료제가 아바스틴(Avastin)® (베바시주맵)인 제약 제제.

청구항 42

B7-H4-양성 암을 앓는 개체에게 유효량의 제21항 내지 제38항 중 어느 한 항의 면역접합체를 투여하는 것을 포함하는, B7-H4-양성 암을 앓는 개체를 치료하는 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, B7-H4-양성 암이 유방암, 난소암 및 자궁내막암으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 추가의 치료제를 개체에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 추가의 치료제가 아바스틴® (베바시주맵)인 방법.

청구항 46

B7-H4-양성 세포를 제21항 내지 제38항 중 어느 한 항의 면역접합체에, 세포 표면 상의 B7-H4에 대한 면역접합체의 결합을 허용하는 조건 하에 노출시켜 세포의 증식을 억제하는 것을 포함하는, B7-H4-양성 세포의 증식을 억제하는 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 세포가 유방암, 난소암 또는 자궁내막암 세포인 방법.

청구항 48

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 표지에 접합된 항체.

청구항 49

제48항에 있어서, 표지가 양전자 방출체인 항체.

청구항 50

제49항에 있어서, 양전자 방출체가 ^{89}Zr 인 항체.

청구항 51

생물학적 샘플을 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체와, 자연 발생 인간 B7-H4에 대한 항-B7-H4 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 접촉시키고, 생물학적 샘플에서 항-B7-H4 항체 및 자연 발생 인간 B7-H4 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 것을 포함하는, 생물학적 샘플에서 인간 B7-H4를 검출하는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 항-B7-H4 항체가 제9항 또는 제15항에서와 같은 항체인 방법.

청구항 53

제51항에 있어서, 생물학적 샘플이 유방암 샘플, 난소암 샘플 또는 자궁내막암 샘플인 방법.

청구항 54

(i) 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항-B7-H4 항체를 포함하는 표지된 항-B7-H4 항체를 B7-H4-양성 암을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되는 대상체에게 투여하고, (ii) 대상체에서 표지된 항-B7-H4 항체를 검출하는 것을 포함하며, 여기서 표지된 항-B7-H4 항체의 검출은 대상체에서의 B7-H4-양성 암을 나타내는 것인, B7-H4-양성 암을 검출하는 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 표지된 항-B7-H4 항체가 표지된 제8항 또는 제14항에서와 같은 항체인 방법.

청구항 56

제54항 또는 제55항에 있어서, 표지된 항-B7-H4 항체가 양전자 방출체에 접합된 항-B7-H4 항체를 포함하는 것인 방법.

청구항 57

제56항에 있어서, 양전자 방출체가 ^{89}Zr 인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본원은 2013년 3월 14일에 출원된 미국 가출원 번호 61/784,877; 2013년 3월 14일에 출원된 미국 가출원 번호 61/785,811; 및 2013년 9월 5일에 출원된 미국 가출원 번호 61/874,175를 우선권 주장하며; 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003]

발명의 분야

[0004]

본 발명은 항-B7-H4 항체 및 면역접합체 및 그의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005]

B7-H4는 유형 I 막형단 단백질이고, T-세포 수용체 항원 신호와 함께 공동-신호를 제공하는 B7 슈퍼패밀리 단백질의 구성원이다. B7-H4는 T-세포 기능의 음성 조절인자이고, T-세포의 라이제이션은 그의 성장, 시토카인 분비 및 세포독성을 억제한다. 마우스에서 B7-H4의 제거는 면역 세포 항상성에 영향을 미치지 않으며, 어떠한 자가면역의 징후도 없다. Zhu et al., Blood, 113(8): 1759-1767 (2009); Suh et al., Molecular and Cellular Biology, 26(17): 6403-6411 (2006). B7-H4에 대한 수용체는 공지되어 있지 않고 확인된 바가 없다.

[0006]

인간 B7-H4는 282개의 아미노산 단백질 (아미노-말단 신호 서열 포함)이며, 그 중 ~227개의 아미노산은 아미노-말단 신호 서열의 절단 후에 세포의 공간에 있게될 것으로 예상된다. B7-H4는 Ig-유사 V-도메인, Ig-유사 C 도메인, 막형단 도메인 및 짧은 세포질 꼬리를 포함한다.

[0007]

B7-H4-연관 상태, 예컨대 암의 진단 및 치료를 위한, B7-H4를 표적으로 하는 작용제에 대한 필요성이 관련 기술 분야에 존재한다. 본 발명은 그 필요성을 충족시키고, 다른 이익을 제공한다.

발명의 내용

- [0008] 본 발명은 항-B7-H4 항체 및 면역접합체 및 그의 사용 방법을 제공한다.
- [0009] 일부 실시양태에서, B7-H4에 결합하는 단리된 항체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 항체는 B7-H4에 결합하고, 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 하나 이상을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항체는 B7-H4에 ≤ 50 nM의 친화도로 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간, 인간화 또는 키메라 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 IgG1, IgG2a 또는 IgG2b 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 B7-H4에 결합하는 항체 단편이다. 일부 실시양태에서, B7-H4는 서열 73의 서열을 갖는 인간 B7-H4이다.
- [0010] 일부 실시양태에서, 항체는 (a) (i) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는 (b) (i) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는 (c) (i) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는 (d) (i) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는 (e) (i) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 또는 (f) (i) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, (ii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 (iii) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다.
- [0011] 일부 실시양태에서, 항체는 (a) (i) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는 (b) (i) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는 (c) (i) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는 (d) (i) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는 (e) (i) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; 또는 (f) (i) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.
- [0012] 일부 실시양태에서, 항체는 서열 51, 52 또는 53의 중쇄 프레임워크 FR3 서열을 추가로 포함한다.
- [0013] 일부 실시양태에서, 항체는 (a) (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (b) (i) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (c) (i) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (d) (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (e) (i) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (f) (i) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 추가로 포함한다.
- [0014] 일부 실시양태에서, 항체는 (a) (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (b) (i) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (c) (i) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 25의 아미노산 서열

을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (d) (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (e) (i) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (f) (i) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 추가로 포함한다.

[0015] 일부 실시양태에서, 항체는 서열 65 또는 66의 경쇄 프레임워크 FR2 서열 또는 서열 47의 경쇄 프레임워크 FR3 서열을 추가로 포함한다.

[0016] 일부 실시양태에서, 단리된 항체는 (a) 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (b) 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 서열 및 (b)에서와 같은 VL 서열; 또는 (d) 서열 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (e) 서열 11의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (f) (d)에서와 같은 VH 서열 및 (e)에서와 같은 VL 서열; 또는 (g) 서열 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (h) 서열 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (i) (g)에서와 같은 VH 서열 및 (h)에서와 같은 VL 서열; 또는 (j) 서열 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (k) 서열 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (l) (j)에서와 같은 VH 서열 및 (k)에서와 같은 VL 서열; 또는 (m) 서열 36의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (n) 서열 35의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (o) (m)에서와 같은 VH 서열 및 (n)에서와 같은 VL 서열; 또는 (p) 서열 37의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (q) (p)에서와 같은 VH 서열 및 (n)에서와 같은 VL 서열; 또는 (r) 서열 38의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (s) (r)에서와 같은 VH 서열 및 (n)에서와 같은 VL 서열; 또는 (t) 서열 56의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH 서열; 또는 (u) 서열 55의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (v) (t)에서와 같은 VH 서열 및 (v)에서와 같은 VL 서열; 또는 (w) 서열 57의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (x) (t)에서와 같은 VH 서열 및 (w)에서와 같은 VL 서열을 포함한다.

[0017] 일부 실시양태에서, 항체는 서열 4의 VH 서열, 서열 12의 VH 서열, 서열 20의 VH 서열, 서열 4, 28의 VH 서열, 서열 36의 VH 서열, 서열 37의 VH 서열, 서열 38의 VH 서열, 또는 서열 56의 VH 서열을 포함한다.

[0018] 일부 실시양태에서, 항체는 서열 3의 VL 서열, 서열 11의 VL 서열, 서열 19의 VL 서열, 서열 27의 VL 서열, 서열 35의 VL 서열, 서열 55의 VL 서열, 또는 서열 57의 VL 서열을 포함한다.

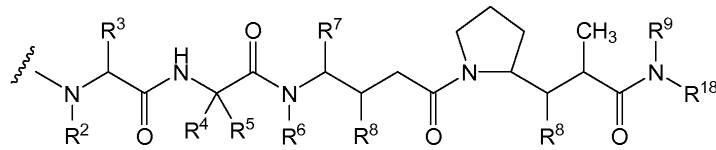
[0019] 일부 실시양태에서, 단리된 항체는 (a) 서열 4의 VH 서열 및 서열 3의 VL 서열; 또는 (b) 서열 20의 VH 서열 및 서열 19의 VL 서열; 또는 (c) 서열 28의 VH 서열 및 서열 27의 VL 서열; 또는 (d) 서열 36의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (e) 서열 37의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (f) 서열 38의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (g) 서열 56의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열; 또는 (h) 서열 56의 VH 서열 및 서열 57의 VL 서열을 포함한다.

[0020] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 실시양태에서, 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체를 생산하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 것을 포함한다.

[0021] 일부 실시양태에서, 면역접합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 면역접합체는 항-B7-H4 항체 및 세포독성제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역접합체는 화학식 Ab-(L-D)p를 갖고, 상기 식에서 (a) Ab는 본원에 기재된 항체이고; (b) L은 링커이고; (c) D는 메이탄시노이드, 아우리스타틴, 칼리케아미신, 피롤로벤조디아제핀 및 네모루비신 유도체로부터 선택된 약물이고; (d) p는 1-8의 범위이다. 일부 실시양태에서, D는 아우리스타틴이다. 일부 이러한 실시양태에서, D는 하기 화학식 D₁를 갖고:

[0022] <화학식 D_E>

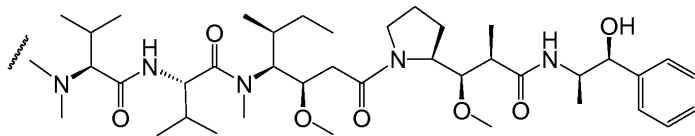
[0023]



[0024]

상기 식에서, R² 및 R⁶은 각각 메틸이고, R³ 및 R⁴는 각각 이소프로필이고, R⁵는 H이고, R⁷은 sec-부틸이고, 각각의 R⁸은 독립적으로 CH₃, O-CH₃, OH 및 H로부터 선택되고; R⁹는 H이고; R¹⁸은 -C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-아릴이다. 일부 실시양태에서, D는 하기 구조를 갖는 MMAE이다:

[0025]

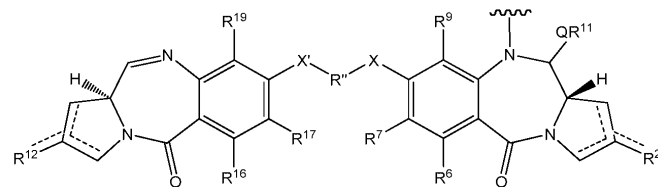


[0026]

일부 실시양태에서, D는 하기 화학식 A의 피롤로벤조디아제핀이고:

[0027] <화학식 A>

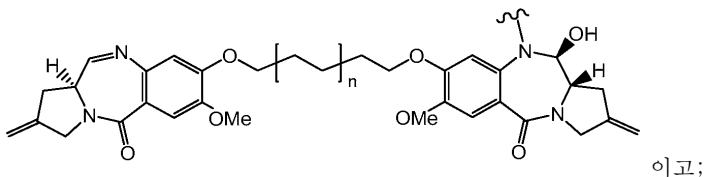
[0028]



[0029]

상기 식에서, 점선은 C1 및 C2 또는 C2 및 C3 사이의 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고; R²는 독립적으로 H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R 및 COR로부터 선택되고, 임의로 할로 또는 디할로로부터 추가로 선택되고, 여기서 R^D는 독립적으로 R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H 및 할로로부터 선택되고; R⁶ 및 R⁹는 독립적으로 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고; R⁷은 독립적으로 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고; Q는 독립적으로 O, S 및 NH로부터 선택되고; R¹¹은 H 또는 R이거나, 또는 Q가 O인 경우에 SO₃M이고, 여기서 M은 금속 이온이고; R 및 R'는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C₁₋₈ 알킬, C₁₋₁₂ 알킬, C₃₋₈ 헤테로시클릴, C₃₋₂₀ 헤테로시클릴 및 C₅₋₂₀ 아릴 기로부터 선택되고, 임의로 기 NRR'와 관련하여, R 및 R'는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 임의로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클릭 고리를 형성하고; R¹², R¹⁶, R¹⁹ 및 R¹⁷은 각각 R², R⁶, R⁹ 및 R⁷에 대해 정의된 바와 같고; R''는 C₃₋₁₂ 알킬렌 기이고, 상기쇄에는 하나 이상의 헤테로원자 및/또는 임의로 치환된 방향족 고리가 개재될 수 있고; X 및 X'는 독립적으로 O, S 및 N(H)로부터 선택된다. 일부 이러한 실시양태에서, D는

[0030]



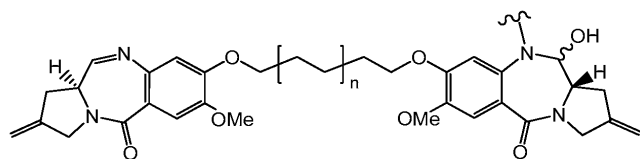
[0031]

상기 식에서, n은 0 또는 1이다.

[0032]

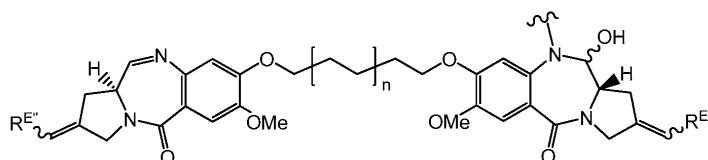
일부 실시양태에서, D는 하기로부터 선택된 구조를 갖는 피롤로벤조디아제핀이고:

[0033] <화학식 A(I)>



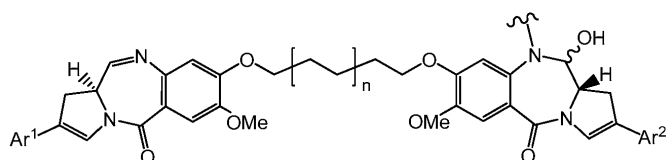
[0034]

[0035] <화학식 A(III)>



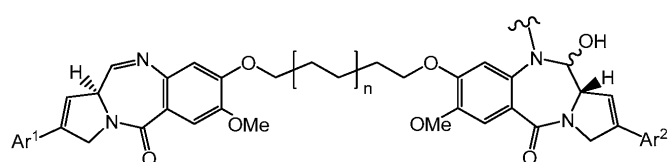
[0036]

[0037] <화학식 A(IV)>



[0038]

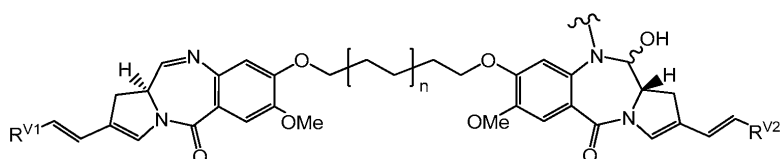
[0039] <화학식 A(V)>



[0040]

[0041] 상기 식에서, R^E 및 $R^{E'}$ 는 각각 독립적으로 H 또는 R^D 로부터 선택되고, R^D 는 독립적으로 R, CO_2R , COR, CHO, CO_2H 및 할로로부터 선택되고; Ar^1 및 Ar^2 는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C_{5-20} 아릴이고; n은 0 또는 1이다.

[0042] 일부 실시양태에서, D는 하기 화학식 B의 피롤로벤조디아제핀이고:

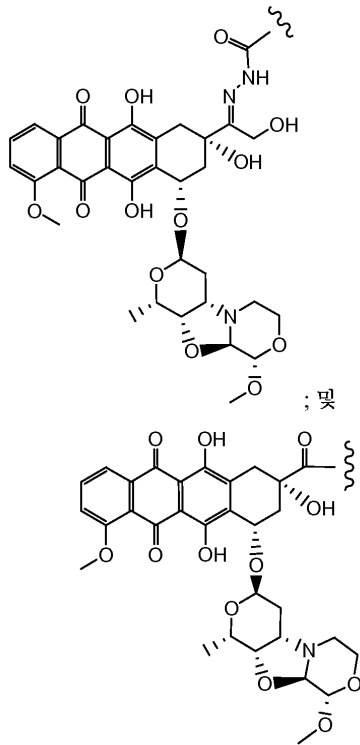


[0043]

[0044] 상기 식에서, 수평 파상선은 링커에 대한 공유 부착 부위를 나타내고; R^{V1} 및 R^{V2} 는 독립적으로 H, 메틸, 에틸, 페닐, 플루오로-치환된 페닐 및 C_{5-6} 헤테로시클릴로부터 선택되고; n은 0 또는 1이다.

[0045]

일부 실시양태에서, D는 네모루비신 유도체이다. 일부 실시양태에서, D는 하기로부터 선택된 구조를 갖는다:



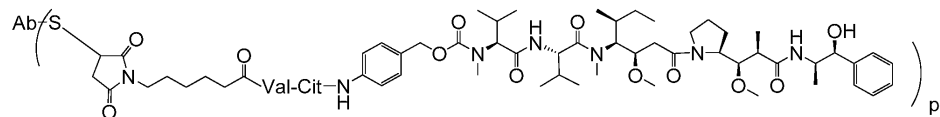
[0046]

[0047]

일부 실시양태에서, 면역접합체는 프로테아제에 의해 절단가능한 링커를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 val-cit 디펩티드, Phe-Lys 디펩티드 또는 Phe-호모Lys 디펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역접합체는 산-불안정성인 링커를 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, 링커는 히드라존을 포함한다.

[0048]

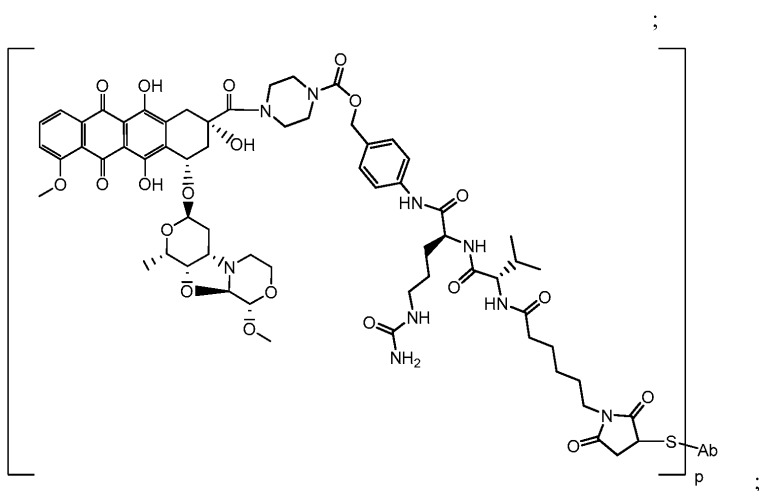
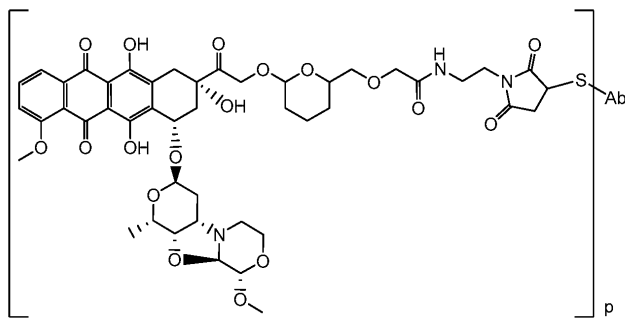
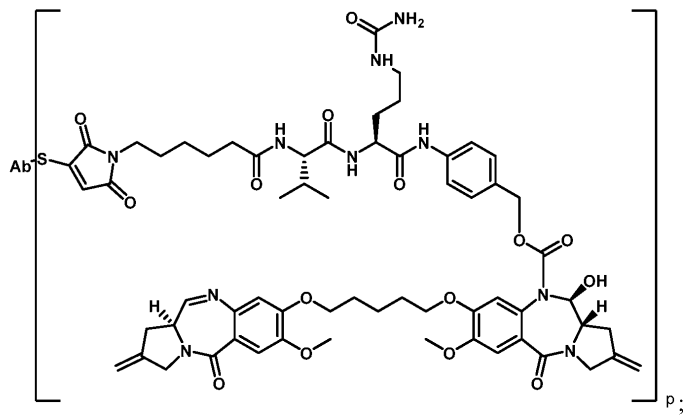
일부 실시양태에서, 면역접합체는 하기로부터 선택된 화학식을 갖는다:



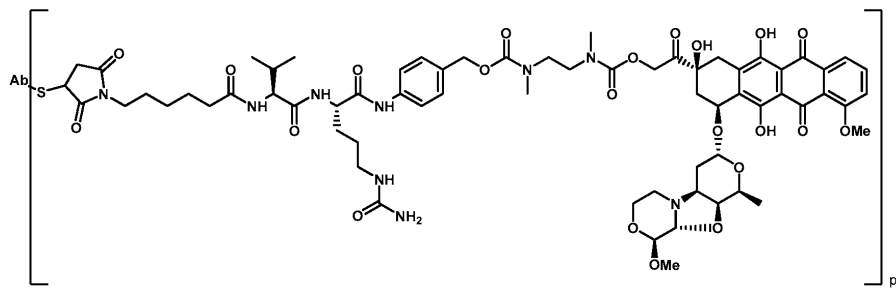
[0049]

[0050]

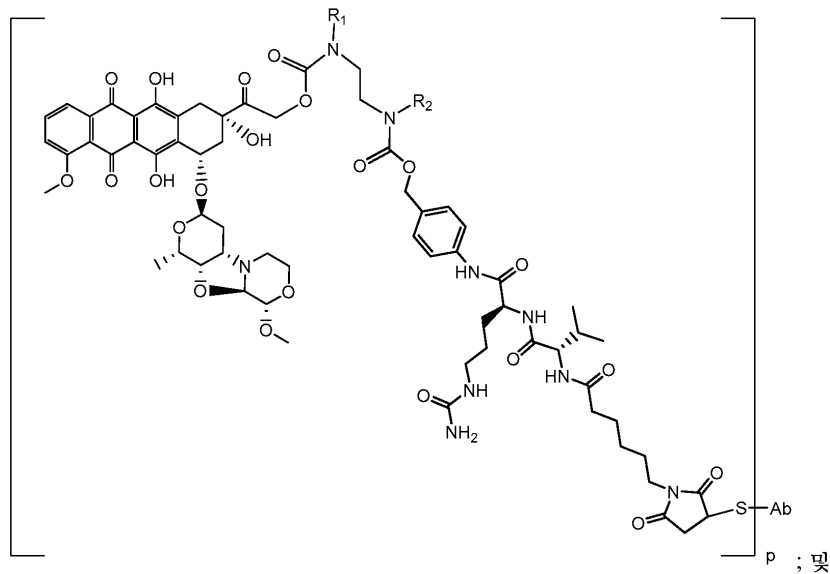
(여기서 S는 황 원자임);



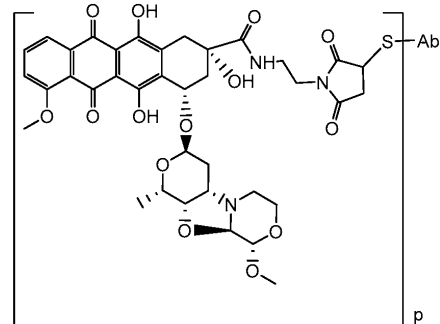
[0051]



;



; 및



[0052]

[0053]

[0054]

일부 실시양태에서, p는 2-5의 범위이다.

일부 실시양태에서, 면역접합체는 (a) 서열 4의 VH 서열 및 서열 3의 VL 서열; 또는 (b) 서열 20의 VH 서열 및 서열 19의 VL 서열; 또는 (c) 서열 28의 VH 서열 및 서열 27의 VL 서열; 또는 (d) 서열 36의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (e) 서열 37의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (f) 서열 38의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열; 또는 (g) 서열 56의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열; 또는 (h) 서열 56의 VH 서열 및 서열 57의 VL 서열을 포함하는 항체를 포함한다.

[0055]

일부 실시양태에서, 면역접합체는 (a) (i) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (b) (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (c) (i) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) (i) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 18의 아미노산 서열을 포함

하는 HVR-L3; 또는 (e) (i) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (f) (i) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (g) (i) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (h) (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (i) (i) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (j) (i) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3; 또는 (k) (i) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (l) (i) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 포함한다.

[0056] 일부 실시양태에서, 제약 제제가 제공된다. 일부 이러한 실시양태에서, 제약 제제는, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은, B7-H4에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제약 제제는 추가의 치료제를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 아바스틴(Avastin)® (베바시주맵)이다.

[0057] 일부 실시양태에서, B7-H4 양성 암을 앓는 개체를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 이러한 실시양태에서, 방법은, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은, B7-H4에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체를 포함하는 제약 제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, 방법은 B7-H4의 세포의 도메인에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체를 포함하는 제약 제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, B7-H4-양성 암은 유방암, 난소암 및 자궁내막암으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 방법은 추가의 치료제를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, 추가의 치료제는 아바스틴® (베바시주맵)이다.

[0058] 일부 실시양태에서, B7-H4-양성 세포의 증식을 억제하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 세포를 B7-H4에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체에, 세포 표면 상의 B7-H4에 대한 면역접합체의 결합을 허용하는 조건 하에 노출시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, B7-H4에 결합하는 항체는 본원에 기재된 항체이다. 일부 실시양태에서, 이로 인해 세포의 증식이 억제된다. 일부 실시양태에서, 세포는 유방암, 난소암 또는 자궁내막암 세포이다.

[0059] 일부 실시양태에서, B7-H4에 결합하는 항체는 표지에 접합된다. 일부 실시양태에서, B-H4에 결합하는 항체는 본원에 기재된 항체이다. 일부 실시양태에서, 표지는 양전자 방출체이다. 일부 실시양태에서, 양전자 방출체는 ⁸⁹Zr이다.

[0060] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플에서 인간 B7-H4를 검출하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 생물학적 샘플을 항-B7-H4 항체와, 자연 발생 인간 B7-H4에 대한 항-B7-H4 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 접촉시키고, 생물학적 샘플에서 항-B7-H4 항체 및 자연 발생 인간 B7-H4 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 본원에 기재된 항체이다. 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 유방암 샘플, 난소암 샘플 또는 자궁내막암 샘플이다.

[0061] 일부 실시양태에서, B7-H4-양성 암을 검출하는 방법이 제공된다. 일부 이러한 실시양태에서, 방법은 (i) 표지된 항-B7-H4 항체를 B7-H4-양성 암을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되는 대상체에게 투여하고, (ii) 대상체에서 표지된 항-B7-H4 항체를 검출하는 것을 포함하며, 여기서 표지된 항-B7-H4 항체의 검출은 대상체에서의 B7-H4-양성 암을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 본원에 기재된 항체이다. 일부 이러한 실시양태에서, 표지된 항-B7-H4 항체는 양전자 방출체에 접합된 항-B7-H4 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 양전자 방출체는 ⁸⁹Zr이다.

도면의 간단한 설명

[0062] 도 1은 실시예 A에 기재된 바와 같은, 다양한 조직에서의 인간 B7-H4 유전자 발현 수준의 그래프 표현을 보여준다.

도 2는 실시예 B에 기재된 바와 같은, 계내 혼성화에 의한 유방 암종 샘플에서의 B7-H4의 발현을 보여준다.

도 3은 실시예 B에 기재된 바와 같은, (a) 모든 유방암 하위유형에서 B7-H4의 발현의 우세도, (b) 유방암 하위

유형에서 B7-H4 염색의 0, 1+, 2+ 및 3+ 수준의 우세도, (c) 유방 종양에서 B7-H4의 전체 발현 (웨스턴 분석에 의함), (d) 원발성 유방 종양에서 B7-H4의 발현 (웨스턴 분석에 의함), (e) 난소 종양에서 B7-H4의 발현을 보여준다.

도 4 (a)는 실시예에 기재된 바와 같은, 개발된 특정 항-B7-H4 모노클로날 항체의 특성을 보여준다. (b)는 본원에 기재된 항-B7-H4 모노클로날 항체의 에피토프 분류를 보여준다.

도 5는 뮤린 항체 1D11, 32D6, 9B9 및 22C10의 경쇄 및 중쇄 가변 영역 서열의 정렬을 보여준다.

도 6은 뮤린 항체 mu1D11 및 그의 인간화 변이체의 경쇄 가변 영역 서열의 정렬을 보여준다.

도 7은 뮤린 항체 mu1D11 및 그의 인간화 변이체의 중쇄 가변 영역 서열의 정렬을 보여준다.

도 8은 뮤린 항체 mu22C10 및 그의 인간화 변이체의 경쇄 가변 영역 서열을 보여준다.

도 9는 뮤린 항체 mu22C10 및 그의 인간화 변이체의 중쇄 가변 영역 서열을 보여준다.

도 10은 인간, 침팬지, 시노물구스 원숭이, 래트 및 마우스로부터의 B7-H4의 정렬을 보여준다.

도 11은 항-B7-H4 항체의 종 교차-반응성을 보여준다.

도 12는 키메라 항체 ch1D11 및 ch22C10 및 다양한 인간화 변이체의 친화도 측정을 보여준다.

도 13은 SK-BR3 세포에서의 항-B7-H4 9B9 항체에 대한 염색 및 EGF 염색의 중첩에 의해 나타낸, 항-B7-H4 항체의 내재화를 보여준다.

도 14는 항-B7-H4 항체가 MX-1의 리소솜에 도달할 수 있다는 것을 보여준다.

도 15는 항-B7-H4 면역접합체가 MX-1 유방암 이종이식편에서 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

도 16은 항-B7-H4 면역접합체가 HBCX-24 유방암 이종이식편에서 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

도 17은 항-B7-H4 면역접합체가 MX-1 유방암 이종이식편에서 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

도 18은 항-B7-H4 면역접합체가 MX-1 유방암 이종이식편에서 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

도 19는 (a) FACS 및 면역조직화학에 의한 HCC-1569x2 유방암 이종이식편 상에서의 B7-H4 발현 및 (b) 항-B7-H4 면역접합체가 HCC-1569x2 유방암 이종이식편에서 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

본원의 목적을 위해 "수용자 인간 프레임워크"는 하기 정의되는 바와 같이 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인 (VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인 (VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 그의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 아미노산 서열 변화를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하이다. 일부 실시양태에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과 서열이 동일하다.

"친화도"는 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원들 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내인성 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수 (Kd)로 표시될 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 방법을 포함하는 관련 기술분야에 공지된 통상의 방법으로 측정할 수 있다. 결합 친화도 측정을 위한 구체적인 예시적 및 대표적 실시양태를 하기 기재한다.

"친화도 성숙" 항체는 항원에 대한 항체의 친화도의 개선을 발생시키는 변형을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여 하나 이상의 초가변 영역 (HVR)에서 하나 이상의 상기 변형을 갖는 항체를 지칭한다.

용어 "항-B7-H4 항체" 및 "B7-H4에 결합하는 항체"는 항체가 B7-H4의 표적화에 있어 진단 및/또는 치료제로서

유용하도록 충분한 친화도로 B7-H4에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 관련되지 않은 비-B7-H4 단백질에 대한 항-B7-H4 항체의 결합의 정도는 예를 들어 방사성면역검정 (RIA)에 의해 측정시에 B7-H4에 대한 상기 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, B7-H4에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 4 \text{ nM}$, $\leq 3 \text{ nM}$, $\leq 2 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (Kd)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 상이한 종으로부터의 B7-H4 사이에서 보존된 B7-H4의 에피토프에 결합한다.

[0068] 용어 "항체"는 본원에서 가장 넓은 의미로 사용되고, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 및 목적하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.

[0069] "항체 단편"은, 무손상 항체의 일부를 포함하며 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자 (예를 들어, scFv); 및 항체 단편들로 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0070] 참조 항체와 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 참조 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭하고, 반대로 참조 항체는 경쟁 검정에서 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단한다. 예시적인 경쟁 검정이 본원에 제공된다.

[0071] 용어 "암" 및 "암성"은, 전형적으로 비조절된 세포 성장/증식을 특징으로 하는 포유동물의 생리학적 상태를 지칭하거나 기재한다. 암의 예는 암종, 림프종 (예를 들어, 호지킨 및 비호지킨 림프종), 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평세포암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평세포 암종, 복막암, 간세포성암, 위장암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병 및 다른 림프증식성 장애, 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다.

[0072] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 공급원 또는 종으로부터 유래된 반면, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지가 다른 공급원 또는 종으로부터 유래된 항체를 지칭한다.

[0073] 항체의 "부류"는 그의 중쇄가 보유하는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 5종의 주요 부류의 항체: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다.

[0074] 본원에 사용된 용어 "세포독성제"는 세포 기능을 억제 또는 방지하고/거나 세포 사멸 또는 파괴를 유발하는 물질을 지칭한다. 세포독성제는 방사성 동위원소 (예를 들어, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹², 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학요법제 또는 약물 (예를 들어, 메토포렉세이트, 아드리아미신, 빈카알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입제); 성장 억제제; 효소 및 그의 단편, 예컨대 핵산분해 효소; 항생제; 독소, 예컨대 소분자 독소 또는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소 (그의 단편 및/또는 변이체 포함), 및 하기 개시되는 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0075] "이펙터 기능"은 항체 이소형에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.

[0076] 작용제, 예를 들어 제약 제제의 "유효량"은 필요한 투여량으로 필요한 기간 동안 목적하는 치료 또는 예방 결과를 달성하기에 유효한 양을 지칭한다.

[0077] 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는 항원 분자 상의 특정한 부위를 지칭한다.

[0078] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하

기 위해 사용된다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226, 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카르복실-말단으로 신장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다. 본원에서 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역 내의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같이 EU 인덱스로도 지칭되는 EU 넘버링 시스템에 따른다.

[0079] "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 다음 FR 도메인으로 이루어진다: FR1, FR2, FR3 및 FR4. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 다음 순서로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0080] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 본원에서 교환가능하게 사용되며, 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖거나 또는 본원에 정의된 바와 같은 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.

[0081] 용어 "B7-H4의 글리코실화 형태"는 탄수화물 잔기의 부가에 의해 번역후 변형되는 B7-H4의 자연 발생 형태를 지칭한다.

[0082] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양물"은 교환가능하게 사용되고, 외인성 핵산이 도입된 세포 (이러한 세포의 자손 포함)를 지칭한다. 숙주 세포는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함하며, 이는 일차 형질전환된 세포 및 계대배양 횟수와 관계없이 그로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 부모 세포와 핵산 함량이 완전히 동일하지 않을 수 있으나, 돌연변이를 함유할 수 있다. 본래 형질전환된 세포에 대해 스크리닝 또는 선택되는 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손이 본원에 포함된다.

[0083] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-코딩 서열을 이용하여 비인간 공급원으로부터 유래된 항체이다. 인간 항체의 이러한 정의에서 비인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 명확하게 배제된다.

[0084] "인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택시에 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 행한다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에서와 같은 하위군이다. 한 실시양태에서, VL의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 실시양태에서, VH의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 III이다.

[0085] "인간화" 항체는 비인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 인간화 항체는 실질적으로 모든 1개 이상, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 HVR (예를 들어, CDR)은 비인간 항체의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 것에 상응한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어 비인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화를 거친 항체를 지칭한다.

[0086] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열이 초가변성이고/거나 구조적으로 한정된 루프 ("초가변 루프")를 형성하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 천연 4-쇄 항체는 6개의 HVR; VH 내의 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내의 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. HVR은 일반적으로 초가변 루프로부터의 및/또는 "상보성 결정 영역" (CDR)으로부터의 아미노산 잔기를 포함하며, 후자는 서열 가변성이 가장 높고/거나 항원 인식과 관련된다. 예시적인 초가변 루프는 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3)에서 발생한다. (문헌 [Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)]). 예시적인 CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기 24-34, L2의 50-56, L3의 89-97, H1의 31-35B, H2의 50-65 및 H3의 95-102에서 발생한다. (문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)]). VH 내의 CDR1을 제외하고는, CDR은 일반적으로 초가변 루프를 형성하는 아미노산 잔기를 포함한다. CDR은 또한 항원에 접촉하는 잔기인 "특이성 결정 잔기" 또는 "SDR"을 포함한다. SDR은 단축-CDR, 또는 a-CDR로 지칭되는 CDR의 영역 내에 함유된다. 예시적인 a-CDR (a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 및 a-CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기 31-34, L2의 50-55, L3의 89-96, H1의 31-

35B, H2의 50-58 및 H3의 95-102에서 발생한다. (문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)] 참조). 달리 나타내지 않는 한, HVR 잔기 및 가변 도메인에서의 다른 잔기 (예를 들어, FR 잔기)는 본원에서 상기 문헌 [Kabat et al.]에 따라 넘버링된다.

- [0087] "면역접합체"는 세포독성제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 이중 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0088] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물이다. 포유동물은 가축 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류 (예를 들어, 인간 및 비인간 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.
- [0089] "단리된 항체"는 그의 천연 환경의 성분에서 분리된 것이다. 일부 실시양태에서, 항체는 예를 들어 전기영동 (예를 들어, SDS-PAGE, 등전 포커싱 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의해 결정시에 95% 또는 99% 초과 순도로 정제된다. 항체 순도의 평가 방법의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)]을 참조한다.
- [0090] "단리된 핵산"은 그의 천연 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 통상적으로 함유하는 세포에 함유되는 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체 외에 또는 그의 천연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 존재한다.
- [0091] "항-B7-H4 항체를 코딩하는 단리된 핵산"은 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 그의 단편)를 코딩하는 하나 이상의 핵산 분자 (단일 벡터 또는 개별 벡터 내의 이러한 핵산 분자(들) 및 숙주 세포에서 하나 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자(들) 포함)를 지칭한다.
- [0092] 본원에 사용된 용어 "B7-H4"는 세포에서 B7-H4 전구체 단백질의 프로세싱으로부터 생성된 임의의 천연 성숙 B7-H4를 지칭한다. 상기 용어는 달리 나타내지 않는 한 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들어, 인간 및 시노물구스 원숭이) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하는 임의의 척추동물 공급원으로부터의 B7-H4를 포함한다. 상기 용어는 또한 B7-H4의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 신호 서열을 갖는 (신호 서열, 아미노산 1-28을 갖는) 예시적인 인간 B7-H4 전구체 단백질의 아미노산 서열이 서열 73에 제시된다. 예시적인 성숙 인간 B7-H4의 아미노산 서열이 서열 74에 제시된다. 예시적인 시노물구스 원숭이 B7-H4 전구체 (신호 서열, 아미노산 1-28을 가짐)의 추정 서열 및 성숙 서열이 각각 서열 75 및 76에 제시된다. 예시적인 래트 B7-H4 전구체 (신호 서열, 아미노산 1-28을 가짐)에 대한 아미노산 서열 및 성숙 서열이 각각 서열 77 및 78에 제시된다. 예시적인 마우스 B7-H4 전구체 (신호 서열, 아미노산 1-28을 가짐)에 대한 아미노산 서열 및 성숙 서열이 각각 서열 79 및 80에 제시된다. 예시적인 침팬지 B7-H4 전구체 (신호 서열, 아미노산 1-24를 가짐)에 대한 아미노산 서열 및 성숙 서열이 각각 서열 81 및 82에 제시된다.
- [0093] 용어 "B7-H4-양성 암"은 그의 표면 상에 B7-H4를 발현하는 세포를 포함하는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 상에서의 B7-H4의 발현은, 예를 들어 B7-H4에 대한 항체를 사용하여 면역조직화학, FACS 등과 같은 방법으로 결정된다. 대안적으로, B7-H4 mRNA 발현은 세포 표면 상에서의 B7-H4 발현과 상관관계 갖는 것으로 간주되며, 계내 혼성화 및 RT-PCR (정량적 RT-PCR 포함)로부터 선택된 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0094] 용어 "B7-H4-양성 세포"는 그의 표면 상에서 B7-H4를 발현하는 세포를 지칭한다.
- [0095] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하도록 사용되며, 즉 이러한 집단을 구성하는 개별 항체는, 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 포함하거나 모노클로날 항체 제제의 생산 동안 생성되는, 일반적으로 소량으로 존재하는 가능한 변이체 항체를 제외하고는 동일하고/거나, 동일한 에피토프에 결합한다. 전형적으로 상이한 결정자 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 반대로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정자에 대해 지시된다. 따라서, 수식어 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 동종인 집단으로부터 얻은 항체의 특성을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생산을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 및 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유하는 트랜스제닉 동물을 이용하는 방법을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조할 수 있고, 이러한 방법 및 모노클로날 항체를 제조하기 위한 다른 예시적인 방법이 본원에 기재된다.
- [0096] "네이키드 항체"는 이중 모이어티 (예를 들어, 세포독성 모이어티) 또는 방사성표지에 접합되지 않은 항체를 지

칭한다. 네이키드 항체는 제약 제제에 존재할 수 있다.

[0097] "천연 항체"는 다양한 구조를 갖는 자연 발생 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 예를 들어, 천연 IgG 항체는 디섕피드-결합된 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 동일한 중쇄로 구성된 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질이다. N-말단으로부터 C-말단으로, 각각의 중쇄는 가변 영역 (VH) (또한 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인으로 지칭됨)에 이어 3개의 불변 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N-말단으로부터 C-말단으로, 각각의 경쇄는 가변 영역 (VL) (또한 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인으로 지칭됨)에 이어 불변 경쇄 (CL) 도메인을 갖는다. 항체의 경쇄는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 지칭되는 2가지 유형 중 하나로 지정될 수 있다.

[0098] 용어 "포장 삽입물"은 이러한 치료 제품의 사용에 관한 적응증, 용법, 투여량, 투여, 조합 요법, 금기사항 및/또는 경고에 대한 정보를 포함하는, 치료 제품의 상업용 패키지에 통상적으로 포함되어 있는 지침서를 지칭하도록 사용된다.

[0099] 참조 폴리펩티드 서열에 대한 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은, 임의의 보존적 치환은 서열 동일성의 일부로 간주하지 않으면서, 최대 퍼센트 서열 동일성이 달성되도록 서열을 정렬시키고 필요하다면 갭을 도입한 후의, 참조 폴리펩티드 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 관련 기술분야 기술 범위 내의 다양한 방법, 예를 들어 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 메갈린(Megalign) (DNASTAR) 소프트웨어를 이용하여 달성할 수 있다. 통상의 기술자는 비교할 전장 서열에 대한 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여 서열 정렬에 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제네텠크, 인크.(Genentech, Inc.) 소유로서, 소스 코드는 미국 저작권청 (20559 워싱턴 디.씨.)에 사용자 문서로 제출되어 있고, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087로 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제네텠크, 인크. (캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)를 통해 공개적으로 이용가능하거나, 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함하여 UNIX 운영 시스템에서 사용되도록 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되어 있으며 변하지 않는다.

[0100] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 사용되는 상황에서, 주어진 아미노산 서열 B에의, 그와의 또는 그에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성 (대안적으로, 주어진 아미노산 서열 B에의, 그와의 또는 그에 대한 특정 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 또는 이를 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 기재될 수 있음)은 하기와 같이 계산된다:

[0101] X/Y 의 분율 $\times 100$

[0102] 여기서, X는 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 A 및 B의 프로그램 정렬시에 상기 프로그램에 의해 동일한 매치로 스코어링된 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B의 아미노산 잔기의 전체 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우에는 B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성이 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임을 인지할 것이다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 바로 앞 단락에 기재한 바와 같이 수득한다.

[0103] 용어 "제약 제제"는, 내부에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적하도록 하는 형태로 존재하며 제제를 투여할 대상체에게 허용되지 않는 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.

[0104] "제약상 허용되는 담체"는 대상체에게 비독성인, 활성 성분 이외의 제약 제제 내의 성분을 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0105] 본원에 사용된 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 그의 문법적 변형)는 치료되는 개체의 자연적 과정을 변경시키려는 임상 개입을 지칭하고, 임상 병리상태의 예방을 위해 또는 그 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 전이의 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 호전, 및 완화 또는 개선된 예후를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 질환의 발병을 지연시키거나 또는 질환의 진행을 느리게 하기 위해 사용된다.

[0106] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 항원에 대한 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을

지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인 (각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 초가변 영역 (HVR)을 포함한다. (예를 들어, 문헌 [Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)] 참조). 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정한 항원에 결합하는 항체는 각각 상보적 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0107] 본원에 사용된 용어 "벡터"는 그 벡터가 연결된 또 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자기-복제 핵산 구조로서의 벡터 뿐만 아니라 벡터가 그 내부로 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 통합되는 벡터를 포함한다. 특정 벡터는 그 벡터가 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로 지칭된다.

[0108] "알킬"은 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 C₁-C₁₈ 탄화수소이다. 그 예는 메틸 (Me, -CH₃), 에틸 (Et, -CH₂CH₃), 1-프로필 (n-Pr, n-프로필, -CH₂CH₂CH₃), 2-프로필 (i-Pr, i-프로필, -CH(CH₃)₂), 1-부틸 (n-Bu, n-부틸, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-메틸-1-프로필 (i-Bu, i-부틸, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-부틸 (s-Bu, s-부틸, -CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 2-메틸-2-프로필 (t-Bu, t-부틸, -C(CH₃)₃), 1-펜틸 (n-펜틸, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-펜틸 (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-펜틸 (-CH(CH₂CH₃)₂), 2-메틸-2-부틸 (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-메틸-2-부틸 (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-메틸-1-부틸 (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-메틸-1-부틸 (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-헥실 (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-헥실 (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-헥실 (-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-메틸-2-펜틸 (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-메틸-2-펜틸 (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 4-메틸-2-펜틸 (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-메틸-3-펜틸 (-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-메틸-3-펜틸 (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-디메틸-2-부틸 (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-디메틸-2-부틸 (-CH(CH₃)C(CH₃)₃)이다.

[0109] 본원에 사용된 용어 "C₁-C₈ 알킬"은 1 내지 8개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화수소를 지칭한다. 대표적인 "C₁-C₈ 알킬" 기는 -메틸, -에틸, -n-프로필, -n-부틸, -n-펜틸, -n-헥실, -n-헵틸, -n-옥틸, -n-노닐 및 -n-데실을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 분지형 C₁-C₈ 알킬은 -이소프로필, -sec-부틸, -이소부틸, -tert-부틸, -이소펜틸, 2-메틸부틸을 포함하나 이에 제한되지는 않고, 불포화 C₁-C₈ 알킬은 -비닐, -알릴, -1-부테닐, -2-부테닐, -이소부틸레닐, -1-펜테닐, -2-펜테닐, -3-메틸-1-부테닐, -2-메틸-2-부테닐, -2,3-디메틸-2-부테닐, 1-헥실, 2-헥실, 3-헥실, -아세틸레닐, -프로피닐, -1-부티닐, -2-부티닐, -1-펜티닐, -2-펜티닐, -3-메틸-1 부티닐을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. C₁-C₈ 알킬 기는 비치환될 수 있거나, 또는 -C₁-C₈ 알킬, -O-(C₁-C₈ 알킬), -아릴, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -할로젠, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ 및 -CN (여기서, 각각의 R'는 독립적으로 H, -C₁-C₈ 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0110] 본원에 사용된 용어 "C₁-C₁₂ 알킬"은 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화수소를 지칭한다. C₁-C₁₂ 알킬 기는 비치환될 수 있거나, 또는 -C₁-C₈ 알킬, -O-(C₁-C₈ 알킬), -아릴, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -할로젠, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ 및 -CN (여기서, 각각의 R'는 독립적으로 H, -C₁-C₈ 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0111] 본원에 사용된 용어 "C₁-C₆ 알킬"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화수소를 지칭한다. 대표적인 "C₁-C₆ 알킬" 기는 -메틸, -에틸, -n-프로필, -n-부틸, -n-펜틸, 및 -n-헥실을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 분지형 C₁-C₆ 알킬은 -이소프로필, -sec-부틸, -이소부틸, -tert-부틸, -이소펜틸, 및 2-메틸부틸을 포함하나 이에 제한되지는 않고; 불포화 C₁-C₆ 알킬은 -비닐, -알릴, -1-부테닐, -2-부테닐, 및 -이소부틸레닐, -1-펜테닐, -2-펜테닐, -3-메틸-1-부테닐, -2-메틸-2-부테닐, -2,3-디메틸-2-부

테닐, 1-헥실, 2-헥실, 및 3-헥실을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. C_1-C_6 알킬 기는 비치환될 수 있거나 또는 C_1-C_8 알킬 기에 대해 상기 기재된 바와 같은 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0112] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알킬"은 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화수소를 지칭한다. 대표적인 " C_1-C_4 알킬" 기는 -메틸, -에틸, -n-프로필, -n-부틸을 포함하나 이에 제한되지는 않으며; 분지형 C_1-C_4 알킬은 -이소프로필, -sec-부틸, -이소부틸, -tert-부틸을 포함하나 이에 제한되지는 않고; 불포화 C_1-C_4 알킬은 -비닐, -알릴, -1-부테닐, -2-부테닐, 및 -이소부틸레닐을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. C_1-C_4 알킬 기는 비치환될 수 있거나 또는 C_1-C_8 알킬 기에 대해 상기 기재된 바와 같은 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0113] "알콕시"는 산소에 단일 결합된 알킬 기이다. 예시적인 알콕시 기는 메톡시 ($-OCH_3$) 및 에톡시 ($-OCH_2CH_3$)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. " C_1-C_5 알콕시"는 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 알콕시 기이다. 알콕시 기는 비치환될 수 있거나 또는 알킬 기에 대해 상기 기재된 바와 같은 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0114] "알케닐"은 하나 이상의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp^2 이중 결합을 갖는 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 C_2-C_{18} 탄화수소이다. 그 예는 에틸렌 또는 비닐 ($-CH=CH_2$), 알릴 ($-CH_2CH=CH_2$), 시클로헥테닐 ($-C_6H_7$), 및 5-헥세닐 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. " C_2-C_8 알케닐"은 하나 이상의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp^2 이중 결합을 갖는 2 내지 8개의 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 탄화수소이다.

[0115] "알키닐"은 하나 이상의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp 삼중 결합을 갖는 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 C_2-C_{18} 탄화수소이다. 그 예는 아세틸렌계 ($-C\equiv CH$) 및 프로파르길 ($-CH_2C\equiv CH$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. " C_2-C_8 알키닐"은 하나 이상의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp 삼중 결합을 갖는 2 내지 8개의 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 탄화수소이다.

[0116] "알킬렌"은 모 알칸의 동일한 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터 2개의 수소 원자를 제거함으로써 유래된 2개의 1가 라디칼 중심을 갖는, 1-18개의 탄소 원자의 포화, 분지형 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 전형적인 알킬렌 라디칼은 메틸렌 ($-CH_2-$), 1,2-에틸 ($-CH_2CH_2-$), 1,3-프로필 ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,4-부틸 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$) 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0117] " C_1-C_{10} 알킬렌"은 화학식 $-(CH_2)_{1-10}-$ 의 직쇄, 포화 탄화수소 기이다. C_1-C_{10} 알킬렌의 예는 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 헵틸렌, 옥틸렌, 노닐렌 및 데칼렌을 포함한다.

[0118] "알케닐렌"은 모 알켄의 동일한 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터 2개의 수소 원자를 제거함으로써 유래된 2개의 1가 라디칼 중심을 갖는, 2-18개의 탄소 원자의 불포화, 분지형 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 전형적인 알케닐렌 라디칼은 1,2-에틸렌 ($-CH=CH-$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

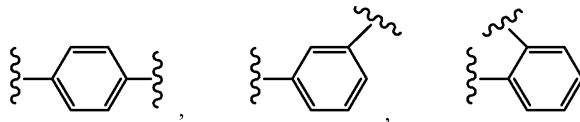
[0119] "알키닐렌"은 모 알킨의 동일한 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터 2개의 수소 원자를 제거함으로써 유래된 2개의 1가 라디칼 중심을 갖는, 2-18개의 탄소 원자의 불포화, 분지형 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 전형적인 알키닐렌 라디칼은 아세틸렌 ($-C\equiv C-$), 프로파르길 ($-CH_2C\equiv C-$) 및 4-펜틸 ($-CH_2CH_2CH_2C\equiv C-$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0120] "아릴"은 카르보시클릭 방향족 기를 지칭한다. 아릴 기의 예는 페닐, 나프틸 및 안트라세닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 카르보시클릭 방향족 기 또는 헤테로시클릭 방향족 기는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), -아릴, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, -할로젠, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서, 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0121] " C_5-C_{20} 아릴"은 카르보시클릭 방향족 고리 내에 5 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 아릴 기이다. C_5-C_{20} 아릴 기

의 예는 페닐, 나프틸 및 안트라세닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_5-C_{20} 아릴 기는 아릴 기에 대해 상기 기재된 바와 같이 치환될 수 있거나 또는 비치환될 수 있다. " C_5-C_{14} 아릴"은 카르보시클릭 방향족 고리 내에 5 내지 14개의 탄소 원자를 갖는 아릴 기이다. C_5-C_{14} 아릴 기의 예는 페닐, 나프틸 및 안트라세닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_5-C_{14} 아릴 기는 아릴 기에 대해 상기 기재된 바와 같이 치환될 수 있거나 또는 비치환될 수 있다.

[0122] "아릴렌"은 2개의 공유 결합을 갖는 아릴 기이며, 하기 구조에 나타난 바와 같이 오르토, 메타 또는 파라 배위로 존재할 수 있다.



[0123]

[0124] 상기 식에서, 페닐 기는 비치환될 수 있거나 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8 \text{ 알킬})$, $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서, 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 4개 이하의 기로 치환될 수 있다.

[0125] "아릴알킬"은 탄소 원자, 전형적으로 말단 또는 sp^3 탄소 원자에 결합된 수소 원자 중 1개가 아릴 라디칼로 대체된 비-시클릭 알킬 라디칼을 지칭한다. 전형적인 아릴알킬 기는 벤질, 2-페닐에탄-1-일, 2-페닐에텐-1-일, 나프틸메틸, 2-나프틸에탄-1-일, 2-나프틸에텐-1-일, 나프토펜, 2-나프토펜에탄-1-일 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 아릴알킬 기는 6 내지 20개의 탄소 원자를 포함하고, 예를 들어 알카닐, 알케닐 또는 알키닐 기를 비롯한, 아릴알킬 기의 알킬 모이어티는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖고, 아릴 모이어티는 5 내지 14개의 탄소 원자를 갖는다.

[0126] "헤테로아릴알킬"은 탄소 원자, 전형적으로 말단 또는 sp^3 탄소 원자에 결합된 수소 원자 중 1개가 헤테로아릴 라디칼로 대체된 비-시클릭 알킬 라디칼을 지칭한다. 전형적인 헤테로아릴알킬 기는 2-벤즈이미다졸릴메틸, 2-푸릴에틸 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 헤테로아릴알킬 기는 6 내지 20개의 탄소 원자를 포함하며, 예를 들어 알카닐, 알케닐 또는 알키닐 기를 비롯한, 헤테로아릴알킬 기의 알킬 모이어티는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖고, 헤테로아릴 모이어티는 5 내지 14개의 탄소 원자 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는다. 헤테로아릴알킬 기의 헤테로아릴 모이어티는 3 내지 7개의 고리원 (2 내지 6개의 탄소 원자)을 갖는 모노사이클, 또는 7 내지 10개의 고리원 (4 내지 9개의 탄소 원자 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자)을 갖는 비사이클, 예를 들어 비시클로 [4,5], [5,5], [5,6] 또는 [6,6] 계열 수 있다.

[0127] "치환된 알킬", "치환된 아릴" 및 "치환된 아릴알킬"은 1개 이상의 수소 원자가 각각 독립적으로 치환기로 대체된 알킬, 아릴 및 아릴알킬을 각각 지칭한다. 전형적인 치환기는 $-X$, $-R$, $-O^-$, $-OR$, $-SR$, $-S^-$, $-NR_2$, $-NR_3$, $=NR$, $-CX_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-N=C=O$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $NC(=O)R$, $-C(=O)R$, $-C(=O)NR_2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R$, $-OS(=O)_2OR$, $-S(=O)_2NR$, $-S(=O)R$, $-OP(=O)(OR)_2$, $-P(=O)(OR)_2$, $-PO_3^-$, $-PO_3H_2$, $-C(=O)R$, $-C(=O)X$, $-C(=S)R$, $-CO_2R$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR$, $-C(=O)SR$, $-C(=S)SR$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=S)NR_2$, $-C(=NR)NR_2$ (여기서, 각각의 X는 독립적으로 할로젠: F, Cl, Br 또는 I이고; 각각의 R은 독립적으로 $-H$, C_2-C_{18} 알킬, C_6-C_{20} 아릴, C_3-C_{14} 헤테로시클릭, 보호기 또는 전구약물 모이어티임)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 기재된 바와 같은 알킬렌, 알케닐렌, 및 알키닐렌 기는 또한 유사하게 치환될 수 있다.

[0128] "헤테로아릴" 및 "헤테로사이클"은 1개 이상의 고리 원자가 헤테로원자, 예를 들어 질소, 산소 및 황인 고리계를 의미한다. 헤테로사이클 라디칼은 3 내지 20개의 탄소 원자 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함한다. 헤테로사이클은 3 내지 7개의 고리원 (2 내지 6개의 탄소 원자, 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자)을 갖는 모노사이클, 또는 7 내지 10개의 고리원 (4 내지 9개의 탄소 원자, 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자)을 갖는 비사이클, 예를 들어 비시클로 [4,5], [5,5],

[5,6] 또는 [6,6] 계열 수 있다.

[0129] 예시적인 헤테로사이클은 예를 들어 문헌 [Paquette, Leo A., "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968) (특히 챕터 1, 3, 4, 6, 7 및 9); "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 to present) (특히 제13권, 제14권, 제16권, 제19권 및 제28권); 및 *J. Am. Chem. Soc.* (1960) 82:5566]에 기재되어 있다.

[0130] 헤테로사이클의 예는 예로서 및 비제한적으로 피리딘, 디히드로피리딘, 테트라히드로피리딘 (피페리딘), 티아졸, 테트라히드로티오펜, 황 산화 테트라히드로티오펜, 피리미딘, 푸라닐, 티에닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 테트라졸릴, 벤조푸라닐, 티아나프탈레닐, 인돌릴, 인돌레닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤즈이미다졸릴, 피페리디닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 2-피롤리도닐, 피롤리닐, 테트라히드로푸라닐, 비스-테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 비스-테트라히드로피라닐, 테트라히드로퀴놀리닐, 테트라히드로이소퀴놀리닐, 데카히드로퀴놀리닐, 옥타히드로이소퀴놀리닐, 아조시닐, 트리아지닐, 6H-1,2,5-티아디아지닐, 2H,6H-1,5,2-디티아지닐, 티에닐, 티안트레닐, 피라닐, 이소벤조푸라닐, 크로메닐, 크산테닐, 페녹사티닐, 2H-피롤릴, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 피라지닐, 피리다지닐, 인돌리지닐, 이소인돌릴, 3H-인돌릴, 1H-인다졸릴, 퓨리닐, 4H-퀴놀리지닐, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 퀴놀살리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프테리디닐, 4aH-카르바졸릴, 카르바졸릴, β -카르볼리닐, 페난트리디닐, 아크리디닐, 피리미디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 푸라자닐, 페녹사지닐, 이소크로마닐, 크로마닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피페라지닐, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 퀴누클리디닐, 모르폴리닐, 옥사졸리디닐, 벤조트리아졸릴, 벤즈이속사졸릴, 옥스인돌릴, 벤족사졸리닐 및 이사티노일을 포함한다.

[0131] 예로서 및 비제한적으로, 탄소 결합된 헤테로사이클은 피리딘의 위치 2, 3, 4, 5 또는 6, 피리다진의 위치 3, 4, 5 또는 6, 피리미딘의 위치 2, 4, 5 또는 6, 피라진의 위치 2, 3, 5 또는 6, 푸란, 테트라히드로푸란, 티오프란, 티오펜, 피롤 또는 테트라히드로피롤의 위치 2, 3, 4 또는 5, 옥사졸, 이미다졸 또는 티아졸의 위치 2, 4 또는 5, 이속사졸, 피라졸 또는 이소티아졸의 위치 3, 4 또는 5, 아지리딘의 위치 2 또는 3, 아제티딘의 위치 2, 3 또는 4, 퀴놀린의 위치 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8, 이소퀴놀린의 위치 1, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8에서 결합된다. 보다 더 전형적으로, 탄소 결합된 헤테로사이클은 2-피리딘, 3-피리딘, 4-피리딘, 5-피리딘, 6-피리딘, 3-피리다지닐, 4-피리다지닐, 5-피리다지닐, 6-피리다지닐, 2-피리미디닐, 4-피리미디닐, 5-피리미디닐, 6-피리미디닐, 2-피라지닐, 3-피라지닐, 5-피라지닐, 6-피라지닐, 2-티아졸릴, 4-티아졸릴 또는 5-티아졸릴을 포함한다.

[0132] 예로서 및 비제한적으로, 질소 결합된 헤테로사이클은 아지리딘, 아제티딘, 피롤, 피롤리딘, 2-피롤린, 3-피롤린, 이미다졸, 이미다졸리딘, 2-이미다졸린, 3-이미다졸린, 피라졸, 피라졸린, 2-피라졸린, 3-피라졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌, 인돌린, 1H-인다졸의 위치 1, 이소인돌 또는 이소인돌린의 위치 2, 모르폴린의 위치 4, 및 카르바졸 또는 β -카르볼린의 위치 9에서 결합된다. 보다 더 전형적으로, 질소 결합된 헤테로사이클은 1-아지리딘, 1-아제테딘, 1-피롤릴, 1-이미다졸릴, 1-피라졸릴 및 1-피페리디닐을 포함한다.

[0133] " C_3 - C_8 헤테로사이클"은 고리 탄소 원자 중 1 내지 4개가 독립적으로 O, S 및 N으로 이루어진 군으로부터의 헤테로원자로 대체된 방향족 또는 비-방향족 C_3 - C_8 카르보사이클을 지칭한다. C_3 - C_8 헤테로사이클의 대표적인 예는 벤조푸라닐, 벤조티오펜, 인돌릴, 벤조피라졸릴, 쿠마리닐, 이소퀴놀리닐, 피롤릴, 티오펜, 푸라닐, 티아졸릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 트리아졸릴, 퀴놀리닐, 피리미디닐, 피리디닐, 피리도닐, 피라지닐, 피리다지닐, 이소티아졸릴, 이속사졸릴 및 테트라졸릴을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_3 - C_8 헤테로사이클은 비치환될 수 있거나 또는 $-C_1$ - C_8 알킬, $-O$ -(C_1 - C_8 알킬), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서, 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1$ - C_8 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 7개 이하의 기로 치환될 수 있다.

[0134] " C_3 - C_8 헤테로시클로"는 헤테로사이클 기의 수소 원자 중 1개가 결합으로 대체된 상기 정의된 C_3 - C_8 헤테로사이클 기를 지칭한다. C_3 - C_8 헤테로시클로는 비치환될 수 있거나 또는 $-C_1$ - C_8 알킬, $-O$ -(C_1 - C_8 알킬), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서, 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1$ - C_8 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함

하나 이에 제한되지는 않는 6개 이하의 기로 치환될 수 있다.

[0135] " C_3-C_{20} 헤테로사이클"은 고리 탄소 원자 중 1 내지 4개가 독립적으로 O, S 및 N으로 이루어진 군으로부터의 헤테로원자로 대체된 방향족 또는 비-방향족 C_3-C_8 카르보사이클을 지칭한다. C_3-C_{20} 헤테로사이클은 비치환될 수 있거나 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8 \text{ 알킬})$, $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서, 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 7개 이하의 기로 치환될 수 있다.

[0136] " C_3-C_{20} 헤테로시클로"는 헤테로사이클 기의 수소 원자 중 1개가 결합으로 대체된 상기 정의된 C_3-C_{20} 헤테로사이클 기를 지칭한다.

[0137] "카르보사이클"은 모노사이클로서 3 내지 7개의 탄소 원자 또는 비사이클로서 7 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 포화 또는 불포화 고리를 의미한다. 모노시클릭 카르보사이클은 3 내지 6개의 고리 원자, 보다 더 전형적으로 5 또는 6개의 고리 원자를 갖는다. 비시클릭 카르보사이클은, 예를 들어 비시클로 [4,5], [5,5], [5,6] 또는 [6,6] 계로 배열된 7 내지 12개의 고리 원자, 또는 비시클로 [5,6] 또는 [6,6] 계로 배열된 9 또는 10개의 고리 원자를 갖는다. 모노시클릭 카르보사이클의 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 1-시클로펜트-1-에닐, 1-시클로펜트-2-에닐, 1-시클로펜트-3-에닐, 시클로헥실, 1-시클로헥스-1-에닐, 1-시클로헥스-2-에닐, 1-시클로헥스-3-에닐, 시클로헥틸, 및 시클로옥틸을 포함한다.

[0138] " C_3-C_8 카르보사이클"은 3-, 4-, 5-, 6-, 7- 또는 8-원 포화 또는 불포화 비-방향족 카르보시클릭 고리이다. 대표적인 C_3-C_8 카르보사이클은 -시클로프로필, -시클로부틸, -시클로펜틸, -시클로펜타디에닐, -시클로헥실, -시클로헥세닐, -1,3-시클로헥사디에닐, -1,4-시클로헥사디에닐, -시클로헥틸, -1,3-시클로헥타디에닐, -1,3,5-시클로헥타트리에닐, -시클로옥틸, 및 -시클로옥타디에닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_3-C_8 카르보사이클 기는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8 \text{ 알킬})$, $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서, 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0139] " C_3-C_8 카르보시클로"는 카르보사이클 기의 수소 원자 중 1개가 결합으로 대체된 상기 정의된 C_3-C_8 카르보사이클 기를 지칭한다.

[0140] "링커"는 공유 결합을 포함하는 화학적 모이어티 또는 항체를 약물 모이어티에 공유 부착시키는 원자의쇄를 지칭한다. 다양한 실시양태에서, 링커는 2가 라디칼, 예컨대 알킬디일, 아릴디일, 헤테로아릴디일, 모이어티, 예컨대 $-(CR_2)_nO(CR_2)_n-$, 알킬옥시의 반복 단위 (예를 들어, 폴리에틸렌옥시, PEG, 폴리메틸렌옥시) 및 알킬아미노 (예를 들어, 폴리에틸렌아미노, 제파민(Jeffamine)TM); 및 이산 에스테르 및 아마이드, 예를 들어 숙시네이트, 숙신아미드, 디글리콜레이트, 말로네이트, 및 카프로아미드를 포함한다. 다양한 실시양태에서, 링커는 하나 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 발린, 페닐알라닌, 리신 및 호모리신을 포함할 수 있다.

[0141] 용어 "키랄"은 거울상 파트너와 비-중첩가능한 특성을 갖는 분자를 지칭하고, 용어 "비키랄"은 그의 거울상 파트너 상에 중첩가능한 분자를 지칭한다.

[0142] 용어 "입체이성질체"는 동일한 화학적 구성을 가지지만 공간 내 원자 또는 기의 배열이 상이한 화합물을 지칭한다.

[0143] "부분입체이성질체"는 2개 이상의 키랄성 중심을 가지며 분자들이 서로의 거울상이 아닌 입체이성질체를 지칭한다. 부분입체이성질체는 상이한 물리적 특성, 예를 들어 융점, 비점, 스펙트럼 특성 및 반응성을 갖는다. 부분입체이성질체의 혼합물은 전기영동 및 크로마토그래피와 같은 고해상도 분석 절차 하에 분리될 수 있다.

[0144] "거울상이성질체"는 서로 비-중첩가능한 거울상인, 화합물의 2종의 입체이성질체를 지칭한다.

[0145] 본원에 사용된 입체화학적 정의 및 규정은 일반적으로 문헌 [S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 및 Eliel, E. and Wilen, S., Stereochemistry

of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York]에 따른다. 수많은 유기 화합물은 광학 활성 형태로 존재하는데, 즉 이들은 평면-편광의 평면을 회전시키는 능력을 갖는다. 광학 활성 화합물을 기재하는데 있어서, 접두어 D 및 L, 또는 R 및 S는 키랄 중심(들)에 대한 분자의 절대 배위를 나타내는데 사용된다. 접두어 d 및 l, 또는 (+) 및 (-)는 화합물에 의한 평면-편광 회전의 부호를 나타내는데 사용되며, (-) 또는 l은 화합물이 좌선성임을 의미한다. (+) 또는 d의 접두어가 사용되는 화합물은 우선성이다. 주어진 화학 구조에 있어서, 이들 입체이성질체는 이들이 서로 거울상인 것을 제외하고는 동일하다. 특정 입체이성질체가 또한 거울상이성질체로 지칭될 수 있으며, 이러한 이성질체의 혼합물은 종종 거울상이성질체 혼합물이라 불린다. 거울상이성질체들의 50:50 혼합물은 라세미 혼합물 또는 라세미체로 지칭되며, 이는 화학 반응 또는 과정에서 입체 선택성 또는 입체특이성이 없는 경우에 생성될 수 있다. 용어 "라세미 혼합물" 및 "라세미체"는 광학 활성이 없는, 2종의 거울상이성질체 종의 등몰 혼합물을 지칭한다.

[0146] "이탈기"는 또 다른 관능기에 의해 치환될 수 있는 관능기를 지칭한다. 이러한 이탈기는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 그 예는 할라이드 (예를 들어, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드), 메탄술포닐 (메실), p-톨루엔술포닐 (토실), 트리플루오로메틸술포닐 (트리플레이트), 및 트리플루오로메틸술포네이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0147] 용어 "보호기"는 화합물상의 다른 관능기가 반응하는 동안에 특정 관능기를 차단하거나 보호하기 위해 통상적으로 사용되는 치환기를 지칭한다. 예를 들어, "아미노-보호기"는 화합물 내의 아미노 관능기를 차단하거나 보호하는, 아미노 기에 부착된 치환기이다. 적합한 아미노-보호기는 아세틸, 트리플루오로아세틸, t-부톡시카르보닐 (BOC), 벤질옥시카르보닐 (CBZ) 및 9-플루오레닐메틸렌옥시카르보닐 (Fmoc)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 보호기 및 그의 용도의 일반적 설명에 대해서는, 문헌 [T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991] 또는 후속판을 참조한다.

[0148] II. 조성물 및 방법

[0149] 한 측면에서, 본 발명은 부분적으로, B7-H4에 결합하는 항체 및 이러한 항체를 포함하는 면역접합체를 기초로 한다. 본 발명의 항체 및 면역접합체는 예를 들어 B7-H4-양성 암의 진단 또는 치료에 유용하다.

[0150] A. 예시적인 항-B7-H4 항체

[0151] 일부 실시양태에서, 본 발명은 B7-H4에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. B7-H4는 예를 들어 항원 제시 세포 (APC)의 표면 상에서 발견되는, 유형 I 막형단 단백질이다. 본원에 나타낸 바와 같이, B7-H4는 검사된 유방 암 종 시편의 약 80% 및 난소 종양 샘플의 약 60%에서 발현된다.

[0152] 신호 서열 (아미노산 1-28)을 갖는 예시적인 자연 발생 인간 B7-H4 전구체 단백질 서열은 서열 73에 제공되고, 상응하는 성숙 B7-H4 단백질 서열은 (서열 73의 아미노산 29-282에 상응하는) 서열 74에 제시된다.

[0153] 특정 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 하기 특성:

[0154] (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성, 및

[0155] (b) B7-H4에 ≤ 100 nM, ≤ 50 nM, ≤ 10 nM, 또는 ≤ 9 nM, 또는 ≤ 8 nM, 또는 ≤ 7 nM, 또는 ≤ 6 nM, 또는 ≤ 5 nM, 또는 ≤ 4 nM, 또는 ≤ 3 nM, 또는 ≤ 2 nM, 또는 ≤ 1 nM, 및 임의로 ≥ 0.0001 nM, 또는 ≥ 0.001 nM, 또는 ≥ 0.01 nM의 친화도로 결합하는 특성

[0156] 중 적어도 하나 이상을 임의의 조합으로 갖는다.

[0157] 비제한적으로 예시적인 이러한 항체는 본원에 기재된 1D11, 22C10, 9B9 및 32D6 및 그의 인간화 변이체이다. 일부 실시양태에서, B7-H4는 인간 B7-H4이다. 일부 실시양태에서, B7-H4는 인간, 시노몰구스 원숭이, 마우스 및 래트 B7-H4로부터 선택된다.

[0158] 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 B7-H4 Ig-V 및

Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합한다. 일부 이러한 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 ≤ 100 nM, ≤ 50 nM, ≤ 10 nM, 또는 ≤ 9 nM, 또는 ≤ 8 nM, 또는 ≤ 7 nM, 또는 ≤ 6 nM, 또는 ≤ 5 nM, 또는 ≤ 4 nM, 또는 ≤ 3 nM, 또는 ≤ 2 nM, 또는 ≤ 1 nM, 및 임의로 ≥ 0.0001 nM, 또는 ≥ 0.001 nM, 또는 ≥ 0.01 nM의 친화도로 결합한다. 비제한적으로 예시적인 이러한 항체는 본원에 기재된 1D11, 22C10, 9B9 및 32D6 및 그의 인간화 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, B7-H4는 인간 B7-H4이다. 일부 실시양태에서, B7-H4는 인간 B7-H4 또는 시노몰구스 원숭이 B7-H4이다. 일부 실시양태에서, B7-H4는 마우스 B7-H4 또는 래트 B7-H4이다.

[0159] 검정

[0160] 항-B7-H4 항체가 "B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합"하거나, "B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합"하거나, "B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합"하거나, "서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합"하거나 또는 "서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합"하는지 여부를 결정하기 위해, 이를 FACS에 의해 평가되는 경쟁적 결합에 의해 실시예 F에 본원에 기재된 바와 같이 결정한다.

[0161] 항-B7-H4 항체가 " ≤ 100 nM, ≤ 50 nM, ≤ 10 nM, 또는 ≤ 9 nM, 또는 ≤ 8 nM, 또는 ≤ 7 nM, 또는 ≤ 6 nM, 또는 ≤ 5 nM, 또는 ≤ 4 nM, 또는 ≤ 3 nM, 또는 ≤ 2 nM, 또는 ≤ 1 nM의 친화도로 결합"하는지 여부를 실시예 E에 본원에 기재된 바와 같이 결정한다. 선택된 인간화 변이체의 해리 상수는 방사성리간드 세포 결합 검정을 이용하여 결정한다. 간략하게, ~250pM (비표지된 항체 경쟁자와 동일)의 125 I-항체 추적자를, 1000nM에서 출발하여 비표지된 항체의 2배 희석물의 존재 하에 100,000 MX-1 세포 또는 293 B7-H4 안정한 세포주와 함께 인큐베이션한다. 항체/세포 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 DMEM (1% BSA, 300nM 인간 IgG, 0.1% 아지드) 중에서 인큐베이션한 다음, 수집하고, 밀리포어 멀티스크린(Millipore Multiscreen) 여과 플레이트를 이용하여 여과한다. 듀라포어(Durapore) 막 필터를 퍼킨 엘머 위저드 1470 오토 감마 카운터(Perkin Elmer Wizard 1470 Auto Gamma Counter)를 이용하여 10분 동안 계수한다. 항체 친화도 상수 (Kd)를 뉴리간드(NewLigand) 소프트웨어를 이용하여 스캐차드.분석(Scatchard.Analysis)에 의해 결정한다.

[0162] 항체 1D11 및 다른 실시양태

[0163] 일부 실시양태에서, 본 발명은 (a) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-B7-H4 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-B7-H4 항체를 제공한다.

[0164] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3 및 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0165] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 41의 아미노산 서열을

포함하는 HVR-H3, 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0166] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0167] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0168] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 7로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0169] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 41로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0170] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0171] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0172] 임의의 상기 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 인간화 항체이다. 한 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같은 HVR을 포함하고, 인간 수용자 프레임워크, 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 인간 수용자 프레임워크는 인간 VL 카파 I 컨센서스 (VL_{KI}) 프레임워크 및/또는 VH 프레임워크 VH₁이다. 특정 실시양태에서, 인간 수용자 프레임워크는 하기 돌연변이 중 어느 하나를 포함하는 인간 VL 카파 I 컨센서스 (VL_{KI}) 프레임워크 및/또는 VH 프레임워크 VH₁이다: 경쇄 프레임워크 영역 FR3에서의 Y49H, V58I, T69R 및/또는 F71Y 돌연변이; 중쇄 프레임워크 영역 FR3에서의 V67A, I69L, R71A, T73K 및/또는 T75S 돌연변이.

[0173] 일부 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같은 HVR을 포함하고, 서열 51, 52 또는 53의 중쇄 프레임워크 FR3 서열을 추가로 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, 중쇄 가변 도메인 프레임워크는 서열 51, 52 또는 53의 FR3 서열을 갖는 변형된 인간 VH₁ 프레임워크이다.

[0174] 또 다른 측면에서, 항-B7-H4 항체는 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열 4의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을

갖는 VH 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 4에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 4에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 4의 VH 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VH는 (a) 서열 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0175]

또 다른 측면에서, 항-B7-H4 항체는 서열 36, 37, 38, 99, 100, 101, 102 또는 103의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열 36, 37, 38, 99, 100, 101, 102 또는 103의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 36, 37, 38, 99, 100, 101, 102 또는 103에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 36, 37, 38, 99, 100, 101, 102 또는 103에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 36, 37, 38, 99, 100, 101, 102 또는 103의 VH 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VH는 (a) 서열 39의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 40의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 41의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0176]

또 다른 측면에서, 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 3의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 3에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 3에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 3의 VL 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열 8의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 9의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 10의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0177]

또 다른 측면에서, 서열 35, 93, 94, 95, 96, 97 또는 98의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 35, 93, 94, 95, 96, 97 또는 98의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 35, 93, 94, 95, 96, 97 또는 98에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 35, 93, 94, 95, 96, 97 또는 98에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 35, 93, 94, 95, 96, 97 또는 98의 VL 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열 42의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 43의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 44의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0178]

또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다.

[0179]

한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 4 및 서열 3의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 101 및 서열 93의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 101 및 서열 97의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 102 및 서열 98의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 103 및 서열 98의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 101 및 서열 96의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역

후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 101 및 서열 95의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 101 및 서열 94의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 100 및 서열 93의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 99 및 서열 93의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 36 및 서열 93의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 36 및 서열 35의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 37 및 서열 35의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 38 및 서열 35의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0180]

추가 측면에서, 본 발명은 본원에 제공된 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열 4의 VH 서열 및 서열 3의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 101의 VH 서열 및 서열 93의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 101의 VH 서열 및 서열 97의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 102의 VH 서열 및 서열 98의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 103의 VH 서열 및 서열 98의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 101의 VH 서열 및 서열 96의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 101의 VH 서열 및 서열 95의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 101의 VH 서열 및 서열 94의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 100의 VH 서열 및 서열 93의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 99의 VH 서열 및 서열 93의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 36의 VH 서열 및 서열 93의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 36의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 37의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 38의 VH 서열 및 서열 35의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0181]

특정 실시양태에서, B7-H4에 결합하며 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 하나 이상을 갖는, 임의의 상기 실시양태에 따른 항체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 항체는 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 적어도 하나 이상을 임의의 조합으로 갖는다.

[0182]

본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 포함하는 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 실질적으로 전장 항체, 예를 들어 IgG1 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.

[0183]

추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다.

[0184]

항체 22C10 및 다른 실시양태

[0185]

한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-

L1; (e) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-B7-H4 항체를 제공한다.

[0186] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-B7-H4 항체를 제공한다.

[0187] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 및 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0188] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 및 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0189] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0190] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0191] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0192] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0193] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 34로부터 선택된 아미노산 서열을 포함

하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0194] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 58의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 59의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 60의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 63으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0195] 임의의 상기 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 인간 항체이다.

[0196] 또 다른 측면에서, 항-B7-H4 항체는 서열 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열 28의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 28에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 28에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 28의 VH 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VH는 (a) 서열 29의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 30의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 31의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0197] 또 다른 측면에서, 서열 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 27에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 27에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 27의 VL 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열 32의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 33의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 34의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0198] 또 다른 측면에서, 서열 55, 57, 104, 105 또는 106의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 55, 57, 104, 105 또는 106의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 55, 57, 104, 105 또는 106에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 55, 57, 104, 105 또는 106에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 55, 57, 104, 105 또는 106의 VL 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열 61의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 62의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 63의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0199] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 111 및 서열 104의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 111 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 112 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 113 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 114 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 111 및 서열 105의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 111 및 서열 106의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는

각각 서열 110 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 109 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 108 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 107 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 56 및 서열 55의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열 56 및 서열 57의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0200]

추가 측면에서, 본 발명은 본원에 제공된 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열 28의 VH 서열 및 서열 27의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 111의 VH 서열 및 서열 104의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 111의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 112의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 113의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 114의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 111의 VH 서열 및 서열 105의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 111의 VH 서열 및 서열 106의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 110의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 109의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 108의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 107의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 56의 VH 서열 및 서열 55의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 56의 VH 서열 및 서열 57의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0201]

특정 실시양태에서, B7-H4에 결합하며 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 하나 이상을 갖는, 임의의 상기 실시양태에 따른 항체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 항체는 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 적어도 하나 이상을 임의의 조합으로 갖는다.

[0202]

본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 인간 항체를 포함하는 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 실질적으로 전장 항체, 예를 들어 IgG2a 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.

[0203]

추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다.

[0204]

항체 32D6 및 다른 실시양태

[0205]

한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-B7-H4 항체를 제공한다.

- [0206] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 및 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.
- [0207] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.
- [0208] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.
- [0209] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 18로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0210] 임의의 상기 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 인간 항체이다.
- [0211] 또 다른 측면에서, 항-B7-H4 항체는 서열 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 12에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 12에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 12의 VH 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VH는 (a) 서열 13의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 14의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 15의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.
- [0212] 또 다른 측면에서, 서열 11의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 11의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 11에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 11에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 11의 VL 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열 16의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 17의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 18의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.
- [0213] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 12 및 서열 11의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열 12 및 서열 11의 VH 및

VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

- [0214] 추가 측면에서, 본 발명은 본원에 제공된 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열 12의 VH 서열 및 서열 11의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.
- [0215] 특정 실시양태에서, B7-H4에 결합하며 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 하나 이상을 갖는, 임의의 상기 실시양태에 따른 항체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 항체는 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 적어도 하나 이상을 임의의 조합으로 갖는다.
- [0216] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 인간 항체를 포함하는 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 실질적으로 전장 항체, 예를 들어 IgG2a 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.
- [0217] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다.
- [0218] 항체 9B9 및 다른 실시양태
- [0219] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-B7-H4 항체를 제공한다.
- [0220] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 및 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.
- [0221] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.
- [0222] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.
- [0223] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 22의 아미노산 서열을

포함하는 HVR-H2; (c) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 26으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.

[0224] 임의의 상기 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 인간 항체이다.

[0225] 또 다른 측면에서, 항-B7-H4 항체는 서열 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열 20의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 20에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 20에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 20의 VH 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VH는 (a) 서열 21의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 22의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 23의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0226] 또 다른 측면에서, 서열 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 대한 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 함유하지만, 그 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 서열 19에서 총 1 내지 5개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 서열 19에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-B7-H4 항체는 서열 11의 VL 서열 (이 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열 24의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 25의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 26의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 HVR을 포함한다.

[0227] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체가 제공된다. 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열 20 및 서열 19의 VH 및 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0228] 추가 측면에서, 본 발명은 본원에 제공된 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열 20의 VH 서열 및 서열 19의 VL 서열을 포함하는 항-B7-H4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0229] 특정 실시양태에서, B7-H4에 결합하며 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 하나 이상을 갖는, 임의의 상기 실시양태에 따른 항체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 항체는 하기 특성: (a) B7-H4 Ig-V 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 29-157)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-C 함유 도메인 (서열 73의 아미노산 158-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 B7-H4 Ig-V 및 Ig-C 도메인 (서열 73의 아미노산 29-250)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 74 (성숙 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하거나; 또는 서열 73 (전구체 인간 B7-H4)의 전부 또는 일부 내의 에피토프에 결합하는 특성 중 적어도 하나 이상을 임의의 조합으로 갖는다.

[0230] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 인간 항체를 포함하는 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 실질적으로 전장 항체, 예를 들어 IgG2a 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.

[0231] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-B7-H4 항체는 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으

로 또는 조합하여 포함할 수 있다.

[0232]

1. 항체 친화도

[0233]

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$, 및 임의로 $\geq 10^{-13} \text{ M}$ (예를 들어 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_d)를 갖는다.

[0234]

한 실시양태에서, K_d 는 하기 검정에 기재된 바와 같이 관심 항체의 Fab 버전 및 그의 항원을 사용하여 수행된 방사성표지된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 항원에 대한 Fab의 용액-결합 친화도는 비표지된 항원의 적정 시리즈의 존재 하에 최소 농도의 (^{125}I)-표지된 항원으로 Fab를 평형화시킨 후, 항-Fab 항체-코팅된 플레이트를 사용하여 결합된 항원을 포획함으로써 측정한다 (예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)] 참조). 검정 조건을 확립하기 위해, 마이크로타이터(MICROTITER)® 멀티-웰 플레이트 (썬더 사이언티픽(Thermo Scientific))를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중 5 $\mu\text{g/ml}$ 의 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스(Cappel Labs))로 밤새 코팅한 후, PBS 중 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 2 내지 5시간 동안 실온 (대략 23°C)에서 차단한다. 비-흡착 플레이트 (넉(Nunc) #269620)에서는 100 pM 또는 26 pM [^{125}I]-항원을 관심 Fab의 연속 희석물과 혼합한다 (예를 들어, 문헌 [Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)]의 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치함). 이어서, 관심 Fab를 밤새 인큐베이션하지만; 평형에 도달하는 것을 확실하게 하기 위해 더 오랜 기간 (예를 들어, 약 65시간) 동안 계속 인큐베이션할 수 있다. 이후에, 혼합물을 포획 플레이트로 옮겨 실온에서 (예를 들어, 1시간 동안) 인큐베이션한다. 이어서, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중 0.1% 폴리소르베이트 20 (트윈(TWEEN)-20®)으로 8회 세척한다. 플레이트를 건조시킬 때, 150 μl /웰의 섬광제 (마이크로신트(MICROSCINT)-20™; 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탑카운트(TOPCOUNT)™ 감마 계수기 (팩커드)로 10분 동안 계수한다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도를 선택하여 경쟁 결합 검정에 사용한다.

[0235]

또 다른 실시양태에 따르면, K_d 는 ~10의 반응 단위 (RU)로 고정화된 항원 CM5 칩을 사용하여 25°C에서 비아코어(BIACORE)®-2000 또는 비아코어®-3000 (비아코어, 인크., 뉴저지주 피스카타웨이)을 사용하는 표면 플라즈몬 공명 검정을 이용하여 측정된다. 간략하게, 카르복시메틸화 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코어, 인크.)을 공급업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 항원을 10 mM 아세트산나트륨 (pH 4.8)을 사용하여 5 $\mu\text{g/ml}$ (~0.2 μM)로 희석한 후에 커플링된 단백질 대략 10 반응 단위 (RU)가 달성되도록 5 μl /분의 유량으로 주입한다. 항원의 주입 후, 1 M 에탄올아민을 주입하여 미반응 기를 차단한다. 동역학적 측정을 위해, Fab의 2배 연속 희석물 (0.78 nM 내지 500 nM)을 대략 25 μl /분의 유량으로 25°C에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (트윈-20™) 계면활성제를 함유하는 PBS (PBST) 내에 주입한다. 간단한 일-대-일 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델 (비아코어® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 이용하여 회합 및 해리 센소그램을 동시에 피팅시켜 회합률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})을 계산한다. 평형 해리 상수 (K_d)는 k_{off}/k_{on} 의 비로 계산한다. 예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)]을 참조한다. 상기 표면-플라즈몬 공명 검정에 의한 온-레이트가 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 을 초과하는 경우, 온-레이트는 분광계, 예컨대 정지-유동 설치 분광광도계 (아비브 인스트루먼트(Aviv Instruments)) 또는 교반 큐벳이 구비된 8000-시리즈 SLM-아민코(AMINCO)™ 분광광도계 (썬더스펙트로닉(ThermoSpectronic))에서 측정할 때 증가하는 농도의 항원의 존재하에 PBS (pH 7.2) 중 20 nM의 항-항원 항체 (Fab 형태)의 25°C에서의 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm, 방출 = 340 nm, 16 nm 통과 대역)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 쉐칭 기술을 이용하여 결정할 수 있다.

[0236]

2. 항체 단편

[0237]

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 및 scFv 단편, 및 하기 기재된 다른 단편을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 특정 항체 단편의 검토를 위해, 문헌 [Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)]을 참조한다. scFv 단편의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌 [Pluckthuen, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)]을 참조하고; 또한 WO 93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 5,587,458을 참조한다. 샐비지 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를

갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 논의에 대해, 미국 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

- [0238] 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]을 참조한다. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.
- [0239] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체이다 (도만티스, 인크.(Domantis, Inc.), 매사추세츠주 월섬; 예를 들어 미국 특허 번호 6,248,516 B1 참조).
- [0240] 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같은 무손상 항체의 단백질분해적 소화 뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이 또는 파지)에 의한 생산을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.
- [0241] 3. 키메라 및 인간화 항체
- [0242] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 키메라 항체이다. 특정 키메라 항체는 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]에 기재되어 있다. 한 예에서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역 (예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼 또는 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 모 항체의 것으로부터 변화된 "부류 스위칭" 항체이다. 키메라 항체는 그의 항원-결합 단편을 포함한다.
- [0243] 특정 실시양태에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비-인간 항체는 모 비-인간 항체의 특이성 및 친화도를 유지하면서 인간에 대한 면역원성이 감소하도록 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 HVR, 예를 들어 CDR (또는 그의 일부)이 비-인간 항체로부터 유래되고, FR (또는 그의 일부)이 인간 항체 서열로부터 유래된 1개 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 또한 임의로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체의 일부 FR 잔기는, 예를 들어 항체 특이성 또는 친화도를 복원하거나 또는 개선하기 위해, 비-인간 항체 (예를 들어, HVR 잔기가 유래된 항체)로부터의 상응하는 잔기로 치환된다.
- [0244] 인간화 항체 및 그의 제조 방법은, 예를 들어 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)]에서 검토되었고, 예를 들어 문헌 [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)]; 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; 문헌 [Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005)] (SDR (a-CDR) 그래프팅 기재); 문헌 [Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991)] ("재표면화" 기재); 문헌 [Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005)] ("FR 서플링" 기재); 및 문헌 [Osbourne et al., Methods 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)] (FR 서플링에 대한 "유도 선택" 접근법 기재)에 추가로 기재되어 있다.
- [0245] 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 "최적-적합" 방법을 사용하여 선택된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)] 참조); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 하위군의 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)] 참조); 인간 성숙 (체세포 성숙) 프레임워크 영역 또는 인간 배선 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)] 참조); 및 FR 라이브러리 스크리닝으로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)] 참조)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0246] 4. 인간 항체
- [0247] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 문헌 [van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)]에 기재되어 있다.
- [0248] 인간 항체는 항원 접중에 반응하여 인간 가변 영역을 갖는 무손상 인간 항체 또는 무손상 항체를 생산하도록 변형된 트랜스제닉 동물에게 면역원을 투여함으로써 제조할 수 있다. 이러한 동물은 전형적으로 내인성 이뮤노글

로봇된 유전자좌를 대체하거나 또는 염색체외에 존재하거나 또는 동물의 염색체로 무작위적으로 통합된 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유한다. 이러한 트랜스제닉 마우스에서, 내인성 이뮤노글로불린 유전자좌는 일반적으로 불활성화된다. 트랜스제닉 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법의 검토를 위해, 문헌 [Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584 (제노마우스(XENOMOUSE)TM 기술 기재); 미국 특허 번호 5,770,429 (HuMab[®] 기술 기재); 미국 특허 번호 7,041,870 (K-M 마우스(K-M MOUSE)[®] 기술 기재), 및 미국 특허 출원 공개 번호 US 2007/0061900 (벨로시 마우스(VelociMouse)[®] 기술 기재)을 참조한다. 이러한 동물에 의해 생성된 무손상 항체로부터의 인간 가변 영역은, 예를 들어 상이한 인간 불변 영역과 조합시켜 추가로 변형될 수 있다.

[0249] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 모노클로날 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주가 기재된 바 있다. (예를 들어, 문헌 [Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)] 참조). 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체는 또한 문헌 [Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)]에 기재되어 있다. 추가의 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포주로부터의 모노클로날 인간 IgM 항체 생산 기재) 및 문헌 [Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)] (인간-인간 하이브리도마 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술 (트리오마(Trioma) 기술)은 또한 문헌 [Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)]에 기재되어 있다.

[0250] 인간 항체는 또한 인간-유래 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리함으로써 생성될 수 있다. 이어서, 이러한 가변 도메인 서열은 바람직한 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하기 위한 기술은 하기에 기재된다.

[0251] 5. 라이브러리-유래 항체

[0252] 본 발명의 항체는 목적하는 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝함으로써 단리될 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 생성하고, 목적하는 결합 특성을 보유하는 항체에 대하여 이러한 라이브러리를 스크리닝하는 다양한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 이러한 방법은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)]에서 검토되고, 예를 들어 문헌 [McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)]에 추가로 기재되어 있다.

[0253] 특정 파지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는 개별적으로 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 클로닝되고, 파지 라이브러리에 무작위로 재조합되며, 이는 이어서 문헌 [Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)]에 기재된 바와 같이 항원-결합 파지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을 단일-쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으로 디스플레이한다. 면역화된 공급원으로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 구축할 필요 없이 면역원에 대한 고-친화도 항체를 제공한다. 대안적으로, 문헌 [Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)]에 기재된 바와 같이 나이브 레퍼토리를 클로닝 (예를 들어, 인간으로부터)하여 어떠한 면역화도 없이 광범위한 비-자기 및 또한 자기 항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공할 수 있다. 최종적으로, 문헌 [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)]에 기재된 바와 같이, 줄기 세포로부터의 재배열되지 않은 V-유전자 절편을 클로닝하고 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용하여 고도로 가변성인 CDR3 영역을 코딩하고 시험관내 재배열을 달성함으로써 나이브 라이브러리를 또한 합성적으로 제조할 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기재하고 있는 특허 공개는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,750,373, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360을 포함한다.

[0254] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은 본원에서 인간 항체 또는 인간 항체 단편으로 간주된다.

[0255]

6. 다중특이적 항체

[0256]

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들어 이중특이적 항체이다. 다중특이적 항체는 2개 이상의 상이한 부위에 대한 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 B7-H4에 대한 것이고, 다른 것은 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 B7-H4에 대한 것이고, 다른 것은 CD3에 대한 것이다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,821,337을 참조한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 B7-H4의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 B7-H4를 발현하는 세포에 세포독성제를 국재화시키는데 사용될 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0257]

다중특이적 항체를 제조하기 위한 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 공-발현 (문헌 [Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)], WO 93/08829, 및 문헌 [Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)] 참조), 및 "노브-인-홀" 조작 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,731,168 참조)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다중특이적 항체는 또한 항체 Fc-이종이량체 분자를 제조하기 위한 정전기 스티어링 효과의 조작 (WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편의 가교 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,676,980, 및 문헌 [Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)] 참조); 이중특이적 항체를 생산하기 위한 류신 지퍼의 사용 (예를 들어, 문헌 [Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)] 참조); 이중특이적 항체 단편의 제조를 위한 "디아바디" 기술의 이용 (예를 들어, 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)] 참조); 및 단일-쇄 Fv (sFv) 이량체의 사용 (예를 들어, 문헌 [Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)] 참조); 및 예를 들어 문헌 [Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)]에 기재된 바와 같은 삼중특이적 항체의 제조에 의해 제조될 수 있다.

[0258]

"옥토퍼스 항체"를 포함하여, 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체가 또한 본원에 포함된다 (예를 들어, US 2006/0025576A1 참조).

[0259]

본원의 항체 또는 단편은 또한 B7-H4 뿐만 아니라 또 다른 상이한 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이중 작용 FAB" 또는 "DAF"를 포함한다 (예를 들어, US 2008/0069820 참조).

[0260]

7. 항체 변이체

[0261]

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 적절한 변형을 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이러한 변형은 예를 들어 항체의 아미노산 서열 내 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 구축물이 목적 특성, 예를 들어 항원-결합을 보유하는데 한해서, 최종 구축물에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있다.

[0262]

a) 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0263]

특정 실시양태에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이유발을 위한 관심 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 표 1에서 "바람직한 치환"의 표제 하에 제시된다. 보다 더 실질적인 변화는 표 1에서 "예시적인 치환"의 표제 하에 아미노산 측쇄 부류에 관하여 하기 추가로 기재된 바와 같이 제공된다. 아미노산 치환은 관심 항체에 도입되고, 생성물은 목적하는 활성, 예를 들어 유지/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성 또는 개선된 ADCC 또는 CDC에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0264] <표 1>

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

[0265]

[0266] 아미노산은 공통적인 측쇄 특성에 따라 분류될 수 있다:

[0267] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0268] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0269] (3) 산성: Asp, Glu;

[0270] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0271] (5) 측쇄 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;

[0272] (6) 방향족 : Trp, Tyr, Phe.

[0273] 비-보존적 치환은 이들 부류 중의 하나의 구성원을 또 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.

[0274] 치환 변이체의 한 가지 유형은 모 항체 (예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 1개 이상의 추가변 영역 잔기를 치환하는 것을 포함한다. 일반적으로, 추가 연구를 위해 선택된 생성된 변이체(들)는 모 항체에 비해 특정 생물학적 특성 (예를 들어, 상승된 친화도, 감소된 면역원성)에서의 변형 (예를 들어, 개선)을 가질 것이고/거나 모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 유지할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 예를 들어 본원에 기재된 것과 같은 파지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기술을 이용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화도 성숙 항체이다. 간략하게, 1개 이상의 HVR 잔기가 돌연변이되고, 변이체 항체가 파지 상에 디스플레이되고, 특정한 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다.

[0275] 변경 (예를 들어, 치환)은 예를 들어 항체 친화도를 개선하기 위해 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉 체세포 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기 (예를 들어, 문헌 [Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)] 참조) 및/또는 SDR (a-CDR)에서 이루어질 수 있으며, 생성된 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화도에 대해 시험된다. 이차 라이브러리로부터의 구축 및 재선택에 의

한 친화도 성숙은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기재되어 있다. 친화도 성숙의 일부 실시양태에서, 다양성은 임의의 다양한 방법 (예를 들어, 오류-유발 PCR, 섀 셔플링, 또는 올리고뉴클레오티드-지정된 돌연변이 유발)에 의한 성숙을 위해 선택된 가변 유전자 내로 도입된다. 이어서, 이차 라이브러리를 생성한다. 이어서, 목적하는 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 확인하게 위해 라이브러리를 스크리닝한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 HVR-지정된 접근법과 연관되며, 여기서 여러 HVR 잔기 (예를 들어, 한 번에 4-6개의 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합과 연관된 HVR 잔기는 예를 들어 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 이용하여 구체적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.

[0276]

특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이러한 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 1개 이상의 HVR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경 (예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟" 또는 SDR의 외부에 있을 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 실시양태에서, 각각의 HVR은 변경되지 않거나, 또는 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.

[0277]

문헌 [Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이, 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 지칭된다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군 (예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys 및 glu)을 확인하고, 중성 또는 음으로 하전된 아미노산 (예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체하여 항체의 항원과의 상호작용에 영향을 미치는지의 여부를 결정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 감수성을 입증하는 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 항원-항체 복합체의 결정 구조를 사용하여 항체와 항원 사이의 접촉점을 확인한다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 또는 제거될 수 있다. 변이체는 그들이 목적하는 특성을 함유하는지의 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다.

[0278]

아미노산 서열 삽입은 길이 범위가 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 효소 (예를 들어, ADEPT의 경우) 또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드가 상기 항체의 N- 또는 C-말단에 융합된 것을 포함한다.

[0279]

b) 글리코실화 변이체

[0280]

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경된다. 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 1개 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성될 수 있다.

[0281]

항체가 Fc 영역을 포함하는 경우, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 천연 항체는 전형적으로, Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에의 N-연결에 의해 일반적으로 부착되는 분지형 이중안테나 올리고사카라이드를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고사카라이드는 다양한 탄수화물, 예를 들어 만노스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토스 및 시알산 뿐만 아니라 이중안테나 올리고사카라이드 구조의 "줄기" 내의 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 내의 올리고사카라이드의 변형은 특정 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 제조하기 위해 이루어질 수 있다.

[0282]

한 실시양태에서, Fc 영역에 (직접 또는 간접적으로) 부착된 푸코스가 결핍된 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들어, 이러한 항체에서 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은 예를 들어 WO 2008/077546에 기재된 바와 같이 MALDI-TOF 질량 분광측정법에 의해 측정된 Asn 297에 부착된 모든 당구조물 (예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 고 만노스 구조물)의 합에 대한 Asn297에서 당 쉘 내의 푸코스의 평균 양을 계산함으로써 결정된다. Asn297은 Fc 영역의 약 위치 297 (Fc 영역 잔기의 Eu 넘버링)에 위치한 아스파라긴 잔기를 지칭하지만; Asn297은 또한 항체의 부차적 서열 변이로 인해 위치 297의 약 ± 3 아미노산 상류 또는 하류, 즉 위치 294 내지 300에 위치할 수 있다. 이러한 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (교와 핫코 고교 캄파니, 리미티드(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd))을 참조한다. "탈푸코실화" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체에 대한 공개의 예는 다음을 포함한다: US 2003/0157108; WO

2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; 문헌 [Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)]. 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포 (문헌 [Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)]; 미국 특허 출원 번호 US 2003/0157108 A1 (Presta, L); 및 WO 2004/056312 A1 (Adams et al., 특허 실시예 11)), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포 (예를 들어, 문헌 [Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)]; 및 WO2003/085107 참조)를 포함한다.

[0283]

이등분된 올리고사카라이드를 갖는 항체 변이체가 추가로 제공되는데, 예를 들어 항체의 Fc 영역에 부착된 이중 안테나 올리고사카라이드가 GlcNAc에 의해 이등분된다. 이러한 항체 변이체는 푸코실화가 감소될 수 있고/거나 ADCC 기능이 개선될 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예가, 예를 들어 WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 미국 특허 번호 6,602,684 (Umana et al.); 및 US 2005/0123546 (Umana et al.)에 기재되어 있다. Fc 영역에 부착된 올리고사카라이드 내에 적어도 1개의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체가 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는 예를 들어 WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)에 기재되어 있다.

[0284]

c) Fc 영역 변이체

[0285]

특정 실시양태에서, 하나 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 항체의 Fc 영역에 도입되어 Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0286]

특정 실시양태에서, 본 발명은, 항체의 생체내 반감기는 중요하지만 특정의 이펙터 기능 (예컨대, 보체 및 ADCC)은 불필요하거나 해로운 적용에 대해 바람직한 후보가 되도록 하는 일부 이펙터 기능 (모든 이펙터 기능은 아님)을 보유하는 항체 변이체를 고려한다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정을 수행할 수 있다. 예를 들어, 항체에 Fc γ R 결합이 결핍되어 있지만 (따라서, ADCC 활성이 결핍될 것으로 예상됨), FcRn 결합 능력은 보유하고 있는 것을 확인하기 위해 Fc 수용체 (FcR) 결합 검정을 수행할 수 있다. ADCC를 매개하는 일차 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하는 반면에, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RRII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)]의 페이지 464, 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 검정의 비제한적 예가 미국 특허 번호 5,500,362 (예를 들어, 문헌 [Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)] 참조) 및 문헌 [Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)]; 5,821,337 (문헌 [Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)] 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로, 비-방사성 검정 방법을 이용할 수 있으며, 예를 들어 유동 세포 측정법을 위한 악티(ACTI)TM 비-방사성 세포독성 검정 (셀테크놀로지, 인크.(CellTechnology, Inc.), 캘리포니아주 마운틴 뷰); 및 시토크스(CytoTox) 96 $\oplus$ 비-방사성 세포독성 검정 (프로메가(Promega), 위스콘신주 매디슨)를 참조한다. 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)]에 개시된 바와 같은 동물 모델에서 평가될 수 있다. 또한, C1q 결합 검정을 수행하여, 항체가 C1q에 결합할 수 없으며 따라서 CDC 활성이 결핍된 것을 확인할 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402의 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해 CDC 검정을 수행할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)] 참조). FcRn 결합 및 생체내 클리어런스/반감기 결정을 또한 관련 기술분야에 공지된 방법을 이용하여 수행할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).

[0287]

감소된 이펙터 기능을 갖는 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 1개 이상의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 6,737,056). 이러한 Fc 돌연변이체는 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 2개 이상에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체 (잔기 265 및 297의 알라닌으로의 치환을 갖는, 소위 "DANA" Fc 돌연변이체 포함)를 포함한다 (미국 특허 번호 7,332,581).

- [0288] FcR에 대해 개선되거나 또는 감소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재된다. (예를 들어, 미국 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 및 문헌 [Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)] 참조.)
- [0289] 특정 실시양태에서, 항체 변이체는 ADCC를 개선하는 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들어 Fc 영역의 위치 298, 333 및/또는 334 (잔기의 EU 넘버링)에서의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다.
- [0290] 일부 실시양태에서, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642, 및 문헌 [Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)]에 기재된 바와 같이, 변경된 (즉, 개선된 또는 감소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 발생시키는 변경이 Fc 영역에서 만들어진다.
- [0291] 증가된 반감기, 및 모체 IgG를 태아에게 전달하는 역할을 하는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))에 대한 개선된 결합을 갖는 항체가 US2005/0014934A1 (Hinton et al.)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선하는 1개 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체는 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 1개 이상의 치환, 예를 들어 Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 7,371,826).
- [0292] Fc 영역 변이체의 다른 예에 관하여 또한 문헌 [Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 번호 5,648,260; 미국 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351을 참조한다.
- [0293] d) 시스테인 조작된 항체 변이체
- [0294] 특정 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 잔기를 시스테인 잔기로 치환시킨 시스테인 조작된 항체, 예를 들어 "티오Mab"를 제조하는 것이 바람직할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 이와 같이 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 일어난다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써 반응성 티올기가 항체의 접근가능한 부위에 위치하게 되고, 이를 이용하여 항체를 본원에 추가로 기재된 바와 같이 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합시켜 면역접합체를 생성할 수 있다. 특정 실시양태에서, 하기 잔기 중 임의의 1개 이상이 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205 (카바트 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링). 시스테인 조작된 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,521,541에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.
- [0295] e) 항체 유도체
- [0296] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 관련 기술분야에 공지되고 용이하게 입수가 가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 수용성 중합체의 비제한적 예는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단독중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올 (예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 그의 혼합물을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드가 물에서의 안정성으로 인해 제조에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 항체에 부착된 중합체의 수는 달라질 수 있고, 1개 초과 중합체가 부착될 경우, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 개선된 항체의 특정한 특성 또는 기능, 항체 유도체가 규정된 조건 하에 요법에서 사용될 것인지의 여부 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 고려사항을 기반으로 결정될 수 있다.
- [0297] 또 다른 실시양태에서, 항체, 및 방사선 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 한 실시양태에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (문헌 [Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)]). 방사선은 임의의 파장일 수 있고, 통상적인 세포에는 해를 끼치지 않지만 항체-비단백질성 모이어티에 근접한 세포는 사멸시키는 온도로 비단백질성 모이어티를 가열하는 파장을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0298] B. 재조합 방법 및 조성물
- [0299] 항체는 재조합 방법 및 조성물을 이용하여, 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같이 생산될 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 항-B7-H4 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 항

체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열 (예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코딩할 수 있다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터 (예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 한 이러한 실시양태에서, 숙주 세포는 (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함한다 (예를 들어, 이것으로 형질감염된다). 한 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵, 예를 들어 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 림프성 세포 (예를 들어, YO, NS0, Sp20 세포)이다. 한 실시양태에서, 상기에 제공된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하고, 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 상기 항체를 임의로 회수하는 것을 포함하는, 항-B7-H4 항체를 제조하는 방법이 제공된다.

[0300] 항-B7-H4 항체의 재조합 생산을 위해, 예를 들어 상기 기재된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 단리하고, 추가의 클로닝 및/또는 숙주 세포에서의 발현을 위해 하나 이상의 벡터 내로 삽입한다. 이러한 핵산은 통상의 절차를 이용하여 용이하게 단리되고 서열분석될 수 있다 (예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하는 것에 의함).

[0301] 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않을 경우, 항체를 박테리아에서 생산할 수 있다. 박테리아에서의 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,648,237, 5,789,199 및 5,840,523을 참조한다. (또한, 이. 콜라이에서의 항체 단편의 발현을 기재하는 문헌 [Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254] 참조). 발현 후에, 가용성 분획에서 박테리아 세포 페이스트로부터 항체를 단리할 수 있고, 추가로 정제할 수 있다.

[0302] 원핵생물 이외에도, 진핵 미생물, 예컨대 사상 진균 또는 효모, 예를 들어 글리코실화 경로가 "인간화"되어 항체를 부분 또는 완전 인간 글리코실화 패턴으로 생산되게 하는 진균 및 효모 균주가 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 숙주 발현에 적합하다. 문헌 [Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 및 Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)]을 참조한다.

[0303] 글리코실화 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체 (무척추동물 및 척추동물)로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 다수의 바칼로바이러스 균주가 곤충 세포와 함께, 특히 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포를 형질감염시키는데 사용될 수 있는 것으로 확인된 바 있다.

[0304] 식물 세포 배양물을 또한 숙주로서 이용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978 및 6,417,429 (트랜스제닉 식물에서 항체를 생산하기 위한 플랜티바디스(PLANTIBODIES)™ 기술을 기재함)를 참조한다.

[0305] 척추동물 세포를 또한 숙주로서 이용할 수 있다. 예를 들어, 현탁액 중에서 성장시키는데 적합화된 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7); 인간 배아 신장 세포주 (예를 들어, 문헌 [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]에 기재된 바와 같은 293 또는 293 세포); 새끼 햄스터 신장 세포 (BHK); 마우스 세르톨리 세포 (예를 들어, 문헌 [Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)]에 기재된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포 (CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA); 개 신장 세포 (MDCK); 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 마우스 유방 종양 (MMT 060562); 예를 들어 문헌 [Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)]에 기재된 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포, 예를 들어 DHFR⁻ CHO 세포 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); 및 골수종 세포주, 예컨대 YO, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항체 생산에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다.

[0306] C. 검정

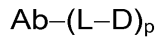
[0307] 본원에 제공된 항-B7-H4 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정에 의해 확인되거나, 스크리닝되거나, 또는 그의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 특성화될 수 있다.

- [0308] 한 측면에서, 본 발명의 항체는 예를 들어 ELISA, 비아코어®, FACS, 또는 웨스턴 블롯과 같은 공지된 방법에 의해 그의 항원 결합 활성에 대해 시험된다.
- [0309] 또 다른 측면에서, 경쟁 검정은 B7-H4에 대한 결합에 대해 본원에 기재된 임의의 항체와 경쟁하는 항체를 확인하는데 이용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 이러한 경쟁 항체는 본원에 기재된 항체가 결합된 것과 동일한 에피토프 (예를 들어, 선형 또는 입체형태적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하는 예시적인 방법의 상세내용은 문헌 [Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)]에 제공된다.
- [0310] 예시적인 경쟁 검정에서, 고정화된 B7-H4를 B7-H4에 결합하는 제1 표지된 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 항체), 및 B7-H4에 대한 결합에 대해 제1 항체와 경쟁하는 능력에 대해 시험될 제2 비표지된 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이션한다. 제2 항체는 하이브리도마 상청액에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정화된 B7-H4는 제1 표지된 항체를 포함하나 제2 비표지된 항체는 포함하지 않는 용액에서 인큐베이션한다. B7-H4에 대한 제1 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 인큐베이션한 후에, 잉여량의 미결합 항체를 제거하고, 고정화된 B7-H4와 회합된 표지의 양을 측정한다. 고정화된 B7-H4와 회합된 표지의 양이 대조 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소된 경우에, 이는 제2 항체가 B7-H4에 대한 결합에 대해 제1 항체와 경쟁한다는 것을 나타낸다. 문헌 [Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]을 참조한다.
- [0311] D. 면역접합체
- [0312] 본 발명은 또한 하나 이상의 세포독성제, 예컨대 화학요법제 또는 약물, 성장 억제제, 독소 (예를 들어, 단백질 독소, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소 또는 그의 단편) 또는 방사성 동위원소 (예를 들어, 방사성접합체)에 접합된 본원의 항-B7-H4 항체를 포함하는 면역접합체를 제공한다.
- [0313] 미접합 약물의 전신 투여가 정상 세포에 대해 허용되지 않는 수준의 독성을 초래할 수 있는 경우에, 면역접합체는 종양에 대한 약물 모이어티의 표적화된 전달, 및 일부 실시양태에서는 그 내부에서의 세포내 축적을 허용한다 (Polakis P. (2005) Current Opinion in Pharmacology 5:382-387).
- [0314] 항체-약물 접합체 (ADC)는 강력한 세포독성 약물을 항원-발현 종양 세포에 표적화시켜 (Teicher, B.A. (2009) Current Cancer Drug Targets 9:982-1004) 효능의 최대화 및 탈표적 독성의 최소화에 의해 치료 지수를 증진시킴으로써 (Carter, P.J. and Senter P.D. (2008) The Cancer Jour. 14(3):154-169; Chari, R.V. (2008) Acc. Chem. Res. 41:98-107) 항체 및 세포독성 약물 둘 다의 특성을 조합한 표적화된 화학요법제 분자이다.
- [0315] 본 발명의 ADC 화합물은 항암 활성을 갖는 것들을 포함한다. 일부 실시양태에서, ADC 화합물은 약물 모이어티에 접합된, 즉 공유 부착된 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 링커를 통해 약물 모이어티에 공유 부착된다. 본 발명의 항체-약물 접합체 (ADC)는 유효 용량의 약물을 종양 조직에 선택적으로 전달함으로써, 치료 지수 ("치료 범위")를 증가시키면서 보다 큰 선택성, 즉 보다 낮은 유효 용량을 달성할 수 있다.
- [0316] 항체-약물 접합체 (ADC)의 약물 모이어티 (D)는 세포독성 또는 세포증식억제 효과를 갖는 임의의 화합물, 모이어티 또는 기를 포함할 수 있다. 약물 모이어티는 튜블린 결합, DNA 결합 또는 삽입, 및 RNA 폴리머라제, 단백질 합성 및/또는 토포이소머라제의 억제를 포함하나 이에 제한되지는 않은 메카니즘에 의해 그의 세포독성 및 세포증식억제 효과를 전할 수 있다. 예시적인 약물 모이어티는 메이탄시노이드, 돌라스타틴, 아우리스타틴, 칼리케아미신, 피롤로벤조디아제핀 (PBD), 네로루비신 및 그의 유도체, PNU-159682, 안트라시클린, 두오카르마이신, 빈카 알칼로이드, 타산, 트리코테센, CC1065, 캄프토테신, 엘리나피드, 및 세포독성 활성을 갖는 그의 입체 이성질체, 동배체, 유사체 및 유도체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 면역접합체의 비제한적 예는 하기에 보다 상세히 논의된다.
- [0317] 1. 예시적인 항체-약물 접합체
- [0318] 항체-약물 접합체 (ADC) 화합물의 예시적 실시양태는 종양 세포를 표적화하는 항체 (Ab), 약물 모이어티 (D), 및 Ab를 D에 부착시키는 링커 모이어티 (L)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 하나 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 리신 및/또는 시스테인을 통해 링커 모이어티 (L)에 부착된다.
- [0319] 예시적인 ADC는 하기 화학식 I를 갖는다.

[0320]

<화학식 I>

[0321]



[0322]

상기 식에서, p는 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, 항체에 접합될 수 있는 약물 모이어티의 수는 유리 시스테인 잔기의 수에 의해 제한된다. 일부 실시양태에서, 유리 시스테인 잔기는 본원에 기재된 방법에 의해 항체 아미노산 서열 내로 도입된다. 화학식 I의 예시적인 ADC는 1, 2, 3 또는 4개의 조작된 시스테인 아미노산을 갖는 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다 (Lyon, R. et al. (2012) Methods in Enzym. 502:123-138). 일부 실시양태에서, 하나 이상의 유리 시스테인 잔기는 조작을 이용하지 않고도 이미 항체에 존재하며, 이러한 경우에 기존의 유리 시스테인 잔기를 사용하여 항체를 약물에 접합시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 하나 이상의 유리 시스테인 잔기를 생성하기 위해 항체의 접합 전에 환원 조건에 노출된다.

[0323]

a) 예시적인 링커

[0324]

"링커" (L)는 하나 이상의 약물 모이어티 (D)를 항체 (Ab)에 연결시켜 화학식 I의 항체-약물 접합체 (ADC)를 형성하는데 사용될 수 있는 이관능성 또는 다관능성 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체 (ADC)는 약물 및 항체에 공유 부착시키기 위한 반응성 관능기를 갖는 링커를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체 (Ab)의 시스테인 티올은 ADC를 제조하기 위해 링커 또는 약물-링커 중간체의 반응성 관능기와 결합을 형성할 수 있다.

[0325]

한 측면에서, 링커는 항체 상에 존재하는 유리 시스테인과 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있는 관능기를 갖는다. 비제한적으로 예시적인 이러한 반응성 관능기는 말레이미드, 할로아세타미드, α-할로아세틸, 활성화된 에스테르, 예컨대 숙신이미드 에스테르, 4-니트로페닐 에스테르, 펜타플루오로페닐 에스테르, 테트라플루오로페닐 에스테르, 무수물, 산 클로라이드, 술폰 클로라이드, 이소시아네이트 및 이소티오시아네이트를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Klussman, et al. (2004), Bioconjugate Chemistry 15(4):765-773]의 페이지 766의 접합 방법, 및 본원의 실시예를 참조한다.

[0326]

일부 실시양태에서, 링커는 항체 상에 존재하는 친전자성 기와 반응할 수 있는 관능기를 갖는다. 예시적인 이러한 친전자성 기는 알데히드 및 케톤 카르보닐 기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 링커의 반응성 관능기의 헤테로원자는 항체 상의 친전자성 기와 반응하여 항체 단위에 대한 공유 결합을 형성할 수 있다. 비제한적으로 예시적인 이러한 반응성 관능기는 히드라지드, 옥심, 아미노, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실레이트 및 아릴히드라지드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0327]

링커는 하나 이상의 링커 성분을 포함할 수 있다. 예시적인 링커 성분은 6-말레이미도카프로일 ("MC"), 말레이미도프로파노일 ("MP"), 발린-시트룰린 ("val-cit" 또는 "vc"), 알라닌-페닐알라닌 ("ala-phe"), p-아미노벤질 옥시카르보닐 ("PAB"), N-숙신이미드 4-(2-페리달티오) 펜타노에이트 ("SPP"), 및 4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1 카르복실레이트 ("MCC")를 포함한다. 다양한 링커 성분은 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 그의 일부는 하기 기재된다.

[0328]

링커는 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다. 비제한적으로 예시적인 절단가능한 링커는 산-불안정성 링커 (예를 들어, 히드라존 포함), 프로테아제-감수성 (예를 들어, 펩티다제-감수성) 링커, 광불안정성 링커, 또는 디설피드-함유 링커를 포함한다 (Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992); US 5208020).

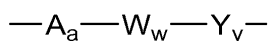
[0329]

특정 실시양태에서, 링커는 하기 화학식 II를 갖는다.

[0330]

<화학식 II>

[0331]



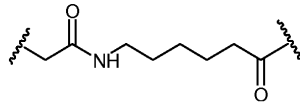
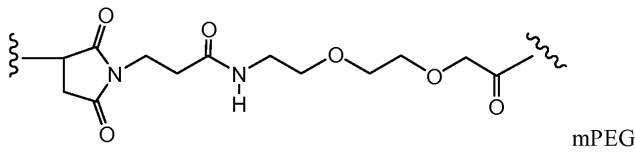
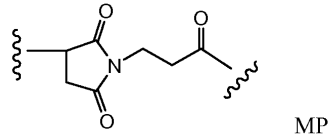
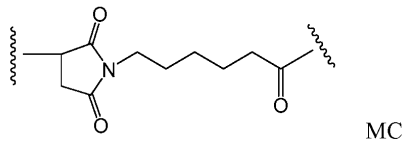
[0332]

상기 식에서, A는 "스트레처 단위"이고, a는 0 내지 1의 정수이고; W는 "아미노산 단위"이고, w는 0 내지 12의 정수이고; Y는 "스페이서 단위"이고, y는 0, 1, 또는 2이고; Ab, D, 및 p는 화학식 I에 대해 상기 정의된 바와 같다. 이러한 링커의 예시적 실시양태는 명백하게 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 7,498,298에 기재되어 있다.

[0333]

일부 실시양태에서, 링커 성분은 또 다른 링커 성분에 또는 약물 모이어티에 항체를 연결시키는 "스트레처 단위"를 포함한다. 비제한적으로 예시적인 스트레처 단위가 하기 제시된다 (여기서 파상선은 항체, 약물 또는

추가 링커 성분)에 대한 공유 부착 부위를 나타냄).



[0334]

[0335]

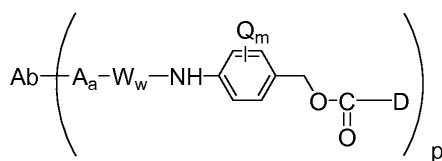
일부 실시양태에서, 링커 성분은 "아미노산 단위"를 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, 아미노산 단위는 프로테아제에 의한 링커의 절단을 허용하며, 이로써 세포내 프로테아제, 예컨대 리소솜 효소에 대한 노출시에 면역접합체로부터의 약물 방출을 용이하게 한다 (Doronina et al. (2003) Nat. Biotechnol. 21:778-784). 예시적인 아미노산 단위는 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드 및 펜타펩티드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 디펩티드는 발린-시트룰린 (vc 또는 val-cit), 알라닌-페닐알라닌 (af 또는 ala-phe); 페닐알라닌-리신 (fk 또는 phe-lys); 페닐알라닌-호모리신 (phe-homolys); 및 N-메틸-발린-시트룰린 (Me-val-cit)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 트리펩티드는 글리신-발린-시트룰린 (gly-val-cit) 및 글리신-글리신-글리신 (gly-gly-gly)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 아미노산 단위는 자연 발생 아미노산 잔기 및/또는 소수 아미노산 및/또는 비-자연 발생 아미노산 유사체, 예컨대 시트룰린을 포함할 수 있다. 아미노산 단위는 특정한 효소, 예를 들어 종양-연관 프로테아제, 카텝신 B, C 및 D, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소적 절단을 위해 설계 및 최적화될 수 있다.

[0336]

일부 실시양태에서, 링커 성분은 항체를 약물 모이어티에 직접적으로 또는 스트레처 단위 및/또는 아미노산 단위를 통해 연결시키는 "스페이서" 단위를 포함한다. 스페이서 단위는 "자기-희생적" 또는 "비-자기-희생적"일 수 있다. "비-자기-희생적" 스페이서 단위는 스페이서 단위의 일부 또는 전부가 ADC의 절단시에 약물 모이어티에 결합된 상태로 유지되는 것이다. 비-자기-희생적 스페이서 단위의 예는 글리신 스페이서 단위 및 글리신-글리신 스페이서 단위를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 글리신-글리신 스페이서 단위를 함유하는 ADC를 종양-세포 연관 프로테아제에 의해 효소적 절단시키면 ADC의 나머지 부분으로부터 글리신-글리신-약물 모이어티가 방출된다. 일부 이러한 실시양태에서, 글리신-글리신-약물 모이어티는 종양 세포에서 가수분해 단계를 거쳐, 약물 모이어티로부터 글리신-글리신 스페이서 단위가 절단된다.

[0337]

"자기-희생적" 스페이서 단위는 약물 모이어티의 방출을 허용한다. 특정 실시양태에서, 링커의 스페이서 단위는 p-아미노벤질 단위를 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, p-아미노벤질 알콜은 아마이드 결합을 통해 아미노산 단위에 부착되고, 카르바메이트, 메틸카르바메이트, 또는 카르보네이트가 벤질 알콜과 세포독성제 사이에 형성된다 (Hamann et al. (2005) Expert Opin. Ther. Patents (2005) 15:1087-1103). 일부 실시양태에서, 스페이서 단위는 p-아미노벤질옥시카르보닐 (PAB)이다. 일부 실시양태에서, 자기-희생적 링커를 포함하는 ADC는 하기 구조를 갖는다.



[0338]

[0339]

상기 식에서, Q는 -C₁-C₈ 알킬, -O-(C₁-C₈ 알킬), -할로젠, -니트로, 또는 -시아노이고; m은 0 내지 4 범위의 정수이고; p는 1 내지 약 20의 범위이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 10, 1 내지 7, 1 내지 5, 또는 1 내지 4의 범위이다.

[0340]

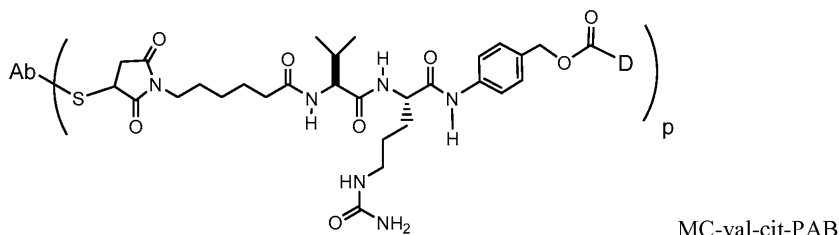
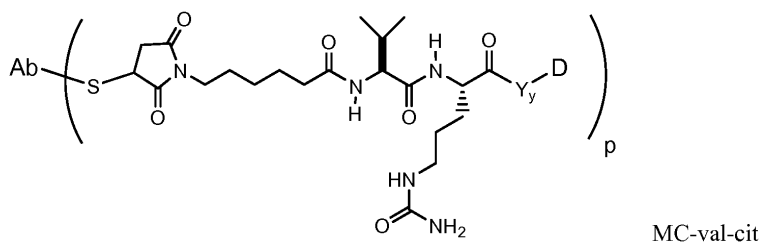
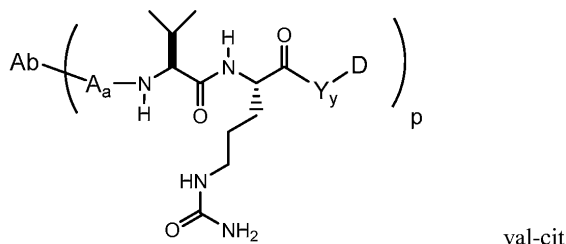
자기-희생적 스페이서의 다른 예는 PAB 기와 전자적으로 유사한 방향족 화합물, 예컨대 2-아미노이미다졸-5-메탄올 유도체 (미국 특허 번호 7,375,078; 문헌 [Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237]) 및 오르토- 또는 파라-아미노벤질아세탈을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 아마이드 결합 가수분해시에 고리화를 겪는 스페이서, 예컨대 치환 및 비치환된 4-아미노부티르산 아마이드 (Rodrigues et al. (1995) Chemistry Biology 2:223), 적절하게 치환된 비시클로[2.2.1] 및 비시클로[2.2.2] 고리계 (Storm et al. (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) 및 2-아미노페닐프로피온산 아마이드 (Amsberry, et al. (1990) J. Org. Chem. 55:5867)가 사용될 수 있다. 글리신 잔기의 α-탄소에 대한 약물의 연결은 ADC에서 유용할 수 있는 자기-희생적 스페이서의 또 다른 예이다 (Kingsbury et al. (1984) J. Med. Chem. 27:1447).

[0341]

다른 실시양태에서, 링커 L은 1개 초과와 약물 모이어티를 분지화 다관능성 링커 모이어티를 통해 항체에 공유 부착시키기 위한 수지상 유형의 링커일 수 있다 (Sun et al. (2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215; Sun et al. (2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768). 수지상 링커는 ADC의 효력과 관련이 있는 약물 대 항체의 몰비, 즉 로딩을 증가시킬 수 있다. 따라서, 항체가 단지 1개의 반응성 시스테인 티올 기를 보유하는 경우에, 다수의 약물 모이어티를 수지상 링커를 통해 부착시킬 수 있다.

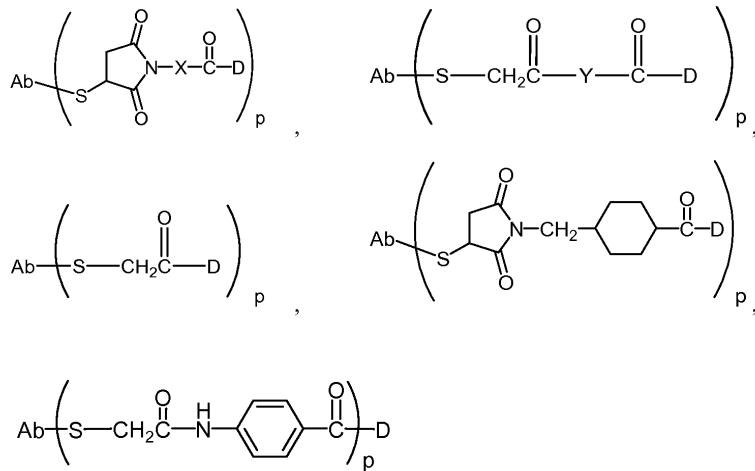
[0342]

화학식 I의 ADC와 관련하여 비제한적으로 예시적인 링커가 하기 제시된다.



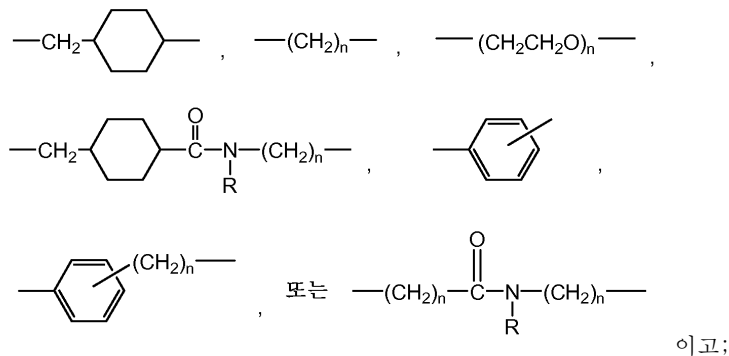
[0343]

[0344] 추가의 비제한적으로 예시적인 ADC는 하기 구조를 포함한다.

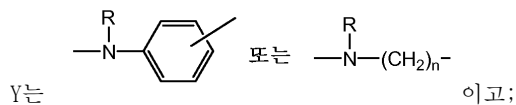


[0345]

[0346] 상기 식에서, X는



[0347]



[0348]

[0349] 각각의 R은 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; n은 1 내지 12이다.

[0350]

전형적으로, 펩티드-유형 링커는 2개 이상의 아미노산 및/또는 펩티드 단편 사이에 펩티드 결합을 형성함으로써 제조할 수 있다. 이러한 펩티드 결합은 예를 들어 액상 합성 방법에 따라 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [E. Schroeder and K. Luebke (1965) "The Peptides", volume 1, pp 76-136, Academic Press]).

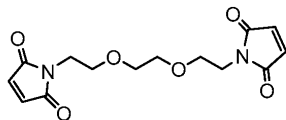
[0351]

일부 실시양태에서, 링커는 용해도 및/또는 반응성을 조절하는 기로 치환된다. 비제한적 예로서, 하전된 치환기, 예컨대 술포네이트 (-SO₃⁻) 또는 암모늄은 링커 시약의 수용해도를 증가시키고, 링커 시약과 항체 및/또는 약물 모이어티의 커플링 반응을 용이하게 하거나, 또는 ADC 제조에 이용되는 합성 경로에 따라 Ab-L (항체-링커 중간체)과 D, 또는 D-L (약물-링커 중간체)과 Ab의 커플링 반응을 용이하게 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커의 부분은 항체에 커플링되고, 링커의 일부는 약물에 커플링되고, 이어서 Ab-(링커 부분)^a는 약물-(링커 부분)^b에 커플링되어 화학식 I의 ADC를 형성한다. 일부 이러한 실시양태에서, 항체는 화학식 I의 ADC에서 하나 초과와 약물이 항체에 커플링되도록 하나 초과와 (링커 부분)^a 치환기를 포함한다.

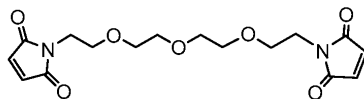
[0352]

본 발명의 화합물은 명백하게 하기 링커 시약으로 제조된 ADC를 고려하나 이에 제한되지는 않는다: 비스-말레이미도-트리옥시에틸렌 글리콜 (BMPEO), N-(β-말레이미도프로필옥시)-N-히드록시 숙신이미드 에스테르 (BMPS), N-(ε-말레이미도카프로일옥시) 숙신이미드 에스테르 (EMCS), N-[γ-말레이미도부틸옥시]숙신이미드 에스테르 (GMBS), 1,6-헥산-비스-비닐술포 (HBVS), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복시-(6-아미도카

프로에이트) (LC-SMCC), m-말레이미도벤조일-N-히드록시숙신이미드 에스테르 (MBS), 4-(4-N-말레이미도페닐)부티르산 히드라지드 (MPBH), 숙신이미딜 3-(브로모아세트아미도)프로피오네이트 (SBAP), 숙신이미딜 아이오도아세테이트 (SIA), 숙신이미딜 (4-아이오도아세틸)아미노벤조에이트 (SIAB), N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피오네이트 (SPDP), N-숙신이미딜-4-(2-피리딜티오)펜타노에이트 (SPP), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카복실레이트 (SMCC), 숙신이미딜 4-(p-말레이미도페닐)부티레이트 (SMPB), 숙신이미딜 6-[(베타-말레이미도프로피온아미도)헥사노에이트] (SMPH), 이미노티올란 (IT), 술포-EMCS, 술포-GMBS, 술포-KMUS, 술포-MBS, 술포-SIAB, 술포-SMCC, 및 술포-SMPB, 및 숙신이미딜-(4-비닐술포)벤조에이트 (SVSB), 및 예를 들어 비스-말레이미드 시약: 디티오비스말레이미도에탄 (DTME), 1,4-비스말레이미도부탄 (BMB), 1,4-비스말레이미딜-2,3-디히드록시부탄 (BMDB), 비스말레이미도헥산 (BMH), 비스말레이미도에탄 (BMOE), BM(PEG)₂ (하기 제시됨), 및 BM(PEG)₃ (하기 제시됨); 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디프이미데이트 HC1), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스(p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠). 일부 실시양태에서, 비스-말레이미드 시약은 항체에서 시스테인의 티올 기의 티올-함유 약물 모이어티, 링커, 또는 링커-약물 중간체에 대한 부착을 허용한다. 티올 기와 반응성인 다른 관능기는 아이오도아세트아미드, 브로모아세트아미드, 비닐 피리딘, 디술피드, 피리딜 디술피드, 이소시아네이트, 및 이소티오시아네이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.



BM(PEG)₂



BM(PEG)₃

[0353]

[0354]

특정의 유용한 링커 시약은 다양한 상업적 공급원, 예컨대 피어스 바이오테크놀로지, 인크.(Pierce Biotechnology, Inc.) (일리노이주 록포드), 몰레큘라 바이오사이언시스 인크.(Molecular Biosciences Inc.) (콜로라도주 볼더)로부터 입수할 수 있거나, 또는 관련 기술분야에 기재된, 예를 들어 문헌 [Toki et al. (2002) J. Org. Chem. 67:1866-1872; Dubowchik, et al. (1997) Tetrahedron Letters, 38:5257-60; Walker, M.A. (1995) J. Org. Chem. 60:5352-5355; Frisch et al. (1996) Bioconjugate Chem. 7:180-186]; US 6214345; WO 02/088172; US 2003130189; US2003096743; WO 03/026577; WO 03/043583; 및 WO 04/032828에 기재된 절차에 따라 합성할 수 있다.

[0355]

탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성뉴클레오타이드를 접합시키기 위한 예시적인 칼레이트화제이다. 예를 들어, W094/11026을 참조한다.

[0356]

b) 예시적인 약물 모이어티

[0357]

(1) 메이탄신 및 메이탄시노이드

[0358]

일부 실시양태에서, 면역접합체는 하나 이상의 메이탄시노이드 분자에 접합된 항체를 포함한다. 메이탄시노이드는 메이탄신의 유도체이고, 튜블린 중합을 억제함으로써 작용하는 유사분열 억제제이다. 메이탄신은 동아프리카 관목 메이테누스 세라타(Maytenus serrata)로부터 처음 분리되었다 (미국 특허 번호 3896111). 이후에, 특정 미생물이 또한 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄시놀 및 C-3 메이탄시놀 에스테르를 생산하는 것으로 발견되었다 (미국 특허 번호 4,151,042). 합성 메이탄시노이드는 예를 들어 미국 특허 번호 4,137,230; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428; 4,313,946; 4,315,929; 4,317,821; 4,322,348; 4,331,598; 4,361,650; 4,364,866; 4,424,219; 4,450,254; 4,362,663; 및 4,371,533에 개시되어 있다.

[0359]

메이탄시노이드 약물 모이어티는 (i) 발효 또는 화학적 변형, 또는 발효 생성물의 유도체화에 의한 제조에 비교적 이용가능하고, (ii) 비-디술피드 링커를 통해 항체에 접합되기에 적합한 관능기로 유도체화될 수 있고, (iii) 혈장에서 안정하며, (iv) 다양한 종양 세포주에 대해 효과적이기 때문에, 항체-약물 접합체에서 매력적인 약물 모이어티이다.

[0360]

메이탄시노이드 약물 모이어티로서 사용하기에 적합한 특정 메이탄시노이드는 관련 기술분야에 공지되어

있으며, 공지된 방법에 따라 천연 공급원으로부터 단리될 수 있거나 유전 공학 기술을 이용하여 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Yu et al. (2002) PNAS 99:7968-7973] 참조). 메이탄시노이드는 또한 공지된 방법에 따라 합성적으로 제조될 수 있다.

[0361]

예시적인 메이탄시노이드 약물 모이어티는 변형된 방향족 고리를 갖는 것들, 예컨대 C-19-데클로로 (미국 특허 번호 4256746) (예를 들어, 안사미토신 P2의 수소화알루미늄리튬 환원에 의해 제조); C-20-히드록시 (또는 C-20-테메틸) +/-C-19-데클로로 (미국 특허 번호 4361650 및 4307016) (예를 들어, 스트렙토미세스 (Streptomyces) 또는 악티노미세스(Actinomyces)를 사용한 탈메틸화 또는 LAH를 사용한 탈염소화에 의해 제조); 및 C-20-테메톡시, C-20-아실옥시 (-OCOR), +/-데클로로 (미국 특허 번호 4,294,757) (예를 들어, 아실 클로라이드를 사용한 아실화에 의해 제조), 및 방향족 고리의 다른 위치에 변형을 갖는 것들을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0362]

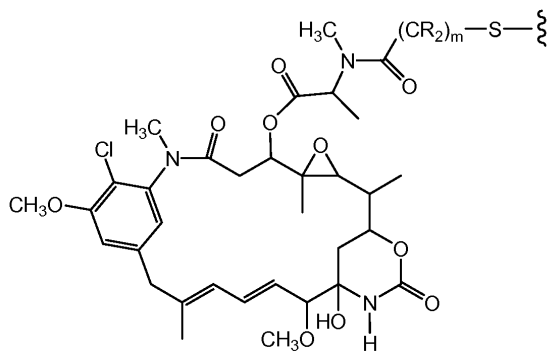
예시적인 메이탄시노이드 약물 모이어티는 또한 변형을 갖는 것들, 예컨대 C-9-SH (미국 특허 번호 4424219) (예를 들어, H_2S 또는 P_2S_5 와 메이탄시놀의 반응에 의해 제조됨); C-14-알콕시메틸 (테메톡시/ CH_2OR) (US 4331598); C-14-히드록시메틸 또는 아실옥시메틸 (CH_2OH 또는 CH_2OAc) (미국 특허 번호 4450254) (예를 들어, 노카르디아(Nocardia)로부터 제조됨); C-15-히드록시/아실옥시 (US 4364866) (예를 들어, 스트렙토미세스에 의한 메이탄시놀의 전환에 의해 제조됨); C-15-메톡시 (미국 특허 번호 4313946 및 4315929) (예를 들어, 트레위아 누들플로라(Trewia nudiflora)로부터 단리됨); C-18-N-테메틸 (미국 특허 번호 4362663 및 4322348) (예를 들어, 스트렙토미세스에 의한 메이탄시놀의 탈메틸화에 의해 제조됨); 및 4,5-테옥시 (US 4371533) (예를 들어, 메이탄시놀의 티타늄 트리클로라이드/LAH 환원에 의해 제조됨)를 포함한다.

[0363]

메이탄시노이드 화합물 상의 다수의 위치가 연결 위치로서 유용하다. 예를 들어, 에스테르 연결은 통상의 커플링 기술을 이용한 히드록실 기와의 반응에 의해 형성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 반응은 히드록실 기를 갖는 C-3 위치, 히드록시메틸로 변형된 C-14 위치, 히드록실 기로 변형된 C-15 위치, 및 히드록실 기를 갖는 C-20 위치에서 일어날 수 있다. 일부 실시양태에서, 연결기는 메이탄시놀 또는 메이탄시놀 유사체의 C-3 위치에서 형성된다.

[0364]

메이탄시노이드 약물 모이어티는 하기 구조를 갖는 것을 포함한다.



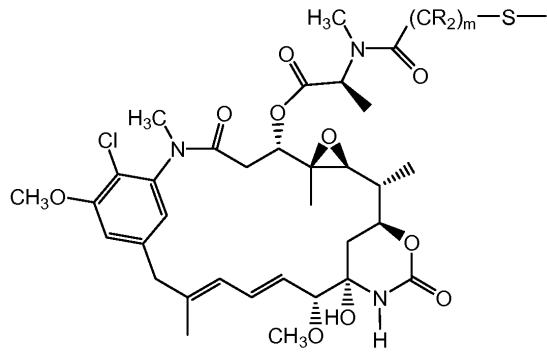
[0365]

[0366]

상기 식에서, 파상선은 ADC의 링커에 대한 메이탄시노이드 약물 모이어티의 황 원자의 공유 부착을 나타낸다. 각각의 R은 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬일 수 있다. 아마이드 기를 황 원자에 부착시키는 알킬렌쇄는 메타닐, 에타닐 또는 프로필일 수 있고, 즉 m은 1, 2 또는 3이다 (US 633410; US 5208020; 문헌 [Chari et al. (1992) Cancer Res. 52:127-131; Liu et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci USA 93:8618-8623]).

[0367]

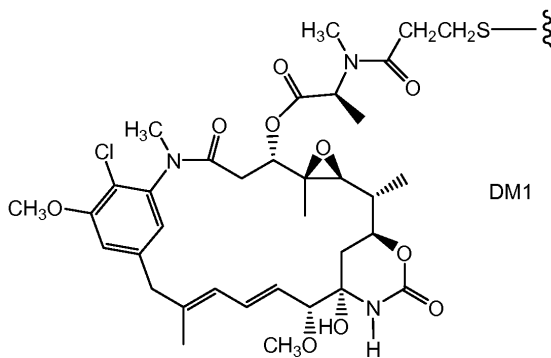
본 발명의 ADC에 대해 메이탄시노이드 약물 모이어티의 모든 입체이성질체, 즉 키랄 탄소에서 R 및 S 배위의 임의의 조합이 고려된다 (US 7276497; US 6913748; US 6441163; US 633410 (RE39151); US 5208020; 문헌 [Widdison et al. (2006) J. Med. Chem. 49:4392-4408], 이들은 그 전문이 참조로 포함됨). 일부 실시양태에서, 메이탄시노이드 약물 모이어티는 하기 입체화학 구조를 갖는다.



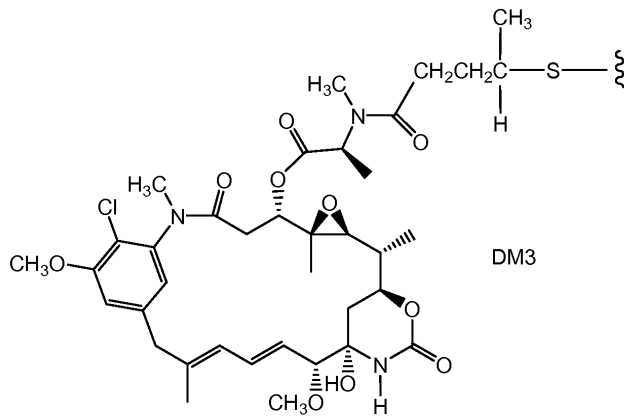
[0368]

[0369]

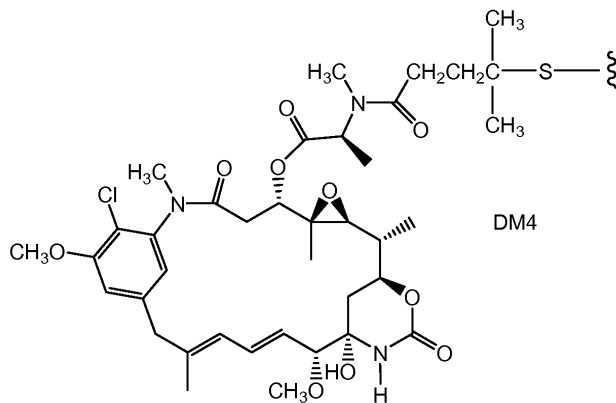
메이탄시노이드 약물 모이어티의 예시적인 실시양태는 하기 구조를 갖는 DM1; DM3; 및 DM4를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.



DM1



DM3



DM4

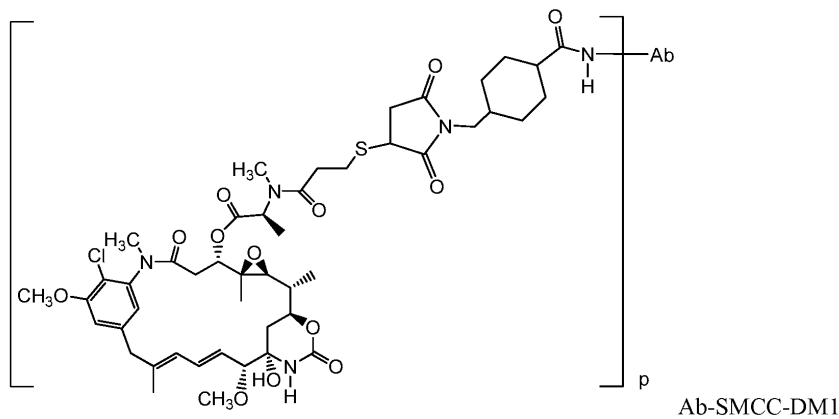
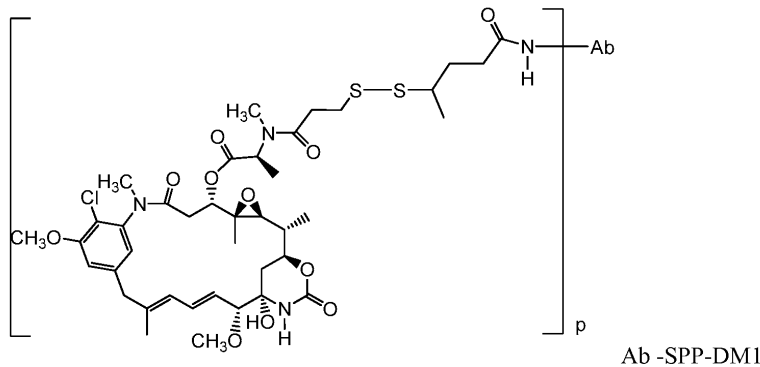
[0370]

[0371]

상기 식에서, 파상선은 항체-약물 접합체의 링커 (L)에 대한 약물의 황 원자의 공유 부착을 나타낸다.

[0372]

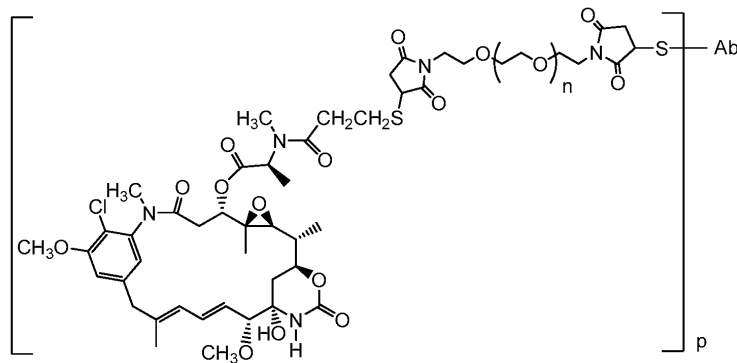
다른 예시적인 메이탄시노이드 항체-약물 접합체는 하기 구조 및 약어를 갖는다 (여기서, Ab는 항체이고, p는 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 10이거나, p는 1 내지 7이거나, p는 1 내지 5이거나, 또는 p는 1 내지 4이다).



[0373]

[0374]

DM1이 BMPEO 링커를 통해 항체의 티올 기에 연결된 예시적인 항체-약물 접합체는 하기 구조 및 약어를 갖는다.



[0375]

[0376]

상기 식에서 Ab는 항체이고; n은 0, 1 또는 2이고; p는 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 10이거나, p는 1 내지 7이거나, p는 1 내지 5이거나, 또는 p는 1 내지 4이다.

[0377]

메이탄시노이드를 함유하는 면역접합체, 그의 제조 방법, 및 그의 치료 용도는 예를 들어 미국 특허 번호 5,208,020 및 5,416,064; US 2005/0276812 A1; 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1에 개시되어 있으며, 이들 개시내용은 명백하게 본원에 참조로 포함된다. 또한, 문헌 [Liu et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996); 및 Chari et al. Cancer Research 52:127-131 (1992)]을 참조한다.

[0378]

일부 실시양태에서, 항체-메이탄시노이드 접합체는 항체 또는 메이탄시노이드 분자의 생물학적 활성을 유의하게 감소시키지 않으면서 메이탄시노이드 분자에 항체를 화학적으로 연결시켜 제조될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,208,020 (그의 개시내용은 명백하게 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다. 일부 실시양태에서, 항체 분자당 평균 3-4개의 접합된 메이탄시노이드 분자를 갖는 ADC는 항체의 기능 또는 용해도에 부정적으로 영향을

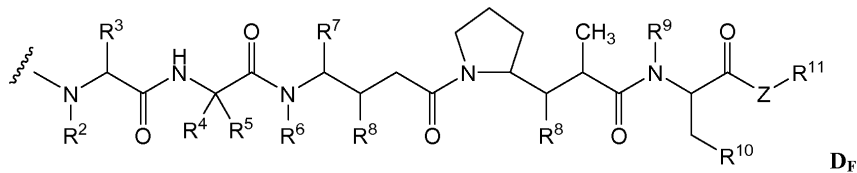
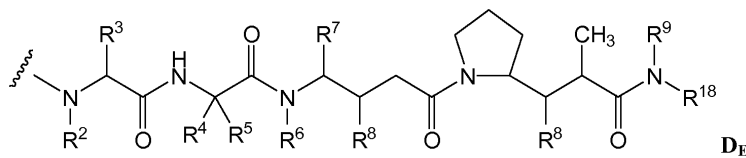
미치지 않으면서 표적 세포의 세포독성을 증진시키는데 있어서 효능을 나타내었다. 일부 경우에, 심지어 독소/항체 중 1개의 분자가 네이키드 항체의 사용에 대해서 세포독성을 증진시킬 것으로 예상된다.

[0379] 항체-메이탄시노이드 접합체를 제조하기 위한 예시적인 연결기는 예를 들어 본원에 기재된 것들 및 미국 특허 번호 5208020; 유럽 특허 0 425 235 B1; 문헌 [Chari et al. Cancer Research 52:127-131 (1992)]; US 2005/0276812 A1; 및 US 2005/016993 A1에 개시된 것들을 포함하며, 이들 개시내용은 명백하게 본원에 참조로 포함된다.

[0380] (2) 아우리스타틴 및 돌라스타틴

[0381] 약물 모이어티는 돌라스타틴, 아우리스타틴 및 그의 유사체 및 유도체 (US 5635483; US 5780588; US 5767237; US 6124431)를 포함한다. 아우리스타틴은 해양 연체동물 화합물 돌라스타틴-10의 유도체이다. 임의의 특정한 이론에 얽매어려 하지 않으면서, 돌라스타틴 및 아우리스타틴은 미세관 역학, GTP 가수분해, 및 핵 및 세포 분열을 방해하고 (Woyke et al. (2001) Antimicrob. Agents and Chemother. 45(12):3580-3584), 항암 (US 5663149) 및 항진균 활성 (Pettit et al. (1998) Antimicrob. Agents Chemother. 42:2961-2965)을 갖는 것으로 나타났다. 돌라스타틴/아우리스타틴 약물 모이어티는 펩티드성 약물 모이어티의 N (아미노) 말단 또는 C (카복실) 말단을 통해 항체에 부착될 수 있다 (WO 02/088172; 문헌 [Doronina et al. (2003) Nature Biotechnology 21(7):778-784; Francisco et al. (2003) Blood 102(4):1458-1465]).

[0382] 예시적인 아우리스타틴 실시양태는 US 7498298 및 US 7659241 (이들 개시내용은 그 전문이 명백하게 참조로 포함됨)에 개시된 N-말단 연결된 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 D_E 및 D_F를 포함한다.



[0383]

[0384] 상기 식에서, D_E 및 D_F의 파상선은 항체 또는 항체-링커 성분에 대한 공유 부착 부위를 나타내고, 독립적으로 각각의 위치에서:

[0385] R²는 H 및 C₁-C₈ 알킬로부터 선택되고;

[0386] R³은 H, C₁-C₈ 알킬, C₃-C₈ 카르보사이클, 아릴, C₁-C₈ 알킬-아릴, C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 카르보사이클), C₃-C₈ 헤테로사이클 및 C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 헤테로사이클)로부터 선택되고;

[0387] R⁴는 H, C₁-C₈ 알킬, C₃-C₈ 카르보사이클, 아릴, C₁-C₈ 알킬-아릴, C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 카르보사이클), C₃-C₈ 헤테로사이클 및 C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 헤테로사이클)로부터 선택되고;

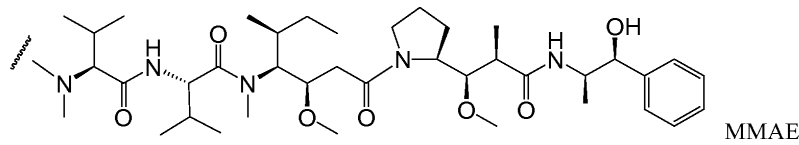
[0388] R⁵는 H 및 메틸로부터 선택되거나;

[0389] 또는 R⁴ 및 R⁵는 연결되어 카르보시클릭 고리를 형성하고, 화학식 -(CR^aR^b)_n-을 가지며, 여기서 R^a 및 R^b는 독립적으로 H, C₁-C₈ 알킬 및 C₃-C₈ 카르보사이클로부터 선택되고, n은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되고;

[0390] R⁶은 H 및 C₁-C₈ 알킬로부터 선택되고;

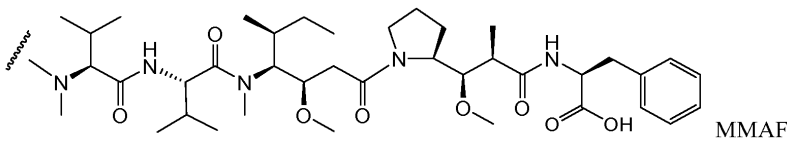
- [0391] R^7 은 H, C_1-C_8 알킬, C_3-C_8 카르보사이클, 아릴, C_1-C_8 알킬-아릴, C_1-C_8 알킬- (C_3-C_8) 카르보사이클, C_3-C_8 헤테로사이클 및 C_1-C_8 알킬- (C_3-C_8) 헤테로사이클로부터 선택되고;
- [0392] 각각의 R^8 은 독립적으로 H, OH, C_1-C_8 알킬, C_3-C_8 카르보사이클 및 $O-(C_1-C_8)$ 알킬로부터 선택되고;
- [0393] R^9 는 H 및 C_1-C_8 알킬로부터 선택되고;
- [0394] R^{10} 은 아릴 또는 C_3-C_8 헤테로사이클로부터 선택되고;
- [0395] Z는 O, S, NH 또는 NR^{12} 이고, 여기서 R^{12} 는 C_1-C_8 알킬이고;
- [0396] R^{11} 은 H, C_1-C_{20} 알킬, 아릴, C_3-C_8 헤테로사이클, $-(R^{13}O)_m-R^{14}$ 또는 $-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$ 로부터 선택되고;
- [0397] m은 1-1000 범위의 정수이고;
- [0398] R^{13} 은 C_2-C_8 알킬이고;
- [0399] R^{14} 는 H 또는 C_1-C_8 알킬이고;
- [0400] 각 경우의 R^{15} 는 독립적으로 H, COOH, $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$, $-(CH_2)_n-SO_3H$ 또는 $-(CH_2)_n-SO_3-C_1-C_8$ 알킬이고;
- [0401] 각 경우의 R^{16} 은 독립적으로 H, C_1-C_8 알킬 또는 $-(CH_2)_n-COOH$ 이고;
- [0402] R^{18} 은 $-C(R^8)_2-C(R^8)_2$ -아릴, $-C(R^8)_2-C(R^8)_2-(C_3-C_8)$ 헤테로사이클 및 $-C(R^8)_2-C(R^8)_2-(C_3-C_8)$ 카르보사이클로부터 선택되고;
- [0403] n은 0 내지 6 범위의 정수이다.
- [0404] 한 실시양태에서, R^3 , R^4 및 R^7 은 독립적으로 이소프로필 또는 sec-부틸이고, R^5 는 -H 또는 메틸이다. 예시적인 실시양태에서, R^3 및 R^4 는 각각 이소프로필이고, R^5 는 -H이고, R^7 은 sec-부틸이다.
- [0405] 또 다른 실시양태에서, R^2 및 R^6 은 각각 메틸이고, R^9 는 -H이다.
- [0406] 또 다른 실시양태에서, 각 경우의 R^8 은 $-OCH_3$ 이다.
- [0407] 예시적인 실시양태에서, R^3 및 R^4 는 각각 이소프로필이고, R^2 및 R^6 은 각각 메틸이고, R^5 는 -H이고, R^7 은 sec-부틸이고, 각 경우의 R^8 은 $-OCH_3$ 이고, R^9 는 -H이다.
- [0408] 한 실시양태에서, Z는 -O- 또는 -NH-이다.
- [0409] 한 실시양태에서, R^{10} 은 아릴이다.
- [0410] 예시적인 실시양태에서, R^{10} 은 -페닐이다.
- [0411] 예시적인 실시양태에서, Z가 -O-인 경우에, R^{11} 은 -H, 메틸 또는 t-부틸이다.
- [0412] 한 실시양태에서, Z가 -NH인 경우에, R^{11} 은 $-CH(R^{15})_2$ 이고, 여기서 R^{15} 는 $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$ 이고, R^{16} 은 $-C_1-C_8$ 알킬 또는 $-(CH_2)_n-COOH$ 이다.
- [0413] 또 다른 실시양태에서, Z가 -NH인 경우에, R^{11} 은 $-CH(R^{15})_2$ 이고, 여기서 R^{15} 는 $-(CH_2)_n-SO_3H$ 이다.

[0414] 화학식 D_E의 예시적인 아우리스타틴 실시양태는 MMAE이고, 여기서 과상선은 항체-약물 접합체의 링커 (L)에 대한 공유 부착을 나타낸다.



[0415]

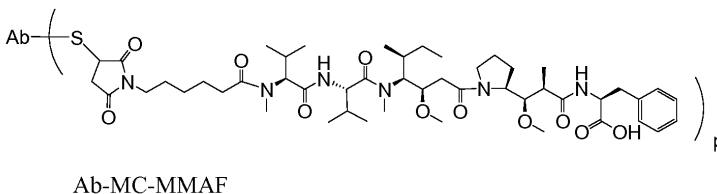
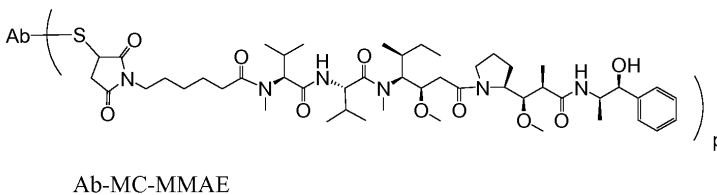
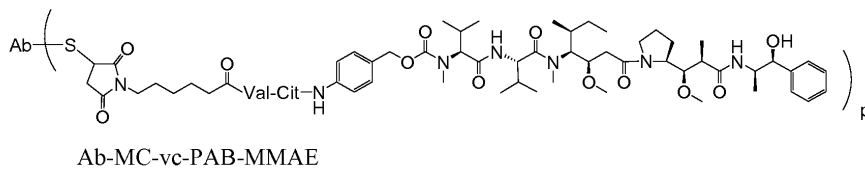
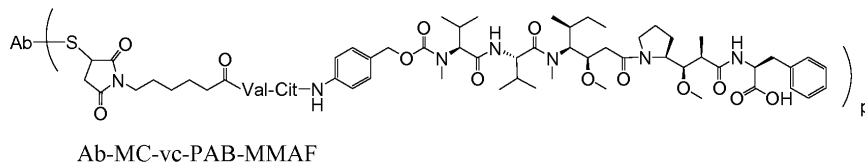
[0416] 화학식 D_F의 예시적인 아우리스타틴 실시양태는 MMAF이고, 여기서 과상선은 항체-약물 접합체의 링커 (L)에 대한 공유 부착을 나타낸다.



[0417]

[0418] 다른 예시적인 실시양태는 펜타펩티드 아우리스타틴 약물 모이어티의 C-말단에서 페닐알라닌 카르복시 변형을 갖는 모노메틸발린 화합물 (WO 2007/008848), 및 펜타펩티드 아우리스타틴 약물 모이어티의 C-말단에서 페닐알라닌 측쇄 변형을 갖는 모노메틸발린 화합물 (WO 2007/008603)을 포함한다.

[0419] MMAE 또는 MMAF 및 다양한 링커 성분을 포함하는 화학식 I의 ADC의 비제한적으로 예시적인 실시양태는 하기 구조 및 약어를 갖는다 (여기서, "Ab"는 항체이고; p는 1 내지 약 8이고, "Val-Cit"는 발린-시트룰린 디펩티드이고; "S"는 황 원자임).



[0420]

[0421] MMAF 및 다양한 링커 성분을 포함하는 화학식 I의 ADC의 비제한적으로 예시적인 실시양태는 Ab-MC-PAB-MMAF 및 Ab-PAB-MMAF를 추가로 포함한다. 단백질분해적으로 절단가능하지 않은 링커에 의해 항체에 부착된 MMAF를 포함

하는 면역접합체는 단백질분해적으로 절단가능한 링커에 의해 항체에 부착된 MMAF를 포함하는 면역접합체에 대응하는 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다 (Doronina et al. (2006) Bioconjugate Chem. 17:114-124). 일부 이러한 실시양태에서, 약물 방출은 세포에서의 항체 분해에 의해 일어나는 것으로 여겨진다.

[0422] 전형적으로, 펩티드-기재 약물 모이어티는 2개 이상의 아미노산 및/또는 펩티드 단편 사이에 펩티드 결합을 형성함으로써 제조될 수 있다. 이러한 펩티드 결합은 예를 들어 액체상 합성 방법에 따라 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [E. Schroeder and K. Luebke, "The Peptides", volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Press] 참조). 아우리스타틴/돌라스타틴 약물 모이어티는 일부 실시양태에서 US 7498298; US 5635483; US 5780588; 문헌 [Pettit et al. (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit et al. (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G.R., et al. Synthesis, 1996, 719-725; Pettit et al. (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863; 및 Doronina (2003) Nat. Biotechnol. 21(7):778-784]의 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0423] 일부 실시양태에서, 화학식 D_E, 예컨대 MMAE, 및 D_F, 예컨대 MMAF의 아우리스타틴/돌라스타틴 약물 모이어티, 및 그의 약물-링커 중간체 및 유도체, 예컨대 MC-MMAF, MC-MMAE, MC-vc-PAB-MMAF, 및 MC-vc-PAB-MMAE는 US 7498298; 문헌 [Doronina et al. (2006) Bioconjugate Chem. 17:114-124; 및 Doronina et al. (2003) Nat. Biotech. 21:778-784]에 기재된 방법에 의해 제조되고, 이어서 관심 항체에 접합될 수 있다.

[0424] (3) 칼리케아미신

[0425] 일부 실시양태에서, 면역접합체는 하나 이상의 칼리케아미신 분자에 접합된 항체를 포함한다. 칼리케아미신 펩타이드의 항생제 및 그의 유사체는 피코몰 미만의 농도에서 이중-가닥 DNA 절단을 일으킬 수 있다 (Hinman et al., (1993) Cancer Research 53:3336-3342; Lode et al., (1998) Cancer Research 58:2925-2928). 칼리케아미신은 세포내 작용 부위를 갖지만, 특정 경우에는 형질 막을 용이하게 통과하지 못한다. 따라서, 항체-매개 내재화를 통한 이들 작용제의 세포 섭취는 일부 실시양태에서 그의 세포독성 효과를 크게 증진시킬 수 있다. 칼리케아미신 약물 모이어티를 갖는 항체-약물 접합체를 제조하는 비제한적으로 예시적인 방법은 예를 들어 US 5712374; US 5714586; US 5739116; 및 US 5767285에 기재되어 있다.

[0426] (4) 피롤로벤조디아제핀

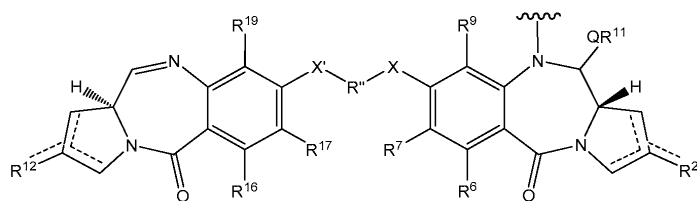
[0427] 일부 실시양태에서, ADC는 피롤로벤조디아제핀 (PBD)을 포함한다. 일부 실시양태에서, PBD 이량체는 특이적 DNA 서열을 인식하고, 그에 결합한다. 천연 생성물 안트라마이신, PBD가 1965년에 처음 보고되었다 (Leimgruber, et al., (1965) J. Am. Chem. Soc., 87:5793-5795; Leimgruber, et al., (1965) J. Am. Chem. Soc., 87:5791-5793). 그 이후로, 트리스클릭 PBD 스캐폴드의 이량체 (US 6884799; US 7049311; US 7067511; US 7265105; US 7511032; US 7528126; US 7557099)를 포함하여 다수의 PBD (자연 발생 및 유사체 둘 다)가 보고되었다 (Thurston, et al., (1994) Chem. Rev. 1994, 433-465). 임의의 특정한 이론에 얽매지 않더라도, 이량체 구조가 B-형태 DNA의 작은 홈과의 이소나선성을 한 적절한 3차원 형태를 부여함으로써, 결합 부위에서의 스너그 핏(snug fit)을 유도하는 것으로 여겨진다 (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter, (1986) Acc. Chem. Res., 19:230-237). C2 아릴 치환기를 보유하는 이량체 PBD 화합물은 세포독성제로서 유용한 것으로 밝혀졌다 (Hartley et al. (2010) Cancer Res. 70(17):6849-6858; Antonow (2010) J. Med. Chem. 53(7):2927-2941; Howard et al. (2009) Bioorganic and Med. Chem. Letters 19(22):6463-6466).

[0428] 일부 실시양태에서, PBD 화합물은 이를 N10 위치에서 생체내에서 제거가능한 질소 보호기로 보호함으로써 전구 약물로서 사용될 수 있다 (WO 00/12507; WO 2005/023814).

[0429] PBD 이량체는 항체에 접합되며, 생성된 ADC는 항암 특성을 갖는 것으로 나타났다 (US 2010/0203007). PBD 이량체 상의 비제한적으로 예시적인 연결 부위는 5-원 피롤로 고리, PBD 단위 사이의 테더, 및 N10-C11 이민 기를 포함한다 (WO 2009/016516; US 2009/304710; US 2010/047257; US 2009/036431; US 2011/0256157; WO 2011/130598).

[0430] ADC의 비제한적으로 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 A 및 그의 염 및 용매화물이다.

[0431] <화학식 A>



[0432]

[0433]

상기 식에서,

[0434]

파상선은 링커에 대한 공유 부착 부위를 나타내고;

[0435]

점선은 C1 및 C2 또는 C2 및 C3 사이의 이중 결합의 임의적인 존재를 나타내고;

[0436]

R^2 는 독립적으로 H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R 및 COR로부터 선택되고, 임의로 할로 또는 디할로로부터 추가로 선택되고, 여기서 R^D는 독립적으로 R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H 및 할로로부터 선택되고;

[0437]

R⁶ 및 R⁹는 독립적으로 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고;

[0438]

R⁷은 독립적으로 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고;

[0439]

Q는 독립적으로 O, S 및 NH로부터 선택되고;

[0440]

R¹¹은 H 또는 R이거나, 또는 Q가 O인 경우에 SO₃M이고, 여기서 M은 금속 양이온이고;

[0441]

R 및 R'는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C₁₋₈ 알킬, C₁₋₁₂ 알킬, C₃₋₈ 헤테로시클릴, C₃₋₂₀ 헤테로사이클 및 C₅₋₂₀ 아릴 기로부터 선택되고, 임의로 기 NRR'와 관련하여, R 및 R'는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 임의로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클릭 고리를 형성하고;

[0442]

R¹², R¹⁶, R¹⁹ 및 R¹⁷은 각각 R², R⁶, R⁹ 및 R⁷에 대해 정의된 바와 같고;

[0443]

R''은 C₃₋₁₂ 알킬렌 기이고, 상기쇄에는 1개 이상의 헤테로원자, 예를 들어 O, S, N(H), NMe 및/또는 임의로 치환된 방향족 고리, 예를 들어 벤젠 또는 피리딘이 개재될 수 있고;

[0444]

X 및 X'는 독립적으로 O, S 및 N(H)로부터 선택된다.

[0445]

일부 실시양태에서, R 및 R'는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C₁₋₁₂ 알킬, C₃₋₂₀ 헤테로사이클 및 C₅₋₂₀ 아릴 기로부터 선택되고, 임의로 기 NRR'와 관련하여, R 및 R'는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께 임의로 치환된 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클릭 고리를 형성한다.

[0446]

일부 실시양태에서, R⁹ 및 R¹⁹는 H이다.

[0447]

일부 실시양태에서, R⁶ 및 R¹⁶은 H이다.

[0448]

일부 실시양태에서, R⁷ 및 R¹⁷은 둘 다 OR^{7A}이고, 여기서 R^{7A}는 임의로 치환된 C₁₋₄ 알킬이다. 일부 실시양태에서, R^{7A}는 Me이다. 일부 실시양태에서, R^{7A}는 CH₂Ph이고, 여기서 Ph는 페닐 기이다.

[0449]

일부 실시양태에서, X는 O이다.

[0450]

일부 실시양태에서, R¹¹은 H이다.

[0451]

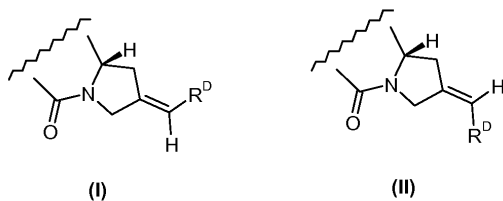
일부 실시양태에서, 각각의 단량체 단위에서의 C2와 C3 사이에 이중 결합이 존재한다.

[0452]

일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 독립적으로 H 및 R로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 독립적으로 R이다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 독립적으로 임의로 치환된 C_{5-20} 아릴 또는 C_{5-7} 아릴 또는 C_{8-10} 아릴이다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 독립적으로 임의로 치환된 페닐, 티에닐, 나프틸, 피리딜, 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐이다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 독립적으로 $=O$, $=CH_2$, $=CH-R^D$, 및 $=C(R^D)_2$ 로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 각각 $=CH_2$ 이다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 각각 H이다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 각각 $=O$ 이다. 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{12} 는 각각 $=CF_2$ 이다. 일부 실시양태에서, R^2 및/또는 R^{12} 는 독립적으로 $=C(R^D)_2$ 이다. 일부 실시양태에서, R^2 및/또는 R^{12} 는 독립적으로 $=CH-R^D$ 이다.

[0453]

일부 실시양태에서, R^2 및/또는 R^{12} 가 $=CH-R^D$ 인 경우에, 각각의 기는 독립적으로 하기 제시된 배위를 가질 수 있다.



[0454]

일부 실시양태에서, $=CH-R^D$ 는 배위 (I)로 존재한다.

[0455]

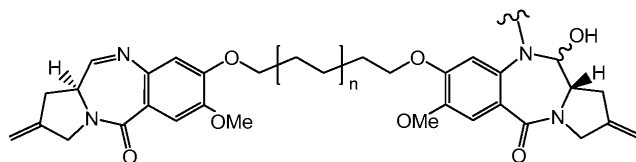
일부 실시양태에서, R^D 은 C_3 알킬렌 기 또는 C_5 알킬렌 기이다.

[0456]

일부 실시양태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 A(I)의 구조를 갖는다.

[0457]

<화학식 A(I)>



[0459]

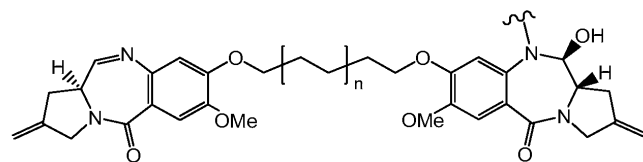
상기 식에서, n은 0 또는 1이다.

[0460]

일부 실시양태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 A(II)의 구조를 갖는다.

[0461]

<화학식 A(II)>



[0463]

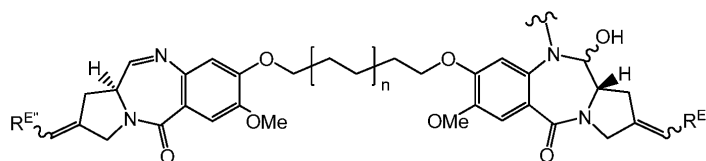
상기 식에서, n은 0 또는 1이다.

[0464]

일부 실시양태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 A(III)의 구조를 갖는다.

[0465]

[0466] <화학식 A(III)>



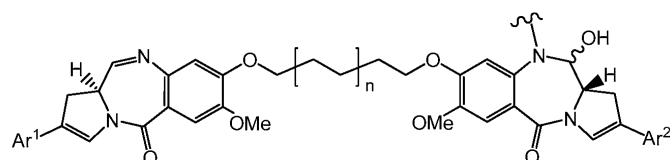
[0468] 상기 식에서, R^E 및 R^{E''}는 각각 독립적으로 H 또는 R^D로부터 선택되고, 여기서 R^D는 상기 정의된 바와 같고;

[0469] n은 0 또는 1이다.

[0470] 일부 실시양태에서, n은 0이다. 일부 실시양태에서, n은 1이다. 일부 실시양태에서, R^E 및/또는 R^{E''}는 H이다. 일부 실시양태에서, R^E 및 R^{E''}는 H이다. 일부 실시양태에서, R^E 및/또는 R^{E''}는 R^D이고, 여기서 R^D는 임의로 치환된 C₁₋₁₂ 알킬이다. 일부 실시양태에서, R^E 및/또는 R^{E''}는 R^D이고, 여기서 R^D는 메틸이다.

[0471] 일부 실시양태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 A(IV)의 구조를 갖는다.

[0472] <화학식 A(IV)>

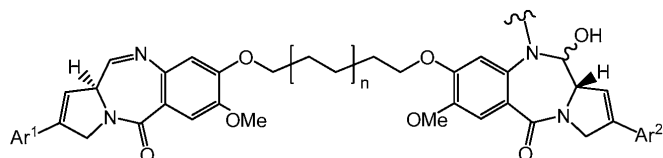


[0474] 상기 식에서, Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C₅₋₂₀ 아릴이고; 여기서 Ar¹ 및 Ar²는 동일하거나 상이할 수 있고;

[0475] n은 0 또는 1이다.

[0476] 일부 실시양태에서, ADC의 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 A(V)의 구조를 갖는다.

[0477] <화학식 A(V)>



[0479] 상기 식에서, Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로 임의로 치환된 C₅₋₂₀ 아릴이고; 여기서 Ar¹ 및 Ar²는 동일하거나 상이할 수 있고;

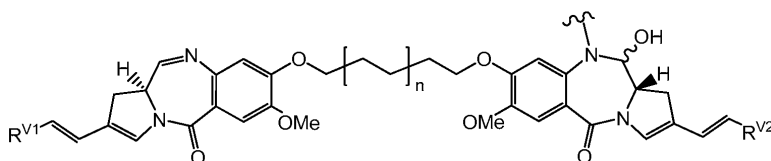
[0480] n은 0 또는 1이다.

[0481] 일부 실시양태에서, Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로 임의로 치환된 페닐, 푸라닐, 티오펜 및 피리딜로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로 임의로 치환된 페닐이다. 일부 실시양태에서, Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로 임의로 치환된 티엔-2-일 또는 티엔-3-일이다. 일부 실시양태에서, Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로 임의로 치환된 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐이다. 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐 기는 임의의 이용가능한 고리 위치를 통해 PBD 코어에 결합될 수 있다. 예를 들어, 퀴놀리닐은 퀴놀린-2-일, 퀴놀린-3-일, 퀴놀린-4-일, 퀴놀린-5-일, 퀴놀린-6-일, 퀴놀린-7-일 및 퀴놀린-8-일일 수 있다. 일부 실시양태에서, 퀴놀리닐은 퀴놀린-3-일 및 퀴놀린-6-일로부터 선택된다. 이소퀴놀리닐은 이소퀴놀린-1-일, 이소퀴놀린-3-일, 이소퀴놀린-4-일, 이소퀴놀린-5-일, 이소퀴놀린-6-일, 이소퀴놀린-7-일 및 이소퀴놀린-8-일일 수 있다. 일부 실시양태에서,

이소퀴놀리닐은 이소퀴놀린-3-일 및 이소퀴놀린-6-일로부터 선택된다.

ADC의 추가의 비제한적으로 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 B 및 그의 염 및 용매화물이다.

<화학식 B>



상기 식에서,

파상선은 링커에 대한 공유 부착 부위를 나타내고;

OH에 연결된 파상선은 S 또는 R 배위를 나타내고;

R^{V1} 및 R^{V2} 는 독립적으로 H, 메틸, 에틸 및 페닐 (상기 페닐은 특히 4 위치에서 플루오로로 임의로 치환될 수 있음) 및 C₅₋₆ 헤테로시클릴로부터 선택되고; 여기서 R^{V1} 및 R^{V2} 는 동일하거나 상이할 수 있고;

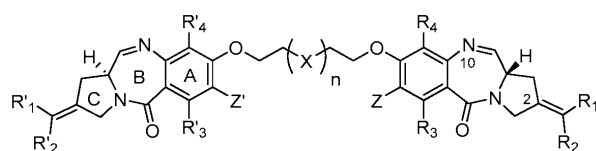
n은 0 또는 1이다.

일부 실시양태에서, R^{V1} 및 R^{V2} 는 독립적으로 H, 페닐, 및 4-플루오로페닐로부터 선택된다.

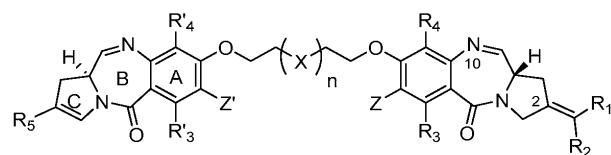
일부 실시양태에서, 링커는 B 고리의 N10 이민, C 고리의 C-2 엔도/엑소 위치, 또는 A 고리를 연결하는 테터 단위를 포함하여, PBD 이량체 약물 모이어티의 다양한 부위 중 하나에 부착될 수 있다 (하기 구조 C(I) 및 C(II) 참조).

ADC의 비제한적으로 예시적인 PBD 이량체 성분은 하기 화학식 C(I) 및 C(II)를 포함한다.

<화학식 C(I)>



<화학식 C(II)>



화학식 C(I) 및 C(II)는 그의 N10-C11 이민 형태로 제시된다. 예시적인 PBD 약물 모이어티는 또한 하기 표에 제시된 바와 같은 카르비놀아민 및 보호된 카르비놀아민 형태를 포함한다.

이민	카르비놀아민	보호된 카르비놀아민

상기 식에서,

X는 CH₂ (n = 1 내지 5), N 또는 O이고;

Z 및 Z'는 독립적으로 OR 및 NR₂로부터 선택되고, 여기서 R은 1 내지 5개의 탄소 원자를 함유하는 1급, 2급 또

는 3급 알킬 쇠이고;

[0502] R_1 , R'_1 , R_2 및 R'_2 는 각각 독립적으로 H, C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알케닐, C_2-C_8 알키닐, C_{5-20} 아릴 (치환된 아릴 포함), C_{5-20} 헤테로아릴 기, $-NH_2$, $-NHMe$, $-OH$ 및 $-SH$ 로부터 선택되고, 여기서, 일부 실시양태에서, 알킬, 알케닐 및 알키닐 쇠는 5개 이하의 탄소 원자를 포함하고;

[0503] R_3 및 R'_3 는 독립적으로 H, OR, NHR 및 NR_2 로부터 선택되고, 여기서 R은 1 내지 5개의 탄소 원자를 함유하는 1급, 2급 또는 3급 알킬 쇠이고;

[0504] R_4 및 R'_4 는 독립적으로 H, Me 및 OMe로부터 선택되고;

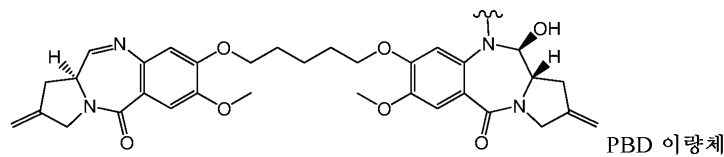
[0505] R_5 는 C_1-C_8 알킬, C_2-C_8 알케닐, C_2-C_8 알키닐, C_{5-20} 아릴 (할로, 니트로, 시아노, 알콕시, 알킬, 헤테로시클릴에 의해 치환된 아릴 포함) 및 C_{5-20} 헤테로아릴 기로부터 선택되고, 여기서 일부 실시양태에서, 알킬, 알케닐 및 알키닐 쇠는 5개 이하의 탄소 원자를 포함하고;

[0506] R_{11} 은 H, C_1-C_8 알킬 또는 보호기 (예컨대, 아세틸, 트리플루오로아세틸, t-부톡시카르보닐 (BOC), 벤질옥시카르보닐 (CBZ), 9-플루오레닐메틸렌옥시카르보닐 (Fmoc), 또는 자기-희생 단위, 예컨대 발린-시트룰린-PAB를 포함하는 모이어티)이고;

[0507] R_{12} 는 H, C_1-C_8 알킬 또는 보호기이고;

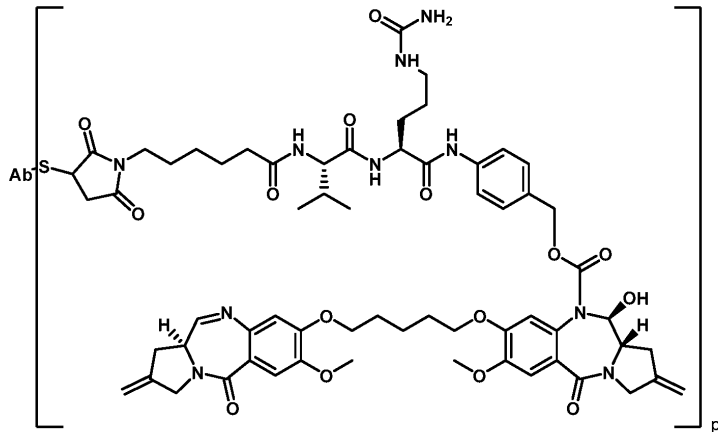
[0508] 여기서, R_1 , R'_1 , R_2 , R'_2 , R_5 또는 R_{12} 중 하나의 수소, 또는 A 고리 사이의 $-OCH_2CH_2(X)_nCH_2CH_2O-$ 스페이서의 수소는 ADC의 링커에 연결된 결합으로 대체된다.

[0509] ADC의 예시적인 PDB 이량체 부분은 다음을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다 (파상선은 링커에 대한 공유 부착의 부위를 나타냄).

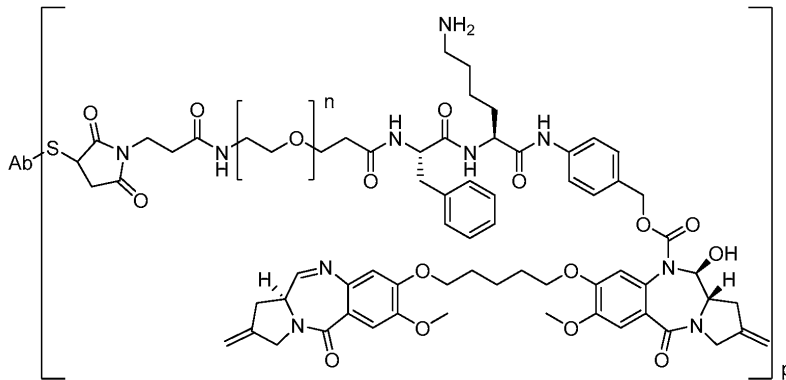


[0510]

[0511] PBD 이량체를 포함하는 ADC의 비제한적으로 예시적인 실시양태는 하기 구조를 갖는다.



PBD 이량체-val-cit-PAB-Ab;



PBD 이량체-Phe-Lys-PAB-Ab

[0512]

[0513] 상기 식에서, n은 0 내지 12이다. 일부 실시양태에서, n은 2 내지 10이다. 일부 실시양태에서, n은 4 내지 8이다. 일부 실시양태에서, n은 4, 5, 6, 7 및 8로부터 선택된다.

[0514] PBD 이량체-val-cit-PAB-Ab 및 PBD 이량체-Phe-Lys-PAB-Ab의 링커는 프로테아제 절단가능하며, PBD 이량체-말레이미드-아세트알의 링커는 산-불안정성이다.

[0515] PBD 이량체 및 PBD 이량체를 포함하는 ADC는 관련 기술분야에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, WO 2009/016516; US 2009/304710; US 2010/047257; US 2009/036431; US 2011/0256157; WO 2011/130598을 참조한다.

[0516] (5) 안트라시클린

[0517] 일부 실시양태에서, ADC는 안트라시클린을 포함한다. 안트라시클린은 세포독성 활성을 나타내는 항생제 화합물이다. 임의의 특정한 이론에 얽매이려 하지 않으면서, 연구는 안트라시클린이 다음을 포함하는 다수의 상이한 메커니즘에 의해 세포를 사멸시키는 작업을 할 수 있다는 것을 나타내었다: 1) 세포의 DNA로 약물 분자가 삽입되어 DNA-의존성 핵산 합성을 억제함, 2) 약물에 의해 자유 라디칼이 생성되고, 이는 이어서 세포 거대분자와 반응하여 세포에 대한 손상을 유발함, 및/또는 3) 약물 분자와 세포 막의 상호작용 (예를 들어, 문헌 [C. Peterson et al., "Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia" in Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy; N.R. Bachur, "Free Radical Damage" id. at pp.97-102] 참조). 그의 세포독성 잠재성으로 인해, 안트라시클린은 다수의 암, 예컨대 백혈병, 유방 암종, 폐 암종, 난소 선암종 및 육종의 치료에 사용되어 왔다 (예를 들어, 문헌 [P.H. Wiernik, in Anthracycline: Current Status And New Developments p 11] 참조).

[0518] 비제한적으로 예시적인 안트라시클린은 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 다우노마이신, 네모루비신 및 그의 유도체를 포함한다. 다우노루비신 및 독소루비신의 면역접합체 및 전구약물이 제조되고 연구되었다 (Kratz

et al. (2006) Current Med. Chem. 13:477-523; Jeffrey et al. (2006) Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362; Torgov et al. (2005) Bioconj. Chem. 16:717-721; Nagy et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834; Dubowchik et al. (2002) Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532; King et al. (2002) J. Med. Chem. 45:4336-4343; EP 0328147; US 6630579). 항체-약물 접합체 BR96-독소루비신은 중앙-연관 항원 루이스-Y와 특이적으로 반응하며, I상 및 II상 연구에서 평가된 바 있다 (Saleh et al. (2000) J. Clin. Oncology 18:2282-2292; Ajani et al. (2000) Cancer Jour. 6:78-81; Tolcher et al. (1999) J. Clin. Oncology 17:478-484).

[0519]

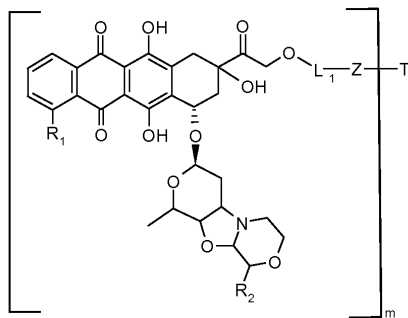
PNU-159682는 네모루비신의 강력한 대사물 (또는 유도체)이다 (Quintieri, et al. (2005) Clinical Cancer Research 11(4):1608-1617). 네모루비신은 독소루비신의 글리코시드 아미노 상에 2-메톡시모르폴리노 기를 갖는 독소루비신의 반합성 유사체이고, 간세포성 암종에 대한 II상/III상 시험 (Sun et al. (2003) Proceedings of the American Society for Clinical Oncology 22, Abs1448; Quintieri (2003) Proceedings of the American Association of Cancer Research, 44:1st Ed, Abs 4649; Pacciarini et al. (2006) Jour. Clin. Oncology 24:14116)을 비롯하여, 임상 평가 중에 있다 (Grandi et al. (1990) Cancer Treat. Rev. 17:133; Ripamonti et al. (1992) Brit. J. Cancer 65:703)

[0520]

네모루비신 또는 네모루비신 유도체를 포함하는 비제한적으로 예시적인 ADC는 하기 화학식 Ia 또는 그의 제약상 허용되는 염으로 제시된다.

[0521]

<화학식 Ia>



[0522]

상기 식에서, R₁은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고, R₂는 C₁-C₅ 알콕시 기이고;

[0523]

L₁ 및 Z는 함께 본원에 기재된 바와 같은 링커 (L)이고;

[0524]

T는 본원에 기재된 바와 같은 항체 (Ab)이고;

[0525]

m은 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, m은 1 내지 10, 1 내지 7, 1 내지 5, 또는 1 내지 4이다.

[0526]

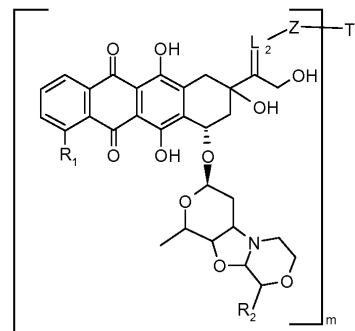
일부 실시양태에서, R₁ 및 R₂는 둘 다 메톡시 (-OMe)이다.

[0527]

네모루비신 또는 네모루비신 유도체를 포함하는 추가의 비제한적으로 예시적인 ADC는 하기 화학식 Ib 또는 그의 제약상 허용되는 염으로 제시된다.

[0528]

<화학식 Ib>



[0530]

[0531] 상기 식에서, R_1 은 수소 원자, 히드록시 또는 메톡시 기이고, R_2 는 C_1-C_6 알콕시 기이고;

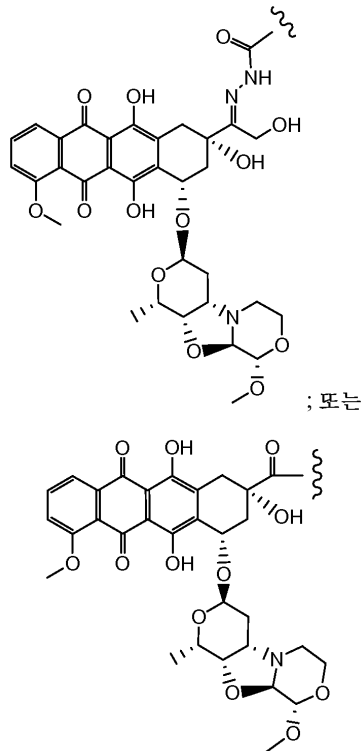
[0532] L_2 및 Z 는 함께 본원에 기재된 바와 같은 링커 (L)이고;

[0533] T는 본원에 기재된 바와 같은 항체 (Ab)이고;

[0534] m은 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, m은 1 내지 10, 1 내지 7, 1 내지 5, 또는 1 내지 4이다.

[0535] 일부 실시양태에서, R_1 및 R_2 는 둘 다 메톡시 (-OMe)이다.

[0536] 일부 실시양태에서, 네모루비신-함유 ADC의 네모루비신 성분은 PNU-159682이다. 일부 이러한 실시양태에서, ADC의 약물 부분은 하기 구조 중 하나를 가질 수 있다.



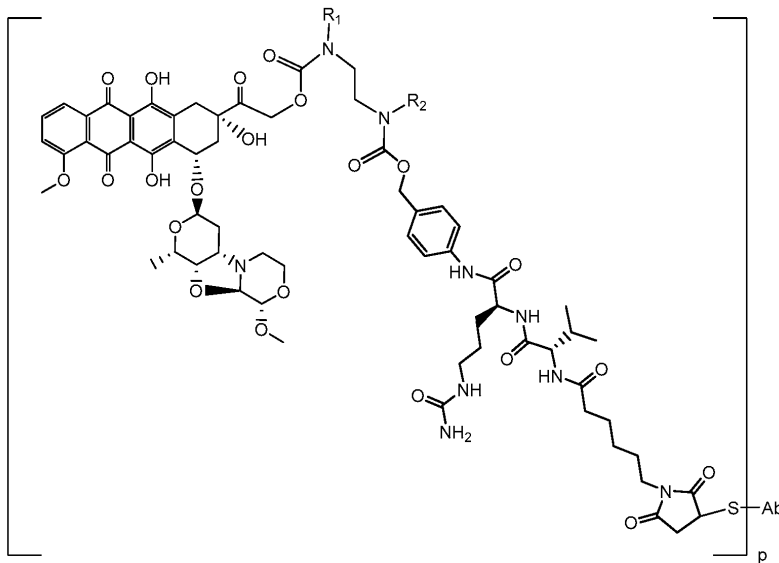
[0537]

[0538] 상기 식에서, 파상선은 링커 (L)에 대한 부착을 나타낸다.

[0539] PNU-159682를 포함하는 안트라시클린은 여러 연결 부위 및 다양한 링커 (US 2011/0076287; W02009/099741; US 2010/0034837; W0 2010/009124), 예를 들어 본원에 기재된 링커를 통해 항체에 접합될 수 있다.

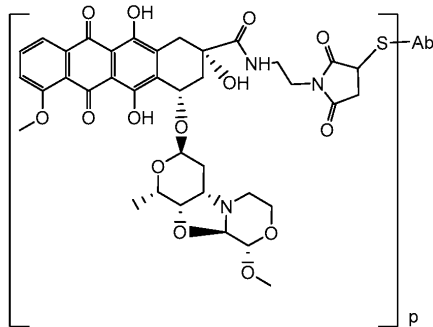
COC1=CC=C2C(=C1)C(=O)C3=C(C(=O)C4=C(C(=O)C5=CC=C(C=C5)OC)O)O[C@H](C[C@@H](O)COC6OCCOC6COC(=O)NCC7C(=O)N(C7)SC8=CC=CC=C8)C[C@H](O)[C@@H](C9OC[C@H](OC)[C@H](C9)N1CCOC1)C32COC1=CC=C(C=C1)C2=CC(=O)C3=C(C(=O)C4=C(C(=O)C5=C(C=C(C=C5)OC)O)O)O[C@H]4[C@@H](C[C@H]6[C@@H](O)C[C@H](C[C@H]6N7CCN(CC7)C(=O)OCC(=O)N[C@@H](C(=O)N[C@@H](C[C@H](C)C)C(=O)NCCCCC8C(=O)N(C8=O)SC9=CC=CC=C9C)C)C)O)C2[illegible]

[0541]



PNU-159682-val-cit-PAB-스페이스(R^1R^2)-Ab

(상기 식에서, R_1 및 R_2 는 독립적으로 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 선택됨); 및



PNU-159682-말레이미드-Ab

PNU-159682 말레이미드 아세트알-Ab의 링커는 산-불안정성이며, PNU-159682-val-cit-PAB-Ab, PNU-159682-val-cit-PAB-스페이스-Ab, 및 PNU-159682-val-cit-PAB-스페이스(R^1R^2)-Ab의 링커는 프로테아제 절단가능하다.

(6) 기타 약물 모이어티

약물 모이어티는 또한 겔다나마이신 (Mandler et al. (2000) J. Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581; Mandler et al. (2000) Bioorganic & Med. Chem. Letters 10:1025-1028; Mandler et al. (2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791); 및 그의 효소적 활성 독소 및 그의 단편, 예를 들어 비제한적으로 디프테리아 A쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A쇄 (슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa)로부터 유래됨), 리신 A쇄, 아브린 A쇄, 모데신 A쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(Phytolacca americana) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(momordica charantia) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(sapaonaria officinalis) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센을 포함한다. 예를 들어, WO 93/21232를 참조한다.

약물 모이어티는 또한 핵산분해 활성 (예를 들어, 리보뉴클레아제 또는 DNA 엔도뉴클레아제)을 갖는 화합물을 포함한다.

특정 실시양태에서, 면역접합체는 고도의 방사성 원자를 포함할 수 있다. 다양한 방사성 동위원소가 방사성접합된 항체의 생산을 위해 이용가능하다. 그 예는 ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb , 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역접합체가 검출용으로 사용되는 경우에, 이는 신티

그래피 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들어 Tc^{99} 또는 I^{123} , 또는 핵 자기 공명 (NMR) 영상화 (자기 공명 영상화, MRI로도 공지됨)용 스핀 표지, 예컨대 지르코늄-89, 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 플루오린-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망가니즈 또는 철을 포함할 수 있다. 지르코늄-89는 예를 들어 PET 영상화를 위해, 다양한 금속 킬레이트화제에 복합체화되고, 항체에 접합될 수 있다 (WO 2011/056983).

[0550]

방사성- 또는 다른 표지는 공지된 방식으로 면역접합체에 혼입될 수 있다. 예를 들어, 펩티드는 생합성될 수 있거나, 또는 예를 들어 1개 이상의 수소 대신에 하나 이상의 플루오린-19 원자를 포함하는 적합한 아미노산 잔기를 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표지, 예컨대 Tc^{99} , I^{123} , Re^{186} , Re^{188} 및 In^{111} 은 항체에서 시스테인 잔기를 통해 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 이트륨-90은 항체의 리신 잔기를 통해 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 아이오도젠(ODOGEN) 방법 (Fraker et al. (1978) Biochem. Biophys. Res. Commun. 80: 49-57)을 이용하여 아이오딘-123을 혼입시킬 수 있다. 문헌 ["Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989)]에는 특정의 다른 방법이 기재되어 있다.

[0551]

특정 실시양태에서, 면역접합체는 전구약물-활성화 효소에 접합된 항체를 포함할 수 있다. 일부 이러한 실시양태에서, 전구약물-활성화 효소는 전구약물 (예를 들어, 펩티딜 화학요법제, WO 81/01145 참조)을 활성 약물, 예컨대 항암 약물로 전환시킨다. 이러한 면역접합체는 일부 실시양태에서 항체-의존성 효소-매개 전구약물 요법 ("ADEPT")에 유용하다. 항체에 접합될 수 있는 효소는 포스페이트-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 알칼리성 포스파타제; 술페이트-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 아릴술포타제; 비-독성 5-플루오로시토신을 항암 약물인 5-플루오로우라실로 전환시키는데 유용한 시토신 데아미나제; 펩티드-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 프로테아제, 예컨대 세라티아 프로테아제, 썬모리신, 서브틸리신, 카르복시펩티다제 및 카텝신 (예컨대, 카텝신 B 및 L); D-아미노산 치환기를 함유하는 전구약물을 전환시키는데 유용한 D-알라닐카르복시펩티다제; 글리코실화 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 탄수화물-절단 효소, 예컨대 β -갈락토시다제 및 뉴라미니다제; β -락탐으로 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 β -락타마제; 및 그의 아민 질소에서 각각 페녹시아세틸 또는 페닐아세틸 기로 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 페닐실린 아미다제, 예컨대 페닐실린 V 아미다제 또는 페닐실린 G 아미다제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 효소는 관련 기술분야에 널리 공지된 재조합 DNA 기술에 의해 항체에 공유 결합될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Neuberger et al., Nature 312:604-608 (1984)]을 참조한다.

[0552]

c) 약물 로딩

[0553]

약물 로딩은 화학식 I의 분자에서의 항체당 약물 모이어티의 평균 수인 p로 표시된다. 약물 로딩은 항체당 1 내지 20개의 약물 모이어티 (D) 범위일 수 있다. 화학식 I의 ADC는 1 내지 20개의 약물 모이어티와 접합된 항체의 집합체를 포함한다. 접합 반응에 의한 ADC의 제조에서 항체당 약물 모이어티의 평균 수는 통상의 수단, 예컨대 질량 분광분석법, ELISA 검정 및 HPLC에 의해 특성화될 수 있다. 또한, ADC의 정량적 분포가 p의 측면에서 결정될 수 있다. 일부 경우에, p가 다른 약물 로딩을 갖는 ADC로부터의 특정 값인 균질 ADC의 분리, 정제 및 특성화는 역상 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 달성될 수 있다.

[0554]

일부 항체-약물 접합체의 경우에, p는 항체 상의 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 예를 들어, 상기 특정의 예시적인 실시양태에서와 같이 부착이 시스테인 티올인 경우, 항체는 시스테인 티올 기를 단지 1개 또는 여러 개 가질 수 있거나, 또는 링커가 부착될 수 있는 충분히 반응성인 티올 기를 단지 1개 또는 여러 개 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 보다 큰 약물 로딩, 예를 들어 $p > 5$ 는 특정 항체-약물 접합체의 응집, 불용성, 독성, 또는 세포 투과성 상실을 야기할 수 있다. 특정 실시양태에서, ADC에 대한 평균 약물 로딩은 1 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 또는 약 3 내지 약 5의 범위이다. 실제로, 특정 ADC의 경우에, 항체당 약물 모이어티의 최적 비는 8 미만일 수 있고, 약 2 내지 약 5일 수 있는 것으로 밝혀졌다 (US 7498298).

[0555]

특정 실시양태에서, 이론적 최대치 미만의 약물 모이어티가 접합 반응 동안 항체에 접합된다. 항체는 예를 들어 하기에 논의되는 바와 같이 약물-링커 중간체 또는 링커 시약과 반응하지 않는 리신 잔기를 함유할 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 다수의 유리 및 반응성 시스테인 티올 기를 함유하지 않고, 실제로 항체 내의 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디설피드 가교로 존재한다. 특정 실시양태에서, 항체를 부분 또는 완전한 환원 조건 하에 환원제, 예컨대 디티오프로트레이톨 (DTT) 또는 트리카르보닐에틸포스핀 (TCEP)으로 환원시켜 반응성 시스테인 티올 기를 생성시킬 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 변성 조건에 적용되어 반응성 친핵성 기, 예를 들어 리신 또는 시스테인을 드러내게 된다.

- [0556] ADC의 로딩 (약물/항체 비)은 다양한 방식으로, 예를 들어 (i) 항체에 비해 물 과량의 약물-링커 중간체 또는 링커 시약을 제한하는 것, (ii) 접합 반응 시간 또는 온도를 제한하는 것, 및 (iii) 시스테인 티올 변형에 대한 부분 또는 제한 환원 조건에 의해 제어될 수 있다.
- [0557] 1개 초과와 친핵성 기가 약물-링커 중간체 또는 링커 시약과 반응하는 경우에, 생성된 생성물은 항체에 부착된 1개 이상의 약물 모이어티의 분포를 갖는 ADC 화합물의 혼합물인 것으로 이해하여야 한다. 항체당 약물의 평균 수는 항체에 특이적이고 약물에 특이적인 이중 ELISA 항체 검정에 의해 혼합물로부터 계산될 수 있다. 개별 ADC 분자는 질량 분광분석법에 의해 혼합물 내에서 확인되고, HPLC, 예를 들어 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [McDonagh et al. (2006) Prot. Engr. Design & Selection 19(7):299-307; Hamblett et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Hamblett, K.J., et al. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C., et al. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004] 참조). 특정 실시양태에서, 단일 로딩 값을 갖는 균질 ADC는 전기영동 또는 크로마토그래피에 의해 접합 혼합물로부터 분리될 수 있다.
- [0558] d) 면역접합체를 제조하는 특정 방법
- [0559] 화학식 I의 ADC는 통상의 기술자에게 공지되어 있는 유기 화학 반응, 조건 및 시약을 사용하여 몇몇 경로에 의해, 예를 들어 (1) 항체의 친핵성 기를 2가 링커 시약과 반응시켜, 공유 결합을 통해 Ab-L을 형성시킨 후, 이를 약물 모이어티 D와 반응시키는 것; 및 (2) 약물 모이어티의 친핵성 기를 2가 링커 시약과 반응시켜, 공유 결합을 통해 D-L을 형성시킨 후, 이를 항체의 친핵성 기와 반응시키는 것에 의해 제조될 수 있다. 후자 경로를 통해 화학식 I의 ADC를 제조하는 예시적인 방법은 US 7498298에 기재되어 있으며, 이는 명백하게 본원에 참조로 포함된다.
- [0560] 항체 상의 친핵성 기는 (i) N-말단 아민 기, (ii) 측쇄 아민 기, 예를 들어 리신, (iii) 측쇄 티올 기, 예를 들어 시스테인, 및 (iv) 항체가 글리코실화되는 당 히드록실 또는 아미노 기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 아민, 티올 및 히드록실 기는 친핵성이고, 링커 모이어티 및 링커 시약 상의 친전자성 기, 예를 들어 (i) 활성 에스테르, 예컨대 NHS 에스테르, HOBT 에스테르, 할로포르메이트 및 산 할라이드; (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예컨대 할로아세트아미드; 및 (iii) 알데히드, 케톤, 카르복실 및 말레이미드 기와 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있다. 특정 항체는 환원가능한 쇠간 디설피드, 즉 시스테인 가교를 갖는다. 항체가 완전히 또는 부분적으로 환원되도록, 항체를 환원제, 예컨대 DTT (디티오프레이톨) 또는 트리카르보닐에틸포스핀 (TCEP)으로 처리함으로써 링커 시약과의 접합을 위해 반응성이 되도록 할 수 있다. 따라서, 각각의 시스테인 가교는 이론상 2개의 반응성 티올 친핵체를 형성할 것이다. 리신 잔기의 변형을 통해, 예를 들어 아민을 티올로 전환시키는, 리신 잔기와 2-이미노티올란 (트라우트 시약)의 반응에 의해 추가의 친핵성 기를 항체 내로 도입할 수 있다. 반응성 티올 기는 또한 1, 2, 3, 4개, 또는 그 초과와 시스테인 잔기를 도입함으로써 (예를 들어, 1개 이상의 비천연 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 변이체 항체를 제조함으로써) 항체 내로 도입될 수 있다.
- [0561] 본 발명의 항체-약물 접합체는 또한 링커 시약 또는 약물 상의 친핵성 기와 항체 상의 친전자성 기, 예컨대 알데히드 또는 케톤 카르보닐 기 사이의 반응에 의해 생성될 수 있다. 링커 시약 상의 유용한 친핵성 기는 히드라이드, 옥심, 아미노, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실레이트, 및 아릴히드라이드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, 항체를 변형시켜 링커 시약 또는 약물 상의 친핵성 치환기와 반응할 수 있는 친전자성 모이어티를 도입한다. 또 다른 실시양태에서, 글리코실화 항체의 당을, 예를 들어 피아이오데이트 산화 시약으로 산화시켜 링커 시약 또는 약물 모이어티의 아민 기와 반응할 수 있는 알데히드 또는 케톤 기를 형성할 수 있다. 생성된 이민 슈프 염기 기는 안정한 연결을 형성할 수 있거나, 또는 예를 들어 보로히드라이드 시약에 의해 환원되어 안정한 아민 연결을 형성할 수 있다. 한 실시양태에서, 글리코실화 항체의 탄수화물 부분을 갈락토스 옥시다제 또는 메타과아이오딘산나트륨과 반응시키면, 약물 상의 적절한 기와 반응할 수 있는 카르보닐 (알데히드 및 케톤) 기가 항체 내에 생성될 수 있다 (Hermanson, Bioconjugate Techniques). 또 다른 실시양태에서, N-말단 세린 또는 트레오닌 잔기를 함유하는 항체를 메타과아이오딘산나트륨과 반응시켜, 제1 아미노산 대신에 알데히드 생산을 일으킬 수 있다 (Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146; US 5362852). 이러한 알데히드는 약물 모이어티 또는 링커 친핵체와 반응할 수 있다.

- [0562] 약물 모이어티 상의 예시적인 친핵성 기는, 링커 모이어티 및 링커 시약 상의 친전자성 기, 예를 들어 (i) 활성 에스테르, 예컨대 NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트 및 산 할라이드, (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예컨대 할로아세트아미드, (iii) 알데히드, 케톤, 카르복실 및 말레이미드 기와 공유 결합을 형성하는 반응을 할 수 있는 아민, 티올, 히드록실, 히드라지드, 옥심, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실레이트 및 아릴히드라지드 기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0563] ADC를 제조하는데 사용될 수 있는 비제한적으로 예시적인 교차-링커 시약은 "예시적인 링커" 표제의 섹션에서 본원에 기재된다. 단백질성 모이어티 및 화학적 모이어티를 비롯하여 2개의 모이어티를 연결하기 위해 이러한 교차-링커 시약을 사용하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 항체 및 세포독성제를 포함하는 융합 단백질은 예를 들어 재조합 기술 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 재조합 DNA 분자는 접합체의 목적하는 특성을 파괴하지 않는 링커 펩티드를 코딩하는 영역에 의해 분리되거나 또는 서로 인접해 있는, 접합체의 항체 및 세포독성 부분을 코딩하는 영역을 포함할 수 있다.
- [0564] 또 다른 실시양태에서, 항체를 종양 예비표적화에 활용하기 위해 "수용체" (예컨대, 스트렙타비딘)에 접합시킬 수 있으며, 여기서 항체-수용체 접합체를 환자에게 투여한 후에, 제거제를 사용하여 미결합 접합체를 순환계로부터 제거하고, 이어서 세포독성제 (예를 들어, 약물 또는 방사성뉴클레오타이드)에 접합된 "리간드" (예를 들어, 아비딘)를 투여한다.
- [0565] E. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물
- [0566] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-B7-H4 항체는 생물학적 샘플에서 B7-H4의 존재를 검출하는데 유용하다. 본원에 사용된 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포괄한다. "생물학적 샘플"은, 예를 들어 세포 또는 조직 (예를 들어, 암성 또는 잠재적 암성 유방, 자궁내막 또는 난소 조직을 포함하는 생검 물질)을 포함한다.
- [0567] 한 실시양태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-B7-H4 항체가 제공된다. 추가 측면에서, 생물학적 샘플에서 B7-H4의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 방법은 생물학적 샘플을 본원에 기재된 바와 같은 항-B7-H4 항체와, B7-H4에 대한 항-B7-H4 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 접촉시키고, 생물학적 샘플에서 항-B7-H4 항체와 B7-H4 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는, 예를 들어 B7-H4가 환자의 선택을 위한 바이오마커인 경우에, 항-B7-H4 항체를 사용하는 요법에 적절한 대상체를 선택하는데 사용된다. 추가 실시양태에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직 (예를 들어, 암성 또는 잠재적 암성 유방, 자궁내막 또는 난소 조직을 포함하는 생검 물질)이다.
- [0568] 추가 실시양태에서, 항-B7-H4 항체는 예를 들어 생체내 영상화에 의해 대상체에서의 B7-H4-양성 암을 검출하기 위해, 예를 들어 암을 진단하거나, 예측하거나 또는 병기결정하거나, 요법의 적절한 과정을 결정하거나, 또는 요법에 대한 암의 반응을 모니터링하는 목적을 위해 생체내에서 사용된다. 생체내 검출에 대해 관련 기술분야에 공지된 한 방법은, 예를 들어 문헌 [van Dongen et al., The Oncologist 12:1379-1389 (2007) 및 Verel et al., J. Nucl. Med. 44:1271-1281 (2003)]에 기재된 바와 같은 면역-양전자 방사 단층촬영 (면역-PET)이다. 이러한 실시양태에서, 표지된 항-B7-H4 항체를 B7-H4-양성 암을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되는 대상체에게 투여하고, 대상체에서 표지된 항-B7-H4 항체를 검출하는 것을 포함하며, 여기서 표지된 항-B7-H4 항체의 검출은 대상체에서의 B7-H4-양성 암을 나타내는 것인, 대상체에서 B7-H4-양성 암을 검출하는 방법이 제공된다. 특정의 이러한 실시양태에서, 표지된 항-B7-H4 항체는 양전자 방출체, 예컨대 ^{68}Ga , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{76}Br , ^{89}Zr , 및 ^{124}I 에 접합된 항-B7-H4 항체를 포함한다. 특정한 실시양태에서, 양전자 방출체는 ^{89}Zr 이다.
- [0569] 추가 실시양태에서, 진단 또는 검출의 방법은 기질에 고정화된 제1 항-B7-H4 항체를 B7-H4의 존재에 대해 시험될 생물학적 샘플과 접촉시키고, 기질을 제2 항-B7-H4 항체에 노출시키고, 제2 항-B7-H4가 생물학적 샘플에서 제1 항-B7-H4 항체 및 B7-H4 사이의 복합체에 결합되는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 기질은 임의의 지지체 매질, 예를 들어 유리, 금속, 세라믹, 중합체 비드, 슬라이드, 칩 및 다른 기질일 수 있다. 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직 (예를 들어, 암성 또는 잠재적 암성 유방, 자궁내막 또는 난소 조직을 포함하는 생검 물질)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 또는 제2 항-B7-H4 항체는 본원에 기재된 임의의 항체이다.
- [0570] 임의의 상기 실시양태에 따라 진단 또는 검출될 수 있는 예시적인 장애는 B7-H4-양성 암, 예컨대 B7-H4-양성 유방암, B7-H4-양성 난소암 및 B7-H4-양성 자궁내막암을 포함한다. 일부 실시양태에서, B7-H4-양성 암은, 실시예

B에서 본원에 기재된 조건 하에 >90%의 종양 세포가 매우 약하게 염색되거나 염색되지 않은 것에 해당하는 "0" 초과와 항-B7-H4 면역조직화학 (IHC) 또는 계내 혼성화 (ISH) 스코어를 받은 암이다. 또 다른 실시양태에서, B7-H4-양성 암은 실시예 B에서 본원에 기재된 조건 하에 정의된 바와 같은 1+, 2+ 또는 3+ 수준으로 B7-H4를 발현한다. 일부 실시양태에서, B7-H4-양성 암은 B7-H4 mRNA를 검출하는 역전사효소 PCR (RT-PCR) 검정에 따라 B7-H4를 발현하는 암이다. 일부 실시양태에서, RT-PCR은 정량적 RT-PCR이다.

[0571]

특정 실시양태에서, 표지된 항-B7-H4 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티 (예컨대, 형광, 발색, 전자-밀집, 화학발광 및 방사성 표지) 뿐만 아니라 간접적으로, 예를 들어 효소적 반응 또는 분자 상호작용을 통해 검출되는 모이어티, 예컨대 효소 또는 리간드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 표지는 방사성동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H 및 ^{131}I , 형광단, 예컨대 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 단일, 옴벨리페론, 또는 루시페라제, 예를 들어 반딧불이 루시페라제 및 박테리아 루시페라제 (미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제, 글루코아미라제, 리소자임, 사카라이드 옥시다제, 예를 들어 글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제, 및 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나제, 염료 전구체를 산화시키기 위해 과산화수소를 사용하는 효소, 예컨대 HRP, 락토퍼옥시다제 또는 마이크로퍼옥시다제와 커플링된 헤테로시클릭 옥시다제, 예컨대 우리카제 및 크산틴 옥시다제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파지 표지, 안정한 자유 라디칼 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 또 다른 실시양태에서, 표지는 양전자 방출체이다. 양전자 방출체는 ^{68}Ga , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{76}Br , ^{89}Zr , 및 ^{124}I 를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정한 실시양태에서, 양전자 방출체는 ^{89}Zr 이다.

[0572]

F. 제약 제제

[0573]

본원에 기재된 바와 같은 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체의 제약 제제는 목적하는 정도의 순도를 갖는 상기 항체 또는 면역접합체를 하나 이상의 임의의 제약상 허용되는 담체 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))와 혼합함으로써 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 제조된다. 제약상 허용되는 담체는 일반적으로 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이며, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 기타 유기 산; 항산화제, 예를 들어 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제 (예컨대, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드 및 기타 탄수화물, 예를 들어 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에서 예시적인 제약상 허용되는 담체는 간질성 약물 분산액 작용제, 예컨대 가용성 중성-활성 히알루로니다제 당단백질 (sHASEGP), 예를 들어 인간 가용성 PH-20 히알루로니다제 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (힐레넥스(HYLENEX)®, 백스터 인터내셔널, 인크.(Baxter International, Inc.))를 추가로 포함한다. rHuPH20을 비롯한 특정 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 공개 번호 2005/0260186 및 2006/0104968에 기재되어 있다. 한 측면에서, sHASEGP는 하나 이상의 추가의 글리코사미노글리카나제, 예컨대 콘드로이티나제와 조합된다.

[0574]

예시적인 동결건조 항체 또는 면역접합체 제제는 미국 특허 번호 6,267,958에 기재되어 있다. 수성 항체 또는 면역접합체 제제는 미국 특허 번호 6,171,586 및 W02006/044908에 기재된 것들을 포함하며, 후자의 제제는 히스티딘-아세테이트 완충제를 포함한다.

[0575]

또한, 본원에서 제제는 치료되는 특정한 적응증에 필요한 하나 초과와 활성 성분, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 것들을 함유할 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 예를 들어 B7-H4-양성 암, 예컨대 B7-H4-양성 유방암, B7-H4-양성 난소암 또는 B7-H4-양성 자궁내막암의 치료를 위해 아바스틴® (베바시주맵)을 추가로 제공하는 것이 바람직할 수 있다.

[0576]

활성 성분은, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐)으로 또는 마크로에멀전으로, 예를 들어 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조되는 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트)

마이크로캡슐 내에 봉입될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0577] 지속-방출 제제를 제조할 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 항체 또는 면역접합체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다.

[0578] 생체내 투여에 사용되는 제제는 일반적으로 멸균된다. 멸균은 예를 들어 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성할 수 있다.

[0579] G. 치료 방법 및 조성물

[0580] 본원에 제공된 임의의 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체는 방법, 예를 들어 치료 방법에 사용될 수 있다.

[0581] 한 측면에서, 본원에 제공된 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체는, B7-H4-양성 세포를 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체에, 세포의 표면 상의 B7-H4에 대한 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체의 결합을 허용하는 조건 하에 노출시켜 세포의 증식을 억제하는 것을 포함하는, B7-H4-양성 세포의 증식을 억제하는 방법에 사용된다. 특정 실시양태에서, 방법은 시험관내 또는 생체내 방법이다. 추가 실시양태에서, 세포는 유방, 난소 또는 자궁내막 세포이다.

[0582] 시험관내 세포 증식의 억제는 프로메가 (위스콘신주 매디슨)로부터 상업적으로 입수가 가능한 셀타이터-글로 (CellTiter-Glo)TM 발광 세포 생존율 검정을 이용하여 검정될 수 있다. 상기 검정은 대사적으로 활성인 세포의 지표인 ATP 존재의 정량화를 기반으로 하여 배양물 중 생존 세포의 수를 결정한다. 문헌 [Crouch et al. (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88], 미국 특허 번호 6602677을 참조한다. 상기 검정은 자동화된 고처리량 스크리닝 (HTS)에 적용가능하게 하는 96- 또는 384-웰 포맷으로 수행될 수 있다. 문헌 [Cree et al. (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404]을 참조한다. 검정 절차는 단일 시약 (셀타이터-글로[®] 시약)을 배양된 세포에 직접 첨가하는 것을 포함한다. 이는 세포 용해, 및 루시페라제 반응에 의해 생산된 발광 신호의 생성을 일으킨다. 발광 신호는 배양물 중에 존재하는 생존 세포 수에 정비례하는 ATP 존재량에 비례한다. 데이터는 발광측정기 또는 CCD 카메라 영상화 장치에 의해 기록될 수 있다. 발광 출력은 상대적 광 단위 (RLU)로 표현된다.

[0583] 또 다른 측면에서, 의약으로 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체가 제공된다. 추가 측면에서, 치료 방법에 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체가 제공된다. 특정 실시양태에서, B7-H4-양성 암을 치료하는데 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 본 발명은

[0584] B7-H4-양성 암을 앓는 개체에게 유효량의 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체를 투여하는 것을 포함하는 상기 개체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체를 제공한다. 한 이러한 실시양태에서, 방법은 개체에게 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 하나 이상의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0585] 추가 측면에서, 본 발명은 의약의 제작 또는 제조에서의 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 의약은 B7-H4-양성 암의 치료를 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 의약은 B7-H4-양성 암을 앓는 개체에게 유효량의 의약을 투여하는 것을 포함하는 B7-H4-양성 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다. 한 이러한 실시양태에서, 방법은 개체에게 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 하나 이상의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0586] 추가 측면에서, 본 발명은 B7-H4-양성 암을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 방법은 이러한 B7-H4-양성 암을 앓는 개체에게 유효량의 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체를 투여하는 것을 포함한다. 한 이러한 실시양태에서, 방법은 개체에게 하기 기재된 바와 같은 하나 이상의 추가의 치료제의 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0587] 임의의 상기 실시양태에 따른 B7-H4-양성 암은, 예를 들어 B7-H4-양성 유방암, B7-H4-양성 난소암 및 B7-H4-양성 자궁내막암일 수 있다. 일부 실시양태에서, B7-H4-양성 암은, 실시예 B에서 본원에 기재된 조건 하에 >90%의 종양 세포가 매우 약하게 염색되거나 염색되지 않은 것에 해당하는 "0" 초과와 항-B7-H4 면역조직화학 (IHC) 또는 계내 혼성화 (ISH) 스코어를 받은 암이다. 또 다른 실시양태에서, B7-H4-양성 암은 실시예 B에서 본원에 기재된 조건 하에 정의된 바와 같은 1+, 2+ 또는 3+ 수준으로 B7-H4를 발현한다. 일부 실시양태에서, B7-H4-양성 암은 B7-H4 mRNA를 검출하는 역전사효소 PCR (RT-PCR) 검정에 따라 B7-H4를 발현하는 암이다. 일부 실시양

태에서, RT-PCR은 정량적 RT-PCR이다.

[0588] 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 인간일 수 있다.

[0589] 추가 측면에서, 본 발명은 예를 들어 임의의 상기 치료 방법에 사용하기 위한, 본원에 제공된 임의의 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체를 포함하는 제약 제제를 제공한다. 한 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-B7-H4 항체 또는 면역접합체 및 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 하나 이상의 추가의 치료제를 포함한다.

[0590] 본 발명의 항체 또는 면역접합체는 요법에서 단독으로 또는 다른 작용제와 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 면역접합체는 하나 이상의 추가의 치료제와 공동-투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 추가의 치료제는, 예를 들어 B7-H4-양성 암, 예컨대 B7-H4-양성 유방암의 치료를 위한 아바스틴® (베바시주맵)이다. 특정 실시양태에서, 추가의 치료제는 캐사일라(Kadcyla)® (트라스투주맵 엠탄신)이다.

[0591] 상기 언급된 이러한 조합 요법은 조합 투여 (여기서 2종 이상의 치료제는 동일한 제제 또는 개별 제제에 포함됨) 및 개별 투여를 포괄하고, 이 경우에 본 발명의 항체 또는 면역접합체의 투여는 추가의 치료제 및/또는 아주반트의 투여 전에, 그와 동시에 및/또는 그 후에 수행될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 면역접합체는 또한 방사선 요법과 조합되어 사용될 수 있다.

[0592] 본 발명의 항체 또는 면역접합체 (및 임의의 추가의 치료제)는 비경구, 폐내 및 비강내를 비롯한 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있고, 목적하는 경우에 국부 치료를 위해 병변내 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 투여는 임의의 적합한 경로, 예를 들어 부분적으로는 투여가 단기적인지 장기적인지에 따라 정맥내 또는 피하 주사와 같은 주사에 의해 수행될 수 있다. 단일 투여 또는 다양한 시점에 걸친 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 비롯한 (이에 제한되지는 않음) 다양한 투여 스케줄이 본원에서 고려된다.

[0593] 본 발명의 항체 또는 면역접합체는 우수한 의료 행위와 일치하는 방식으로 제제화되고 투약되고 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 인자는 치료할 특정한 장애, 치료할 특정한 포유동물, 개별 환자의 임상적 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄링, 및 진료의에게 공지된 다른 인자를 포함한다. 항체 또는 면역접합체는 반드시 그럴 필요는 없지만, 임의로 해당 장애를 예방 또는 치료하는데 현재 사용되는 하나 이상의 작용제와 함께 제제화된다. 이러한 다른 작용제의 유효량은 제제 내에 존재하는 항체 또는 면역접합체의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기 논의된 다른 인자에 따라 달라진다. 이는 일반적으로 상기 기재된 것과 동일한 투여량 및 투여 경로로, 또는 본원에 기재된 투여량의 약 1 내지 99%로, 또는 실험적으로/임상적으로 적절한 것으로 결정된 임의의 투여량 및 경로로 사용된다.

[0594] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 본 발명의 항체 또는 면역접합체의 적절한 투여량 (단독으로, 또는 하나 이상의 다른 추가의 치료제와 조합하여 사용되는 경우)은 치료할 질환의 유형, 항체 또는 면역접합체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 항체 또는 면역접합체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지의 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 항체 또는 면역접합체에 대한 반응, 및 담당의의 판단에 따라 달라질 것이다. 항체 또는 면역접합체는 한번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여에 의해서든 연속 주입에 의해서든 관계 없이, 약 1 µg/kg 내지 15 mg/kg (예를 들어, 0.1mg/kg-10mg/kg)의 항체 또는 면역접합체가 환자에게 투여하기 위한 초기 후보 투여량일 수 있다. 한 가지 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 1 µg/kg 내지 100 mg/kg 또는 그 초과 범위일 수 있다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우, 치료는 일반적으로 상태에 따라 질환 증상의 목적하는 저해가 일어날 때까지 지속될 것이다. 항체 또는 면역접합체 한 예시적인 투여량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위일 것이다. 따라서, 약 0.5 mg/kg, 2.0 mg/kg, 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg (또는 그의 임의의 조합) 중 하나 이상의 용량이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예를 들어 매주 또는 3주마다 투여될 수 있다 (예를 들어, 약 2회 내지 약 20회, 또는 예를 들어 약 6회 용량의 항체가 환자에게 제공되도록 투여됨). 보다 높은 초기 부하 용량을 투여한 후, 1회 이상의 보다 낮은 용량을 투여할 수 있다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행은 통상의 기술 및 검정에 의해 용이하게 모니터링된다.

[0595] 임의의 상기 제제 또는 치료 방법은 본 발명의 면역접합체 및 항-B7-H4 항체를 둘 다 사용하여 수행될 수 있는 것으로 이해된다.

[0596] H. 제조품

[0597] 본 발명의 또 다른 측면에서, 상기 기재된 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조품이 제공된다. 제조품은 용기, 및 용기 상에 있거나 용기와 결합된 라벨 또는 포장 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 시린지, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 조성물 자체를 수용하거나 또는 상기 조성물을 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유효한 또 다른 조성물과 조합하여 수용하며, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥 주사액 백 또는 바이알일 수 있음). 조성물 내의 하나 이상의 활성제는 본 발명의 항체 또는 면역접합체이다. 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물이 선택된 상태를 치료하는데 사용된다는 것을 나타낸다. 또한, 제조품은 (a) 본 발명의 항체 또는 면역접합체를 포함하는 조성물이 함유되어 있는 제1 용기; 및 (b) 추가의 세포독성제 또는 다른 치료제가 함유되어 있는 조성물을 함유하는 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시양태에서의 제조품은, 조성물이 특정한 상태를 치료하기 위해 사용될 수 있음을 나타내는 포장 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 제조품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 정박테리아 주사용수 (BWFI), 포스페이트-완충 염수, 링거액 또는 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 (또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 시린지를 비롯하여, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0598] III. 실시예

[0599] 다음은 본 발명의 방법 및 조성물의 실시예이다. 상기 제공된 일반적 설명을 고려하여 다양한 다른 실시양태가 실시될 수 있는 것으로 이해된다.

[0600] A. 인간 B7-H4 유전자 발현

[0601] 인간 B7-H4 유전자 발현을, 유전자 발현 정보를 함유하는 사유 데이터베이스 (진익스프레스(GeneExpress)®, 진로직 인크.(Gene Logic Inc.), 메릴랜드주 게이더스버그)를 이용하여 분석하였다. 진익스프레스® 데이터베이스의 그래프 분석을 마이크로어레이 프로파일 뷰어를 이용하여 수행하였다. 도 1은 다양한 조직에서의 인간 B7-H4 유전자 발현의 그래프 표현이다. y-축 상의 눈금은 혼성화 신호 강도를 기초로 하는 유전자 발현 수준을 나타낸다. 점들이 각각의 나열된 조직의 명칭으로부터 연장된 선의 좌측 및 우측 둘 다에 보인다. 선의 좌측에 보이는 점들은 정상 조직에서의 유전자 발현을 나타내고, 선의 우측에 보이는 점들은 종양 및 이환 조직에서의 유전자 발현을 나타낸다. 도 1은 특정 종양 또는 이환 조직에서, 이들의 정상 대응물과 비교하여 증가된 B7-H4 유전자 발현을 보여준다. 특히, B7-H4는 유방, 자궁내막 및 난소 종양에서 실질적으로 과발현되었다. B7-H4의 가장 높은 정상 mRNA 수준은 유방, 신장, 췌장 및 난소에서 관찰되었다. 인간 B7-H4 단백질 발현은 정상 조직에서 훨씬 낮았고 (~30개의 시험 조직 (PBMC, 골수, 편도 및 비장 포함)에서 발현되지 않거나, 또는 정상 유방, 난소, 신장, 췌장 및 태반 조직에서 낮은 수준으로 발현됨), 진로직 데이터와 일치하였다 (데이터는 나타내지 않음).

[0602] B. 유방 및 난소 암종에서의 인간 B7-H4의 우세도

[0603] 유방 암종에서의 B7-H4의 발현을 평가하기 위해, 185개의 원발성 유방 암종을 다수의 공급원으로부터 획득하였다. 문헌 [Bubendorf L, et al., J Pathol. 2001 Sep;195(1):72-9]에 기재된 바와 같이 이중 코어를 사용하여 조직 마이크로어레이 (TMA)를 조립하고, 매칭되는 경우로부터의 정상 유방 샘플을 포함시켰다.

[0604] 인간 B7-H4에 대해 지시된 A57.1 항체 (디아텍서스(diaDexus), 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)를 사용하여 면역조직화학에 의해 B7-H4 발현을 결정하였다. 염색의 강도 (은색 점) 뿐만 아니라 폭을 고려하여 하기 분류에 따라 숙련된 병리학자에 의해 B7-H4 혼성화 강도를 스코어링 하였다.

[0605] 0 (음성): 종양 세포의 >90%가 매우 약한 혼성화를 나타내거나 혼성화되지 않음

[0606] 1+ (약한): 우세한 혼성화 패턴이 약함

[0607] 2+ (중간): 신생물성 세포의 대부분 (> 50%)에서 우세한 혼성화 패턴이 중간정도로 강함

[0608] 3+ (강한): 신생물성 세포의 대부분 (> 50%)에서 우세한 혼성화 패턴이 강함

[0609] 정상 유방 조직에서 혼성화의 특이성에 대한 대조군으로 동일한 A57.1 항체를 사용하였다.

[0610] 도 2는 0, 1+, 2+ 및 3+ 수준의 염색을 나타내는 예시적인 유방 암종 섹션을 보여준다. 영상에서 은색 점의 침착은 항체의 혼성화 및 B7-H4 단백질의 발현을 나타낸다. 분석된 유방 암종 섹션의 ~68% (126/185)가 B7-H4 양성이었으며 (1+, 2+ 또는 3+ 수준의 염색을 나타냄), 여기서 각각 32% (59/185)가 1+ 염색을 나타내고, 22%

(41/185)가 2+ 염색을 나타내고, 15% (26/185)가 3+ 염색을 나타내었다. 또한, 대략 ~70%의 B7-H4 양성 유방 암종이 TMA 코어를 기준으로 80% 초과인 종양 세포 염색을 나타내었다.

[0611] 다양한 유방암 하위유형에서의 B7-H4 발현의 유의성 및 우세도를 평가하기 위해, 유방암 샘플들을 모으고, 원발성 종양의 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (Her2), 호르몬 수용체 (HR) 및 삼중 음성 (TN) 상태를 기준으로 하여 3가지의 하위유형으로 분류하였다. B7-H4를 발현하는 종양의 백분율을 상기 기재된 바와 같이 수행하고 스코어링하였다.

[0612] 도 3a에서 나타난 바와 같이, 모든 유방암 하위유형에서 B7-H4 발현이 우세하였고, 모든 하위유형 중 ~65%가 양성 (스코어 1-3)이었다. 특히, ~60%의 Her2+ 및 HR+ 유방암 하위유형이 또한 B7-H4를 발현하였고, ~80%의 TN 유방암이 B7-H4 양성이었다. 도 3b는 면역조직화학에 의해 측정된, 유방암 하위유형에서 B7-H4 염색의 0, 1+, 2+ 및 3+ 수준의 우세도를 나타낸다. ~20%의 Her2+ 및 HR+ 유방암 하위유형 및 ~25%의 TN 유방암 하위유형이 B7-H4에 대해 1+ 수준의 염색을 나타내었다. ~28%의 Her2+ 및 TN 유방암 하위유형 및 ~18%의 HR+ 유방암 하위유형이 B7-H4에 대해 2+ 수준의 염색을 나타내었다. ~15%, ~20% 및 ~25%의 Her2+, HR+ 및 TN 유방암 하위유형이, 각각 B7-H4에 대해 3+ 수준의 염색을 나타내었다.

[0613] 도 3c에 나타난 바와 같이, 웨스턴 블롯 분석은 또한, 유방 종양에서 B7-H4의 전체 발현이 ~70%였으며 이들 유방 종양의 ~40%에서 상당히 높은 발현이 있음을 시사한다. 내인성 양성 대조군으로서 MX-1 종양 모델을 사용하고, 내인성 음성 대조군으로써 B7-H4에 대해 음성인 종양 세포주인 BT549를 사용하였으며, 10개의 상이한 유방 종양 샘플을 4개의 정상 유방 조직 (정상은 종양에 인접한 정상 조직으로 정의함)과 비교하여 B7-H4 단백질 발현에 대해 평가하였다. 293 야생형 세포 및 인간 B7-H4로 형질감염된 293 세포도 대조군으로 포함시켰다. B-액틴 수준을 사용하여 로딩 불일치를 정규화하였다.

[0614] A57.1 항체를 사용하여 웨스턴 블롯 분석에 의해 검출시에, 82%의 원발성 유방 종양 (젠테크(Xentech) 패널)에서 B7-H4가 발현되었다. 도 3d에 나타난 바와 같이, 시험된 23/28개의 원발성 유방 종양에서 B7-H4가 ~62Kd 밴드로 나타났다.

[0615] 도 3e에 나타난 바와 같이, 웨스턴 블롯 분석은 또한, 난소 종양에서 B7-H4의 전체 발현이 ~80%였으며 이들 난소 종양의 ~60%에서 상당히 높은 발현이 있음을 시사한다.

[0616] C. 마우스 모노클로날 항체 생성

[0617] 인간 B7-H4에 대한 모노클로날 항체를 하기 절차를 이용하여 생성하였다. 2개의 별개의 군의 Balb/C 마우스 (찰스 리버 래보러토리즈(Charles River Laboratories), 캘리포니아주 홀리스터)를 재조합 인간 B7-H4를 과다발현하는 293 세포 또는 인간 B7-H4의 DNA 발현 구축물로 과다면역화하고, 제3 군의 마우스 B7-H4 KO BL/6N 마우스를 뮤린 골수종 발현 시스템에서 발현된 C-말단 Fc를 갖는 마우스 B7-H4 세포의 도메인 (ECD; 아미노산 29-258)으로 면역화하였다.

[0618] PBS 중 인간 B7-H4를 과다발현하는 293 세포 (복강내를 통해 5백만개/용량) 또는 락테이트화 링거액 중 huB7-H4 플라스미드 DNA (꼬리 정맥을 통해)를 Balb/c 마우스 (찰스 리버 래보러토리즈 인터내셔널, 인크., 미국 캘리포니아주 홀리스터)에 주사하고, 이어서 재조합 인간 B7-H4ECD (복강내를 통해 4 µg/용량)를 사용하여 단백질 부스팅하였다. 대사가가능한 스쿠알렌 (4% v/v), 트윈(Tween) 80 (0.2 % v/v), 트레할로스 6,6-디마이콜레이트 (0.05% w/v) 및 모노포스포릴 지질 A (0.05% w/v; 시그마 알드리치(Sigma Aldrich), 미국)를 함유하는 아주반트 중 상기 기재된 바와 같은 재조합 마우스 B7-H4 ECD를 (발바닥 뒤쪽을 통해) 마우스 B7-H4 KO BL/6N 마우스에 주사하였다. 6-9회 주사 후 표준 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA) 및 FACS에 의해 혈청 역가를 평가하였다. 혈청 B7-H4 양성 마우스로부터 수확한 비장 B 세포를 전기융합 (하이브리뮤(Hybrimune); 하버드 어패러투스, 인크.(Harvard Apparatus, Inc.), 미국 매사추세츠주 홀리스톤)에 의해 마우스 골수종 세포 (X63.Ag8.653; 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection), 미국 버지니아주 마나사스)와 융합시켰다. 10-14일 후, ELISA에 의해 하이브리도마 상청액을 항체 분비에 대해 스크리닝하였다. 이어서, 모든 양성 클론을 확장시키고, ELISA 및 FACS를 이용하여 huB7-H4 및 muB7-H4에 대한 결합에 대해 재-스크리닝하였다. 형광 활성화 세포 분류 (FACS)에 의해 재조합 인간-, 시노물구스- 및 마우스-B7-H4를 발현하는 안정한 세포주와 강하게 반응하는 4개의 하이브리도마 클론이 확인되었다: 1D11 (마우스 B7-H4 면역화 mB7-H4 KO 마우스로부터 확인), 2.32D6 (인간 B7-H4를 갖는 DNA 면역화 마우스로부터 확인) 및 9B9 및 3.22.C10 (재조합 인간 B7-H4를 과다발현하는 293 세포를 사용한 세포 면역화로부터 확인).

[0619] 도 4a는 특정한 특성에 따른, 생성된 특정 모노클로날 항체를 나타내고, 이들 중 일부는 하기에 더 상세히 기재

될 것이다.

- [0620] D. 마우스 모노클로날 항체의 클로닝 및 키메라화
- [0621] 모노클로날 항체 1D11, 32D6, 9B9 및 22C10을 하기와 같이 클로닝하고 키메라화하였다.
- [0622] 표준 방법을 이용하여 뮤린 1D11, 32D6, 9B9 및 22C10을 생산하는 하이브리도마 세포로부터 전체 RNA를 추출하였다. 중쇄 및 경쇄에 대한 측중성 프라이머를 사용하여 RT-PCR에 의해 가변 경쇄 (VL) 및 가변 중쇄 (VH) 영역을 증폭시켰다. 정방향 프라이머는 VL 및 VH 영역의 N-말단 아미노산 서열에 특이적이었다. LC 및 HC 역방향 프라이머를, 각각 중들 사이에서 고도로 보존된 불변 경쇄 (CL) 및 불변 중쇄 도메인 1 (CH1) 내의 영역에 어닐링되도록 설계하였다. 삽입물의 폴리뉴클레오티드 서열을 통상적인 서열분석 방법을 이용하여 결정하였다. 1D11 VL 및 VH 아미노산 서열은 서열 3 및 4에 제시된다. 1D11 중쇄 추가변 영역 (HVR) H1, H2 및 H3은 각각 서열 5, 6 및 7에 제시된다. 1D11 경쇄 추가변 영역 (HVR) L1, L2 및 L3은 각각 서열 8, 9 및 10에 제시된다. 32D6 VL 및 VH 아미노산 서열은 서열 11 및 12에 제시된다. 32D6 중쇄 추가변 영역 (HVR) H1, H2 및 H3은 각각 서열 13, 14 및 15에 제시된다. 32D6 경쇄 추가변 영역 (HVR) L1, L2 및 L3은 각각 서열 16, 17 및 18에 제시된다. 9B9 VL 및 VH 아미노산 서열은 서열 19 및 20에 제시된다. 9B9 중쇄 추가변 영역 (HVR) H1, H2 및 H3은 각각 서열 21, 22 및 23에 제시된다. 9B9 경쇄 추가변 영역 (HVR) L1, L2 및 L3은 각각 서열 24, 25 및 26에 제시된다. 22C10 VL 및 VH 아미노산 서열은 서열 27 및 28에 제시된다. 22C10 중쇄 추가변 영역 (HVR) H1, H2 및 H3은 각각 서열 29, 30 및 31에 제시된다. 22C10 경쇄 추가변 영역 (HVR) L1, L2 및 L3은 각각 서열 32, 33 및 34에 제시된다. 항체 1D11, 32D6, 9B9 및 22C10의 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 정렬이 도 5에 제시된다.
- [0623] 인간 람다 경쇄 불변 영역 상에 클로닝한 9B9를 제외하고는, 인간 IgG1 중쇄 불변 영역 상에 마우스 중쇄 가변 영역을 클로닝하고 인간 카파 경쇄 불변 영역 상에 경쇄 가변 영역을 클로닝하여 각각의 항체를 키메라화하였다.
- [0624] E. 1D11 및 22C10의 인간화
- [0625] 모노클로날 항체 1D11 및 22C10을 하기 기재된 바와 같이 인간화하였다. 잔기 번호는 문헌 [Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)]에 따른다.
- [0626] 수용자 인간 컨센서스 프레임워크 상으로의 직접적 추가변 영역 그래프트
- [0627] 1D11 및 22C10의 인간화 동안 구축된 변이체를 IgG의 형태로 평가하였다. 뮤린 1D11 및 22C10으로부터의 VL 및 VH 도메인을 인간 VL 카파 I (VL_{KI}) 및 인간 VH 하위군 I (VH_I) 컨센서스 서열과 정렬하였다.
- [0628] 뮤린 1D11 (mu1D11) 항체로부터의 추가변 영역을 VL_{KI} 및 VH_I 수용자 프레임워크 내로 조작하여 인간화 1D11.v1 (h1D11.v1), 1D11.v2 (h1D11.v2), 1D11.v3 (h1D11.v3), 1D11.v4 (h1D11.v4), 1D11.v1.1 (h1D11.v1.1), 1D11.v1.2 (h1D11.v1.2), 1D11.v1.3 (h1D11.v1.3), 1D11.v1.4 (h1D11.v1.4), 1D11.v1.5 (h1D11.v1.5), 1D11.v1.6 (h1D11.v1.6), 1D11.v1.7 (h1D11.v1.7), 1D11.v1.8 (h1D11.v1.8) 및 1D11.v1.9 (h1D11.v1.9)를 생성하였다. 구체적으로, mu1D11 VL 도메인으로부터, 위치 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3)을 VL_{KI} 내로 그래프팅하였다. mu1D11 VH 도메인으로부터, 위치 26-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3)을 VH_I 내로 그래프팅하였다.
- [0629] 또한, 특정 잔기가 "버니어(Vernier)" 구역으로 작용하는 프레임워크 잔기의 일부인 것으로 밝혀졌고, 이는 CDR 구조를 조정하고 항원 맞춤을 미세-조정할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Foote and Winter, J. Mol. Biol. 224: 487-499 (1992)] (도 5 및 6)을 참조한다. 이들 CDR 정의는 그의 서열 추가변성 (Wu, T. T. & Kabat, E. A. (1970)), 그의 구조적 위치 (Chothia, C. & Lesk, A. M. (1987)) 및 항원-항체 접촉에서의 그의 관련성 (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996))에 의해 정의되는 위치를 포함한다. 예를 들어, VH 및 VL에서의 하기 위치는 하기 인간화 1D11 변이체에서 마우스 서열로부터 유지되었다:
- [0630] h1D11.v1 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69 및 71; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0631] h1D11.v2 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69 및 71; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임

워크 III에서의 위치 71

- [0632] h1D11.v3 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71 및 73; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 58, 69 및 71
- [0633] h1D11.v4 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71, 73 및 75; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 58, 69 및 71
- [0634] h1D11.v1.1 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69 및 71; VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0635] h1D11.v1.2 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69 및 71; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 71
- [0636] h1D11.v1.3 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69 및 71; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 69
- [0637] h1D11.v1.4 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0638] h1D11.v1.5 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67 및 71; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0639] h1D11.v1.6 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67 및 69; VL의 프레임워크 II에서의 위치 49 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0640] h1D11.v1.7 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67 및 69; VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0641] h1D11.v1.8 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67; VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0642] h1D11.v1.9 - VH에서의 변화 없음; VL의 프레임워크 III에서의 위치 69 및 71
- [0643] 1D11의 다양한 인간화 변이체에 대한 경쇄 가변 영역 서열 및 중쇄 가변 영역 서열을 각각 도 6 및 7에 나타내었다.
- [0644] 4개의 모든 h1D11 변이체들 (h1D11.v1-4) 중, 마우스 1D11과 비교하여 h1D11.v1이 FACS에 의해 인간 B7-H4를 발현하는 293 세포에 대해 가장 밀접한 친화도를 보유하는 것으로 나타났다. 결과적으로, 상기 기재된 바와 같이, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 둘 다의 다양한 버니어 위치를 변형시켜 추가의 h1D11.v1 변이체를 생성하였다.
- [0645] 뮤린 22C10 (mu22C10) 항체로부터의 초가변 영역을 VL_{KL} 및 VH_L 수용자 프레임워크 내로 조작하여 다양한 인간화 22C10을 생성하였다. 구체적으로, mu22C10 VL 도메인으로부터, 위치 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3)을 VL_{KL} 내로 그래프팅하였다. mu22C10 VH 도메인으로부터, 위치 26-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3)을 VH_L 내로 그래프팅하였다.
- [0646] 예를 들어, VH 및 VL에서의 하기 위치는 하기 인간화 22C10 변이체에서 마우스 서열로부터 유지되었다:
- [0647] h22C10.v1 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47 및 VL의 프레임워크 III에서의 위치 71
- [0648] h22C10.v2 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0649] h22C10.v3 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71, 73 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0650] h22C10.v4 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71, 76 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0651] h22C10.v5 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71, 75, 76 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0652] h22C10.v2.1 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 47
- [0653] h22C10.v2.2 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69, 71 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46
- [0654] h22C10.v2.3 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 69, 71 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0655] h22C10.v2.4 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 71 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47

- [0656] h22C10.v2.5 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69 및 93; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0657] h22C10.v2.6 - VH의 프레임워크 III에서의 위치 67, 69 및 71; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0658] h22C10.v2.7 - VH에서의 변화 없음; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46 및 47
- [0659] h22C10.v2.8 - VH에서의 변화 없음; VL의 프레임워크 II에서의 위치 46
- [0660] 22C10의 다양한 인간화 변이체에 대한 경쇄 가변 영역 서열 및 중쇄 가변 영역 서열을 각각 도 8 및 9에 나타내었다.
- [0661] 1D11 및 22C10의 인간화 변이체를, 각각의 초가변 영역에 대한 개별 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 쿤켈(Kunkel) 돌연변이유발에 의해 생성하였다. 정확한 클론을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다.
- [0662] 변이체의 평가
- [0663] 스크리닝 목적을 위해, 먼저 IgG 변이체를 293 세포에서 생성하였다. VL 및 VH를 코딩하는 벡터를 293 세포 내로 형질감염시켰다. 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 의해 세포 배양 배지로부터 IgG를 정제하였다.
- [0664] 재조합 및 내인성 B7-H4에 대한 중-특이성 및 친화도 (Kd)를 결정하기 위해, 먼저 FACS 및 스캐차드 분석에 의해 소규모 표본을 스크리닝하였다. 다양한 농도 (0-10 μ g/ml)의 인간화 변이체를, 재조합 인간-, 시노물구스- 또는 마우스-B7-H4를 과다발현하는 293 세포 및 내인성 인간 B7-H4를 발현하는 종양 세포주, MX-1과 함께 4℃에서 40분 동안 인큐베이션한 다음, 세척하고, 딜라이트(Dylight)-650에 접합된 2차 염소-항-인간 IgG 항체를 사용하여 4℃에서 20분 동안 염색하여, 초기 EC₅₀ 및 중 특이성을 결정하였다. BD FACS 칼리버를 사용하여 형광 신호를 획득하고, 그래프 패드 프로그램 프리즘 4(Graph Pad program Prism 4)를 사용하여 EC₅₀ 값을 결정하였다.
- [0665] 1. 종 교차-반응성
- [0666] 모노클로날 항체를 시험하여 모노클로날 항체가 인간 이외의 종으로부터의 B7-H4와 교차반응 하는지를 결정하였다. 도 10은 인간 (서열 73), 침팬지 (서열 81), 시노물구스 원숭이 (서열 75), 래트 (서열 77) 및 마우스 (서열 79) B7-H4 사이의 정렬을 나타낸다. 모든 5가지 종 사이에서 동일한 잔기는 적색 박스 안에 그룹지어 나타내었다. 상이한 잔기는 적색 점에 의해 나타내었다. B7-H4 오르토로그는 매우 높은 서열 동일성을 가졌다: 인간 B7-H4 100%; 침팬지 B7-H4 96.09%; 시노물구스 원숭이 B7-H4 98.6%, 래트 B7-H4 86.87% 및 마우스 B7-H4 87.63%. 특히, 래트 B7-H4는 마우스 B7-H4와 97.17% 동일하였다. B7-H4 오르토로그는 또한 매우 높은 서열 유사성을 가졌다: 인간 B7-H4 100%; 침팬지 B7-H4 97.42%; 시노물구스 원숭이 B7-H4 98.8%, 래트 B7-H4 89.3% 및 마우스 B7-H4 90.12%.
- [0667] B7-H4 (인간, 침팬지, 시노물구스 원숭이, 래트 또는 마우스 B7-H4)로 안정하게 형질감염시키고 딜라이트-650 접합된 염소 항-인간 항체로 염색한 293 세포의 FACS 분석에 의해, 각각의 종의 B7-H4에 대한 결합을 결정하였다. 형질감염되지 않은 293 세포는 통상적으로 B7-H4를 발현하지 않는다.
- [0668] 도 11에 나타난 바와 같이, 대표적인 FACs 스크린 데이터는 재조합 인간, 시노물구스 및 마우스 B7-H4에 대한 hu1D11v1.7-9 및 hu 22C10v2.7-8 결합을 모 키메라 항체의 범위에서의 EC50과 함께 나타낸다.
- [0669] 2. 항체 친화도
- [0670] 표준 절차 (Holmes et al., Science 256:1205-1210 (1992))에 따라 스캐차드 분석을 수행하여 ch1D11, ch9B9, ch2210 및 ch32D6 항체의 상대적 결합 친화도를 결정하였다.
- [0671] 간접 아이오도겐 방법을 이용하여 항-B7-H4 항체를 [¹²⁵I] 표지하였다. NAP-5 칼럼 (지이 헬스케어(GE Healthcare))을 사용하여 겔 여과에 의해 유리 ¹²⁵I-Na로부터 [¹²⁵I] 표지된 항-B7-H4 항체를 정제하였으며; 정제된 아이오딘화 항-B7-H4 항체는 8-10 μ Ci/ μ g의 비활성 범위를 가졌다. 고정 농도의 [¹²⁵I] 표지된 항체 및 감소하는 농도의 연속 희석된, 비표지된 항체를 함유하는 50 μ L 부피의 경쟁 검정 혼합물을 96-웰 플레이트 내로 넣었다. 인간, 시노, 래트 또는 마우스 B7-H4를 안정하게 발현하는 293 세포 또는 MX-1 종양 세포를 37℃에서 5% CO₂ 하에 성장 배지에서 배양하였다. 시그마 세포 해리 용액을 사용하여 플라스크로부터 세포를 분리하고, 1% 소 혈청 알부민 (BSA), 300 mM 인간 IgG 및 0.1% 아지드화나트륨을 함유하는 돌베코 변형 이글 배지 (DMEM)

로 이루어진 결합 완충제로 세척하였다. 세척한 세포를 결합 완충제 0.2 mL 중 100,000개 세포의 밀도로 96 웰 플레이트에 첨가하였다. 각각의 웰에서의 $[I^{125}]$ 표지된 항체의 최종 농도는 ~250 pM이었다. 경쟁 검정에서 비 표지된 항체의 최종 농도는 1000 nM로부터 10회의 2-배 희석 단계를 거쳐 0 nM 완충제-단독 검정까지의 범위였다. 경쟁 검정은 3회 반복 수행하였다. 경쟁 검정물을 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 2-시간 인큐베이션 후, 경쟁 검정물을 밀리포어 멀티스크린(Millipore Multiscreen) 필터 플레이트 (매사추세츠주 밀러리카)로 옮기고, 결합 완충제로 4회 세척하여, 결합된 $[I^{125}]$ 표지된 항체로부터 유리물을 분리하였다. 왈락 위자드(Wallac Wizard) 1470 감마 카운터 (퍼킨엘머 라이프 앤드 애널리티컬 사이언시스 인크.(PerkinElmer Life and Analytical Sciences Inc.); 매사추세츠주 웰슬리) 상에서 필터를 계수하였다. 먼슨 및 로바드의 핏팅 알고리즘을 이용하는 뉴리간드 소프트웨어 (제넨테크)를 사용하여 결합 데이터를 평가하여, 항체의 결합 친화도를 결정하였다 (Munson and Robard 1980).

[0672] 도 4a에 나타난 바와 같이, ch1D11은 안정하게 형질감염된 293 세포 상에 발현된 인간 B7-H4, 시노 B7-H4, 마우스 B7-H4 및 래트 B7-H4에 각각 6.1 nM, 4.1 nM, 9.4 nM 및 4.1 nM의 친화도로 결합하였다. ch22C10은 안정하게 형질감염된 293 세포 상에 발현된 인간 B7-H4, 시노 B7-H4, 마우스 B7-H4 및 래트 B7-H4에 각각 6.6 nM, 4.6 nM, 18.3 nM 및 5.7 nM의 친화도로 결합하였다. ch9B9는 안정하게 형질감염된 293 세포 상에 발현된 인간 B7-H4, 시노 B7-H4, 마우스 B7-H4 및 래트 B7-H4에 각각 6.6 nM, 5.2 nM, 13.7 nM 및 4.7 nM의 친화도로 결합하였다. ch32D6은 안정하게 형질감염된 293 세포 상에 발현된 인간 B7-H4 및 시노 B7-H4에 각각 4.8 nM 및 3.1 nM의 친화도로 결합하였다.

[0673] 다양한 인간화 항-B7-H4 항체의 친화도를 또한 상기 기재된 바와 같은 스캐차드 분석을 이용하여 평가하였다. 인간 B7-H4를 안정하게 발현하는 MX-1 종양 세포를 37°C에서 5% CO₂ 하에 성장 배지에서 배양하였다. 도 12에 나타난 바와 같이, hu1D11.v1.7, hu1D11.v1.8 및 hu1D11.v1.9는 인간 B7-H4에 (모 1D11 항체의 경우 7.8 nM과 비교하여) 각각 8.3 nM, 8.7 nM 및 7.8 nM의 친화도로 결합하였다. Hu22C10.v2.7 및 hu22C10.v2.8은 인간 B7-H4에 (모 22C10 항체의 경우 4.9 nM과 비교하여) 각각 6.3 nM 및 10 nM의 친화도로 결합하였다.

[0674] F. 모노클로날 항체 에피토프 분류

[0675] 모노클로날 항체의 에피토프 분류를 결정하기 위해, FACS 분석을 수행하여 다른 항체가 참조 항체를 대체할 수 있는지 여부를 평가하였다.

[0676] 세포-기반 경쟁 결합 FACS 검정을 이용하여 에피토프 분류를 결정하였다. 재조합 인간 B7-H4를 발현하는 293 세포를 비표지된 항체 (0, 0.05, 0.5, 5, 50 µg/ml)의 존재 하에 딜라이트-488-표지된 추적자 항체 (0.3-1 µg/ml)와 함께 인큐베이션하였다. 추적자가 비표지된 항체에 의해 대체되는 경우에 경쟁이 발생한 것이며, 이는 항체가 B7-H4 상의 동일한 영역 또는 유사한 영역에 결합한다는 것을 나타내고 - 이는 동일한 항체가 추적자 및 경쟁자로서 사용되는 경우에 발생해야 한다. 추적자가 상이한 비표지된 항체에 의해 대체되지 않는 경우에, 비표지된 항체는 B7-H4 내의 상이한 영역에 결합한다.

[0677] B7-H4 항체가 B7-H4의 Ig-V 또는 Ig-C 도메인에 결합하는지 여부를 결정하기 위해, 표준 분자 클로닝 방법을 이용하여 B7-H4 (IgV; 스페이서 S151-V157을 포함하는 G28-F150)-비관련 (Ig-C) (구축물-88) 또는 비관련 (Ig-V)-B7-H4 (Ig-C; TM/CD D237-K282를 포함하는 D158-G236) (구축물-88B) 막 단백질을 함유하는, 키메라 Ig 도메인 분자를 조작하였다. 이들 구축물로 형질감염된 293 세포가 세포 막 상에서 단백질을 발현하는지를 확인하기 위해 N-말단 또는 세포질 태그를 부착하였다 (데이터는 나타내지 않음). 간략하게, 폴리펩트를 사용하여 293 세포를 구축물 88 & 88B로 일시적으로 형질감염시켰다. 48시간 후, 10 µg/ml의 딜라이트-488 또는 딜라이트-650 표지된 ch9B9, ch1D11, ch22C10 또는 ch32D6으로 4°C에서 30-40분 동안 세포를 염색하고, 세척하고, BD FACS 칼리버 상에서 분석하였다.

[0678] 또한, 결과를 조작된 가용성 B7-H4 (Ig-V; G28-V157)-Fc 융합 단백질을 사용하여 독립적으로 확인하였다. 염료-표지된 추적자 항체의 3-300배 농도에서 인큐베이션한 경우에, FACS에 의해 결정시, 293-huB7-H4 세포에 대한 추적자의 결합이 차단되었다.

[0679] B7-H4 (Ig-V) 도메인은 단일 N-연결된 글리코실화 부위 (N112-S114)를 함유하며, 글리코실화가 B7-H4에 대한 항체의 결합에 영향을 미치는지 여부를 결정하기 위해, 표준 부위-특이적 돌연변이유발을 이용하여 S114를 알라닌으로 치환시켜 전장 인간 B7-H4 막 구축물에서의 글리코실화를 방지하였다. 돌연변이된 S114A 인간 B7-H4 구축물을 폴리펩트를 사용하여 293 세포 내로 형질감염시키고, 48시간 후에 293-huB7-H4 안정한 세포주와 함께 FACS

에 의해 항체 결합에 대해 분석하였다.

[0680] 도 4a의 칼럼 표제 "에피토프 군" 하에 이들 결과를 요약하였다. 도 4에 나타난 바와 같이, 항체 1D11 및 9B9는 둘 다 "A" 하에 분류된 에피토프에 결합한 반면, 항체 22.C10은 "B" 하에 분류된 에피토프에 결합하고, 항체 32D6은 "C" 하에 분류된 에피토프에 결합하였다.

[0681] 3개의 모노클로날 항체가 명확하게 B7-H4 Ig-V 도메인에 결합하였으며 ch22C10은 아마도 Ig-V/Ig-C 둘 다를 포함하는 에피토프에 결합하고, 이러한 결합은 글리코실화 독립적이었다는 것이 추가로 확인되었다 - 모든 4개의 항체는 이소형 대조군보다 100-배 초과로 결합하였다. ch1D11 및 ch22C10에 대한 대표적인 데이터를 도 4b에 나타내었다. 사용된 ch1D11의 버전은, 1D11 mAb 경쇄가 C43G에서 치환을 함유하는 ch1D11의 약간 변형된 버전이었다. B7-H4 Ig-C 도메인에 대한 결합은 어떠한 모노클로날 항체에 의해서도 검출되지 않았다.

[0682] G. 항-B7-H4 항체의 내재화

[0683] ADC 표적의 한가지 바람직한 속성은 세포 내 분해 구획 내로 항체를 내재화하는 능력이다. 결합시 항-B7-H4 항체가 내재화되는지 여부를 결정하기 위해, SKBR3 선암종 세포를 세포 배양물 처리된 4-웰 챔버 슬라이드 (날지 눈크 인터내셔널(Nalge Nunc International))에 시딩하고, 딜라이트 594 접합된 항-B7-H4 9B9 mAb (10 µg/mL) 또는 항-EGF-알렉사 488 (3 µg/mL) (막 염색 대조군으로서)과 함께 4°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 내재화를 위해, 둘 다를 첨가하고 4°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 세척하고, 리소솜 프로테아제 억제제 펩스타틴 (5 µg/mL)/ 류펩틴 (10 µg/mL)의 존재 하에 16시간 동안 추적하였다. 이어서 모든 처리군을 실온에서 20분 동안 3% 파라 포르말데히드 (폴리사이언시스, 인크.(Polysciences, Inc.)) 중에서 고정하고, 50 mM 염화암모늄 및 PBS로 세척하고, 후속으로 DAPI로 핵 염색하였다. 영상 분석을 위해 라이카(Leica) SP5 공초점 현미경 (라이카 마이크로 시스템스(Leica Microsystems))을 이용하였다.

[0684] 도 13에 나타난 바와 같이, 세포 내에서 9B9 및 EGF (리소솜 마커로써 사용됨) 염색의 상당한 중첩이 뚜렷하였다. 이들 결과는 항-B7-H4 ADC가 효과적으로 내재화되어야, 분해되고 약물을 방출하여 암 세포를 사멸시킨다는 것을 예측한다.

[0685] 항-B7-H4 항체가 리소솜에 도달한다는 것을 입증하기 위해, 염료 접합체로 표지된 ch1D11 및 ch22C10 항-B7-H4 항체를 MX-1 암종 세포와 함께 인큐베이션하고, 형광 공명 에너지 전달 (FRET)을 이용하여 항체의 세포내 위치를 추적하였다. FRET은 2가지 발색단 - 이 경우에는 공여자 및 수용자 염료 - 사이의 에너지 전달의 메카니즘이다. 간략하게, ch1D11 또는 ch22C10을, 카텝신 절단 부위를 함유하는 펩티드 스페이스에 의해 함께 유지되는 FAM 및 TAMRA의 2가지 염료에 접합시켰다. 절단되지 않은 상태에서, 적색 염료 (수용자)에 인접해 있기 때문에 녹색 염료 (공여자)는 켜지고, 따라서 막 및 시토졸 염색은 적색으로 보여진다. 항체 접합체가 리소솜에 들어가는 경우에, 리소솜 효소 카텝신은 펩티드 스페이스를 절단하여 수용자로부터 공여자의 간격을 증가시키고, 따라서 적색 염료로의 에너지 전달이 차단되어 녹색 염료가 가시화되게 된다. 이를 달성하기 위해, 세포를 2 µg/ml의 항체-접합체와 함께 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 37°C에서 10시간의 기간에 걸쳐 저속-촬영을 이용하는 라이카 SP5 공초점 현미경으로 상기 세포를 즉시 영상화하여 막 염색 (T0)을 나타내었다. 도 14에 나타난 바와 같이, ch1D11 및 ch22C10 둘 다 리소솜 내에 국재화되었다 - 무손상 (적색) 및 절단된 (녹색) 접합체의 병합된 영상은, 접합체 둘 다 리소솜 내에 공동-국재화된 항색 영역을 보여준다.

[0686] H. 항-B7-H4 항체 약물 접합체의 생산

[0687] 보다 대규모의 항체 생산을 위해, 항체를 CHO 세포에서 생산하였다. VL 및 VH를 코딩하는 벡터를 CHO 세포 내로 형질감염시키고, 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 의해 세포 배양 배지로부터 IgG를 정제하였다.

[0688] 본원에 도시되어 있는 약물-링커 모이어티 MC-vc-PAB-MMAE에 1D11, 22C10 및 9B9를 접합하여 항-B7-H4 항체-약물 접합체 (ADC)를 생성하였다. 편의를 위해, 약물-링커 모이어티 MC-vc-PAB-MMAE는 때때로 이들 실시예 및 도면에서 "vcMMAE" 또는 "VCE"로 지칭하였다. 접합에 앞서, WO 2004/010957 A2에 기재된 방법론에 따라 표준 방법을 이용하여 TCEP로 항체를 부분적으로 환원시켰다. 부분적으로 환원된 항체를, 예를 들어 문헌 [Doronina et al. (2003) Nat. Biotechnol. 21:778-784] 및 US 2005/0238649 A1에 기재된 방법론에 따라 표준 방법을 이용하여 약물-링커 모이어티에 접합시켰다. 간략하게, 부분적으로 환원된 항체를 약물-링커 모이어티와 합하여 약물-링커 모이어티가 항체의 환원된 시스테인 잔기에 접합되도록 하였다. 접합 반응을 켜치고, ADC를 정제하였다. 각각의 ADC에 대한 약물 로드 (항체당 약물 모이어티의 평균 수)를 결정하였으며, 항-B7-H4 항체의 경우 3.5-3.9 (아우리스타틴) 내지 1.6-1.9 (네모루비신)였다.

[0689] 대안적으로, 본원에 도시된 아세탈 링커를 함유하는 약물-링커 모이어티 PNU-159682 말레이미드 (PNU-159682 말

레이미드 아세탈 링커)에 1D11을 접합시켜 항-B7-H4 항체-약물 접합체 (ADC)를 생성하였다.

[0690] I. MX-1 인간 유방암 세포주 이종이식편에서의 항-B7-H4 항체 약물 접합체의 효능

[0691] 항-B7-H4 ADC의 효능을 MX-1 인간 유방암 이종이식편 모델을 이용하여 조사하였다. MX-1 세포주는 삼중 음성 (TN; ER(-) / PR(-) / Her2(-)) 유방관암종 세포주였다. B7-H4는 MX-1 세포에서 고도로 발현되며, IHC, FACS, IF 및 공초점 현미경 및 웨스턴 블롯에 의해 확인되었다. MX-1 종양 단편 (1 mm^3) (9B9 사용 FACS에 의해 B7-H4-양성)을 10마리 마우스/군의 배측 옆구리 내로 피하 이식하고, 접종 후 이식물이 $100\text{--}150 \text{ mm}^3$ 에 도달하면, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg 인간 항-gD 5B6-vcMMAE 대조군 항체-약물 접합체, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg ch9B9-vcMMAE 항체-약물 접합체, ch22C10-vcMMAE 항체-약물 접합체, ch1D11-vcMMAE 항체-약물 접합체, 또는 10 mg/kg ch9B9 네이키드 항체; 또는 비히클 (PBS) 단독을 마우스에게 단일 정맥내 주사로 제공하였다. 주사 후 1, 7 및 14일째에 PK 블리드에 의해 항체의 존재를 확인하였다.

[0692] 도 15에 나타난 바와 같이, 시험된 농도 둘 다에서 모든 3개의 항-B7-H4 항체-약물 접합체에 의해 실질적인 종양 성장 억제에 달성이었다.

[0693] J. HBCX-24 유방암 세포주 이종이식편에서의 항-B7-H4 항체 약물 접합체의 효능

[0694] 항-B7-H4 ADC의 효능을 HBCX-24 유방암 이종이식편 모델을 이용하여 조사하였다. HBCX-24 세포주는 삼중 음성 (TN; ER(-)/PR(-)/Her2(-)) 유방 암종 세포주였다. B7-H4는 HBCX-24 유방암 세포에서 고도로 발현되며, IHC, FACS, IF 및 공초점 현미경 및 웨스턴 블롯에 의해 확인되었다. 면역조직화학에 의해 측정시에 HBCX-24 유방암 세포는 1+ 및 2+ 수준의 B7-H4 염색의 우세도를 가졌다. HBCX-24 종양 단편 (20 mm^3)을 5-10마리 마우스/군의 배측 옆구리 내로 피하 이식하고, 접종 후 이식물이 $75\text{--}200 \text{ mm}^3$ 에 도달하면, 6 mg/kg 또는 10 mg/kg 인간 항-gD 5B6-vcMMAE 대조군 항체-약물 접합체, 3 mg/kg, 6 mg/kg 또는 10 mg/kg ch9B9-vcMMAE 항체-약물 접합체, 또는 10 mg/kg ch9B9 네이키드 항체; 또는 비히클 (PBS) 단독을 마우스에게 단일 정맥내 주사로 제공하였다. 주사 후 1, 7 및 14일째에 PK 블리드에 의해 항체의 존재를 확인하였다.

[0695] 도 16에 나타난 바와 같이, 시험된 농도 둘 다에서 ch9B9 항-B7-H4 항체-약물 접합체에 의해 실질적인 종양 성장 억제에 달성이었다.

[0696] K. MX-1 유방암 세포 이종이식편에서의 항-B7-H4 항체 약물 접합체의 효능

[0697] 아세탈 링커를 함유하는 약물-링커 모이어티 PNU-159682 말레이미드에 1D11을 접합하여 생성한 항-B7-H4 ADC의 효능을 MX-1 유방암 이종이식편 모델을 이용하여 조사하였다. MX-1 종양 단편 (1 mm^3)을 10마리 마우스/군의 배측 옆구리 내로 피하 이식하고, 접종 후 이식물이 $100\text{--}150 \text{ mm}^3$ 에 도달하면, 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg 또는 2.5 mg/kg 인간 항-gD 5B6-vcMMAE 대조군 항체-약물 접합체, 또는 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg 또는 2.5 mg/kg 아세탈 링커를 함유하는 ch1D11-PNU-159682 말레이미드; 또는 비히클 (PBS) 단독을 마우스에게 단일 정맥내 주사로 제공하였다. 주사 후 1, 7 및 14일째에 PK 블리드에 의해 항체의 존재를 확인하였다.

[0698] 도 17에 나타난 바와 같이, 2.5 mg/kg 용량의 ch1D11 ADC는 종양 성장을 지연시키는 것으로 밝혀졌고, 반면에 0.1 mg/kg 및 0.5 mg/kg의 더 낮은 용량은 종양 성장에 대해 뚜렷한 효과가 없었다.

[0699] L. MX-1 유방암 세포 이종이식편에서의 항-B7-H4 항체 약물 접합체의 효능

[0700] 실시예 K에 기재된 바와 같이 MX-1 이종이식편 모델을 이용하여 hu22C10v2.7의 항-B7-H4 ADC의 효능을 조사하였다. 마우스를 10개의 군으로 분리하고, 단일 정맥내 용량의, 12 mg/kg의 hu22C10v2.7 네이키드 항체; 0.5 mg/kg, 1.5 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 9 mg/kg, 12 mg/kg의 hu22C10v2.7-vc-PAB-MMAE; 6 또는 12 mg/kg의 인간 항-gD-5B6-vc-PAB-MMAE; 또는 비히클 (PBS) 단독을 투여하였다. 항체의 존재를 PK 블리드에 의해 확인하였다. 하기 식을 이용하여, 비히클과 비교한 각각의 처리군에 대한 1일당 팻팅된 종양 부피-시간 곡선하 면적 (AUC)의 퍼센트로서, 종양 성장 억제 (TGI)를 계산하였다:

[0701] $\%TGI = 100 \cdot (1 - AUC_{\text{처리}}/\text{일}, AUC_{\text{비히클}}/\text{일})$

[0702] 100%의 TGI 값은 종양 정체를 나타내고, $1\% < TGI < 100\%$ 는 종양 성장 지연을 나타내고, $TGI > 100\%$ 는 종양 퇴행을 나타낸다.

- [0703] 도 18에 나타난 바와 같이, hu22C10v2.7-vc-PAB-MMAE는 6, 9 및 12 mg/kg 용량에 대해 각각 91%, 106% 및 108%의 유의한 종양 성장 억제를 나타내었고; 9 mg/kg 용량에서 38% 부분 반응 (PR) 및 62% 완전 반응 (CR)을 나타내었다. 비히클 또는 대조군 ADC에서는 반응이 관찰되지 않았다.
- [0704] M. HCC-1569x2 유방암 세포 이종이식편에서의 항-B7-H4 항체 약물 접합체의 효능
- [0705] hu22C10v2.7의 항-B7-H4 ADC의 효능을 HCC-1569x2 (Her2⁺/ER⁻) 유방암 세포 이종이식편 모델을 이용하여 조사하였다. B7-H4는 HCC-1569x2 이종이식편에서 고도로 발현되며, IHC 및 FACS에 의해 확인되었다 (도 19a). SCID 베이지 마우스에 HCC-1569x2 세포 (매트릭셀 중 5x10⁶개)를 그의 유방 지방 패드 내로 접종하고, 종양 부피가 250-375mm³에 도달할 때까지 모니터링하였다. 마우스를 10개의 군으로 분리하고, 단일 정맥내 용량의, 5 mg/kg의 ch22C10-vc-PAB-MMAE, 또는 3mg/kg 또는 5 mg/kg의 hu22C10v2.7-vc-PAB-MMAE, 또는 5 mg/kg의 인간 항-gD-5B6-vc-PAB-MMAE, 또는 비히클 (PBS) 단독을 투여하였다. 항체의 존재를 PK 블리드에 의해 확인하였다.
- [0706] 도 19b에 나타난 바와 같이, ch22C10-vc-PAB-MMAE 및 hu22C10v2.7-vc-PAB-MMAE는 5 mg/kg 용량에서 각각, 107% 및 105%의 종양 성장 억제 (TGI)를 나타내었다. 키메라 또는 인간화 22C10 항체 약물 접합체 사이의 효능에는 유의차가 없었다. 보다 낮은 3 mg/kg 용량의 hu22C10v2.7-vc-PAB-MMAE는 비히클 또는 대조군 ADC와 비교하여 94%의 종양 성장 억제 (TGI)를 나타내었다.
- [0707] 상기 발명은 이해를 명확하게 하고자 하는 목적으로 예시 및 실시예로서 어느 정도 상세하게 기재되었지만, 상기 설명 및 실시예가 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시내용은 그의 전문이 명백하게 참조로 포함된다.

[0708]

서열의 표

서열 번호	설명	서열
1	huk ₁	DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCRASQGIS SYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGSTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSYSPFTFGQ GTKVEIKR
2	huVH ₁	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYIIHWVRQA PGQGLEWIGW INPGSGNTNY AQKFQGRVTI TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARFD YWGQGTSLTVV SS
3	mu1D11 경쇄 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASLGGKVT ITCKASQGFN KYVAWYQHQP GQCPRLLIHY TSTLQPGIPA RFGSGSGSRD YSFSISNLEP EDSATYFCLQ YGNLLYAFGG GTKLEIKR
4	mu1D11 중쇄 가변 영역	QVQLQQSGAE LVRPGTSVKM SCKASGYTFT SYWIGWAKQR PGHGFIEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGKATL TADKSSSTAY MQFSSSLTSED SAIYYCARLD GSSYRGAMDS WQGQTSITVS S
5	mu1D11 HVR H1	GYTFTSYIIH
6	mu1D11 HVR H2	DIYPGGGYTN YNEKFKG
7	mu1D11 HVR H3	LDGSSYRGAM DS
8	mu1D11 HVR L1	KASQGFNKYV A
9	mu1D11 HVR L2	YTSTLQP
10	mu1D11 HVR L3	LQYGNLLYA
11	mu32D6 경쇄 가변 영역	DIVMTQSPSS LIVTAGEKVT MSCRSSQSFL DSGSQRNYLT WFHQKPGRRP KLLIYWASTR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQTEDLA VFYFQNDYSF PFTFGSGTKL EEK
12	mu32D6 중쇄 가변 영역	EVQLQQSGPD LVKPGASVKI SCKASGYSFT GYIIHWKQS HGKSLIEWIGR VNPNGDPIY NQKFRGKAIL TVDQSSNTAY MELRSLTSEA SAVYYCARVL FYYGSPFAYW GQGTSLTVSA
13	mu32D6 HVR H1	GYSFTGYIIH
14	mu32D6 HVR H2	RVNPNNGDPIYNQKFRG
15	mu32D6 HVR H3	VLFFYGSPPFAY
16	mu32D6 HVR L1	RSSQSFLDSGSQRNYLT
17	mu32D6 HVR L2	WASTRES
18	mu32D6 HVR L3	QNDYSFPFT
19	mu9B9 경쇄 가변 영역	QAVVTQESAL TTPGDTVTTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQE KPDHLFTGLI GGTNNRVPV PARFSGSLIG DKAALTITGA QTEDEAMYFC ALWYNNHWVF GGGTKLE
20	mu9B9 중쇄 가변 영역	QVQLQQSGAE LMKPGASVKM SCKATGYTFS SYWIEWVKQR PGHGLEWIGE ILPGTSITTY NAKFKVKATF TADTSSNTAY MQLSSSLTSED SAVYFCARYY FGSSSFYFDY WQGQTSITVS S
21	mu9B9 HVR H1	GYTFSSYWIE
22	mu9B9 HVR H2	EILPGTSITTYNAKFKV
23	mu9B9 HVR H3	ARYYFGSSSFYFDY
24	mu9B9 HVR L1	RSSTGAVTTSNYAN
25	mu9B9 HVR L2	GTNNRVP
26	mu9B9 HVR L3	ALWYNNHWV
27	mu22C10 경쇄 가변 영역	QIVLTQSPTI MSASPGEKVT LTCSATSSIS YMHWYQQKPG TSPKGWIYDT SKLAHGVPAR FSGSGSGTSY SLTISSMEAE DAATYYCHQR RSYPFTEFGSG TKLEIK
28	mu22C10 중쇄 가변 영역	QVQLQQPGAE LVKPGTSVKL SCKASGYTFT NFWIHWVIQR PGQGLEWIGE IDPSDSYTN YNQKFKGKATL TVDKSSNTAY MQLSSSLTSED SAVYCSREI TTVDYWGQGT TLTVSS
29	mu22C10 HVR H1	GYFTNFWIH
30	mu22C10 HVR H2	EIDPSDSYTNYNQKFKG
31	mu22C10 HVR H3	EITTVDY
32	mu22C10 HVR L1	SATSSISYMH
33	mu22C10 HVR L2	DTSKLAH
34	mu22C10 HVR L3	HQRRSYPF

[0709]

35	hu1D11.v1.7 경쇄 가변 영역; hu1D11.v1.8 경쇄 가변 영역; hu1D11.v1.9 경쇄 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCKASQGFN KYVAWYQQKP GKAPKLLIYY TSTLQPGVPS RFSGSGSGRD YTLTISSLQP EDFATYYCLQ YGNLLYAFGQ GTKVEIKR
36	hu1D11.v1.6 중쇄 가변 영역; hu1D11.v1.7 중쇄 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRATL TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTTLVTVS S
37	hu1D11.v1.8 중쇄 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRATI TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTTLVTVS S
38	hu1D11.v1.9 중쇄 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRVTI TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTTLVTVS S
39	hu1D11.v1 HVR H1 hu1D11.v2 HVR H1 hu1D11.v3 HVR H1 hu1D11.v4 HVR H1 hu1D11.v1.1 HVR H1 hu1D11.v1.2 HVR H1 hu1D11.v1.3 HVR H1 hu1D11.v1.4 HVR H1 hu1D11.v1.5 HVR H1 hu1D11.v1.6 HVR H1 hu1D11.v1.7 HVR H1 hu1D11.v1.8 HVR H1 hu1D11.v1.9 HVR H1	GYTFTSYWIG
40	hu1D11.v1 HVR H2 hu1D11.v2 HVR H2 hu1D11.v3 HVR H2 hu1D11.v4 HVR H2 hu1D11.v1.1 HVR H2 hu1D11.v1.2 HVR H2 hu1D11.v1.3 HVR H2 hu1D11.v1.4 HVR H2 hu1D11.v1.5 HVR H1 hu1D11.v1.6 HVR H2 hu1D11.v1.7 HVR H2 hu1D11.v1.8 HVR H2 hu1D11.v1.9 HVR H2	DIYPGGGYTNYNEKFKG
41	hu1D11.v1 HVR H3 hu1D11.v2 HVR H3 hu1D11.v3 HVR H3 hu1D11.v4 HVR H3 hu1D11.v1.1 HVR H3 hu1D11.v1.2 HVR H3 hu1D11.v1.3 HVR H3 hu1D11.v1.4 HVR H3 hu1D11.v1.5 HVR H3 hu1D11.v1.6 HVR H3 hu1D11.v1.7 HVR H3 hu1D11.v1.8 HVR H3 hu1D11.v1.9 HVR H3	LDGSSYRGAMDS

[0710]

42	hu1D11.v1 HVR L1 hu1D11.v2 HVR L1 hu1D11.v3 HVR L1 hu1D11.v4 HVR L1 hu1D11.v1.1 HVR L1 hu1D11.v1.2 HVR L1 hu1D11.v1.3 HVR L1 hu1D11.v1.4 HVR L1 hu1D11.v1.5 HVR L1 hu1D11.v1.6 HVR L1 hu1D11.v1.7 HVR L1 hu1D11.v1.8 HVR L1 hu1D11.v1.9 HVR L1	KASQGFNKYVA
43	hu1D11.v1 HVR L2 hu1D11.v2 HVR L2 hu1D11.v3 HVR L2 hu1D11.v4 HVR L2 hu1D11.v1.1 HVR L2 hu1D11.v1.2 HVR L2 hu1D11.v1.3 HVR L2 hu1D11.v1.4 HVR L2 hu1D11.v1.5 HVR L2 hu1D11.v1.6 HVR L2 hu1D11.v1.7 HVR L2 hu1D11.v1.8 HVR L2 hu1D11.v1.9 HVR L2	YTSTLQFP
44	hu1D11.v1 HVR L3 hu1D11.v2 HVR L3 hu1D11.v3 HVR L3 hu1D11.v4 HVR L3 hu1D11.v1.1 HVR L3 hu1D11.v1.2 HVR L3 hu1D11.v1.3 HVR L3 hu1D11.v1.4 HVR L3 hu1D11.v1.5 HVR L3 hu1D11.v1.6 HVR L3 hu1D11.v1.7 HVR L3 hu1D11.v1.8 HVR L3 hu1D11.v1.9 HVR L3	LQYGNLLYA
45	hu1D11.v1 경쇄 (LC) 프레임워크 1 (FR1) hu1D11.v2 LC FR1 hu1D11.v3 LC FR1 hu1D11.v4 LC FR1 hu1D11.v1.1 LC FR1 hu1D11.v1.2 LC FR1 hu1D11.v1.3 LC FR1 hu1D11.v1.4 LC FR1 hu1D11.v1.5 LC FR1 hu1D11.v1.6 LC FR1 hu1D11.v1.7 LC FR1 hu1D11.v1.8 LC FR1 hu1D11.v1.9 LC FR1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVITC
46	hu1D11.v1.1 LC FR2 hu1D11.v1.7 LC FR2 hu1D11.v1.8 LC FR2 hu1D11.v1.9 LC FR2	WYQQKPGKAP KLLIY

[0711]

47	hu1D11.v1 LC FR3 hu1D11.v1.4 LC FR3 hu1D11.v1.5 LC FR3 hu1D11.v1.6 LC FR3 hu1D11.v1.7 LC FR3 hu1D11.v1.8 LC FR3 hu1D11.v1.9 LC FR3	GVPSRFSGSG SGRDYTLTIS SLQPEDFATY YC
48	hu1D11.v1 LC FR4 hu1D11.v2 LC FR4 hu1D11.v3 LC FR4 hu1D11.v4 LC FR4 hu1D11.v1.1 LC FR4 hu1D11.v1.2 LC FR4 hu1D11.v1.3 LC FR4 hu1D11.v1.4 LC FR4 hu1D11.v1.5 LC FR4 hu1D11.v1.6 LC FR4 hu1D11.v1.7 LC FR4 hu1D11.v1.8 LC FR4 hu1D11.v1.9 LC FR4	FGQGTVKEIK R
49	hu1D11.v1 중쇄 (HC) 프레임워크 1 (FR1) hu1D11.v2 HC FR1 hu1D11.v3 HC FR1 hu1D11.v4 HC FR1 hu1D11.v1.1 HC FR1 hu1D11.v1.2 HC FR1 hu1D11.v1.3 HC FR1 hu1D11.v1.4 HC FR1 hu1D11.v1.5 HC FR1 hu1D11.v1.6 HC FR1 hu1D11.v1.7 HC FR1hu1D11.v1.8 HC FR1 hu1D11.v1.9 HC FR1	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKAS
50	hu1D11.v1 HC FR2 hu1D11.v2 HC FR2 hu1D11.v3 HC FR2 hu1D11.v4 HC FR2 hu1D11.v1.1 HC FR2 hu1D11.v1.2 HC FR2 hu1D11.v1.3 HC FR2 hu1D11.v1.4 HC FR2 hu1D11.v1.5 HC FR2 hu1D11.v1.6 HC FR2 hu1D11.v1.7 HC FR2 hu1D11.v1.8 HC FR2 hu1D11.v1.9 HC FR2	WVRQAPGQGL EWIG
51	hu1D11.v1.6 HC FR3 hu1D11.v1.7 HC FR3	RATLTRDTST STAYLELSSL RSEDVAVYC AR
52	hu1D11.v1.8 HC FR3	RATITRDTST STAYLELSSL RSEDVAVYC AR
53	hu1D11.v1.9 HC FR3	RVTITRDTST STAYLELSSL RSEDVAVYC AR

[0712]

54	hu1D11.v1 HC FR4 hu1D11.v2 HC FR4 hu1D11.v3 HC FR4 hu1D11.v4 HC FR4 hu1D11.v1.1 HC FR4 hu1D11.v1.2 HC FR4 hu1D11.v1.3 HC FR4 hu1D11.v1.4 HC FR4 hu1D11.v1.5 HC FR4 hu1D11.v1.6 HC FR4 hu1D11.v1.7 HC FR4 hu1D11.v1.8 HC FR4 hu1D11.v1.9 HC FR4	WGQGTLVTVS S
55	hu22C10.v2 경쇄 가변 영역 hu22C10.v3 경쇄 가변 영역 hu22C10.v4 경쇄 가변 영역 hu22C10.v5 경쇄 가변 영역 hu22C10.v2.3 경쇄 가변 영역 hu22C10.v2.4 경쇄 가변 영역 hu22C10.v2.5 경쇄 가변 영역 hu22C10.v2.6 경쇄 가변 영역 hu22C10.v2.7 경쇄 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSATSSIS YMHYQQKPG KAPKGWIYDT SKLAHGVPSR FSGSGSGTDF TLTISSLQPE DFATYYCHQR RSYPTFTFGQG TKVEIK
56	hu22C10.v2.7 중쇄 가변 영역; hu22C10.v2.8 중쇄 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRVTI TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCAREI TTVDYWGQGT LVTVSS
57	hu22C10.v2.8 경쇄 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSATSSIS YMHYQQKPG KAPKGLIYDT SKLAHGVPSR FSGSGSGTDF TLTISSLQPE DFATYYCHQR RSYPTFTFGQG TKVEIK
58	hu22C10.v1 HVR H1 hu22C10.v2 HVR H1 hu22C10.v3 HVR H1 hu22C10.v4 HVR H1 hu22C10.v5 HVR H1 hu22C10.v2.1 HVR H1 hu22C10.v2.2 HVR H1 hu22C10.v2.3 HVR H1 hu22C10.v2.4 HVR H1 hu22C10.v2.5 HVR H1 hu22C10.v2.6 HVR H1 hu22C10.v2.7 HVR H1 hu22C10.v2.8 HVR H1	GYTFTNFWIH
59	hu22C10.v1 HVR H2 hu22C10.v2 HVR H2 hu22C10.v3 HVR H2 hu22C10.v4 HVR H2 hu22C10.v5 HVR H2 hu22C10.v2.1 HVR H2 hu22C10.v2.2 HVR H2 hu22C10.v2.3 HVR H2 hu22C10.v2.4 HVR H2 hu22C10.v2.5 HVR H2 hu22C10.v2.6 HVR H2 hu22C10.v2.7 HVR H2 hu22C10.v2.8 HVR H2	EIDPSDSYTNV NQKFKG

[0713]

60	hu22C10.v1 HVR H3 hu22C10.v2 HVR H3 hu22C10.v3 HVR H3 hu22C10.v4 HVR H3 hu22C10.v5 HVR H3 hu22C10.v2.1 HVR H3 hu22C10.v2.2 HVR H3 hu22C10.v2.3 HVR H3 hu22C10.v2.4 HVR H3 hu22C10.v2.5 HVR H3 hu22C10.v2.6 HVR H3 hu22C10.v2.7 HVR H3 hu22C10.v2.8 HVR H3	EITTVDY
61	hu22C10.v1 HVR L1 hu22C10.v2 HVR L1 hu22C10.v3 HVR L1 hu22C10.v4 HVR L1 hu22C10.v5 HVR L1 hu22C10.v2.1 HVR L1 hu22C10.v2.2 HVR L1 hu22C10.v2.3 HVR L1 hu22C10.v2.4 HVR L1 hu22C10.v2.5 HVR L1 hu22C10.v2.6 HVR L1 hu22C10.v2.7 HVR L1 hu22C10.v2.8 HVR L1	SATSSISYMH
62	hu22C10.v1 HVR L2 hu22C10.v2 HVR L2 hu22C10.v3 HVR L2 hu22C10.v4 HVR L2 hu22C10.v5 HVR L2 hu22C10.v2.1 HVR L2 hu22C10.v2.2 HVR L2 hu22C10.v2.3 HVR L2 hu22C10.v2.4 HVR L2 hu22C10.v2.5 HVR L2 hu22C10.v2.6 HVR L2 hu22C10.v2.7 HVR L2 hu22C10.v2.8 HVR L2	DTSKLAH
63	hu22C10.v1 HVR L3 hu22C10.v2 HVR L3 hu22C10.v3 HVR L3 hu22C10.v4 HVR L3 hu22C10.v5 HVR L3 hu22C10.v2.1 HVR L3 hu22C10.v2.2 HVR L3 hu22C10.v2.3 HVR L3 hu22C10.v2.4 HVR L3 hu22C10.v2.5 HVR L3 hu22C10.v2.6 HVR L3 hu22C10.v2.7 HVR L3 hu22C10.v2.8 HVR L3	HQRRSYPT

[0714]

64	hu22C10.v1 LC FR1 hu22C10.v2 LC FR1 hu22C10.v3 LC FR1 hu22C10.v4 LC FR1 hu22C10.v5 LC FR1 hu22C10.v2.1 LC FR1 hu22C10.v2.2 LC FR1 hu22C10.v2.3 LC FR1 hu22C10.v2.4 LC FR1 hu22C10.v2.5 LC FR1 hu22C10.v2.6 LC FR1 hu22C10.v2.7 LC FR1 hu22C10.v2.8 LC FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
65	hu22C10.v1 LC FR2 hu22C10.v2 LC FR2 hu22C10.v3 LC FR2 hu22C10.v4 LC FR2 hu22C10.v5 LC FR2 hu22C10.v2.3 LC FR2 hu22C10.v2.4 LC FR2 hu22C10.v2.5 LC FR2 hu22C10.v2.6 LC FR2 hu22C10.v2.7 LC FR2	WYQQKPGKAPKGWIY
66	hu22C10.v2.8 LC FR2	WYQQKPGKAPKGLIY
67	hu22C10.v2 LC FR3 hu22C10.v3 LC FR3 hu22C10.v4 LC FR3 hu22C10.v5 LC FR3 hu22C10.v2.1 LC FR3 hu22C10.v2.2 LC FR3 hu22C10.v2.3 LC FR3 hu22C10.v2.4 LC FR3 hu22C10.v2.5 LC FR3 hu22C10.v2.6 LC FR3 hu22C10.v2.7 LC FR3 hu22C10.v2.8 LC FR3	GVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
68	hu22C10.v1 LC FR4 hu22C10.v2 LC FR4 hu22C10.v3 LC FR4 hu22C10.v4 LC FR4 hu22C10.v5 LC FR4 hu22C10.v2.1 LC FR4 hu22C10.v2.2 LC FR4 hu22C10.v2.3 LC FR4 hu22C10.v2.4 LC FR4 hu22C10.v2.5 LC FR4 hu22C10.v2.6 LC FR4 hu22C10.v2.7 LC FR4 hu22C10.v2.8 LC FR4	FGQGTKVEIKR
69	hu22C10.v1 HC FR1 hu22C10.v2 HC FR1 hu22C10.v3 HC FR1 hu22C10.v4 HC FR1 hu22C10.v5 HC FR1 hu22C10.v2.1 HC FR1 hu22C10.v2.2 HC FR1 hu22C10.v2.3 HC FR1 hu22C10.v2.4 HC FR1 hu22C10.v2.5 HC FR1 hu22C10.v2.6 HC FR1 hu22C10.v2.7 HC FR1 hu22C10.v2.8 HC FR1	EVQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKAS

[0715]

70	hu22C10.v1 HC FR2 hu22C10.v2 HC FR2 hu22C10.v3 HC FR2 hu22C10.v4 HC FR2 hu22C10.v5 HC FR2 hu22C10.v2.1 HC FR2 hu22C10.v2.2 HC FR2 hu22C10.v2.3 HC FR2 hu22C10.v2.4 HC FR2 hu22C10.v2.5 HC FR2 hu22C10.v2.6 HC FR2 hu22C10.v2.7 HC FR2 hu22C10.v2.8 HC FR2	WVRQAPGQGLEWIG
71	hu22C10.v2.7 HC FR3 hu22C10.v2.8 HC FR3	RVTI TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCAR
72	hu22C10.v1 HC FR4 hu22C10.v2 HC FR4 hu22C10.v3 HC FR4 hu22C10.v4 HC FR4 hu22C10.v5 HC FR4 hu22C10.v2.1 HC FR4 hu22C10.v2.2 HC FR4 hu22C10.v2.3 HC FR4 hu22C10.v2.4 HC FR4 hu22C10.v2.5 HC FR4 hu22C10.v2.6 HC FR4 hu22C10.v2.7 HC FR4 hu22C10.v2.8 HC FR4	WGQGT LVTVSS
73	인간 B7-H4 전구체; 신호 서열 = 아미노산 1-28	MASLGQILFW SIISIIILA GAIALIIGFG ISGRHSITVT TVASAGNIGE DGILSCTFEP DIKLSDIVIQ WLKEGVLGLV HEFKEGKDEL SEQDEMFRGR TAVFADQVIV GNASLRRLKNV QLTDAGTYKC YIITSKGKGN ANLEYKTGAF SMPEVNVDYN ASSETLRCEA PRWFPQPTVV WASQVDQGAN FSEVSNTSFE LNSENVMTKV VSVLYNVTIN NTYSCMIEND IAKATGDIKV TESEIKRRSH LQLLNSKASL CVSSFFAISW ALLPLSPYLM LK
74	성숙한 인간 B7-H4, 신호 서열 없음; 아미노산 29 내지 282	FGISGRHSIT VTTVASAGNI GEDGILSCTF EPDIKLSDIV IQWLKEGVLG LVHEFKEGKD ELSEQDEMFR GRTAVFADQV IVGNASLRRLK NVQLTDAGTY KCYIITSKGK GNANLEYKTG AFSMPEVNVD YNASSETLRC EAPRWFPQPT VVWASQVDQG ANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTESEIKRR SHLQLLNSKA SLCVSSFFAI SWALLPLSPY LMLK
75	시노물구스 원숭이 B7-H4 전구체; 신호 서열 = 아미노산 1-28	MASLGQILFW SIISIIIFILA GAIALIIGFG ISGRHSITVT TVASAGNIGE DGILSCTFEP DIKLSDIVIQ WLKEGVIGLV HEFKEGKDEL SEQDEMFRGR TAVFADQVIV GNASLRRLKNV QLTDAGTYKC YIITSKGKGN ANLEYKTGAF SMPEVNVDYN ASSETLRCEA PRWFPQPTVV WASQVDQGAN FSEVSNTSFE LNSENVMTKV VSVLYNVTIN NTYSCMIEND IAKATGDIKV TESEIKRRSH LQLLNSKASL CVSSFLAISW ALLPLAPYLM LK
76	성숙한 시노물구스 원숭이 B7-H4, 신호 서열 없음; 아미노산 29-282	FGISGRHSIT VTTVASAGNI GEDGILSCTF EPDIKLSDIV IQWLKEGVIG LVHEFKEGKD ELSEQDEMFR GRTAVFADQV IVGNASLRRLK NVQLTDAGTY KCYIITSKGK GNANLEYKTG AFSMPEVNVD YNASSETLRC EAPRWFPQPT VVWASQVDQG ANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTESEIKRR SHLQLLNSKA SLCVSSFLAI SWALLPLAPY LMLK

[0716]

77	레트 B7-H4 전구체; 신호 서열 = 아미노산 1-28	MASLGQIIFW SIINVIILLA GAIVLIIGFG ISGKHFITVT TFTSAGNIGE DGTLSCTFEP DIKLNIGIVQ WLKEGKGLV HEFKEGKDDL SQQHEMFRGR TAVFADQVVV GNASLRLKNV QLTDAGTYTC YIHTSKGKGN ANLEYKTGAF SMPEINVDYN ASSESLRCEA PRWFPQPTVA WASQVDQGAN FSEVSNTSFE LNSENVTMKV VSVLYNVTIN NTYSCMIEND IAKATGDIKV TDSEVKRRSQ LELLNSGPSP CVSSVSAAGW ALLSLSCCLM LR
78	성숙한 레트 B7-H4, 신호 서열 없음; 아미노산 29-282	FGISGKHFIT VTTFTSAGNI GEDGTLSCTF EPDIKLNIGIV IQWLKEGKGLV LVHEFKEGKD DLSQQHEMFR GRNAVADQV VVGNASLRLK NVQLTDAGTY TCYIHTSKGK GNANLEYKTG AFSMPEINVD YNASSESLRC EAPRWFPQPT VAWASQVDQGANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTDSVKRR SQLLELNSGP SPCVSSVSAAGWALLSLSCCLMLR
79	마우스 B7-H4 전구체; 신호 서열 = 아미노산 1-28	MASLGQIIFW SIINIIILLA GAIALIIGFG ISGKHFITVT TFTSAGNIGE DGTLSCTFEP DIKLNIGIVQ WLKEGKGLV HEFKEGKDDL SQQHEMFRGR TAVFADQVVV GNASLRLKNV QLTDAGTYTC YIHTSKGKGN ANLEYKTGAF SMPEINVDYN ASSESLRCEA PRWFPQPTVA WASQVDQGAN FSEVSNTSFE LNSENVTMKV VSVLYNVTIN NTYSCMIEND IAKATGDIKV TDSEVKRRSQ LQLLNSGPSP CVFSSAFAAG WALLSLSCCLMLR
80	성숙한 마우스 B7-H4, 신호 서열 없음; 아미노산 29 내지 283	FGISGKHFIT VTTFTSAGNI GEDGTLSCTF EPDIKLNIGIV IQWLKEGKGLV LVHEFKEGKD DLSQQHEMFR GRNAVADQV VVGNASLRLK NVQLTDAGTY TCYIHTSKGK GNANLEYKTG AFSMPEINVD YNASSESLRC EAPRWFPQPT VAWASQVDQGANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTDSVKRR SQLLELNSGP SPCVSSAFAAGWALLSLSCCLMLR
81	침팬지 B7-H4 전구체; 신호 서열 = 아미노산 1-24	MKPLTSRIIS IIIILAGAIR LIIGFGISGR HSITVTTVAS AGNIGEDGIL SCTFEPDIKL SDIVIQWLKE GVLGLVHEFK EGKDELSEQD EMFRGRTAVF ADQVIVGNAS LRLKNVQLTD AGTYKCYIIT SKGKGNANLE YKTGAFSMPE VNVYNASSE TLRCEAPRWF PQPTVVWASQ IDQGANFSEV SNTSFELNSE NVTMKVSVL YNATINNTYS CMIENDIAKA TGDIVTESE IKRRSHLQLL NSKASLCVSS FFAISWALLP LSPYMLLK
82	성숙한 침팬지 B7-H4, 신호 서열 없음; 아미노산 25 내지 278	FGISGRHSIT VTTVASAGNI GEDGILSCTF EPDIKLSDIV IQWLKEGVLG LVHEFKEGKD ELSEQDEMFR GRNAVADQV IVGNASLRLK NVQLTDAGTY KCYIITSK GK GNANLEYKTG AFSMPEVNVN YNASETLRC EAPRWFPQPT VVWASQIDQGANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNAT INNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTSEIKRR SHLQLLNSKA SLCVSSFFAI SWALLPLSPY LMLK
83	hu1D11.v1 LC FR2 hu1D11.v2 LC FR2 hu1D11.v3 LC FR2 hu1D11.v4 LC FR2 hu1D11.v1.2 LC FR2 hu1D11.v1.3 LC FR2 hu1D11.v1.4 LC FR2 hu1D11.v1.5 LC FR2 hu1D11.v1.6 LC FR2	WYQQKPGKAP KLLIH
84	hu1D11.v2 LC FR3	GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDFATY YC
85	hu1D11.v3 LC FR3 hu1D11.v4 LC FR3	GIPSRFSGSG SGRDYTLTIS SLQPEDFATY YC
86	hu1D11.v1.2 LC FR3	GVPSRFSGSG SGTDYTLTIS SLQPEDFATY YC
87	hu1D11.v1.3 LC FR3	GVPSRFSGSG SGRDYTLTIS SLQPEDFATY YC

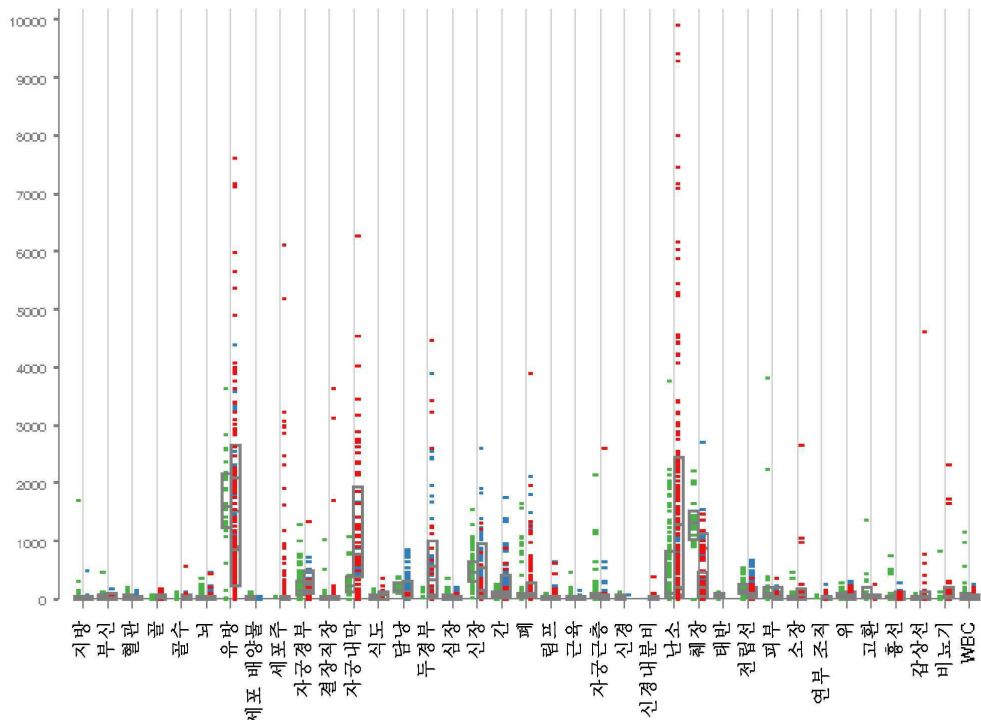
[0717]

88	hu1D11.v1 HC FR3 hu1D11.v2 HC FR3 hu1D11.v.1.1 HC FR3 hu1D11.v.1.2 HC FR3 hu1D11.v.1.3 HC FR3	RATLTADTST STAYLELSSL RSEDТАVYYC AR
89	hu1D11.v3 HC FR3	RATLTADKST STAYLELSSL RSEDТАVYYC AR
90	hu1D11.v4 HC FR3	RATLTADKSS STAYLELSSL RSEDТАVYYC AR
91	hu1D11.v1.4 HC FR3	RVTLTADTST STAYLELSSL RSEDТАVYYC AR
92	hu1D11.v1.5 HC FR3	RATITADTST STAYLELSSL RSEDТАVYYC AR
93	hu1D11.v1 경채 가변 영역; hu1D11.v1.4 경채 가변 영역; hu1D11.v1.5 경채 가변 영역; hu1D11.v1.6 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGFN KYVAWYQQKP GKAPKLLIHY TSTLQPGVPS RFSGSGSGRD YTLTISSLQP EDFATYYCLQ YGNLLYAFGQ GTKVEIKR
94	hu1D11.v1.3 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGFN KYVAWYQQKP GKAPKLLIHY TSTLQPGVPS RFSGSGSGRD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YGNLLYAFGQ GTKVEIKR
95	hu1D11.v1.2 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGFN KYVAWYQQKP GKAPKLLIHY TSTLQPGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCLQ YGNLLYAFGQ GTKVEIKR
96	hu1D11.v1.1 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGFN KYVAWYQQKP GKAPKLLIYY TSTLQPGVPS RFSGSGSGRD YTLTISSLQP EDFATYYCLQ YGNLLYAFGQ GTKVEIKR
97	hu1D11.v2 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGFN KYVAWYQQKP GKAPKLLIHY TSTLQPGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YGNLLYAFGQ GTKVEIKR
98	hu1D11.v3 경채 가변 영역; hu1D11.v4 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGFN KYVAWYQQKP GKAPKLLIHY TSTLQPGIPS RFSGSGSGRD YTLTISSLQP EDFATYYCLQ YGNLLYAFGQ GTKVEIKR
99	hu1D11.v1.5 중채 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRATI TADTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTЛVTVS S
100	hu1D11.v1.4 중채 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRVTL TADTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTЛVTVS S
101	hu1D11.v1 중채 가변 영역; hu1D11.v2 중채 가변 영역; hu1D11.v1.1 중채 가변 영역; hu1D11.v1.2 중채 가변 영역; hu1D11.v1.3 중채 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRATL TADTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTЛVTVS S
102	hu1D11.v3 중채 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRATL TADKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTЛVTVS S
103	hu1D11.v4 중채 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWIGWVRQA PGQGLEWIGD IYPGGGYTNY NEKFKGRATL TADKSSSTAY LELSSLRSED TAVYYCARLD GSSYRGAMDS WGQGTЛVTVS S
104	hu22C10.v1 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSATSSIS YMHWYQQKPG KAPKGWIYDT SKLAHGVPSR FSGSGSGTDY TLTISLQPE DFATYYCHQR RSYPTTFGQG TKVEIK
105	hu22C10.v2.1 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSATSSIS YMHWYQQKPG KAPKLWIYDT SKLAHGVPSR FSGSGSGTDF TLTISLQPE DFATYYCHQR RSYPTTFGQG TKVEIK
106	hu22C10.v2.2 경채 가변 영역; hu22C10.v2.8 경채 가변 영역	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSATSSIS YMHWYQQKPG KAPKGLIYDT SKLAHGVPSR FSGSGSGTDF TLTISLQPE DFATYYCHQR RSYPTTFGQG TKVEIK
107	hu22C10.v2.6 중채 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRATL TVDSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCAREI TTVDYWGQGT LVTVSS

[0718]

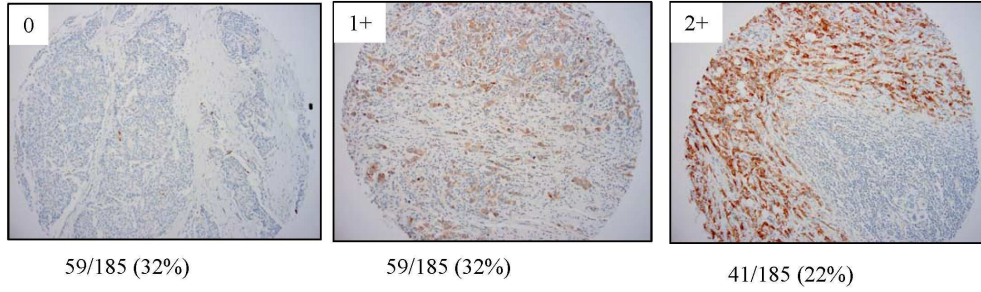
108	hu22C10.v2.5 중세 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRVQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRATL TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSREI TTVDYWGQGT LVTVSS
109	hu22C10.v2.4 중세 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRVQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRATI TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSREI TTVDYWGQGT LVTVSS
110	hu22C10.v2.3 중세 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRVQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRVTL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSREI TTVDYWGQGT LVTVSS
111	hu22C10.v1 중세 가변 영역, hu22C10.v2 중세 가변 영역, hu22C10.v2.1 중세 가변 영역, hu22C10.v2.2 중세 가변 영역	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRVQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSREI TTVDYWGQGT LVTVSS
112	hu22C10.v3 중세 가변 영역,	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRVQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSREI TTVDYWGQGT LVTVSS
113	hu22C10.v4 중세 가변 영역,	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRVQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRATL TVDKSTNTAY LELSSLRSED TAVYYCSREI TTVDYWGQGT LVTVSS
114	hu22C10.v5 중세 가변 영역,	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NFWIHWRVQA PGQGLEWIGE IDPSDSYTNV NQKFKGRATL TVDKSSNTAY LELSSLRSED TAVYYCSREI TTVDYWGQGT LVTVSS
115	hu22C10.v2.1 LC FR2	WYQQKPGKAPKRLWIY
116	hu22C10.v2.2 LC FR2	WYQQKPGKAPKGLIY
117	hu22C10.v1 LC FR3	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYC
118	hu22C10.v2.6 HC FR3	RATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCAR
119	hu22C10.v2.5 HC FR3	RATL TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSR
120	hu22C10.v2.4 HC FR3	RATI TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSR
121	hu22C10.v2.3 HC FR3	RVTL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSR
122	hu22C10.v1 HC FR3 hu22C10.v2 HC FR3 hu22C10.v2.1 HC FR3 hu22C10.v2.2 HC FR3	RATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSR
123	hu22C10.v3 HC FR3	RATL TVDKSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCSR
124	hu22C10.v4 HC FR3	RATL TVDKSTNTAY LELSSLRSED TAVYYCSR
125	hu22C10.v5 HC FR3	RATL TVDKSSNTAY LELSSLRSED TAVYYCSR

도면1

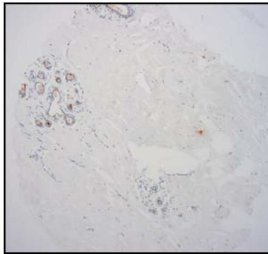


도면2

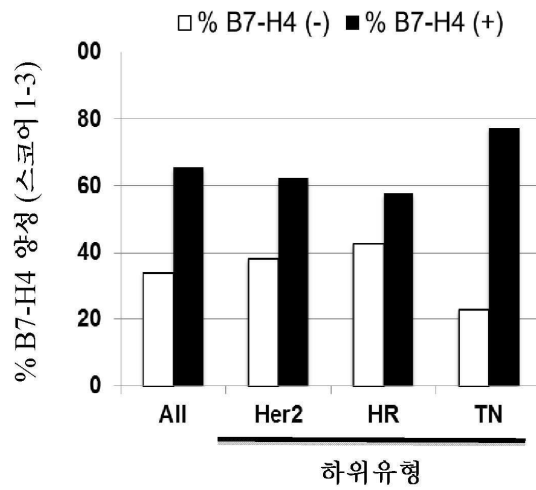
유방 암종



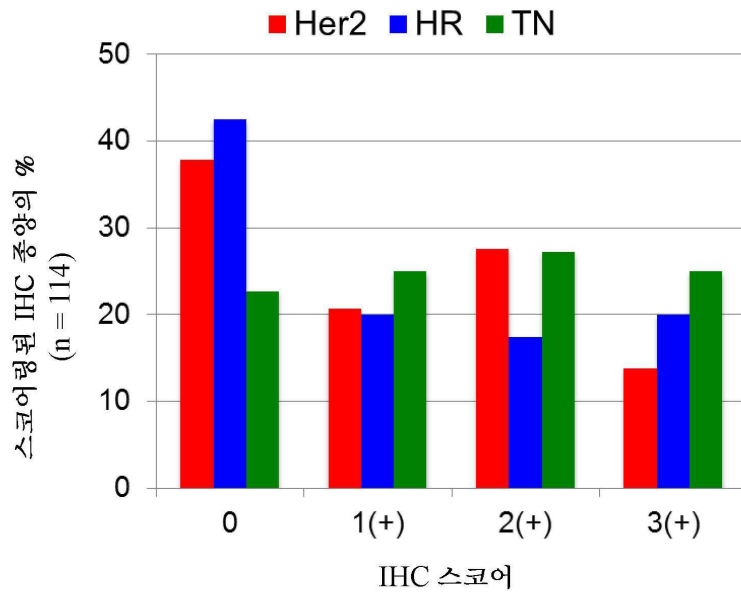
정상 유방



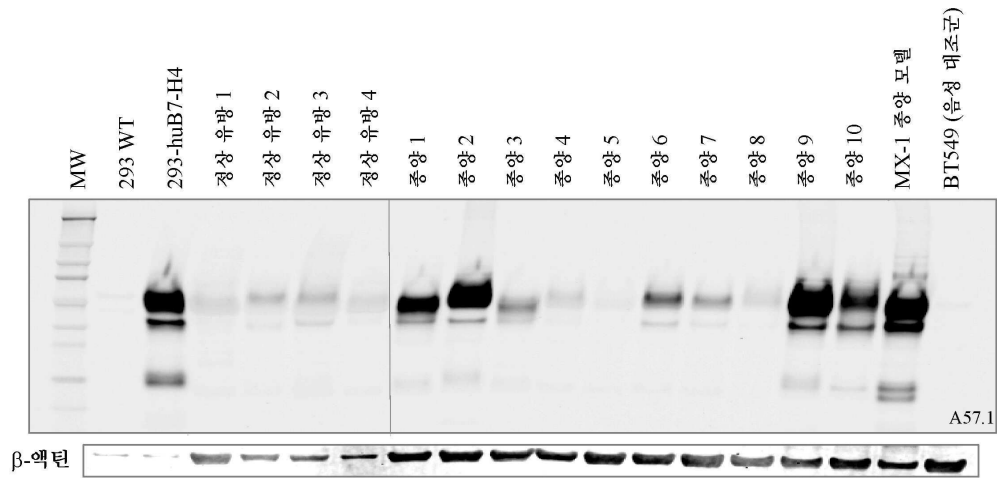
도면3a



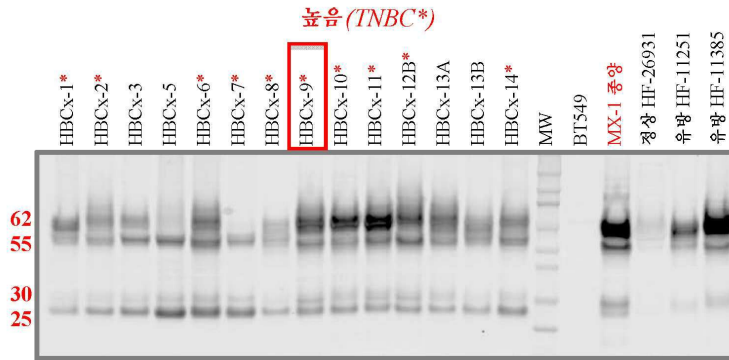
도면3b



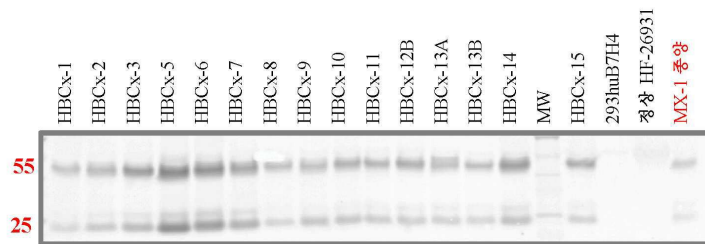
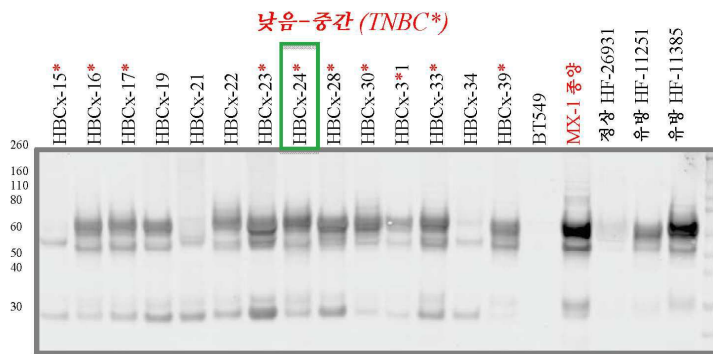
도면3c



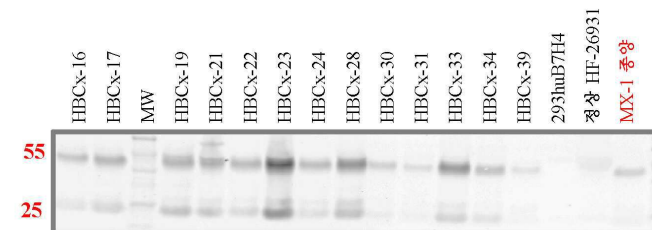
도면3d



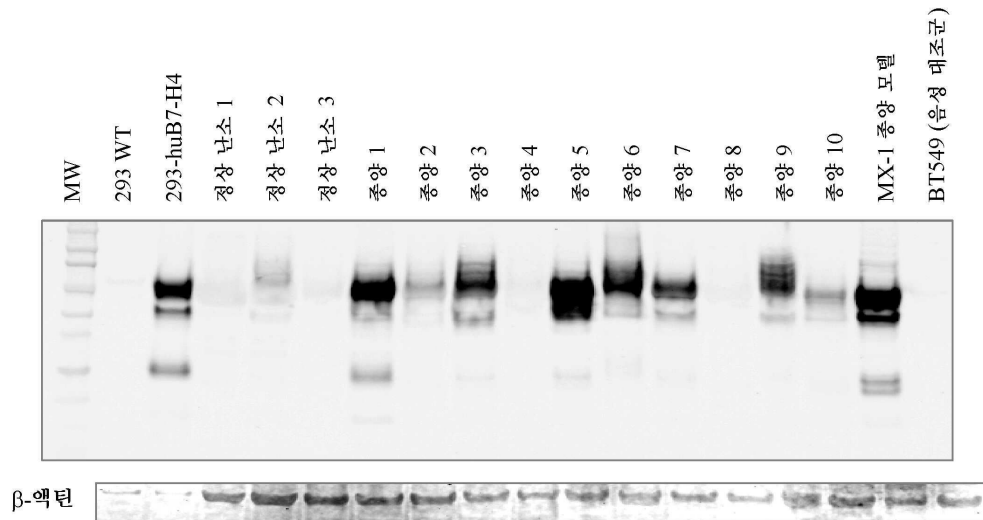
웨스턴 (A57.1)
~ 50 mg 용해물/레인



웨스턴 (2nd 단독)



도면3e



도면4a

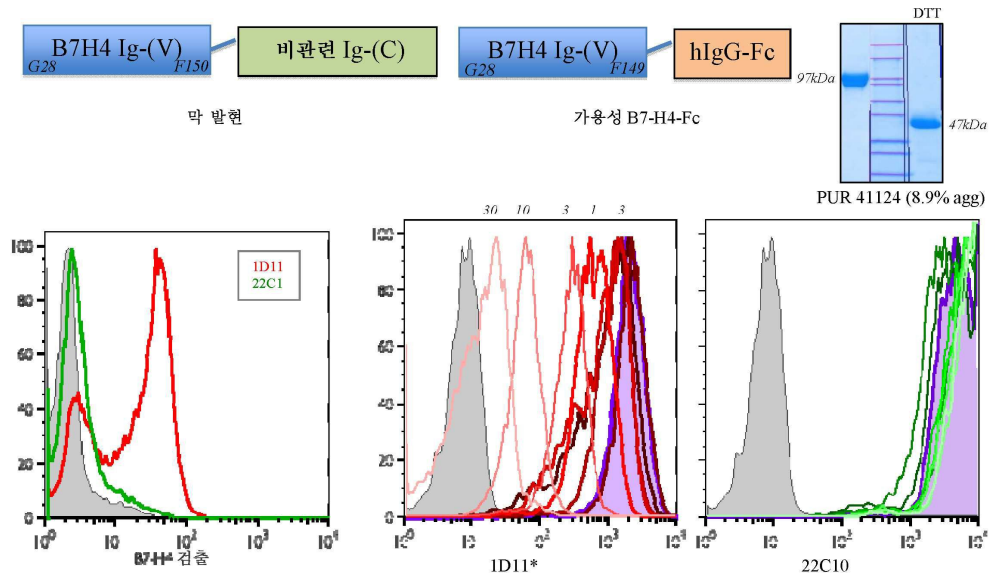
항체	친화도 (1)	에피토프 군 (2)	도메인 (3)	설명
1D11	H - 6.1nM C - 4.1nM M - 9.4nM R - 4.1nM	A	Ig-V	단백질 면역화 (mB7-H4:Fc) mB7-H4 (♂) 마우스
9B9	H - 6.6nM C - 5.2nM M - 13.7nM R - 4.7nM	A	Ig-V	세포 면역화 293-hB7-H4 세포
3.22.C10	H - 6.6nM C - 4.6nM M - 18.3nM R - 5.7nM	B	Ig-V/IgC	세포 면역화 293-hB7-H4 세포
2.32D6	H - 4.8nM C - 3.1nM M - NB R - NB	C	Ig-V	DNA 면역화 & hB7-H4:Fc 부스트

¹ 재조합 B7-H4를 발현하는 안정한 세포주 상에서의 스캐차드

² FACS 경쟁에 의해 결정

³ FACS (키메라 Ig 도메인)

도면4b



도면5

xB7H4 하이브리도마 클론 VL SEQ 정렬

[illegible]

xB7H4 하이브리도마 클론 VH SEQ 정렬

	CDR-H1																				CDR-H2																																												
>B7H4																																																																	
하이브리도마																																																																	
클론	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40																									
m22C10	Q	V	Q	L	Q	P	G	A	E	L	V	K	P	G	T	S	V	K	L	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	F	W	I	H	V	I	Q	R	P	G	G	L	E	W	I	G	E	I	D	P	S	D	S	Y	T	N	W	K	F	K	G				
m32D6	E	V	Q	L	Q	S	G	A	E	L	V	K	P	G	A	S	V	K	M	S	C	K	A	S	G	Y	S	F	T	G	Y	I	H	N	W	K	S	H	G	K	S	L	E	W	I	G	R	V	N	P	N	H	G	D	P	I	Y	N	W	K	F	R	G		
m989	Q	V	Q	L	Q	S	G	A	E	L	V	K	P	G	A	S	V	K	M	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	S	Y	I	H	N	W	K	R	P	G	H	L	E	W	I	G	E	I	L	P	G	T	S	I	T	T	Y	N	A	K	F	K	V		
m1D11	Q	V	Q	L	Q	S	G	A	E	L	V	R	P	G	T	S	V	K	M	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	W	I	G	W	A	K	Q	R	P	G	H	G	F	E	W	I	G	D	I	Y	P	G	G	G	Y	T	N	Y	N	E	K	F	K	G

	CDR-H3																																																					
>B7H4																																																						
하이브리도마																																																						
클론	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20																																	
m22C10	A	T	L	T	V	D	Q	S	S	N	T	A	Y	M	Q	L	S	L	T	S	E	D	S	A	V	Y	F	C	S	R	E	I	T	T	.	.	.	.	.	.	V	O	Y	W	G	Q	G	T	T	L	T	V	S	S
m32D6	A	I	L	T	V	D	Q	S	S	N	T	A	Y	M	E	L	R	L	S	L	T	S	E	A	S	A	V	Y	F	C	A	R	V	L	F	Y	G	S	P	.	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	S	A	
m989	A	T	F	A	D	T	S	S	N	T	A	Y	M	Q	L	S	L	T	S	E	D	S	A	V	Y	F	C	A	R	Y	F	G	S	S	F	F	F	D	Y	W	G	Q	G	T	L	T	V	S	S					
m1D11	A	T	L	T	A	D	K	S	S	S	T	A	Y	M	Q	F	S	L	T	S	E	D	S	A	I	Y	F	C	A	R	L	D	G	S	S	Y	R	G	A	N	D	S	W	G	Q	G	T	S	I	T	V	S	S	

도면6a

xB7H4 m1D11 & h1D11.v1-4와 HuKI의
경쇄 가변 도메인 서열 정렬

카바트#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42		
huKI	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	G	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K		
m1D11	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	H	K	P	G	Q		
h1D11.v1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K		
h1D11.v2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K		
h1D11.v3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K		
h1D11.v4	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K		
	*		*																																	*	*							
카바트#	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84		
huKI	A	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	S	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A		
m1D11	C	P	R	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	S	F	S	I	S	N	L	E	P	E	D	S	A		
h1D11.v1	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A		
h1D11.v2	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A		
h1D11.v3	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	I	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A		
h1D11.v4	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	I	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A		
	*	*	*	*	*	*	*								*						*		*	*	*	*	*	*	*															
카바트#	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108																				
huKI	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																				
m1D11	T	Y	F	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K	R																				
h1D11.v1	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																				
h1D11.v2	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																				
h1D11.v3	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																				
h1D11.v4	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																				
														*																														

m1D11 및 h1D11.v1-4를 컨센서스 인간 VL 카파 1에 대해 비교하여 프레임워크 차이를 강조함

도면6b

xB7H4 m1D11 & h1D11.v1.1-1.9 와 HuKI의
경쇄 가변 도메인 서열 정렬

카바트 #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
																								카바트 - CDR L1 코타마 - CDR L1 결속 - CDR L1																			
huKI	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	G	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
m1D11	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	H	K	P	G	Q	
h1D11.v1.1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.4	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.5	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.6	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.7	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.8	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
h1D11.v1.9	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	K	A	S	Q	G	F	N	K	Y	V	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	
카바트 #	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	
																								카바트 - CDR L2 코타마 - CDR L2 결속 - CDR L2																			
huKI	A	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	S	L	Q	S	I	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A
m1D11	C	P	R	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	S	F	S	I	S	N	L	E	P	E	D	S	A	
h1D11.v1.1	A	P	K	L	L	I	Y	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.2	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.3	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.4	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.5	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.6	A	P	K	L	L	I	H	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.7	A	P	K	L	L	I	Y	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.8	A	P	K	L	L	I	Y	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
h1D11.v1.9	A	P	K	L	L	I	Y	Y	T	S	T	L	Q	P	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	R	D	Y	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	
카바트 #	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108																			
																								카바트 - CDR L3 코타마 - CDR L3 결속 - CDR L3																			
huKI	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
m1D11	T	Y	F	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K	R																			
h1D11.v1.1	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.2	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.3	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.4	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.5	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.6	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.7	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.8	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			
h1D11.v1.9	T	Y	Y	C	L	Q	Y	G	N	L	L	Y	A	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																			

m1D11 및 h1D11.v1.1-1.9를 컨센서스 인간 VL 카파 1에 대해 비교하여 프레임워크 차이를 강조함

도면8a

xB7H4 m22C10 & h22C10.v1-5 와 HuK1 의
경쇄 가변 도메인 서열 정렬

카바트#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42

m22C10 및 h22C10.v1-5를 컨센서스 인간 VL 카파 1에 대해 비교하여 프레임워크 차이를 강조함

도면8b

xB7H4 m22C10 & h22C10.v2.1-2.8과 HuK1의
경계 가변 도메인 서열 정렬

카바트 #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42								
	카바트 - CDR L1 코티아 - CDR L1																																		결속-CDRL1															
huK1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	G	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
m22C10	Q	I	V	L	T	Q	S	P	T	I	M	S	A	S	F	G	E	K	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	T								
h22C10.v2.1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
h22C10.v2.2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
h22C10.v2.3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
h22C10.v2.4	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
h22C10.v2.5	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
h22C10.v2.6	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
h22C10.v2.7	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
h22C10.v2.8	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	A	T	-	S	S	I	S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	P	G	K								
	★		★																																								★		★		★		★	
카바트 #	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84								
	카바트 - CDR L2 코티아 - CDR L2										결속-CDR L2																																							
huK1	A	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	S	L	Q	S	I	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A							
m22C10	S	P	K	G	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	S	L	T	I	S	S	M	E	A	E	D	A							
h22C10.v2.1	A	P	K	L	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
h22C10.v2.2	A	P	K	G	L	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
h22C10.v2.3	A	P	K	G	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
h22C10.v2.4	A	P	K	G	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
h22C10.v2.5	A	P	K	G	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
h22C10.v2.6	A	P	K	G	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
h22C10.v2.7	A	P	K	G	W	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
h22C10.v2.8	A	P	K	G	L	I	Y	D	T	S	K	L	A	H	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A						
	★		★		★		★												★		★		★		★		★		★		★																			
카바트 #	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108																										
	카바트 - CDR L3 코티아 - CDR L3														결속-CDR L3																																			
huK1	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
m22C10	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	S	G	T	K	L	E	I	K	R																										
h22C10.v2.1	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
h22C10.v2.2	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
h22C10.v2.3	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
h22C10.v2.4	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
h22C10.v2.5	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
h22C10.v2.6	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
h22C10.v2.7	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
h22C10.v2.8	T	Y	Y	C	H	Q	R	R	S	Y	P	F	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R																										
															★																																			

m22C10 및 h22C10.v2.1-2.8을 컨센서스 인간 VL 카파 1에 대해 비교하여 프레임워크 차이를 강조함

도면9a

xB7H4 m22C10 & h22C10.v1-5와 HuVH1의
중쇄 가변 도메인 서열 정렬

카바트#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42		
HuVH1	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	Y	I	H	W	V	R	Q	A	P	G		
m22C10	Q	V	Q	L	Q	Q	P	G	A	E	L	V	K	P	G	T	S	V	K	L	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	F	W	I	H	W	V	Q	R	P	G			
h22C10.v1	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	F	W	I	H	W	V	R	Q	A	P	G		
h22C10.v2	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	F	W	I	H	W	V	R	Q	A	P	G		
h22C10.v3	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	F	W	I	H	W	V	R	Q	A	P	G		
h22C10.v4	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	F	W	I	H	W	V	R	Q	A	P	G		
h22C10.v5	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	F	W	I	H	W	V	R	Q	A	P	G		
	*																																											
카바트#	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	A		
HuVH1	Q	G	L	E	W	I	G	W	I	N	P	G	S	G	N	T	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	T	R	D	T	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S		
m22C10	Q	G	L	E	W	I	G	E	I	D	P	S	D	S	Y	T	N	Y	N	Q	K	F	K	G	K	A	T	L	T	V	D	K	S	S	N	T	A	Y	M	Q	L	S		
h22C10.v1	Q	G	L	E	W	I	G	E	I	D	P	S	D	S	Y	T	N	Y	N	Q	K	F	K	G	R	A	T	L	T	V	D	T	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S		
h22C10.v2	Q	G	L	E	W	I	G	E	I	D	P	S	D	S	Y	T	N	Y	N	Q	K	F	K	G	R	A	T	L	T	V	D	T	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S		
h22C10.v3	Q	G	L	E	W	I	G	E	I	D	P	S	D	S	Y	T	N	Y	N	Q	K	F	K	G	R	A	T	L	T	V	D	K	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S		
h22C10.v4	Q	G	L	E	W	I	G	E	I	D	P	S	D	S	Y	T	N	Y	N	Q	K	F	K	G	R	A	T	L	T	V	D	K	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S		
h22C10.v5	Q	G	L	E	W	I	G	E	I	D	P	S	D	S	Y	T	N	Y	N	Q	K	F	K	G	R	A	T	L	T	V	D	K	S	T	S	T	A	Y	L	E	L	S		
																										*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
카바트#	B	C	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113												
HuVH1	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	-	-	-	-	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S													
m22C10	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	E	I	T	T	V	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S												
h22C10.v1	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	E	I	T	T	V	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S												
h22C10.v2	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	E	I	T	T	V	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S												
h22C10.v3	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	E	I	T	T	V	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S												
h22C10.v4	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	E	I	T	T	V	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S												
h22C10.v5	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	E	I	T	T	V	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S												
															*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

m22C10 및 h22C10.v1-5를 컨센서스 인간 VH 하위군 1에 대해 비교하여 프레임워크 차이를 강조함

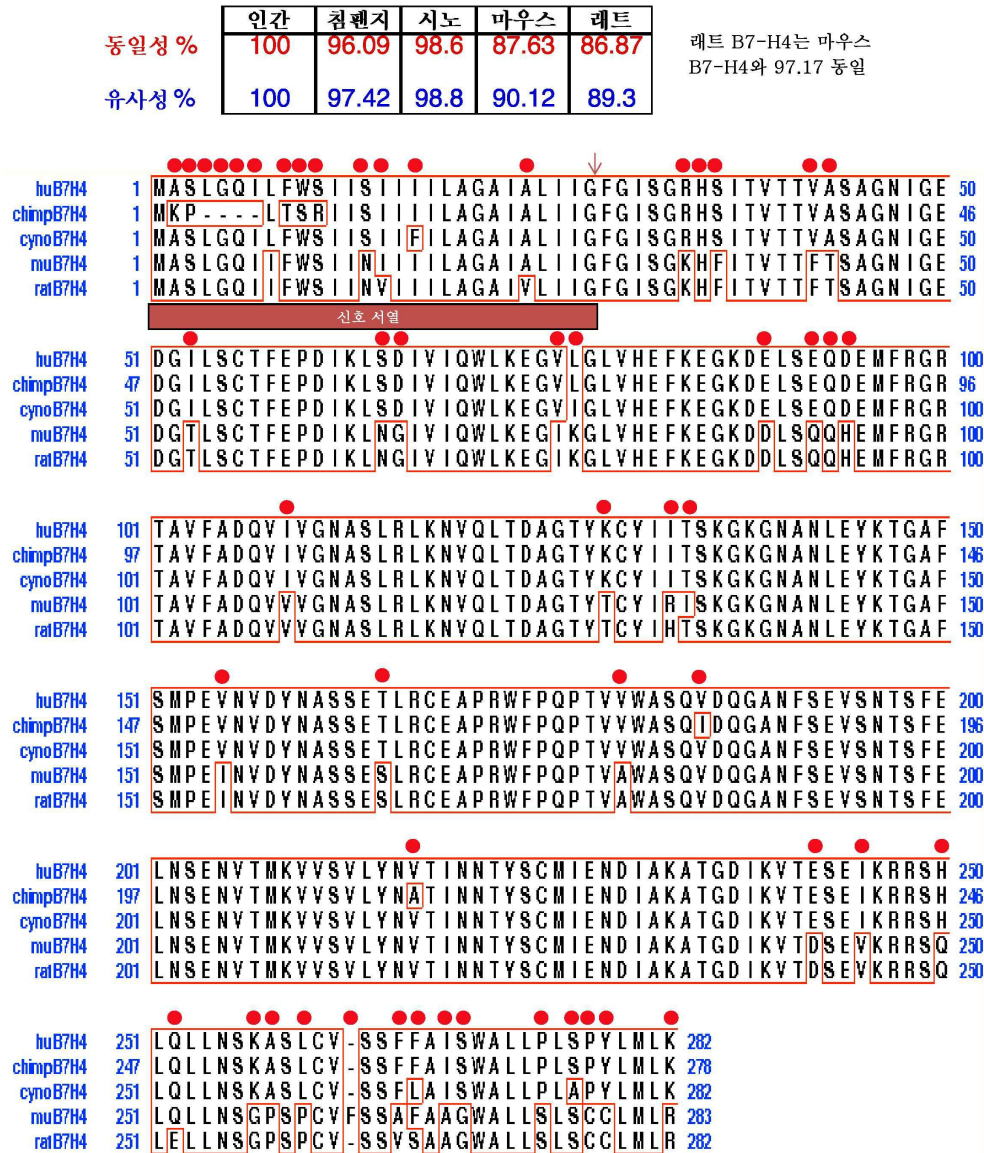
도면9b

xB7H4 m22C10 & h22C10.v2.1-2.8과 HuVH1의
중쇄 가변 도메인 서열 정렬

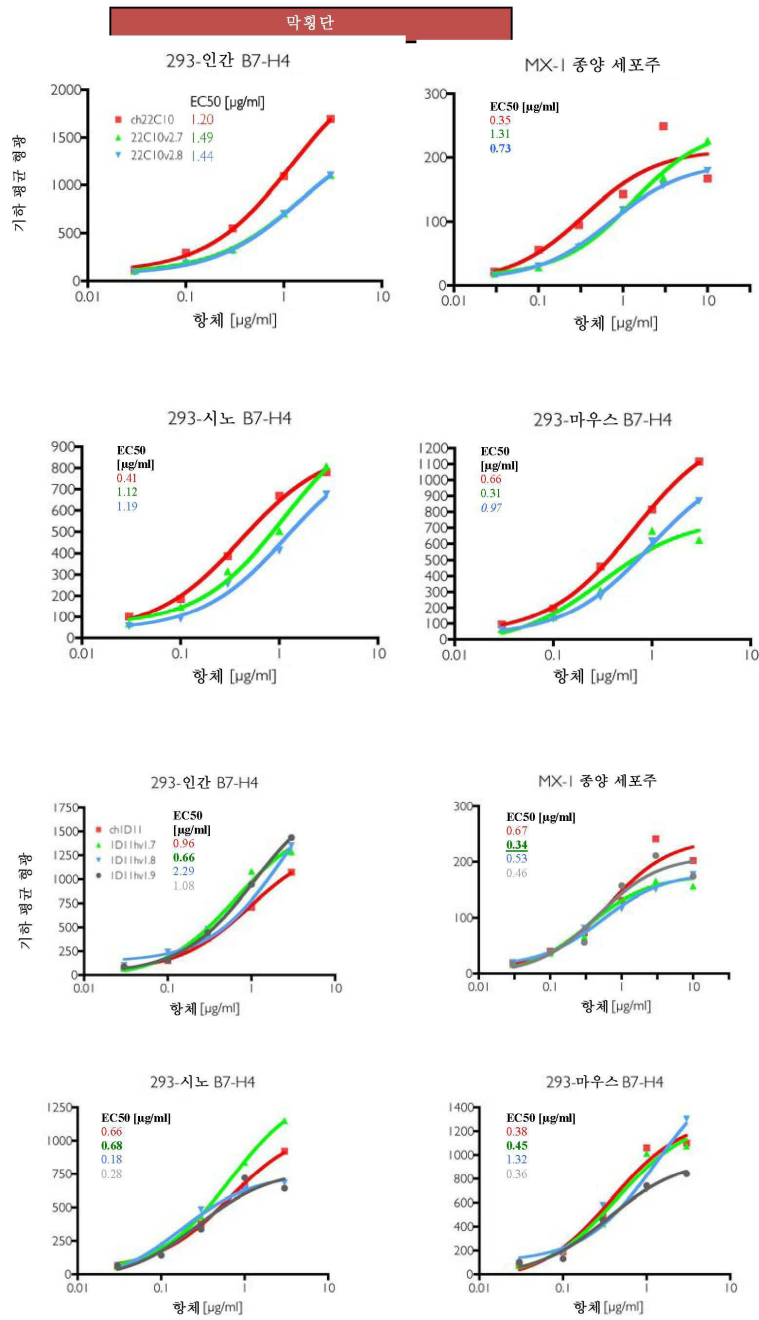
카바트번호	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42		

m22C10 및 h22C10.v2.1-2.8을 컨센서스 인간 VH 하위군 1에 대해 비교하여 프레임워크 차이를 강조함

도면10



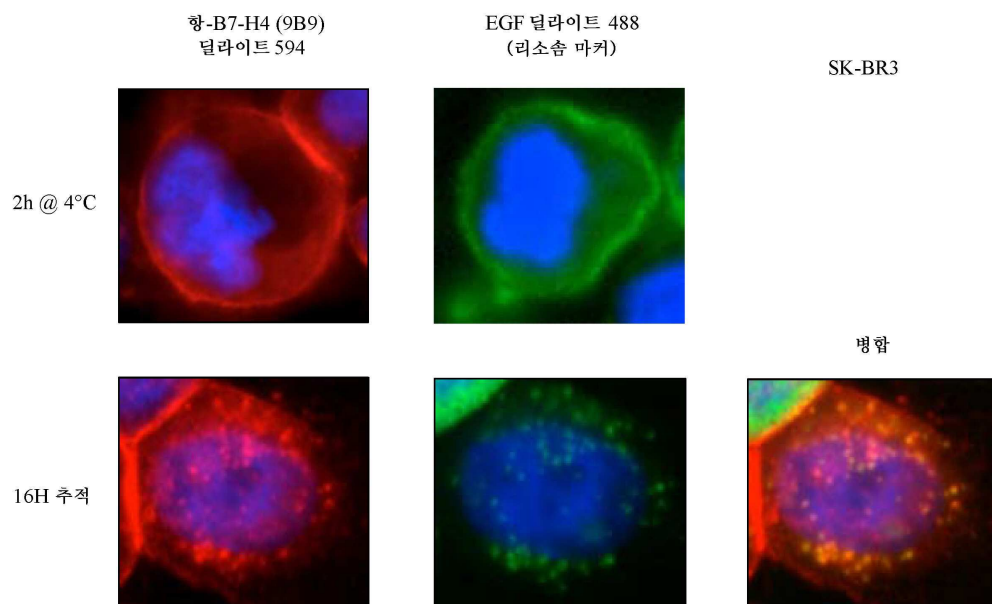
도면11



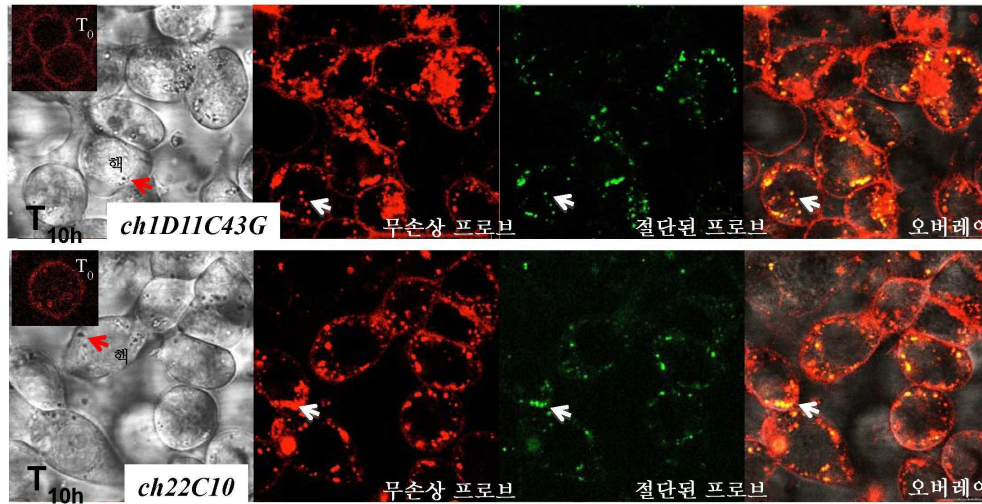
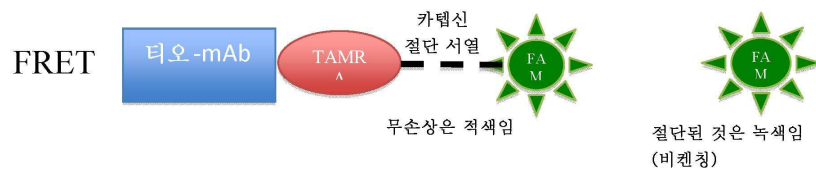
도면12

항체	친화도 (MX-1)	모 항체의 친화도 (MX-1)	모 mAb에 대한 배수	에피토프	마우스 프레임워크 잔기
1D11hv1.7	8.3 nM	7.8 nM	0.94	A	LC - R69, Y71 HC - A67, L69
1D11hv1.8	8.7 nM	7.8 nM	0.89	A	LC - R69, Y71 HC - A67
1D11hv1.9	7.8 nM	7.8 nM	1	A	LC - R69, Y71 HC - 없음
22C10hv2.7	6.3 nM	4.9nM	0.78	C	LC - G46, W47 HC - 없음
22C10hv2.8	10 nM	4.9nM	.49	C	LC - G46 HC - 없음

도면13

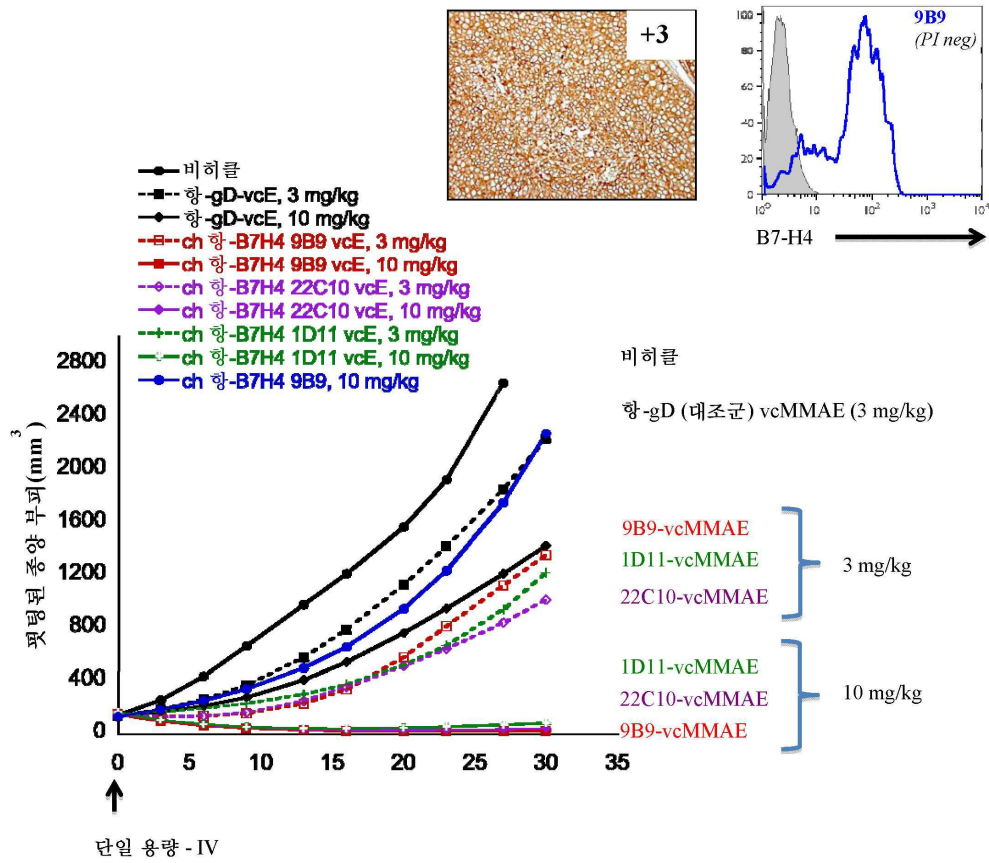


도면14



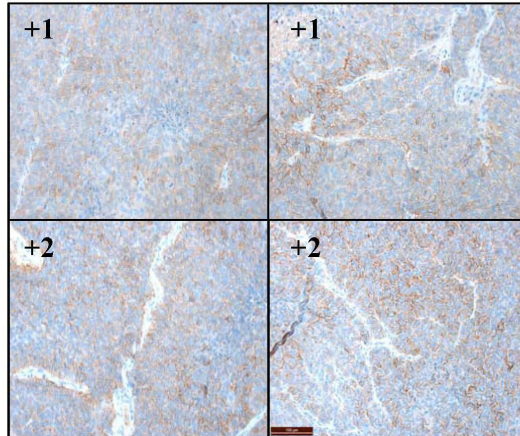
도면15

MX-1 삼중 음성 세포주 이중이식편 모델

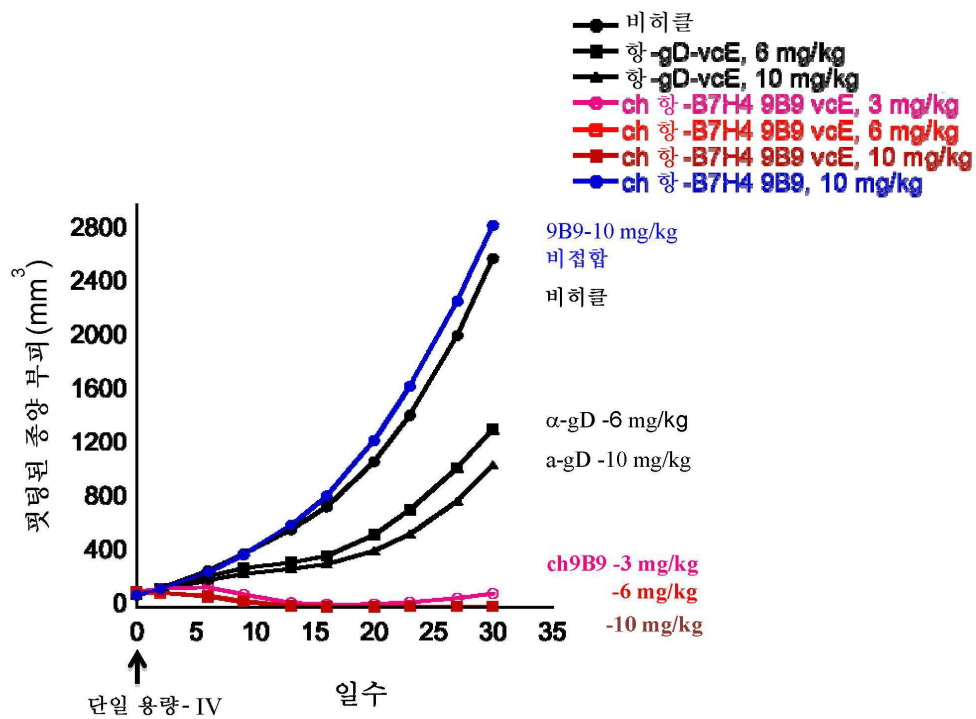


도면16

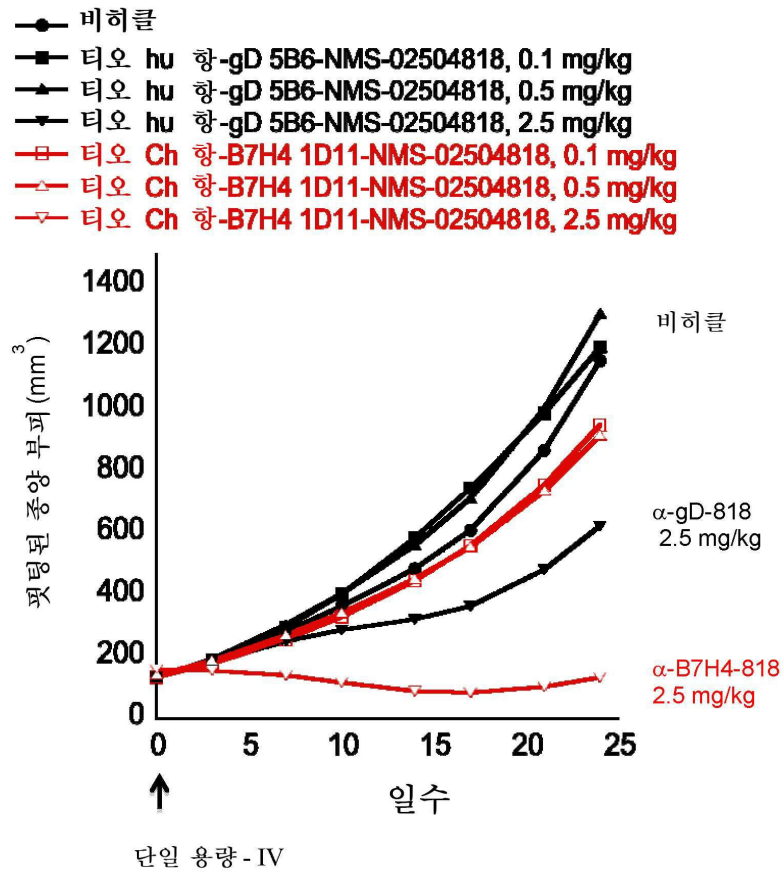
HBCX-24 산중 음성 유방암 일차
이식 모델



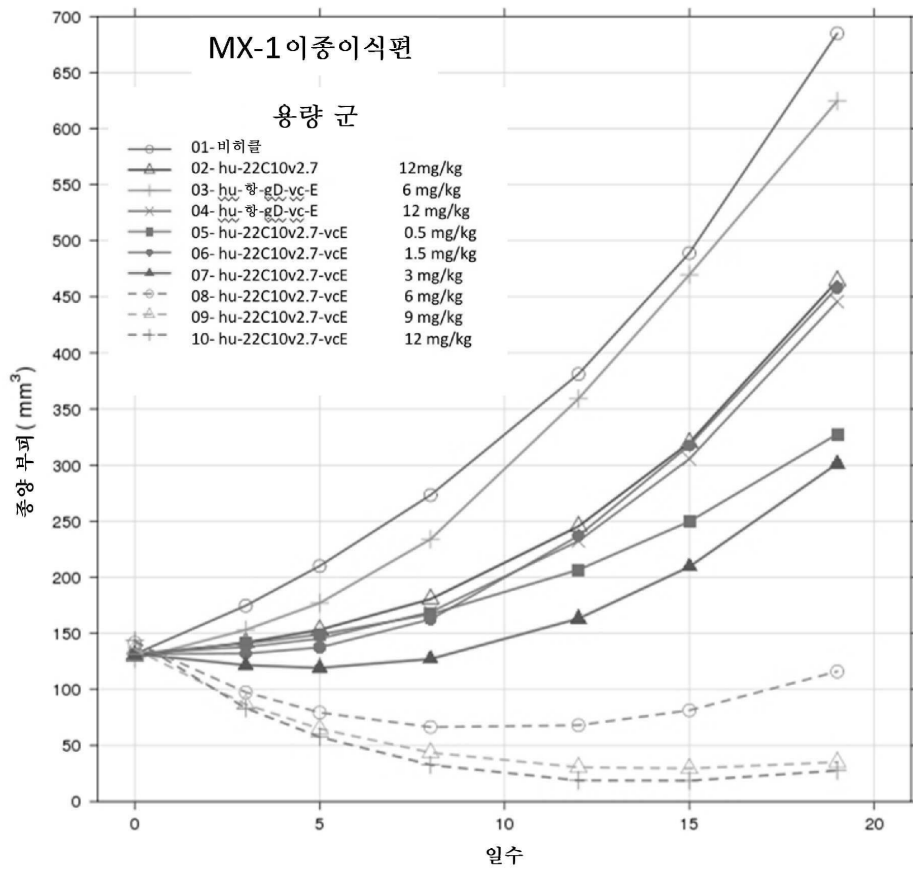
B7-H4에 대해 6/6 양성; 1+ (n=4) / 2+ (n=2)



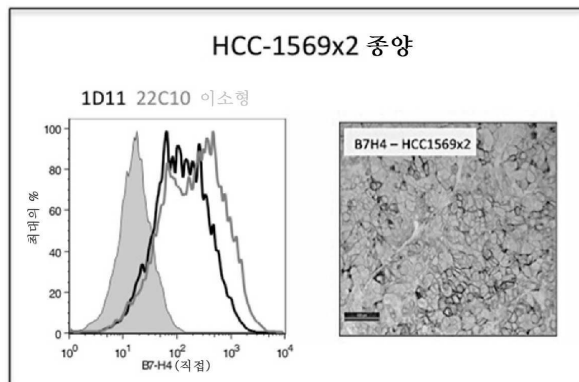
도면17



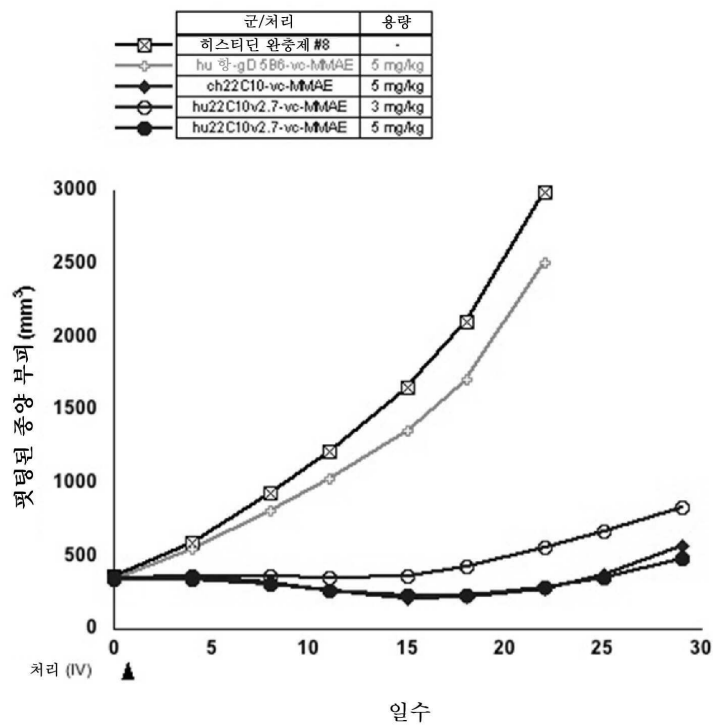
도면18



도면19a



도면19b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> GENENTECH, INC.
- <120> ANTI-B7-H4 ANTIBODIES AND IMMUNOCONJUGATES
- <130> GENE-33530/WO-1/ORD
- <150> US 61/784,877
- <151> 2013-03-14
- <150> US 61/785,811
- <151> 2013-03-14
- <150> US 61/874,175
- <151> 2013-09-05
- <160> 125
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 3

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln Cys Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 4

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Ala Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Phe Glu Trp Ile

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

Gln Gly Thr Ser Ile Thr Val Ser Ser
115 120

<210>	5
<211>	10
<212>	PRT
<213>	Mus musculus
<400>	5

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210>	6
<211>	17
<212>	PRT
<213>	Mus musculus
<400>	6

Asp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Gly	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	
Gly															

<210>	7
<211>	12
<212>	PRT
<213>	Mus musculus
<400>	7

Leu Asp Gly Ser Ser Tyr Arg Gly Ala Met Asp Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Lys Ala Ser Gln Gly Phe Asn Lys Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

Leu Gln Tyr Gly Asn Leu Leu Tyr Ala

1 5

<210> 11

<211> 113

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Phe His Gln Lys Pro Gly Arg

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

<210> 12

<211> 120

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

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

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

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His

1 5 10

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Arg Val Asn Pro Asn Asn Gly Asp Pro Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Val Leu Phe Tyr Tyr Gly Ser Pro Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asp Ser Gly Ser Gln Arg Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 17

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

Gln Asn Asp Tyr Ser Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Val Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala

65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Met Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Asn Asn

85 90 95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu

100 105

<210> 20

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Thr Ser Ile Thr Thr Tyr Asn Ala Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Phe Gly Ser Ser Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 21

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu

1 5 10

<210> 22

<211

> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 22

Glu Ile Leu Pro Gly Thr Ser Ile Thr Thr Tyr Asn Ala Lys Phe Lys

1 5 10 15
Val

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 23

Ala Arg Tyr Tyr Phe Gly Ser Ser Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 24

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 25

Gly Thr Asn Asn Arg Val Pro

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 26

Ala Leu Trp Tyr Asn Asn His Trp Val

1 5

<210> 27

<211> 106

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 27

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Thr Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala His Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 28

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 29

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Trp Ile His

1 5 10

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 30

Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 31

Glu Ile Thr Thr Val Asp Tyr

1 5

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 32

Ser Ala Thr Ser Ser Ile Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 33

Asp Thr Ser Lys Leu Ala His

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 34

His Gln Arg Arg Ser Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 35

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Gly Asn Leu Leu Tyr

85 90 95
Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105
<210> 36
<
211> 121
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 36
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Asp Gly Ser Ser Tyr Arg Gly Ala Met Asp Ser Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 37
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 37
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Asp Gly Ser Ser Tyr Arg Gly Ala Met Asp Ser Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 38

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 38

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

 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Arg Leu Asp Gly Ser Ser Tyr Arg Gly Ala Met Asp Ser Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
 1 5 10

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 41

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

Leu Asp Gly Ser Ser Tyr Arg Gly Ala Met Asp Ser
 1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

Lys Ala Ser Gln Gly Phe Asn Lys Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 43

Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

Leu Gln Tyr Gly Asn Leu Leu Tyr Ala

1 5

<210> 45

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 45

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

20

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 46

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

1 5 10 15

<210> 47

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 49

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 49

Glu 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

20 25

<210> 50

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 50

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

1 5 10

<210> 51

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 52

<211> 32

<212>

> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 52

Arg Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 53

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 55

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 55

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 Ser Ala Thr Ser Ser Ile Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gly Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Arg Ser Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 56

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

Glu 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 Phe

20

25

30

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

35

40

45

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Glu Ile Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100

105

110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 57

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

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 Ser Ala Thr Ser Ser Ile Ser Tyr Met

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

85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 58

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Trp Ile His

1 5 10

<210> 59

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

Glu Ile Thr Thr Val Asp Tyr

1 5

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

Ser Ala Thr Ser Ser Ile Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

Asp Thr Ser Lys Leu Ala His

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

His Gln Arg Arg Ser Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 64

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

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

20

<210> 65

<211> 15

<212> PRT

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

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

1 5 10 15

<210> 66

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 66

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

1 5 10 15

<210> 67

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 68

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 69

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

Glu 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

20 25

<210> 70

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 70

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

1 5 10

<210> 71

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 71

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

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 72

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 73

<211>

> 282

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile
 1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser
 20 25 30

Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile
 35 40 45

Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu

50 55 60
 Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val

65 70 75 80

His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met
 85 90 95

Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn
 100 105 110

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

115 120 125
 Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu

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

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

245 250 255
Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu
260 265 270
Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met Leu Lys

275 280

<210> 74

<211> 254

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

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

20 25 30
Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val
35 40 45
Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu
50 55 60

Gln	Asp	Glu	Met	Phe	Arg	Gly	Arg	Thr	Ala	Val	Phe	Ala	Asp	Gln	Val
65				70				75				80			
Ile	Val	Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	Leu	Lys	Asn	Val	Gln	Leu	Thr	Asp
85				90				95							
Ala	Gly	Thr	Tyr	Lys	Cys	Tyr	Ile	Ile	Thr	Ser	Lys	Gly	Lys	Gly	Asn
100				105				110							
Ala	Asn	Leu	Glu	Tyr	Lys	Thr	Gly	Ala	Phe	Ser	Met	Pro	Glu	Val	Asn
115				120				125							
Val	Asp	Tyr	Asn	Ala	Ser	Ser	Glu	Thr	Leu	Arg	Cys	Glu	Ala	Pro	Arg
130				135				140							
Trp	Phe	Pro	Gln	Pro	Thr	Val	Val	Trp	Ala	Ser	Gln	Val	Asp	Gln	Gly
145				150				155				160			
Ala	Asn	Phe	Ser	Glu	Val	Ser	Asn	Thr	Ser	Phe	Glu	Leu	Asn	Ser	Glu
165				170				175							
Asn	Val	Thr	Met	Lys	Val	Val	Ser	Val	Leu	Tyr	Asn	Val	Thr	Ile	Asn
180				185				190							
Asn	Thr	Tyr	Ser	Cys	Met	Ile	Glu	Asn	Asp	Ile	Ala	Lys	Ala	Thr	Gly
195				200				205							
Asp	Ile	Lys	Val	Thr	Glu	Ser	Glu	Ile	Lys	Arg	Arg	Ser	His	Leu	Gln
210				215				220							
Leu	Leu	Asn	Ser	Lys	Ala	Ser	Leu	Cys	Val	Ser	Ser	Phe	Phe	Ala	Ile
225				230				235				240			
Ser	Trp	Ala	Leu	Leu	Pro	Leu	Ser	Pro	Tyr	Leu	Met	Leu	Lys		
245				250											
<210>	75														
<211>	282														
<212>	PRT														
<213>	Macaca fascicularis														
<400>	75														
Met	Ala	Ser	Leu	Gly	Gln	Ile	Leu	Phe	Trp	Ser	Ile	Ile	Ser	Ile	Ile
1				5				10				15			

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

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

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

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

260 265 270

 Leu Pro Leu Ala Pro Tyr Leu Met Leu Lys
 275 280
 <210> 76
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> *Macaca fascicularis*
 <400> 76
 Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser
 1 5 10 15
 Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro
 20 25 30
 Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val
 35 40 45

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

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

 Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn

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

Ser Trp Ala Leu Leu Pro Leu Ala Pro Tyr Leu Met Leu Lys

245 250

<210> 77

<211> 282

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 77

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Ile Phe Trp Ser Ile Ile Asn Val Ile

1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Val Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser

20 25 30

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

35 40 45
 Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu

50 55 60

Asn Gly Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Ile Lys Gly Leu Val

65 70 75 80

His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Asp Leu Ser Gln Gln His Glu Met

85 90 95

Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Val Val Gly Asn

100 105 110
 Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr

115 120 125

Thr Cys Tyr Ile His Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu

130 135 140

Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Ile Asn Val Asp Tyr Asn
 145 150 155 160
 Ala Ser Ser Glu Ser Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln

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

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

<210> 78

<211> 254

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 78

Phe Gly Ile Ser Gly Lys His Phe Ile Thr Val Thr Thr Phe Thr Ser

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

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

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

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

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

<210> 79

<211> 283

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400

> 79

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Ile Phe Trp Ser Ile Ile Asn Ile Ile

1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser
 20 25 30
 Gly Lys His Phe Ile Thr Val Thr Thr Phe Thr Ser Ala Gly Asn Ile
 35 40 45
 Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu
 50 55 60

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

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

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

 Gly Pro Ser Pro Cys Val Phe Ser Ser Ala Phe Ala Ala Gly Trp Ala

260 265 270
 Leu Leu Ser Leu Ser Cys Cys Leu Met Leu Arg
 275 280
 <210> 80
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 80
 Phe Gly Ile Ser Gly Lys His Phe Ile Thr Val Thr Thr Phe Thr Ser
 1 5 10 15
 Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro
 20 25 30
 Asp Ile Lys Leu Asn Gly Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Ile
 35 40 45
 Lys Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Asp Leu Ser Gln
 50 55 60
 Gln His Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val
 65 70 75 80
 Val Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp
 85 90 95
 Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Tyr Ile Arg Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn
 100 105 110
 Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Ile Asn
 115 120 125
 Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Ser Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg
 130 135 140
 Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Ala Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly
 145 150 155 160
 Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu
 165 170 175
 Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn
 180 185 190

Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly
195 200 205

Asp Ile Lys Val Thr Asp Ser Glu Val Lys Arg Arg Ser Gln Leu Gln
210 215 220

Leu Leu Asn Ser Gly Pro Ser Pro Cys Val Phe Ser Ser Ala Phe Ala
225 230 235 240

Ala Gly Trp Ala Leu Leu Ser Leu Ser Cys Cys Leu Met Leu Arg
245 250 255

<210> 81

<211> 278

<212> PRT

<213> Pan troglodytes

<400> 81

Met Lys Pro Leu Thr Ser Arg Ile Ile Ser Ile Ile Ile Ile Leu Ala
1 5 10 15

Gly Ala Ile Arg Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser
20 25 30

Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly
35 40 45

Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val
50 55 60

Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys
65 70 75 80

Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg

85 90 95
Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg
100 105 110

Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile
115 120 125

Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly
130 135 140

Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu

145 150 155 160

Thr Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val

165 170 175

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

180 185 190

Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser

195 200 205

Val Leu Tyr Asn Ala Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu

210 215 220

Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu

225 230 235 240

Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser Lys Ala Ser Leu

245 250 255

Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu Leu Pro Leu Ser

260 265 270

Pro Tyr Leu Met Leu Lys

275

<210> 82

<211> 254

<212> PRT

<213> Pan troglodytes

<400> 82

Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser

1 5 10 15

Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro

20 25 30

Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val

35 40 45

Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu

50 55 60

Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val
65 70 75 80
Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp
85 90 95
Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn
100 105 110
Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn
115 120 125
Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg
130 135 140
Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln Ile Asp Gln Gly
145 150 155 160
Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu
165 170 175
Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Ala Thr Ile Asn
180 185 190
Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly
195 200 205
Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln
210 215 220
Leu Leu Asn Ser Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile
225 230 235 240
Ser Trp Ala Leu Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met Leu Lys
245 250

<210> 83

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 83

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

1

5

10

15

<210> 84

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 84

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 85

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 85

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 86

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 86

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 87

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 87

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

1	5	10	15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys			
	20	25	30

<210> 88

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 88

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

1	5	10	15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg			
	20	25	30

<210> 89

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 89

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

1	5	10	15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg			
	20	25	30

<210> 90

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 90

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

1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 91

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 91

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

1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 92

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 92

Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu

1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 93

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 93

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

100 105

<210> 94

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 94

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

100 105

<210> 95

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 95

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Gly Asn Leu Leu Tyr

85 90 95

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

100 105

<210> 96

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 97

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 97

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

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

100 105

<210> 98

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Gly Asn Leu Leu Tyr

85 90 95

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

100 105

<210> 99

<

211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 99

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

<210> 100

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 100

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

50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Asp Gly Ser Ser Tyr Arg Gly Ala Met Asp Ser Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 101

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 102

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

<210> 103

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Synthetic

<400> 103

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

50						55						60					
Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr		
65					70					75					80		
Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
Ala	Arg	Leu	Asp	Gly	Ser	Ser	Tyr	Arg	Gly	Ala	Met	Asp	Ser	Trp	Gly		
			100						105				110				
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
			115					120									

<210> 104

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 104

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 Ser Ala Thr Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gly Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 105

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400>

> 105

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 Ser Ala Thr Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

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

85 90 95

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

<210> 106

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Synthetic

<400> 106

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

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

20 25 30

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu

65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Arg Ser Tyr Pro Phe Thr

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

100 105

<210> 107

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Synthetic

<400> 107

Glu 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	Phe				
20				25				30											
Trp	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile				
35				40				45											
Gly	Glu	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe				
50				55				60											
Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr				
65				70				75				80							
Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
85				90				95											
Ala	Arg	Glu	Ile	Thr	Thr	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val				
100				105				110											
Thr	Val	Ser	Ser																
115																			
<210>	108																		
<211>	116																		
<212>	PRT																		
<213>	Artificial sequence																		
<220><223>	Synthetic																		
<400>	108																		
Glu	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	Phe				
20				25				30											
Trp	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile				
35				40				45											
Gly	Glu	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe				
50				55				60											
Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr				
65				70				75				80							

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

Ser Arg Glu Ile Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 109

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 109

Glu 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 Phe
20 25 30

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

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Arg Glu Ile Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 110

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 110

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

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ser Arg Glu Ile Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 111

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 111

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

65						70						75						80
Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
					85						90						95	
Ser	Arg	Glu	Ile	Thr	Thr	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val			
					100						105						110	
Thr	Val	Ser	Ser															
					115													
<210>	112																	
<211>	116																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial sequence																	
<220><223>	Synthetic																	
<400>	112																	
Glu	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	Phe			
					20						25						30	
Trp	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile			
					35						40						45	
Gly	Glu	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe			
					50						55						60	
Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr			
65	70									75						80		
Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
					85						90						95	
Ser	Arg	Glu	Ile	Thr	Thr	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val			
					100						105						110	
Thr	Val	Ser	Ser															
					115													
<210>	113																	
<211>	116																	
<212>	PRT																	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 113

Glu 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 Phe

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 114

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 114

Glu 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 Phe

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 115

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 115

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 116

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 116

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gly Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 117

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 117

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
 1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 118

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 118

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 119

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 120

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 120

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 121

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 121

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 122

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 123

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 123

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 124

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 124

Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Glu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Arg
				20				25					30		

<210> 125

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 125

Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Glu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Arg
				20				25					30		