



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년10월23일
 (11) 등록번호 10-1782180
 (24) 등록일자 2017년09월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 39/395 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
 C07K 16/28 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-7010886
- (22) 출원일자(국제) 2010년09월29일
 심사청구일자 2015년09월11일
- (85) 번역문제출일자 2012년04월27일
- (65) 공개번호 10-2012-0100952
- (43) 공개일자 2012년09월12일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2010/050610
- (87) 국제공개번호 WO 2011/041336
 국제공개일자 2011년04월07일
- (30) 우선권주장
 61/247,298 2009년09월30일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 WO2008076960 A2*
 WO2008150525 A1*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
 제넨테크, 인크.
 미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
 쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
 사이벨, 크리스찬, 더블유.
 미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌 프란시스코 엠
 에스 49 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
- (74) 대리인
 양영준, 위혜숙

전체 청구항 수 : 총 15 항

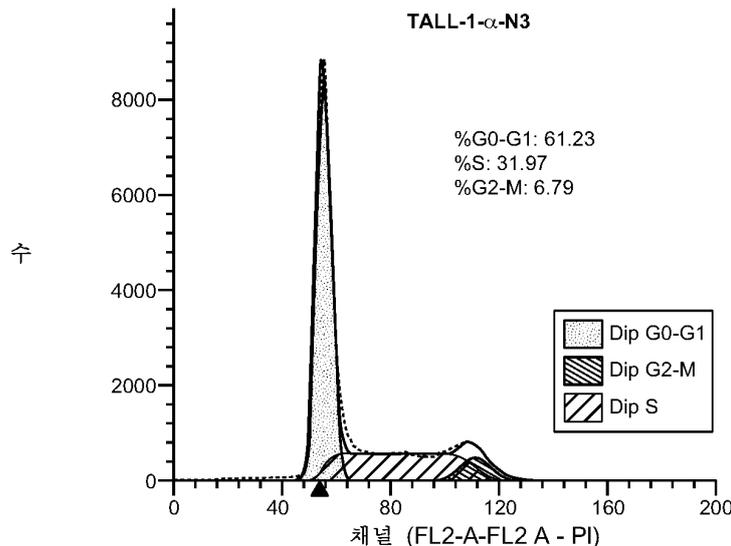
심사관 : 김영수

(54) 발명의 명칭 Notch3 길항제를 사용한 Notch1-길항제-내성 암(들)의 치료

(57) 요약

본 발명은 Notch1 및 Notch3 길항제를 단독으로 또는 조합하여 사용하여 일반적으로 암, 특히 백혈병을 치료하는 방법에 관한 것이다. 또한, Notch-관련된 암의 치료 및 진단을 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

대표도 - 도9e



명세서

청구범위

청구항 1

유효량의 항-Notch3 길항제 항체를 포함하는, Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 감마-세크레타제 억제제 (GSI)-반응성 T-세포 백혈병을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, T-세포 백혈병이 림프모구성 백혈병인 제약 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, T-세포 백혈병이 T 계통 급성 림프모구성 백혈병(T-ALL)인 제약 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 항-Notch3 길항제 항체가 항-Notch3 음성 조절 영역(NRR) 항체인 제약 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 항-Notch3 NRR 항체가 Notch3 NRR의 LNR-A 및 HD-C 도메인에 결합하는 것인 제약 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 항-Notch3 NRR 항체가 항체 256A-4 또는 256A-8의 인간화 형태인 제약 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서, 항-Notch3 NRR 항체가 항체 256A-4 또는 256A-8의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 항-Notch3 길항제 항체가 Notch3의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 것인 제약 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 유효량의 Notch1-특이적 길항제를 추가로 포함하는 제약 조성물로서, 항-Notch3 길항제 항체 및 Notch1-특이적 길항제가 따로, 순서대로, 또는 동시에 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, Notch1-특이적 길항제가 항-Notch1 길항제 항체인 제약 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 항-Notch1 길항제 항체가 항-Notch1 NRR 항체인 제약 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 항-Notch1 NRR 항체가 Notch1 NRR의 LNR-A, LNR-B 및 HD-C 도메인에 결합하는 것인 제약 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 항-Notch1 NRR 항체가 항체 A, A-1, A-2 및 A-3으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서, 항-Notch1 NRR 항체가 항체 A, A-1, A-2 및 A-3으로부터 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 15

제10항에 있어서, 항-Notch1 길항제 항체가 Notch1의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch1 항체인 제약 조성물.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본 출원은 35 USC 119(e) 하에 2009년 9월 30일자로 출원된 가출원 번호 61/247298를 우선권 주장하며, 상기 출원은 그 내용이 본원에 참고로 포함된다.
- [0003] 발명의 분야
- [0004] 본 발명은 Notch1 및 Notch3 길항제를 단독으로 또는 조합하여 사용하여 일반적으로 암, 특히 백혈병을 치료하는 방법에 관한 것이다. 또한, Notch-관련된 암의 치료 및 진단을 위한 조성물 및 방법을 제공한다.
- [0005] 서열 목록
- [0006] 본 출원은 EFS-웹을 통해 ASCII 포맷으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 2010년 9월 3일자로 생성된 상기 ASCII 카피는 P4371.txt로 명명되며, 크기가 65,600 바이트이다.

배경 기술

- [0007] Notch 수용체 패밀리는 성체 및 인간만큼 다양한 유기체에서 발생에 영향을 주는 신호를 전달하는, 진화적으로 보존된 한 부류의 막횡단 수용체이다. Notch 수용체 및 그의 리간드, Delta 및 Serrate (포유동물에서는 Jagged로도 알려져 있음)는 표피 성장 인자 (EGF)-유사 반복부를 함유하는 대형의 세포외 도메인을 갖는 막횡단 단백질이다. Notch 파라로그의 수는 종마다 상이하다. 예를 들어, 포유동물에는 4가지 Notch 수용체 (Notch1-

Notch4), 카에노르하브디티스 엘레간스(*Caenorhabditis elegans*)에는 2가지 (LIN-12 및 GLP-1) 및 드로소필라 멜라노가스터(*Drosophila melanogaster*)에는 1가지 (Notch)가 존재한다. Notch 수용체는 세포 표면으로 운반되는 동안 막횡단 도메인의 N-말단쪽의 S1 부위에서 푸린-유사 프로테아제에 의해 단백질분해적으로 프로세싱되어, 세포의 Notch (ECN) 서브유닛 및 Notch 막횡단 서브유닛 (NTM)이 생성된다. 이들 2개의 서브유닛은 비-공유 회합된 채로 유지되어 성숙한 이중이량체 세포 표면 수용체를 구성한다.

[0008] Notch1 ECN 서브유닛은 36개의 N-말단 EGF-유사 반복부에 이어서, S1 부위 앞쪽에 3개의 일렬로 반복된 Lin 12/Notch 반복부 (LNR) 모듈을 함유한다. Notch3 ECN은 유사한 구조를 갖지만, EGF-유사 반복부가 34개이다. 각각의 LNR 모듈은 3개의 디설피드 결합 및 갈슘 이온을 배위하는 것으로 예상되는 일군의 보존된 산성 및 극성 잔기를 함유한다. EGF 반복부 영역 내에는 활성화 리간드를 위한 결합 부위가 존재한다. Notch1 및 Notch3 NTM은 세포의 영역 (S2 절단 부위를 보유함), 막횡단 절편 (S3 절단 부위를 보유함) 및 거대 세포내 영역 (ICN 또는 ICD; RAM 도메인, 안키린 반복부, 전사활성화 도메인 및 카르복시-말단 PEST 도메인을 포함함)을 포함한다. ECN 및 NTM 서브유닛의 안정한 회합은 ECN의 카르복시 말단 (HD-N이라고 함) 및 NTM의 세포의 아미노 말단 (HD-C라고 함)을 포함하는 이중이량체화 도메인 (HD)에 의존한다. 리간드-유도된 활성화 이전에, Notch는 3개의 LNR 및 HD 도메인을 포함하는 음성 조절 영역 (NRR)에 의해 휴면 입체형태를 유지한다.

[0009] Notch 리간드가 ECN 서브유닛에 결합하면 조절된 막내 단백질분해를 통해 일어나는 2개의 연속적인 단백질분해 절단이 개시된다. S2 부위에서의 메탈로프로테아제(ADAM17)에 의한 제1 절단에 의해, Notch 막횡단 서브유닛은 원형질 막의 내부 리플릿에 가까운 S3 부위에서의 제2 절단에 대해 감수성이 생긴다. 프레세닐린 및 니카스트린을 함유하고 γ -세크레타제 활성을 촉진하는 다중단백질 복합체에 의해 촉매되는 S3 부위 절단은 Notch 막횡단 서브유닛의 세포내 부분을 자유롭게 하여 그가 핵으로 전위하여 표적 유전자의 전사를 활성화하게 한다. (Notch의 단백질분해 절단의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Sisodia et al., Nat. Rev. Neurosci. 3:281-290, 2002]을 참조).

[0010] 인간에서 Jagged 및 Delta-유사 클래스의 5가지 Notch 리간드 (Jagged1 (Serrate1이라고도 함), Jagged2 (Serrate2라고도 함), Delta-유사1 (DLL1이라고도 함), Delta-유사3 (DLL3이라고도 함) 및 Delta-유사4 (DLL4라고도 함))가 확인되었다. 각각의 리간드는 Notch 결합에 본질적인 보존된 N-말단의 Delta, Serrate, LAG-2 (DSL) 모티프를 갖는 1회-통과 막횡단 단백질이다. DSL 모티프에 대해 C-말단에 있는 일련의 EGF-유사 모듈은 막에 걸쳐있는 절편의 앞쪽에 있다. Notch 수용체와 달리, 리간드는 C-말단에서 70-215개의 아미노산으로 이루어진 짧은 세포질 꼬리를 갖는다. 또한, 다른 유형의 리간드가 보고되어 있다 (예를 들어, DNER, NB3 및 F3/콘택틴(Contactin)). (Notch 리간드 및 리간드-매개 Notch 활성화에 대한 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [D'Souza et al., Oncogene 27:5148-5167, 2008] 참조).

[0011] Notch 경로는 파리 및 척추동물에서 신경발생에 영향을 미치는 것을 비롯해서, 다양한 발생 및 생리적 과정 동안 기능을 한다. 일반적으로, Notch 신호전달은 측면 억제, 계통 결정 및 세포 그룹간 경계의 확립에 관여한다. (예를 들어 문헌 [Bray, Mol. Cell Biol. 7:678-679, 2006] 참조). 암 및 신경변성 장애를 비롯한 다양한 인간 질환은 Notch 수용체 또는 그의 리간드를 코딩하는 유전자에서의 돌연변이로부터 야기되는 것으로 밝혀졌다. (예를 들어, 문헌 [Nam et al., Curr. Opin. Chem. Biol. 6:501-509, 2002] 참조).

[0012] 종양단백질로서의 Notch1의 역할은 T-세포 전구세포를 수반하는 백혈병에서 입증되었다. 이러한 역할은 인간 급성 림프모구성 백혈병 (T-ALL)에서 처음 인식되었다. (예를 들어 문헌 [Aster et al., Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 3:587-613, 2008] 참조). T-ALL은 소아 및 청소년에게 우선적인 피해를 입히는 공격적인 백혈병이다. 인간 Notch1의 말단절단된 구성적으로 활성인 변이체를 생성하는 반복적인 t(7;9)(q34;q34.3) 염색체 전좌가 T-ALL의 하위세트에서 확인되었다. (7;9) 전좌에 더하여, 인간 Notch1에서의 빈번한 기능획득 돌연변이가 이후 모든 인간 T-ALL에서 50%를 초과하여 발견되었다. (문헌 [Weng et al., Science, 306:269-271, 2004] 참조). 이러한 돌연변이는 세포의 HD 도메인 및 세포내 PEST 도메인에서 발생한다. 그 밖의 연구들은 골수 세포에서의 Notch1 ICN의 레트로바이러스에 기초한 발현이 골수 세포가 이식된 마우스 모델에서 T-ALL을 유발함을 보여주었다. (문헌 [Aster et al., Mol. Cell Biol. 20:7505-7515, 2000] 참조).

[0013] T 세포 전구세포를 수반하는 백혈병에서의 Notch1에 대한 이러한 역할과 일치하게, Notch1 신호전달은 마우스 모델에서 T 세포 발생에 본질적인 것으로 밝혀졌고, Notch1-매개된 신호전달은 B 세포 발생을 훼손하면서 T 세포 발생을 촉진한다. (예를 들어, 문헌 [Wilson et al., J. Exp. Med. 194:1003-1012, 2001] 참조). 백혈병에서의 Notch1의 추가의 역할이 기재되어 있다. Notch1 PEST 도메인에서의 활성화 돌연변이는 인간 급성 골수성 백혈병 (AML) 및 계열 변환 백혈병에서는 낮은 빈도로 보고되었는데, 이는 Notch1에서의 활성화 돌연변이가

골수성 및 T-계통 결정에 선행하여 백혈 줄기 세포에서 발생할 수 있음을 시사한다. (문헌 [Palomero et al., Leukemia 20:1963-1966, 2006] 참조).

- [0014] T-ALL에서의 빈번한 Notch1 기능획득 돌연변이의 발견 이전에, 트랜스제닉 마우스의 흉선에서의 Notch3 ICN의 강제적 발현이 T-세포 백혈병/림프종을 야기하는 것으로 관찰되었다. (문헌 [Bellavia et al., EMBO J. 19:3337-3348, 2000] 참조). 또한, Notch3 mRNA는 분석된 모든 30종의 T-ALL 환자 샘플에서 발현된 반면, 정상 말초 혈액 T 림프구 및 비-T 세포 백혈병에서는 검출되지 않은 것으로 보고되었다. (문헌 [Bellavia et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 99:3788-3793, 2002] 참조).
- [0015] Notch1 및 Notch3은 또한 다양한 다른 암과 관련이 있다. 예를 들어, 고형 종양 중, 인간의 자궁경부, 결장, 폐, 췌장, 피부 및 뇌암에서 증가된 Notch1 발현이 관찰되었고 (예를 들어, 문헌 [Leong et al., Blood 107:2223-2233, 2006] 참조), 상승된 Notch1의 발현은 유방암에서 불량한 결과와 연관성이 있다 (예를 들어, 문헌 [Parr et al., Int. J. Mol. Med. 14:779-786, 2004]; [Reedijk et al., Cancer Res. 65:8530-8537, 2005]). 염색체 전좌 (15;19)는 비소세포 폐 종양의 하위세트에서 확인되었고, 전좌는 Notch3 전사를 상승시키는 것으로 여겨진다. 난소암에서, Notch3 유전자 증폭은 종양의 약 19%에서 발생하는 것으로 관찰되었고, Notch3의 과다발현이 난소 장액성 암종에서 1/2을 초과하여 관찰되었다. 트랜스제닉 마우스에서 활성화된 Notch1 및 Notch3의 과다발현은 마우스 유방 종양을 유도하고, Notch3의 과다발현은 마우스 모델에서 맥락열기 종양 형성을 유도하는데 충분한데, 이는 특정 뇌 종양의 발생에 있어서의 Notch3의 역할을 시사한다. (암에서의 Notch3을 검토했기 위해서는, 문헌 [Shih et al., Cancer Res. 67:1879-1882, 2007] 참조).
- [0016] 치료 효능을 갖는 특정 항-Notch1 길항제 항체가 기재되어 있다. (그 전문이 본원에 분명하게 참고로 포함되는 미국 특허 출원 공보 번호 US 2009/0081238 A1 참조). 예를 들어, 이러한 항체는 비소세포 폐 암종 및 결장 선암종의 마우스 이종이식 모델에서 Notch1의 음성 조절 영역 (NRR)에 결합하고, Notch1 신호전달을 차단하고, 혈관신생 및 혈관형성을 방해하고, 종양 성장을 억제한다. 상기 공보에 기재되어 있는 특정 항체는 Notch1 NRR의 LNR-A 및 LNR-B (3개의 LIN12/Notch 반복부 중 첫번째 및 두번째 것) 및 HD-C에 결합한다. Notch1의 EGF 반복 영역에 결합하고 아마도 리간드 결합을 차단하는 것에 의해 Notch1 활성을 차단하는 다른 항-Notch1 항체가 또한 기재되어 있다. (국제 공보 번호 WO 2008/091641 참조).
- [0017] 또한, 특정 항-Notch3 길항제 항체가 기재되어 있다. (그 전문이 본원에 분명하게 참고로 포함되는 미국 특허 출원 공보 번호 US 2008/0226621 A1 참조). 이러한 항체는 Notch3의 음성 조절 영역 (NRR)에 결합하고 Notch3 신호전달을 차단한다. 상기 공보에 기재되어 있는 특정 항체는 Notch3 NRR의 LNR-A (3개의 LIN12/Notch 반복부 중 첫번째 것) 및 HD-C (US 2008/0226621 A1에서는 달리 제2 이량체화 도메인으로 지칭됨)에 결합한다. Notch3의 EGF-유사 반복부 영역에 결합하고 아마도 리간드 결합을 차단하는 것에 의해 Notch3 활성을 차단하는 다른 항-Notch3 항체가 또한 기재되어 있다. (문헌 [Li et al., J. Biol. Chem. 283:8046-8054, 2008] 참조).
- [0018] 다수의 Notch 수용체를 억제하는 범-Notch 억제제인 감마-세크레타제 억제제 (GSI)는 Notch-관련 질환의 치료를 위해 제안되어 왔고, 실제로 T-ALL 치료를 위해 임상 시험에서 사용되어 왔다. (문헌 [Roy et al., Curr. Opin. Genet. Dev. 17:52-59, 2007]; [Deangelo et al., J. Clin. Oncol. 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I 24:6586, 2006] 참조). 그러나, GSI는 체중 감소 및 장 배상세포 이형성을 야기하며, 이는 Notch가 장음와 전구세포의 증식을 유지시키고 분비 세포 운명으로서의 분화를 막는 것에 의해 세포 운명을 결정하는데 있어서 소정의 역할을 한다는 것을 반영한다. (문헌 [van Es et al., Nature 435:959-963, 2005] 참조). 범-Notch 억제의 이러한 부작용이 임상 설정에서 관리가능한 것일지라도, 개별적인 Notch 수용체를 표적화하여 이러한 부작용을 최소화하거나 감소시키는 억제제가 유익할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0019] 당업계에서는 Notch 수용체를 표적화함으로써 암을 치료하는 추가의 치료 방법에 대한 필요가 존재한다. 본원에 기재된 본 발명은 상기 기재된 필요를 충족시키며, 그 밖의 이점을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0020] 개요
- [0021] 본 발명은 Notch 길항제를 단독으로 또는 조합하여 사용하는 암의 치료에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은,

부분적으로는 상이한 부류의 T-ALL의 특성화에 관한 것이다. 한 부류의 T-ALL은 GSI로의 치료에 감수성이며, 또한 Notch1-특이적 길항제로의 치료에도 감수성이다. 대조적으로, 다른 부류의 T-ALL은 GSI로의 치료에는 감수성이지만, Notch1-특이적 길항제로의 치료에는 비감수성이다 (즉, 저항성이다). 본원에 나타난 바와 같이, 후자의 부류의 T-ALL은 Notch3-특이적 길항제로의 치료에 부분적으로 감수성이며, Notch1-특이적 길항제 및 Notch3-특이적 길항제의 조합물에 대해서는 훨씬 더 감수성이다. 이러한 결과는 백혈병, 특히 T-ALL과 같은 T 세포 전구세포 백혈병에서 Notch1 및 Notch3 둘 모두의 역할을 시사한다.

[0022] 한 측면에서, Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 GSI-반응성 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 암 환자에게 유효량의 Notch3-특이적 길항제를 투여하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 암은 T-세포 백혈병이다. 특정 실시양태에서, T-세포 백혈병은 림프모구성 백혈병이다. 특정 실시양태에서, T-세포 백혈병은 T-ALL이다. 특정 실시양태에서, Notch3-특이적 길항제는 항-Notch3 길항제 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch3 길항제 항체는 항-Notch3 NRR 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch3 NRR 항체는 Notch3 NRR의 LNR-A 및 HD-C 도메인에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-Notch3 NRR 항체는 항체 256A-4 또는 256A-8의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-Notch3 NRR 항체는 항체 256A-4 또는 256A-8의 인간화 형태이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch3 길항제 항체는 Notch3의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch3 항체이다.

[0023] 추가 실시양태에서, 상기 방법은 유효량의 Notch1-특이적 길항제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 투여되는 Notch1-특이적 길항제는 항-Notch1 길항제 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 항-Notch1 NRR 항체이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch1 NRR 항체는 Notch1 NRR의 LNR-A, LNR-B 및 HD-C 도메인에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-Notch1 NRR 항체는 항체 A, A-1, A-2 및 A-3으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 항-Notch1 NRR 항체는 항체 A, A-1, A-2 및 A-3으로부터 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 Notch1의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch1 항체이다.

[0024] 본 발명의 추가 측면에서, 활성화된 Notch3 ICD에 결합하는 항체를 제공한다. 특정 실시양태에서, 항체는 서열 4의 펩티드에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항체는 폴리클로날이다. 특정 실시양태에서, 항체는 모노클로날이다.

[0025] 본 발명의 추가 측면에서, Notch3 길항제로의 치료에 적합한 암을 확인하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 암 샘플을 제15항의 항체와 접촉시키고, 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3이 상기 샘플에 존재하는지의 여부를 결정하는 것을 포함하고, 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3의 존재는 암이 Notch3 길항제로의 치료에 적합함을 나타낸다. 특정 실시양태에서, 암은 GSI-반응성이다.

[0026] 상기 및 추가의 본 발명의 측면 및 실시양태를 본원에서 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1a-1d는 인간 Notch1 (서열 1) 및 마우스 Notch1 (서열 2)을 정렬한 것을 모티프 및 다른 특성을 표시하여 나타낸다.

도 2는 인간 Notch3의 서열 (서열 3)을 나타낸다. EGF 반복부 영역은 아미노산 잔기 43 내지 1383에 걸쳐있고; LNR 모듈은 아미노산 잔기 1384 내지 1503에 걸쳐있으며, LNR-A는 아미노산 잔기 1384-1422에 걸쳐있고, 이량체화 도메인은 아미노산 잔기 1504 내지 1640에 걸쳐있으며, HD-C는 아미노산 잔기 1572-1640에 걸쳐있다.

도 3a-3d는 T-ALL 세포주, P-12 이치카와(Ichikawa)가 GSI (DAPT) 및 항-NRR1 (α-N1) 둘 모두에 저항성임을 나타낸다.

도 4a-4d는 대조군 세포와 비교하여 G0/G1에서의 세포의 축적 및 S/G2/M에서의 세포의 감소에 의해 입증되는 바와 같이, T-ALL 세포주, HPB-ALL이 GSI (DAPT) 및 항-NRR1 (α-N1) 둘 모두에 감수성임을 나타낸다.

도 5a-5d는 T-ALL 세포주, TALL-1이 GSI에는 감수성이지만 항-NRR1 (α-N1)에는 저항성임을 나타낸다.

도 6은 세포 크기 측정치가 도 3-5에서 확인된 3종의 부류의 T-ALL을 반영함을 나타낸다.

도 7은 아넥신 V (아포토시스에 대한 마커) 및 7-AAD (세포 사멸에 대한 마커)에 의한 염색이 도 3-5에서 확인된 3종의 부류의 T-ALL을 반영함을 나타낸다.

도 8 좌측 패널은 Ki-67 염색 (세포 증식에 대한 마커)이 도 3-5에서 확인된 3종의 부류의 T-ALL을 반영함을 나

타낸다. 좌측으로 이동된 피크는 우측으로 이동된 피크와 비교하여 보다 낮은 Ki-67에 대한 염색 및 감소된 증식을 나타낸다. 도 8 우측 패널은 Ki-67에 대한 감소된 염색 (즉, 감소된 증식)이 아넥신 V/7-AAD 이중 음성 (즉, 비-아포토시스성) 세포의 수와 역의 상관관계가 있음을 나타낸다.

도 9a-9f는 TALL-1 세포주가 항-NRR3 (α-N3)에 부분적으로 감수성이며, 항-NRR1 (α-N1) 및 항-NRR3으로의 치료에 감수성임을 나타낸다.

도 10a-10f는 T-ALL 세포주, CCRF-CEM이 GSI, 항-NRR1 (α-N1) 및 항-NRR3 (α-N3) 모두에 저항성임을 나타낸다.

도 11a-11f는 HPB-ALL 세포주가 항-NRR1 (α-N1)에는 감수성이지만 항-NRR3 (α-N3)에는 그렇지 않음을 나타낸다.

도 12는 활성화된 Notch3 ICD (α-Notch3 ICD)를 인식하는 항체를 사용하는 면역블롯을 나타내며, 상기 항체는 Jag 1-차극된 MDA-MB-468 세포의 핵 분획에서 활성화된 Notch3 ICD를 검출한다.

도 13은 TALL-1 세포주가 절단된, 활성화된 Notch3 (하부 패널)을 높은 수준으로 발현하고, 이는 DAPT에 의해 차단될 수 있지만 항-NRR1 (α-N1)에 의해서는 차단될 수 없는 반면, HPB-ALL 세포주는 절단된, 활성화된 Notch1을 높은 수준으로 발현하고, 이는 DAPT 및 항-NRR1 (α-N1)에 의해 차단될 수 있음을 나타낸다.

도 14는 도 9a-9f에 도시된 실험 결과의 그래프를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 실시양태의 상세한 설명
- [0029] I. 정의
- [0030] 본 명세서를 이해하기 위한 목적으로, 하기 정의가 적용될 것이고 적절할 경우에는 언제나 단수형으로 사용된 용어는 또한 복수형도 포함할 것이고, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 하기 기재된 임의의 정의가 본원에서 참고문헌으로 포함된 임의의 문헌과 모순되는 경우에는 하기 기재된 정의가 우선한다.
- [0031] 본원에 사용된 용어 "Notch"는 구체적으로 또는 문맥상 달리 나타내지 않는한, 임의의 천연 또는 변이체 (천연 이든 또는 합성이든) Notch 폴리펩티드 (Notch1-4)를 지칭한다. 용어 "천연 서열"은 구체적으로 자연 발생 말단절단 형태 (예를 들어, 세포의 도메인 서열 또는 막횡단 서브유닛 서열), 자연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "야생형 Notch"는 일반적으로 자연 발생, 비-돌연변이 Notch 단백질의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "야생형 Notch 서열"은 일반적으로 자연 발생 비-돌연변이 Notch에서 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다.
- [0032] 본원에 사용된 용어 "Notch1"은 구체적으로 또는 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 임의의 천연 또는 변이체 (천연이든 또는 합성이든) Notch1 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "천연 서열"은 구체적으로 자연 발생 말단절단 형태 (예를 들어, 세포의 도메인 서열 또는 막횡단 서브유닛 서열), 자연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "야생형 Notch1"은 일반적으로 자연 발생 비-돌연변이 Notch1 단백질의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "야생형 Notch1 서열"은 일반적으로 자연 발생 비-돌연변이 Notch1에서 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다.
- [0033] 본원에 사용된 용어 "Notch1 리간드"는 구체적으로 또는 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 임의의 천연 또는 변이체 (천연이든 또는 합성이든) Notch1 리간드 (예를 들어, Jagged1, Jagged2, Delta-유사1, Delta-유사3 및/또는 Delta-유사4) 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "천연 서열"은 구체적으로 자연 발생 말단절단 형태 (예를 들어, 세포의 도메인 서열 또는 막횡단 서브유닛 서열), 자연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "야생형 Notch1 리간드"는 일반적으로 자연 발생 비-돌연변이 Notch1 리간드의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "야생형 Notch1 리간드 서열"은 일반적으로 자연 발생 비-돌연변이 Notch1 리간드에서 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다.
- [0034] 본원에 사용된 용어 "Notch1 NRR"은 구체적으로 또는 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 3개의 LNR 모듈 및 LNR 모듈의 카르복시 말단에서 막횡단 도메인에 걸쳐있는 아미노산 서열 (이러한 서열은 HD 도메인 (HD-N 및 HD-C)을 포함함)로 이루어진 임의의 천연 또는 변이체 (천연이든 또는 합성이든) Notch1 폴리펩티드 영역을 지칭한다. 예시적인 Notch1 NRR은 인간 Notch1 아미노산 서열 (서열 1, 도 1)의 약 아미노산 1446 내지 약 아미노산 1735 영역 및 마우스 Notch1 아미노산 서열 (서열 2, 도 1)의 약 아미노산 1446 내지 약 아미노산 1725 영역으로 이

루어진다. 용어 "천연 서열 Notch1 NRR"은 구체적으로 Notch1 NRR의 자연 발생 말단절단 형태, 자연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "야생형 Notch1 NRR"은 일반적으로 자연 발생, 비-돌연변이 Notch1 NRR을 지칭한다. 일부 실시양태에서, Notch1 NRR은 예를 들어 S1, S2 및/또는 S3 부위(들)에서 프로세싱된 Notch1 또는 비프로세싱된 Notch1과 같은 Notch1 내에 함유된다. 일부 실시양태에서, Notch1 NRR은 2개 이상의 비-공유 연결된 Notch1 NRR 아미노산 서열의 단편, 예를 들어 서열 1의 아미노산 1665 내지 1735을 함유하는 단편에 비-공유 연결된 서열 1의 아미노산 1446 내지 1664를 함유하는 단편을 함유한다. 또 다른 실시양태에서, 서열 2의 아미노산 1446 내지 1654를 함유하는 단편은 서열 2의 아미노산 1655 내지 1725를 함유하는 단편에 비-공유 연결된다.

[0035] 본원에 사용된 용어 "증가된 Notch1 신호전달"은 실질적으로 동일한 조건하의 대조군에서 관찰된 Notch1 신호전달의 수준보다 유의하게 높은 Notch1 신호전달의 증가를 지칭한다. 특정 실시양태에서, Notch1 신호전달의 증가는 대조군에서 관찰된 수준보다 적어도 2배, 3배, 4배, 5배 또는 10배 초과이다.

[0036] 본원에 사용된 용어 "감소된 Notch1 신호전달"은 실질적으로 동일한 조건하의 대조군에서 관찰된 Notch1 신호전달의 수준보다 유의하게 낮은 Notch1 신호전달의 감소를 지칭한다. 특정 실시양태에서, Notch1 신호전달의 감소는 대조군에서 관찰된 수준보다 적어도 2배, 3배, 4배, 5배 또는 10배 미만이다.

[0037] 특정 실시양태에서, Notch1 신호전달 (즉, 증가되거나 감소된 Notch1 신호전달)은, 예를 들어 미국 특허 출원 공보 번호 US 2009/0081238 A1의 실시예 5에 기재된 바와 같은 적합한 리포터 검정에 의해 평가된다. 특정 실시양태에서, Notch1 신호전달은 US 2009/0081238 A1의 실시예 5 및 7에 각각 기재되어 있는 C2C12 근육모세포 분화 검정 또는 HUVEC 세포 발아 검정과 같은 시험관내 활성 검정에 의해 평가된다. 특정 실시양태에서, Notch1 신호전달은 US 2009/0081238 A1의 실시예 8에 기재되어 있는 Calu6 및 HM7 모델과 같은 생체내 이종이식 모델에 의해 평가된다.

[0038] 용어 "Notch1 활성화 돌연변이" 및 "Notch1 신호전달을 활성화시키는 돌연변이"는 상응하는 Notch1 야생형 아미노산 서열로부터의 Notch1 신호전달에 비해 증가된 Notch1 신호전달을 야기하는 Notch1 야생형 아미노산 서열에 대한 하나 이상의 아미노산의 삽입, 하나 이상의 아미노산의 결실 또는 하나 이상의 아미노산의 치환, 또는 상응하는 Notch1 야생형 핵산 서열을 함유하는 세포에서의 Notch1 신호전달에 비해 돌연변이체 핵산 서열을 함유하는 세포에서 증가된 Notch1 신호전달을 야기하는 Notch1 야생형 핵산 서열에 대한 하나 이상의 뉴클레오티드의 삽입, 하나 이상의 뉴클레오티드의 결실, 하나 이상의 뉴클레오티드의 전위 또는 하나 이상의 뉴클레오티드의 치환을 지칭한다. 활성화 돌연변이를 함유하는 Notch1 수용체로부터의 Notch1 신호전달은 리간드 의존적이거나 또는 리간드 독립적일 수 있다.

[0039] 용어 "항-Notch1 항체" 또는 "Notch1에 결합하는 항체"는 항체가 Notch1을 표적화함에 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화성으로 Notch1에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 바람직하게는, 항-Notch1 항체가 비관련 비-Notch 단백질에 결합하는 정도는, 예를 들어 방사성면역검정 (RIA)에 의한 측정시 항체의 Notch1에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, Notch1에 결합하는 항체의 해리 상수 (Kd)는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch1 항체는 상이한 종, 예를 들어 설치류 (마우스, 래트) 및 영장류로부터의 Notch1에서 보존된 Notch1의 에피토프에 결합한다.

[0040] 용어 "항-Notch1 NRR 항체" 또는 "Notch1 NRR에 결합하는 항체"는 항체가 Notch1을 표적화함에 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화성으로 Notch1 NRR에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 바람직하게는, 항-Notch1 NRR 항체가 비관련 비-Notch 단백질에 결합하는 정도는, 예를 들어 방사성면역검정 (RIA)에 의한 측정시 항체의 Notch1 NRR에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, Notch1 NRR에 결합하는 항체의 해리 상수 (Kd)는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch1 NRR 항체는 상이한 종, 예를 들어 설치류 (마우스, 래트) 및 영장류로부터의 Notch에서 보존된 Notch의 에피토프에 결합한다.

[0041] 용어 "Notch1-특이적 길항제"는 상기 정의된 감소된 Notch1 신호전달을 야기하고, 또 다른 Notch 수용체 (포유동물에서 Notch2, 3, 또는 4)에 의한 신호전달에는 유의하게 영향을 미치지 않는 작용제를 지칭한다.

[0042] "항-Notch1 길항제 항체"는 상기 정의된 감소된 Notch1 신호전달을 야기하는 항-Notch1 항체 (항-Notch1 NRR 항체 포함)이다.

[0043] 단독의 또는 임의로 조합된 "항체 A, A-1, A-2 및 A-3"에 대한 언급은, 달리 나타내지 않는 한, 미국 특허 출원

공보 번호 US 2009/0081238 A1에서 항체 A, A-1, A-2 및 A-3으로 지정된 파지 및 재구성된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 의미한다.

- [0044] 본원에 사용된 용어 "Notch3"은 구체적으로 또는 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 임의의 천연 또는 변이체 (천연이든 또는 합성이든) Notch3 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "천연 서열"은 구체적으로 자연 발생 말단절단 형태 (예를 들어, 세포의 도메인 서열 또는 막횡단 서브유닛 서열), 자연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "야생형 Notch3"은 일반적으로 자연 발생, 비-돌연변이 Notch3 단백질의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "야생형 Notch3 서열"은 일반적으로 자연 발생, 비-돌연변이 Notch3에서 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다.
- [0045] 본원에 사용된 용어 "Notch3 리간드"는 구체적으로 또는 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 임의의 천연 또는 변이체 (천연이든 또는 합성이든) Notch3 리간드 (예를 들어, Jagged1, Jagged2, Delta-유사1, Delta-유사3 및/또는 Delta-유사4) 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "천연 서열"은 구체적으로 자연 발생 말단절단 형태 (예를 들어, 세포의 도메인 서열 또는 막횡단 서브유닛 서열), 자연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "야생형 Notch3 리간드"는 일반적으로 자연 발생, 비-돌연변이 Notch3 리간드의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "야생형 Notch3 리간드 서열"은 일반적으로 자연 발생, 비-돌연변이 Notch3 리간드에서 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다.
- [0046] 용어 "활성화된 Notch3 ICD"은 부위 S3에서 절단된 것으로 핵으로 전위할 수 있는 Notch3 절단 산물을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 Notch3 ICD는 인간 Notch3 (서열 3)의 아미노산 1662-2321로 이루어진다.
- [0047] 본원에 사용된 용어 "Notch3 NRR"은 구체적으로 또는 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 3개의 LNR 모듈 및 LNR 모듈의 카르복시 말단에서 막횡단 도메인에 걸쳐있는 아미노산 서열 (이러한 서열은 HD 도메인 (HD-N 및 HD-C)을 포함함)로 이루어진 임의의 천연 또는 변이체 (천연이든 또는 합성이든) Notch3 폴리펩티드 영역을 지칭한다. 예시적인 Notch3 NRR은 인간 Notch3 아미노산 서열 (서열 3, 도 2)의 약 아미노산 1384 내지 약 아미노산 1640 영역으로 이루어진다. 용어 "천연 서열 Notch3 NRR"은 구체적으로 Notch3 NRR의 자연 발생 말단절단 형태, 자연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 용어 "야생형 Notch3 NRR"은 일반적으로 자연 발생, 비-돌연변이 Notch3 NRR을 지칭한다. 일부 실시양태에서, Notch3 NRR은 예를 들어 S1, S2 및/또는 S3 부위(들)에서 프로세싱된 Notch3 또는 비프로세싱된 Notch3과 같은 Notch3 내에 함유된다. 일부 실시양태에서, Notch3 NRR은 2개 이상의 비-공유 연결된 Notch3 NRR 아미노산 서열의 단편, 예를 들어 인간 Notch3 (서열 3)의 아미노산 1572 내지 1640을 함유하는 단편에 비-공유 연결된 인간 Notch3 (서열 3)의 아미노산 1384 내지 1571을 함유하는 단편을 함유한다.
- [0048] 본원에 사용된 용어 "증가된 Notch3 신호전달"은 실질적으로 동일한 조건하의 대조군에서 관찰된 Notch3 신호전달의 수준보다 유의하게 높은 Notch3 신호전달의 증가를 지칭한다. 특정 실시양태에서, Notch3 신호전달의 증가는 대조군에서 관찰된 수준보다 적어도 2배, 3배, 4배, 5배 또는 10배 초과이다.
- [0049] 본원에 사용된 용어 "감소된 Notch3 신호전달"은 실질적으로 동일한 조건하의 대조군에서 관찰된 Notch3 신호전달의 수준보다 유의하게 낮은 Notch3 신호전달의 감소를 지칭한다. 특정 실시양태에서, Notch3 신호전달의 감소는 대조군에서 관찰된 수준보다 적어도 2배, 3배, 4배, 5배 또는 10배 미만이다.
- [0050] 특정 실시양태에서, Notch3 신호전달 (즉, 증가되거나 감소된 Notch3 신호전달)은, 예를 들어 미국 특허 출원 공보 번호 US 2008/0226621 A1의 실시예 5에 기재된 바와 같은 적합한 리포터 검정에 의해 평가된다. 특정 실시양태에서, Notch3 신호전달은 미국 특허 출원 공보 번호 US 2008/0226621 A1의 실시예 7에 기재되어 있는 아포토시스, 세포 이동, 침습 및 형태학적 검정과 같은 시험관내 활성 검정에 의해 평가된다. 특정 실시양태에서, Notch3 신호전달은 US 2008/0226621 A1의 실시예 11에 기재되어 있는 생체내 이종이식 모델에 의해 평가된다.
- [0051] 용어 "항-Notch3 항체" 또는 "Notch3에 결합하는 항체"는 항체가 Notch3을 표적화함에 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화성으로 Notch3에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 바람직하게는, 항-Notch3 항체가 비관련 비-Notch 단백질에 결합하는 정도는, 예를 들어 방사성면역검정 (RIA)에 의한 측정시 항체의 Notch3에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, Notch3 NRR에 결합하는 항체의 해리 상수 (Kd)는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch3 항체는 상이한 종, 예를 들어 설치류 (마우스, 래트) 및 영장류로부터의

Notch3에서 보존된 Notch3의 에피토프에 결합한다.

- [0052] 용어 "항-Notch3 NRR 항체" 또는 "Notch3 NRR에 결합하는 항체"는 항체가 Notch3을 표적화함에 있어서 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화성으로 Notch3 NRR에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 바람직하게는, 항-Notch3 NRR 항체가 비관련 비-Notch 단백질에 결합하는 정도는, 예를 들어 방사성면역검정 (RIA)에 의한 측정시 항체의 Notch3 NRR에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, Notch3 NRR에 결합하는 항체의 해리 상수 (Kd)는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 이다. 특정 실시양태에서, 항-Notch3 NRR 항체는 상이한 종, 예를 들어 설치류 (마우스, 래트) 및 영장류로부터의 Notch3에서 보존된 Notch3의 에피토프에 결합한다.
- [0053] 용어 "Notch3-특이적 길항제"는 상기 정의된 감소된 Notch3 신호전달을 야기하고, 또 다른 Notch 수용체 (포유동물에서 Notch1, 2, 또는 4)에 의한 신호전달에는 유의하게 영향을 미치지 않는 작용제를 지칭한다.
- [0054] "항-Notch3 길항제 항체"는 상기 정의된 감소된 Notch3 신호전달을 야기하는 항-Notch3 항체 (항-Notch3 NRR 항체 포함)이다.
- [0055] 단독의 또는 조합된 "항체 256A-4 및 256A-8"에 대한 언급은, 미국 특허 출원 공보 번호 2008/0226621 A1에서 256A-4 및 256A-8로 지정된 마우스 모노클로날 항체를 의미한다.
- [0056] 용어 "길항제"는 표적 분자의 생물학적 활성을 유의하게 (부분적으로 또는 완전히) 억제하는 작용제를 지칭한다.
- [0057] "활성화된 Notch3 ICD에 결합하는 항체"는 항체가 활성화된 Notch3 ICD를 무손상 NTM을 포함하는 Notch3과 구분하는데 유용하게 하는 활성화된 Notch3 ICD에 결합하는 항체를 지칭한다.
- [0058] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 구체적으로 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 적어도 2개의 무손상 항체로 형성된 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체) 및, 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 항체 단편을 포함한다.
- [0059] "단리된" 항체는 천연 환경 성분으로부터 확인되고 분리 및/또는 회수된 항체이다. 이것의 천연 환경의 오염물 성분은 항체의 연구, 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이고, 여기에는 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비단백질성 용질이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 (1) 예를 들어 로우리(Lowry) 방법으로 측정시에 95 중량% 초과인 항체로, 일부 실시양태에서는 99 중량% 초과로, (2) 예를 들어 스피닝 컵 서열분석기를 이용하여 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개의 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 예를 들어 쿠마시 블루(Coomassie blue) 또는 은 염색을 이용하여 환원 또는 비-환원 조건하에 SDS-PAGE에 의해 균질한 것으로 나타날 정도로 정제된다. 단리된 항체는 제조할 세포 내의 계내 항체를 포함하는데, 이는 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 항체는 적어도 1회의 정제 단계를 통해 제조될 것이다.
- [0060] "천연 항체"는 통상적으로 2개의 동일한 경쇄 (L) 및 2개의 동일한 중쇄 (H)로 구성된 약 150,000 달톤의 이중사량체 당단백질이다. 각각의 경쇄는 1개의 공유 디설피드 결합에 의해 중쇄에 연결되고, 디설피드 연결의 수는 상이한 이뮤노글로불린 이소형의 중쇄마다 달라진다. 또한, 각각의 중쇄 및 경쇄는 일정하게 이격된 사슬내 디설피드 브릿지를 갖는다. 각각의 중쇄는 한쪽 말단에 가변 도메인 (V_H)을 갖고, 그 뒤에는 수많은 불변 도메인이 존재한다. 각각의 경쇄는 한쪽 말단에 가변 도메인 (V_L) 및 다른쪽 말단에 불변 도메인을 가지며; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성한다고 여겨진다.
- [0061] 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노-말단 도메인을 지칭한다. 중쇄의 가변 도메인은 "VH"로서 지칭될 수 있다. 경쇄의 가변 도메인은 "VL"로서 지칭될 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로 항체의 가장 가변적인 부분이고, 항원-결합 부위를 함유한다.
- [0062] 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 부분들이 서열에 있어서 항체들 사이에서 광범위하게 다르다는 사실을 지칭하며, 각 특정 항체의 특정 항원에 대한 결합 및 특이성에서 사용된다. 그러나, 가변성이 항체 가변 도메인 전반에 걸쳐 고르게 분포되어 있는 것은 아니다. 이것은 경쇄 가변 도메인과 중쇄 가변 도메인 둘 모두에서 초가변 영역 (HVR)이라 불리는 3개의 절편에 집중되어 있다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역 (FR)이라 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 주로 베타-시트 입체형태를 취하며 3개의 HVR에 의해 연결되어 있는 4개의 FR 영역을 포함하는데, 이것은 베타-시트 구조를 연결하고, 일부 경우에는 상기

베타-시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 각 쇠에서의 HVR들은 서로 FR 영역에 의해 근접하게 유지되고, 다른 쇠로부터의 HVR과 함께 항체의 항원 결합 부위 형성에 기여한다 (문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)] 참조). 불변 도메인은 항체를 항원에 결합시키는데는 직접 관여하지 않지만, 항체 의존성 세포 독성에서의 항체 참여와 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낸다.

- [0063] 임의의 척추동물 종의 항체 (이뮤노글로불린)의 "경쇄"는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여 카파(κ) 및 람다(λ)라고 불리는 2개의 분명하게 구분되는 유형 중 하나로 배정될 수 있다.
- [0064] 중쇄 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 항체 (이뮤노글로불린)는 다양한 클래스로 배정될 수 있다. 5가지 주요 클래스의 이뮤노글로불린 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이중 몇 가지는 하위클래스 (이소형), 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 추가로 나뉠 수 있다. 다양한 클래스의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다. 다양한 클래스의 이뮤노글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 입체형태는 널리 공지되어 있고, 일반적으로 예를 들어 문헌 [Abbas et al., Cellular and Mol. Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders, Co., 2000)]에 기재되어 있다. 항체는 항체 및 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩티드의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성되는, 더 큰 융합 분자의 일부일 수 있다.
- [0065] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "온전한 항체"는 본원에서 구별없이 사용되며, 하기 정의된 바와 같은 항체 단편이 아니라 실질적으로 무손상인 형태의 항체를 지칭한다. 상기 용어는 특히 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.
- [0066] 본원의 목적상, "네이키드 항체"는 세포독성 모이어티 또는 방사성표지와 접합되지 않은 항체이다.
- [0067] "항체 단편"은 바람직하게는 항원 결합 영역을 포함하는 무손상 항체의 일부를 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편, 디아바디, 선형 항체, 단일-쇄 항체 분자 및 항체 단편들로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.
- [0068] 항체를 파파인으로 소화시키면 "Fab" 단편이라 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편 (각각 단일 항원-결합 부위를 가짐) 및 나머지 "Fc" 단편 (이러한 명칭은 쉽게 결정화되는 능력을 반영함)이 생성된다. 펩신 처리하면, 2개의 항원-결합 부위를 갖고 항원과 여전히 가교 연결될 수 있는 F(ab')₂ 단편이 생성된다.
- [0069] "Fv"는 완전한 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 한 실시양태에서, 2-쇄 Fv 중은 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 도메인이 단단하게 비공유 회합된 이량체로 이루어진다. 단일쇄 Fv (scFv) 중에서, 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄 가변 도메인은 경쇄 및 중쇄가 2-쇄 Fv 중에서와 유사한 "이량체" 구조로 회합할 수 있도록 가요성 펩티드 링커에 의해 공유 연결될 수 있다. 이러한 형태에서, 각 가변 도메인의 3개의 HVR은 상호작용하여 VH-VL 이량체의 표면 상에 항원 결합 부위를 규정한다. 전체적으로, 6개의 HVR이 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 3개의 HVR만을 포함하는 Fv의 절반)일지라도 전체 결합 부위보다 친화도가 낮은 하지만 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.
- [0070] Fab 단편은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 함유하고, 또한 경쇄의 불변 도메인과 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에 수개의 잔기가 부가되었다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. 본원에서, Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)에 유리 티올기를 보유하는 Fab'에 대한 명칭이다. F(ab')₂ 항체 단편은 원래 Fab' 단편들 사이에 힌지 시스테인을 갖는, Fab' 단편들의 쌍으로서 생성되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링이 또한 공지되어 있다.
- [0071] "단일-쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 쇠 내에 존재하는, 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 일반적으로, scFv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위한 목적하는 구조를 형성할 수 있도록 하는, VH 및 VL 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. scFv의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Pluckthuen, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York, 1994), pp. 269-315]을 참조한다.
- [0072] 용어 "디아바디"는 동일 폴리펩티드 쇠 내에서 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH) (VH-VL)을 포함하는, 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편을 지칭한다. 동일 쇠 상의 2개의 도메인 사이에서 쌍형성을 허용하기에는 지나치게 짧은 링커를 사용함으로써, 상기 도메인은 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍을 형성하게 되어 2개의 항원-결합 부위를 생성한다. 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있다. 디아바디는,

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)]에 보다 상세하게 기재되어 있다. 트리아바디 및 테트라바디 역시 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.

[0073] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉, 이 집단을 구성하는 개개의 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 돌연변이, 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 따라서, 수식어구 "모노클로날"은 항체의 특징을 별개의 항체의 혼합물이 아니라는 것으로 나타낸다. 특정 실시양태에서, 이러한 모노클로날 항체는 전형적으로 표적에 결합하는 폴리펩티드 서열을 포함하는 항체를 포함하고, 표적 결합 폴리펩티드 서열은 복수개의 폴리펩티드 서열로부터 단일 표적 결합 폴리펩티드 서열의 선별을 포함하는 과정에 의해 수득하였다. 예를 들어, 선별 과정은 복수개의 클론, 예컨대 하이브리도마 클론, 파지 클론 또는 재조합 DNA 클론의 풀로부터 독특한 클론을 선별하는 것일 수 있다. 선별된 표적 결합 서열은 예를 들어 표적에 대한 친화도 개선, 표적 결합 서열의 인간화, 세포 배양물 중 그의 생성 개선, 생체내에서의 그의 면역원성 감소, 다중특이적 항체의 생성 등을 위해 추가로 변경될 수 있고, 변경된 표적 결합 서열을 포함하는 항체도 본 발명의 모노클로날 항체임을 이해해야 한다. 전형적으로 상이한 결정자(에피토프)에 대한 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원상의 단결정자에 대한 것이다. 모노클로날 항체 제제는 이것의 특이성에 더하여 전형적으로 다른 이뮤노글로불린에 의해 오염되지 않았다는 점에서 유익하다.

[0074] 수식어구 "모노클로날"은 항체의 특징을 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 것으로 나타내며, 임의의 특정한 방법을 통한 항체 생성이 필요하다는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 예를 들어, 하이브리도마 방법(예를 들어, 문헌 [Kohler and Milstein, Nature, 256:495-97 (1975)]; [Hongo et al., Hybridoma, 14 (3): 253-260 (1995)], [Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)]; [Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)]), 재조합 DNA 방법(예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조), 파지-디스플레이 기술(예를 들어, 문헌 [Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991)]; [Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992)]; [Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004)]; [Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004)]; [Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004)]; 및 [Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)] 참조)를 비롯한 다양한 기술 및 인간 이뮤노글로불린 서열을 코딩하는 인간 이뮤노글로불린 유전자 좌 또는 유전자의 일부 또는 전부를 갖는 동물에서 인간 또는 인간-유사 항체를 생산하는 기술(예를 들어, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; 문헌 [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993)]; [Jakobovits et al., Nature 362: 255-258 (1993)]; [Bruggemann et al., Year in Immunol. 7:33 (1993)]; 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016; [Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992)]; [Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994)]; [Morrison, Nature 368: 812-813 (1994)]; [Fishwild et al., Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996)]; [Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996)]; 및 [Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995)] 참조)에 의해 제조할 수 있다.

[0075] 구체적으로, 본원에서의 모노클로날 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이고,쇄(들)의 나머지 부분은 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체, 뿐만 아니라 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 이러한 항체의 단편을 포함한다(예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)] 참조). 키메라 항체는 항체의 항원 결합 영역이 예를 들어 마카쿠 원숭이를 관심 항원으로 면역화하는 것에 의해 생성된 항체로부터 유래된 프리마티제드(PRIMATIZED)® 항체를 포함한다.

[0076] 비인간(예를 들어, 무린) 항체의 "인간화" 형태는 비인간 이뮤노글로불린에서 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 한 실시양태에서, 인간화 항체는 수용자의 HVR로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화성 및/또는 능력을 갖는 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류와 같은 비인간 종(공여자 항체)의 HVR의 잔기로 대체된 인간 이뮤노글로불린(수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 FR 잔기는 상응하는 비인간 잔기로 대체된다. 추가로, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서는 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능이 추가로 개선되도록 이루어질 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모

든 초가변 루프는 비인간 이뮤노글로불린의 그것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 이뮤노글로불린 서열의 그것이다. 또한, 인간화 항체는 임의로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc) 중 적어도 일부, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 적어도 일부를 포함할 것이다. 추가의 상세한 내용은, 예를 들어 문헌 [Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)]; [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)]; 및 [Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 문헌 [Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998)]; [Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995)]; [Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)]; 및 미국 특허 번호 6,982,321 및 7,087,409를 참조한다.

[0077] "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 갖고/거나 본원에 개시된 바와 같은 인간 항체 제조 기술 중 임의의 것을 이용하여 제조된 것이다. 인간 항체의 이러한 정의에서 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 명확하게 제외된다. 인간 항체는 파지 디스플레이 라이브러리를 비롯한 당업계에서 공지된 다양한 기술을 사용하여 생성할 수 있다. 문헌 [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)]; [Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991)]. 또한, 문헌 [Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)]; [Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)]에 기재된 방법도 인간 모노클로날 항체의 제조에 이용가능하다. 또한 문헌 [van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001)]을 참조한다. 인간 항체는 항원 시험접종에 반응하여 이러한 항체를 생성하도록 변형되었으나 내인성 유전자좌는 무력화된 트랜스제닉 동물, 예를 들어 면역화된 제노마우스에 항원을 투여하여 제조할 수 있다 (예를 들어, 제노마우스(XENOMOUSE)TM 기술에 관한 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584 참조). 또한, 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체에 관해서는 예를 들어 문헌 [Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)]을 참조한다.

[0078] 용어 "초가변 영역", "HVR" 또는 "HV"가 본원에 사용된 경우, 이는 서열이 초가변적이고/거나 구조적으로 규정된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR; VH 내에 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내에 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. 천연 항체에서, H3 및 L3은 6개의 HVR 중에서 가장 높은 다양성을 나타내고, 특히 H3은 항체에 정밀한 특이성을 부여하는데 특유의 역할을 수행한다고 여겨진다. 예를 들어, 문헌 [Xu et al., Immunity 13:37-45 (2000)]; [Johnson and Wu, in Methods in Molecular Biology 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)]을 참조한다. 실제로, 중쇄만으로 이루어진 자연 발생 낙타류 항체는 경쇄의 부재하에 기능적이고 안정하다. 예를 들어, 문헌 [Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993)]; [Sheriff et al., Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996)]을 참조한다.

[0079] 많은 HVR 설명이 사용되고 있고 본원에 포함된다. 카바트(Kabat) 상보성 결정 영역 (CDR)은 서열 가변성을 기초로 하며, 가장 흔히 사용된다 (문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]). 대신, 코티아 (Chothia)는 구조적 루프의 위치를 지칭한다 (문헌 [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)]). AbM HVR은 카바트 HVR과 코티아 구조적 루프 사이의 절충안을 나타내고, 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다. "접촉" HVR은 이용가능한 복합 결정 구조의 분석을 기초로 한다. 이들 각각의 HVR로부터의 잔기를 이하에 나타낸다.

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

[0080]

[0081] HVR은 다음과 같이 "확장된 HVR"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34 (L1), 46-56 또는 50-56 (L2) 및 89-97 또는 89-96 (L3) 및 VH에서 26-35 (H1), 50-65 또는 49-65 (H2) 및 93-102, 94-102, 또는 95-102 (H3). 가변 도메인 잔기는 각각의 상기 정의에 대해 문헌 [Kabat et al., 상기 문헌]에 따라 넘버링된다.

[0082] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에 정의된 바와 같은 HVR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

- [0083] 용어 "카바트에서와 같은 가변 도메인 잔기 넘버링" 또는 "카바트에서와 같은 아미노산 위치 넘버링" 및 이들의 변형은 문헌 [Kabat et al., 상기 문헌]에서 항체 캄필레이션의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 사용된 넘버링 시스템을 지칭한다. 이 넘버링 시스템을 사용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축 또는 이들로의 삽입에 상응하는 보다 적은 또는 추가의 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52 후에 단일 아미노산 삽입 (카바트에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 후에 삽입된 잔기 (예를 들어, 카바트에 따른 잔기 82a, 82b 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 카바트 넘버링은 항체 서열의 상동성 영역에서 "표준" 카바트 넘버링 서열과 정렬함으로써 주어진 항체에 대하여 결정할 수 있다.
- [0084] 카바트 넘버링 시스템은 일반적으로 가변 도메인 내의 잔기 (대략 경쇄의 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113)를 지칭할 때 사용된다 (예를 들어, 문헌 [Kabat et al., 상기 문헌]). "EU 넘버링 시스템" 또는 "EU 지수"는 일반적으로 이뮤노글로불린 중쇄 불변 영역 내의 잔기를 지칭할 때 사용된다 (예를 들어, 문헌 [Kabat et al., 상기 문헌]에 보고된 EU 지수). "카바트에서와 같은 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다. 본원에서 달리 언급되지 않는 한, 항체 가변 도메인 내의 잔기 번호에 대한 언급은 카바트 넘버링 시스템에 의한 잔기 넘버링을 의미한다. 본원에서 달리 언급되지 않는 한, 항체의 불변 도메인 내의 잔기 번호에 대한 언급은 EU 넘버링 시스템에 의한 잔기 넘버링을 의미한다 (예를 들어, 미국 특허 출원 공보 US 2008/0181888 A1의 EU 넘버링에 대한 도면 참조).
- [0085] "친화도 성숙" 항체는 변경(들)을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시키는 하나 이상의 HVR에 하나 이상의 변경을 갖는 항체이다. 한 실시양태에서, 친화도 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰의 친화도를 갖는다. 친화도 성숙 항체는 당업계에서 공지된 특정 절차를 이용하여 생성할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)]은 VH 및 VL 도메인 서플링에 의한 친화도 성숙을 기재하고 있다. HVR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은, 예를 들어 문헌 [Barbas et al., Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994)]; [Schier et al., Gene 169:147-155 (1995)]; [Yelton et al., J. Immunol. 155:1994-2004 (1995)]; [Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995)]; 및 [Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)]에 기재되어 있다.
- [0086] 항체 "이펙터 기능"은 항체의 Fc 영역 (천연 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인하는 생물학적 활성을 지칭하고, 항체 이소형에 따라 달라진다. 항체 이펙터 기능의 예에는 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 활성화가 포함된다.
- [0087] "결합 친화도"는 일반적으로 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총 합의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원들 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내재적 결합 친화도를 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화도는 일반적으로 해리 상수 (Kd)로 표시될 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 방법을 비롯한 당업계에 공지된 통상의 방법으로 측정할 수 있다. 저친화도 항체는 일반적으로 항원과 서서히 결합하고 쉽게 해리되는 경향이 있는 반면, 고친화도 항체는 일반적으로 항원과 보다 신속하게 결합하고 보다 오랫동안 결합된 상태를 유지하는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있고, 본 발명의 목적상, 이들 중 임의의 방법이 사용될 수 있다. 결합 친화도 측정을 위한 특정의 설명적이고 예시적인 실시양태를 아래에 기재한다.
- [0088] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 "Kd" 또는 "Kd 값"은 하기 검정에서 설명되는 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 (¹²⁵I)-표지된 항원의 최소 농도로 Fab를 평형화한 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 (써모 사이언티픽(Thermo Scientific))를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중의 5 μg/ml의 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스(Cappel Labs))로 밤새 코팅한 후, PBS 중의 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 2 내지 5시간 동안 실온 (약 23°C)에서 차단하였다. 비흡착 플레이트 (넉크(Nunc) #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [¹²⁵I]-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 시간 (예를 들어, 약 65시간) 동안 계속 인큐베이션할 수 있다. 그 후, 혼합물을 실온에서의 인큐베이션 (예를 들어, 1시간 동안)을 위해 포획 플레이트로 옮긴다. 이어서, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중의 0.1% 트윈-20(TWEEN-20)TM으로 8회 세척하였다. 플레이트를 건조시킬 때, 150 μ l/웰의 섬광제 (마이크로신티-20(MICROSCINT-20)TM; 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탑카운트(TOPCOUNT)TM 감마 계수기 (팩커드)로 10분 동안 계수한다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도를 선택하여 경쟁적 결합 점정에 사용한다.

[0089] 또 다른 실시양태에 따르면, Kd 또는 Kd 값은 약 10의 반응 단위 (RU)로 고정된 항원 CM5 칩을 사용하여 25°C에서 비아코어(BIACORE)[®]-2000 또는 비아코어[®]-3000 (비아코어, 인크. (BIAcore, Inc., 뉴저지주 피스카타웨이 소재))를 사용하는 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용하여 측정한다. 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 μ g/mL (약 0.2 μ M)로 희석한 후에 커플링된 단백질 대략 10 반응 단위 (RU)가 달성되도록 5 μ l/분의 유속으로 주입한다. 항원 주입 후, 미반응 기를 차단하기 위해 1 M 에탄올아민을 주입한다. 역학 측정을 위해, Fab의 2배 연속 희석물 (0.78 nM 내지 500 nM)을 약 25 μ l/분의 유속으로 25°C에서 0.05% 트윈-20TM 계면활성제를 함유하는 PBS (PBST) 내에 주입한다. 간단한 일-대-일 랑뮈르 결합 모델 (비아코어[®] 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 이용하여 회합 및 해리 센서그램을 동시에 피팅시켜 회합 속도 (k_{on}) 및 해리 속도 (k_{off})를 계산한다. 평형 해리 상수 (Kd)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 $10^6 M^{-1}s^{-1}$ 를 초과하는 경우, 온-레이트는 분광측정계, 예컨대 정지 유동 설치 분광광도계 (아비브 인스트루먼트(Aviv Instruments)) 또는 교반 큐벳이 장착된 8000-시리즈 SLM-아민코(AMINCO)TM 분광광도계 (써모스펙트로닉(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 쉐핑 기술을 이용하여 결정할 수 있다.

[0090] 본 발명에 따른 "온-레이트", "회합의 속도", "회합 속도" 또는 " k_{on} "은 또한 비아코어[®]-2000 또는 비아코어[®]-3000 시스템 (비아코어, 인크., 뉴저지주 피스카타웨이 소재)을 사용하여 상기한 바와 같이 결정할 수 있다.

[0091] "장애"는 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하는 치료가 유익할 수 있는 임의의 상태 또는 질환이다. 이것은 포유동물이 당해 장애에 걸리기 쉽게 하는 병리학적 상태를 비롯한 만성 및 급성 장애를 포함한다. 본원에서 치료하고자 하는 장애의 비제한적인 예에는 암과 같은 상태가 포함된다.

[0092] 용어 "세포 증식성 장애" 및 "증식성 장애"는 어느 정도의 비정상적인 세포 증식과 관련이 있는 장애를 지칭한다. 한 실시양태에서, 세포 증식성 장애는 암이다.

[0093] 본원에 사용된 "종양"은 악성이든 또는 양성이든 모든 신생물성 세포 성장 및 증식 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암", "암성", "세포 증식성 장애", "증식성 장애" 및 "종양"은 본원에 언급된 바와 같이 상호 배타적이지 않다.

[0094] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 조절되지 않은 세포 성장/증식을 특징으로 하는 포유동물의 생리적 상태를 지칭하거나 기재한다. 암의 예에는 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 이같은 암의 보다 특정한 예로는 편평세포암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평세포 암종, 복막암, 간세포성 암, 위장암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 위암, 흑색종 및 다양한 유형의 두경부암이 포함된다. 혈관신생의 조절이상은 본 발명의 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 여러 장애를 유발할 수 있다. 이러한 장애에는 비신생물성 및 신생물성 상태 둘 모두가 포함된다. 신생물성에는 상기 기술된 것들이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 비신생물성 장애에는 바람직하지 않거나 비정상적인 비대증, 관절염, 류마티스 관절염 (RA), 건선, 판상 건선, 사르코이드증, 아테롬성동맥경화증, 아테롬성동맥경화판, 당뇨병 및 미숙아 망막병증을 비롯한 다른 증식성 망막병증, 수정체후 섬유증식증, 신생혈관 녹내장, 연령-관련 황반 변성, 당뇨병성 황반 부종, 각막 신생혈관형성, 각막 이식 신생혈관형성, 각막 이식 거부, 망막/맥락막 신생혈관형성, 전방각 신생혈관형성 (피부홍조), 안구 신생혈관 질환, 혈관 재협착, 동정맥 기형 (AVM), 수막종, 혈관종, 혈관섬유종, 갑상선 증식증 (그레이브스병 포

함), 각막 및 기타 조직 이식, 만성 염증, 폐 염증, 급성 폐 손상/ARDS, 폐혈증, 원발성 폐고혈압, 악성 폐 삼출, 뇌 부종 (예를 들어, 급성 발작/폐쇄성 두부 손상/외상과 관련된 부종), 활막 염증, RA에서의 판누스 형성, 골화성 근염, 비후성 골 형성, 골관절염 (OA), 난치성 복수, 다낭성 난소 질환, 자궁내막증, 제3 유체 공간형성 질환 (채장염, 구획 증후군, 화상, 장 질환), 자궁 근종, 조기 분만, 만성 염증, 예컨대 IBD (크론병 및 궤양성 결장염), 신장 동종이식편 거부, 염증성 장 질환, 신증후군, 바람직하지 않거나 비정상적인 조직 덩어리 성장 (비-암), 혈우병성 관절, 비후성 반흔, 모발 성장 억제, 오슬러-웨버(Osler-Weber) 증후군, 화농성 육아종, 수정체후 섬유증식증, 경피증, 트라코마, 혈관 부착, 활막염, 피부염, 전자간증, 복수, 심낭 삼출 (예컨대 심막염과 관련된 삼출) 및 흉막 삼출이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0095] 용어 "백혈병"은 조혈 조직, 다른 기관 및 종종 혈액에서 백혈구 (류코사이트)의 수의 비정상적 증가를 특징으로 하는 급성 또는 만성 질환을 지칭한다. 백혈병에는 T 계통 급성 림프모구성 백혈병 (T-ALL) 뿐만 아니라 다른 림프구성 백혈병을 비롯한 급성 림프모구성 백혈병 (ALL); 성인 T-세포 백혈병/림프종; 만성 골수성 (골수원성) 백혈병 (CML), 급성 골수성 (골수원성) 백혈병 (AML) 및 다른 과립구 백혈병; 및 계통 전환 백혈병이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0096] 용어 "T-세포 백혈병"은 T 계통 림프모구 또는 T 림프구의 수에서의 비정상적 증가를 특징으로 하는 백혈병을 지칭한다.

[0097] 용어 "T-세포 전구세포 백혈병"은 T 계통 림프모구의 수에서의 비정상적 증가를 특징으로 하는 백혈병을 지칭한다.

[0098] "GSI-반응성 암"은 감마 세크레타제 억제제에 반응하거나, 또는 감마 세크레타제 억제제로 치료를 받은 경우 그러한 억제제에 반응할 암 (예컨대 백혈병)이다.

[0099] 치료제에 "반응하는" 암은 (1) 종양 성장의 어느 정도까지의 억제, 예를 들어 저속화 및 완전한 성장 정지, (2) 암 또는 종양 세포의 수 감소, (3) 종양 크기의 감소, (4) 인접한 말초 기관 및/또는 조직으로의 종양 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 저속화 또는 완전한 정지), 및/또는 (5) 전이의 억제 (즉, 감소, 저속화 또는 완전한 정지)를 포함하지만 이들로 한정되는 것은 아닌, 암 또는 종양 진행에서의 유의한 감소를 나타내는 것이다.

[0100] "Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는" 암은 (임의의 다른 Notch 길항제, 즉 Notch2, Notch3 또는 Notch4 길항제의 부재하에서) Notch1-특이적 길항제로의 치료에 반응하지 않거나, 또는 치료가 제공된 경우에 그러한 치료에 반응하지 않을 암이다.

[0101] 본원에 사용된 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 변형 형태)는 치료할 개체 또는 세포의 자연적 과정을 변경시키려는 시도의 임상적 개입을 지칭하고, 예방을 위해 또는 임상 병리학 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발 방지, 증상의 호전, 질환의 임의의 직접 또는 간접적인 병리적 결과의 축소, 전이의 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 호전 또는 완화 및 차도 또는 개선된 예후를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 질환 또는 장애의 발생을 지연시키거나 질환 또는 장애의 진행을 지연시키는데 사용된다.

[0102] "개체", "대상체" 또는 "환자"는 척추동물이다. 특정 실시양태에서, 척추동물은 포유동물이다. 포유동물에는 가축 (예컨대 소), 경주용 동물, 애완동물 (예컨대 고양이, 개 및 말), 영장류, 마우스 및 래트가 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 특정 실시양태에서, 포유동물은 인간이다.

[0103] 용어 "제약 제제"는, 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 하는 형태로 존재하며 제제가 투여될 대상체에 허용될 수 없게 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다. 이러한 제제는 멸균될 수 있다.

[0104] "유효량"은 목적하는 치료 또는 예방 결과 달성에 필요한 투여량에서 이러한 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0105] II. 발명의 실시양태

[0106] 본 발명은, 부분적으로는, 상이한 부류의 T-ALL의 특성화에 관한 것이다. 한 부류의 T-ALL은 범-Notch 억제제인 GSI로의 치료에 감수성이며, 또한 Notch1-특이적 길항제로의 치료에 감수성인데, 이는 Notch1이 특히 이러한 부류의 T-ALL을 추진시킴을 나타낸다. 또 다른 부류의 T-ALL은 GSI로의 치료에는 감수성이지만, Notch1-특이적 길항제로의 치료에는 비감수성인데 (즉, 저항성인데), 이는 대안적인 또는 부가적인 Notch 수용체가 이러한 부류의 T-ALL을 추진시킬 수 있음을 나타낸다. 본원에 나타낸 바와 같이, 본 발명자들은 이러한 후자의 부류의 T-ALL이 Notch3-특이적 길항제로의 치료에 부분적으로 감수성이며, Notch1-특이적 길항제 및 Notch3-특이적 길

항제의 조합물에 대해서는 훨씬 더 감수성임을 발견하였다. 이러한 결과는 백혈병, 특히 T-ALL과 같은 T-세포 및 T-세포 전구세포 백혈병에서 Notch1 및 Notch3 둘 모두의 역할을 시사한다.

- [0107] A. 치료 방법
- [0108] 1. Notch3-특이적 길항제를 단독으로 또는 Notch1-특이적 길항제와 조합하여 사용한 암의 치료
- [0109] 본 발명의 다양한 측면에서 GSI-반응성 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 GSI-반응성 암 환자에게 유효량의 Notch3-특이적 길항제를 투여하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, GSI-반응성 암은 백혈병이다. 특정 실시양태에서, GSI-반응성 암은 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는다 (예를 들어 상기 암은 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3을 갖고/갖거나, 상기 암은 존재하지 않거나 감소된 수준의 활성화된 Notch1을 가짐). 추가 실시양태에서, 상기 방법은 유효량의 Notch1-특이적 길항제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 본 발명의 이러한 측면 및 추가 측면을 이하에서 기재한다.
- [0110] 본 발명의 특정 측면에서 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 GSI-반응성 백혈병을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 그러한 백혈병을 갖는 환자에게 유효량의 Notch3-특이적 길항제를 투여하는 것을 포함한다.
- [0111] GSI-반응성 백혈병은 다양한 방법으로 확인할 수 있다. 예를 들어, 백혈병을 가진 환자를 GSI로 치료하여 백혈병이 GSI-반응성인지 아닌지의 여부를 결정할 수 있다. 이러한 GSI는 Notch 수용체를 유의하게 억제하는 임의의 GSI를 포함할 수 있다. 이러한 GSI에는 N-[N-(3,5-디플루오로페닐아세틸)-L-알라닌]-S-페닐글리신 t-부틸 에스테르 (DAPT); 디벤즈아제핀; MK-0752 (머크(Merck)); 트리키프티드 z-Leu-Leu-Nle-CHO (문헌 [Curry et al., Oncogene 24:6333-6344]); 및 cbz-IL-CHO (문헌 [Weijzen et al., Nat. Med. 8:979-986, 2002])가 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 그러나, 백혈병을 가진 환자는 백혈병이 GSI-반응성인지의 여부를 결정하기 위해 GSI로 치료받을 필요가 없음에 주목한다. 다른 방법을 활용할 수 있다. 예를 들어, 환자로부터 떼어낸 백혈병 세포에 대해 GSI, 예컨대 상기 열거된 것 중 어느 하나의 존재하에서의 세포 증식 또는 생존을 평가할 수 있다. 추가 실시예에서, 환자로부터 떼어낸 백혈병 세포에 대해 하나 이상의 Notch 수용체에 의해 증가된 Notch 신호전달을 조사할 수 있고, 이는 세포가 GSI-반응성임을 예측가능하게 할 것이다. 예를 들어, 세포에 대해 돌연변이되거나, 과다발현되거나, 또는 활성화된 Notch 수용체의 존재를 평가할 수 있다. 상기한 것과 유사한 방법을 이용하여 임의의 암이 GSI-반응성인지의 여부를 결정할 수 있다.
- [0112] 백혈병 (예를 들어, GSI-반응성 백혈병)은 다양한 방법에 의해 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것으로 확인될 수 있다. 예를 들어, 백혈병을 가진 환자를 Notch1-특이적 길항제로 치료하여 백혈병이 Notch1-특이적 길항제에 반응하는지 또는 반응하지 않는지의 여부를 결정할 수 있다. 특정 실시양태에서, 백혈병이 반응하지 않는 Notch1-특이적 길항제는 항-Notch1 길항제 항체이다. 한 이러한 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 Notch1의 세포외 도메인에 결합하고 감소된 Notch1 신호전달을 야기하는 항체이다. 한 이러한 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 항-Notch1 NRR 항체이다. 항-Notch1 NRR 항체에는 본원에 그 전문이 명백하게 참고로 포함되는 미국 출원 공보 번호 US 2009/0081238 A1에 개시되어 있는 임의의 항-Notch1 NRR 항체가 포함되지만, 이것으로 한정되는 것은 아니다. 이러한 항체에는 0.1 μ M 이하의 친화도로 Notch1 NRR에 결합하는 항-Notch1 NRR 항체; Notch1 NRR의 LNR-A, LNR-B 및 HD-C에 결합하는 항-Notch1 NRR 항체; 또는 상기한 것의 조합이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 예시적인 항-Notch1 NRR 항체에는 US 2009/0081238 A1에 기재되어 있는 항체 A, A-1, A-2 및 A-3, 또는 항체 A, A-1, A-2 및 A-3으로부터 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 항체가 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 이러한 또 다른 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 Notch1의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch1 항체이다. 이러한 항체의 예는 국제 공보 번호 WO 2008/091641에 기재되어 있다. 특정 실시양태에서, Notch1의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch1 항체는 Notch1에 대한 리간드의 결합을 유의하게 차단함으로써 감소된 Notch1 신호전달을 야기한다.
- [0113] 그러나, 백혈병을 가진 환자는 백혈병이 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것인지를 여부를 결정하기 위해 Notch1-특이적 길항제로 치료받을 필요는 없음에 주목한다. 다른 방법을 활용할 수 있다. 예를 들어, 환자로부터 떼어낸 백혈병 세포에 대해 존재하지 않거나 감소된 Notch1 활성화를 평가할 수 있거나, 또는 특정 실시양태에서는 야생형 Notch1의 존재를 평가할 수 있는데, 이는 백혈병이 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것으로 예측가능하게 할 것이다. 예를 들어, 존재하지 않거나 감소된 Notch1 표적 유전자, 예컨대 Hey1 및 Hey2의 전사를 평가함으로써 세포에 대해 존재하지 않거나 감소된 Notch1 신호전달을 평가할 수 있다. 추가 실시예에서, 예를 들어 항-활성 Notch1 Val1744 (셀 시그널링 테크놀로지스(Cell Signaling Technologies)로부터 상업적으로 입수가능함)와 같은 활성화된 Notch1에 특이적인 항체를 사용하여 존재하지 않거나 감소된 수준의

Notch1의 활성화된 형태를 검출함으로써, 세포에 대해 존재하지 않거나 감소된 Notch1 신호전달을 평가할 수 있다. 특정 실시양태에서, 적합한 비교 세포 (양성 대조군)는 Notch1-특이적 길항제에 반응하는 백혈병 세포, 예를 들어 Notch1 경로가 활성화된 백혈병 세포일 수 있다. 이러한 비교 세포에는, 예를 들어 Notch1이 과다발현되거나, 돌연변이되거나 (예를 들어, Notch1 활성화 돌연변이를 가지거나) 또는 활성화된 (예를 들어, 구성적으로 활성화된) 것으로 공지되어 있는 T-ALL 세포, 예컨대 HPB-ALL 세포가 포함될 수 있다. 환자로부터 떼어낸 백혈병 세포가 비교 세포와 비교하여 존재하지 않거나 유의하게 감소된 수준의 활성화된 Notch1을 갖는 경우, 환자의 백혈병은 아마도 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것일 것이다.

[0114] 백혈병 세포에 대해 또한 Notch3의 활성화를 평가할 수 있으며, Notch3의 활성화는 Notch3 경로가 활성화되어 있으며 따라서 백혈병이 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것으로 예측됨을 나타낸다. 한 실시양태에서, 백혈병 세포에 대해 과다발현되거나, 돌연변이되거나 또는 활성화된 Notch3의 존재를 조사할 수 있다. 특정 실시양태에서, Notch3 활성화 상태를 평가하는데 적합한 비교 세포 (음성 대조군)은 Notch1-특이적 길항제에 반응하는 백혈병 세포, 예를 들어 Notch1 경로가 활성화된 백혈병 세포일 수 있다. 이러한 비교 세포에는, 예를 들어 Notch1이 과다발현되거나, 돌연변이되거나 또는 활성화된 것으로 공지되어 있는 T-ALL 세포, 예컨대 HPB-ALL 세포가 포함될 수 있다. 이러한 세포에서, Notch3은 유의하게 활성화될 것으로 예상되지 않는다. 따라서, 환자로부터 떼어낸 백혈병 세포가 비교 세포와 비교하여 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3을 갖는 경우, 환자의 백혈병은 아마도 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것일 것이다. 다른 특정 실시양태에서, 적합한 비교 세포 (양성 대조군)는 Notch3이 과다발현되거나, 돌연변이되거나 또는 활성화된 백혈병 세포, 예컨대 TALL-1 세포일 수 있다. 이러한 세포에서, Notch3은 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3을 가질 것으로 예상된다. 따라서, 환자로부터 떼어낸 백혈병 세포가 비교 세포와 비교하여 비슷한 수준의 활성화된 Notch3을 갖는 경우, 환자의 백혈병은 아마도 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것일 것이다. 상기한 것과 유사한 방법을 이용하여 임의의 암이 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 것인지의 여부를 결정할 수 있다.

[0115] Notch3 활성화 상태를 평가하는데 유용한 도구는 활성화된 Notch3 ICD에 결합하는, 실시예에 기재되어 있는 신규 항-Notch3 ICD 항체이다.

[0116] 특정 실시양태에서, 투여되는 Notch3-특이적 길항제는 항-Notch3 길항제 항체이다. 한 이러한 실시양태에서, 항-Notch3 길항제 항체는 Notch3의 세포외 도메인에 결합하고 감소된 Notch3 신호전달을 야기하는 항체이다. 한 이러한 실시양태에서, 항-Notch3 길항제 항체는 항-Notch3 NRR 항체이다. 항-Notch3 NRR 항체에는 본원에 그 전문이 명백하게 참고로 포함되는 미국 특허 출원 공보 번호 US 2008/0226621 A1에 개시되어 있는 임의의 항-Notch3 NRR 항체가 포함되지만, 이것으로 한정되는 것은 아니다. 이러한 항체에는 Notch3 NRR의 LNR-A 및 HD-C 도메인에 결합하는 항-Notch3 NRR 항체가 포함되지만, 이것으로 한정되는 것은 아니다. 예시적인 항-Notch3 NRR 항체는 US 2008/0226621 A1에 기재되어 있는 모노클로날 항체 256A-4 및 256A-8 및 그의 인간화 형태, 뿐만 아니라 항체 256A-4 또는 256A-8의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 항-Notch3 NRR 항체이다. 이러한 또 다른 실시양태에서, 항-Notch3 길항제 항체는 Notch3의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch3 항체이다. 이러한 항체의 예는 문헌 [Li et al., J. Biol. Chem. 283:8046-8054, 2008]에 기재되어 있다. 특정 실시양태에서, Notch3의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch3 항체는 Notch3에 대한 리간드의 결합을 유의하게 차단함으로써 감소된 Notch3 신호전달을 야기한다.

[0117] 특정 실시양태에서, 백혈병은 T-세포 백혈병이다. 특정의 이러한 실시양태에서, T-세포 백혈병은 T-세포 전구 세포 백혈병이다. 특정의 이러한 실시양태에서, T-세포 전구세포 백혈병은 T-ALL이다.

[0118] 추가 실시양태에서, Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 GSI-반응성 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 GSI-반응성 암에 걸린 환자에게 유효량의 Notch3-특이적 길항제를 투여하는 것을 포함하고, 상기 환자에게 유효량의 Notch1-특이적 길항제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, GSI-반응성 암은 GSI-반응성 백혈병이다. 특정 실시양태에서, 투여되는 Notch1-특이적 길항제는 항-Notch1 길항제 항체이다. 한 이러한 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 Notch1의 세포외 도메인에 결합하고 감소된 Notch1 신호전달을 야기하는 항체이다. 한 이러한 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 항-Notch1 NRR 항체이다. 항-Notch1 NRR 항체에는, 본원에 그 전문이 분명하게 참고로 포함되는 미국 출원 공보 번호 US 2009/0081238 A1에 개시되어 있는 임의의 항-Notch1 NRR 항체가 포함되지만, 이것으로 한정되는 것은 아니다. 이러한 항체에는 0.1 μM 이하의 친화도로 Notch1 NRR에 결합하는 항-Notch1 NRR 항체; Notch1 NRR의 LNR-A, LNR-B 및 HD-C에 결합하는 항-Notch1 NRR 항체; 또는 상기한 것의 조합이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 예시적인 항-Notch1 NRR 항체에는 US 2009/0081238 A1에 기재되어 있는 항체 A, A-1, A-2 및 A-3, 또는 항체 A, A-1, A-2 및 A-3으로부터 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 항체

가 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 이러한 또 다른 실시양태에서, 항-Notch1 길항제 항체는 Notch1의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch1 항체이다. 이러한 항체의 예는 국제 공보 번호 WO 2008/091641에 기재되어 있다. 특정 실시양태에서, Notch1의 하나 이상의 EGF-유사 반복부에 결합하는 항-Notch1 항체는 Notch1에 대한 리간드의 결합을 유의하게 차단함으로써 감소된 Notch1 신호전달을 야기한다.

[0119]

2. Notch1-특이적 길항제로의 백혈병의 치료

[0120]

본 발명의 추가 측면은, 부분적으로는, GSI에 반응성이며 또한 Notch1-특이적 길항제에도 반응성이지만 Notch3-특이적 길항제에는 반응성이 낮은 한 부류의 T-ALL의 확인에 기초하며, 이는 Notch1이 T-ALL을 추진시킴을 나타낸다. 본 발명의 다양한 측면에서, GSI-반응성 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 GSI-반응성 암에 걸린 환자에게 유효량의 Notch1-특이적 길항제를 투여하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, GSI-반응성 암은 백혈병이다. 특정 실시양태에서, GSI-반응성 암은 Notch3-특이적 길항제에 반응하지 않는다 (예를 들어, 암은 (예를 들어, Notch3-특이적 길항제에 반응하는 비교 세포와 비교하여) 존재하지 않거나 감소된 수준의 활성화된 Notch3을 갖고/거나 (예를 들어, Notch1-특이적 길항제에 반응하지 않는 비교 세포와 비교하여) 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch1을 가짐).

[0121]

특정 실시양태에서, 백혈병은 GSI에 대한 감수성 및 Notch1-특이적 길항제에 대한 감수성을 특징으로 하는 한 부류의 백혈병에 속한다. 한 실시양태에서, 백혈병은 T-세포 백혈병이다. 한 이러한 실시양태에서, T-세포 백혈병은 T-세포 전구세포 백혈병이다. 한 이러한 실시양태에서, T-세포 백혈병은 T-ALL이다. 또 다른 실시양태에서, 백혈병은 Notch1 활성화 돌연변이를 특징으로 한다.

[0122]

특정 실시양태에서, Notch1-특이적 길항제는 상기에서 제공된 임의의 것이다. 추가 실시양태에서, Notch3-특이적 길항제는 상기에서 제공된 것 중 임의의 것이다.

[0123]

B. 조성물 및 진단 방법

[0124]

본 발명은 추가로, 활성화된 인간 Notch3 ICD에 결합하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 펩티드 서열 VMVARRKREHSTLW (서열 4)에 결합한다. 한 실시양태에서, 항체는 모노클로날이다. 한 실시양태에서, 항체는 폴리클로날이다. 상기 실시양태는 단독으로 또는 조합되어 존재할 수 있다.

[0125]

이러한 항체는, 예를 들어 상기 기재된 바와 같은 Notch3-특이적 길항제로의 치료에 적합한 환자 집단을 확인하기 위한 진단 방법에 유용하다. 따라서, 특정 실시양태에서, Notch3 길항제로의 치료에 적합한 암을 확인하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 Notch3이 암에서 활성화되었는지의 여부를 결정하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 암은 GSI-반응성 암이다. 또 다른 실시양태에서, 암은 백혈병이다. 또 다른 실시양태에서, 백혈병은 T-세포 백혈병이다. 한 이러한 실시양태에서, T-세포 백혈병은 T-세포 전구세포 백혈병이다. 한 이러한 실시양태에서, T-세포 백혈병은 T-ALL이다.

[0126]

추가 실시양태에서, Notch3이 암에서 활성화되었는지의 여부를 결정하는 것은 암 샘플을 활성화된 Notch3 ICD에 결합하는 항체와 접촉시키고, 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3 (활성화된 Notch3 ICD의 수준에 의해 반영됨)이 존재하는지의 여부를 결정하는 것을 포함하며, 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3의 존재는 암이 Notch3 길항제로의 치료에 적합함을 나타낸다. 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3이 샘플에 존재하는지의 여부를 결정하기 위한 적절한 비교물 (양성 대조군)은, 예를 들어 Notch3 길항제에 반응하는 것으로 공지되어 있는 암으로부터의 샘플일 수 있다. "시험" 샘플 및 "대조군" 샘플이 비슷한 수준의 활성화된 Notch3을 함유하는 경우, "시험" 샘플이 수득된 암은 Notch3 길항제로의 치료에 적합하다. 또 다른 적절한 비교물 (음성 대조군)은, 예를 들어 Notch3 길항제에 반응하지 않는 암으로부터의 샘플일 수 있다. "시험" 샘플이 대조군 샘플과 비교하여 유의하게 증가된 수준의 활성화된 Notch3을 함유하는 경우, "시험" 샘플이 수득된 암은 Notch3 길항제로의 치료에 적합하다.

[0127]

상기 방법의 특정 실시양태에서, Notch3 길항제는 Notch3-특이적 길항제이다. 특정 실시양태에서, Notch3-특이적 길항제는 상기 논의된 것 중 임의의 것이다.

[0128]

III. 실시예

[0129]

A. T-ALL는 3종의 부류로 나뉜다

[0130]

중전의 연구들은 T-ALL 세포주가 GSI로의 치료에 감수성이거나 비감수성일 수 있음을 보여주었다. 예를 들어, 특정 T-ALL 세포주는 활성화 Notch1 돌연변이의 발현에 불구하고 GSI에 저항성인데, 이는 아마도 비-Notch 경로, 예를 들어 Notch를 필요로 하지 않는 경로의 활성화로 인한 것일 것이다. (예를 들어, 문헌 [Palomero

et al., Nat. Med. 13:1203-1210, 2007] 참조). 그러나, 한 연구에서, 30종의 T-ALL 세포주 중 5종은 GSI에 반응하여 세포 주기 정지를 나타내는 GSI 감수성이었다. (문헌 [Weng et al., Science, 306:269-271, 2004] 참조). 이하에 보고된 연구들은 GSI 뿐만 아니라 Notch1 및 Notch3-특이적 길항제에 대한 T-ALL 세포주의 반응을 추가로 연구한 것이다.

[0131] 3종의 부류의 T-ALL은 GSI 및 Notch1-특이적 길항제에 대한 그의 감수성에 기초하여 특성화되었다. 이하의 연구에 사용된 Notch1-특이적 길항제는 항-Notch1 NRR 항체, "항체 A-2"였고, 그의 단리 및 특성화는 미국 특허 출원 공보 번호 US 2009/0081238 A1에 논의되어 있다. 편의상, "항체 A-2"는 본원에서 "항-NRR1"로 지칭되며, 또한 도면에서 "α-Notch1," "αNotch1," 또는 "α-N1"로도 지칭된다.

[0132] 도 3-5는 3종의 대표적인 인간 T-ALL 세포주의 분류를 나타낸다. 이들 세포주에는 P-12 이치까와 세포주, HPB-ALL 세포주 및 TALL-1 세포주가 포함된다. 세포를 대조군 조건하 (DMSO 단독 (DAPT에 대한 비히클) 또는 항-gD (이소형 대조군 항체)); 감마 세크레타제 억제제, DAPT (5 μM)의 존재하; 또는 항-NRR1 (5 μg/ml)의 존재하에서 8일 동안 성장시켰다. 세포를 고정시키고, 프로피듐 아이오다이드로 염색하고, FACS를 위한 준비를 하여, 표준 절차에 따라 세포 주기 상태를 분석하였다. 주어진 처리가 G0/G1에서의 세포 백분율의 증가 및 S/G2/M에서의 세포 백분율의 상응하는 감소를 유발하는지의 여부를 결정하여 성장 감수성을 평가하였다. 결과는 P-12 이치까와 세포가 DAPT 및 항-NRR1 둘 모두에 저항성이며 (도 3a-3d), DAPT-처리된 세포, 항-NRR1-처리된 세포 및 대조군 (DMSO- 및 항-gD-처리된) 세포 사이에 세포 주기 상태에서의 어떤 유의한 차이도 없음을 보여주었다. HPB-ALL 세포는 DAPT 및 항-NRR1 둘 모두에 대해 감수성이었고 (도 4a-4d), DAPT- 및 항-NRR1-처리된 세포는 G0/G1에서 대조군 세포가 약 33-34%인데 비해, 각각 약 78% 및 76%의 세포를 나타내었다. TALL-1 세포는 DAPT에 대해서는 감수성이었지만 항-NRR1에 대해서는 저항성이었고 (도 5a-5d), G0/G1에서 항-NRR1-처리된 세포가 약 55% 및 대조군 세포가 약 53-54%인데 비해, DAPT-처리된 세포는 약 87%였다. Notch1은 TALL-1 세포에서 돌연변이되지 않았음에 주목한다. 추가의 연구로 제4의 세포주, CCRF-CEM이 P-12 이치까와 세포와 동일한 부류에 속함이 밝혀졌다 (즉, GSI 및 항-NRR1 둘 모두에 대해 저항성임). (데이터는 나타내지 않음, 도 10).

[0133] 도 6에 나타낸 바와 같이, 세포 크기 측정치는 이들 3종의 부류의 T-ALL을 반영한다. P-12 이치까와 세포주, HPB-ALL 세포주 및 TALL-1 세포주를 대조군 조건하 (DMSO 단독 (DAPT에 대한 비히클) 또는 항-gD (이소형 대조군 항체)); 감마 세크레타제 억제제, DAPT (5 μM)의 존재하; 또는 항-NRR1 (5 μg/ml)의 존재하에서 대략 1주 동안 성장시켰다. 세포 계수기 (비-셀(Vi-Cell), 벡만 쿨터(Beckman Coulter))를 이용하여 세포 직경을 측정하였다. 성장 억제 연구와 일치하게, P-12 이치까와 세포주는 DAPT 및 항-NRR1 둘 모두에 저항성이었고, 이는 처리된 세포 및 대조군 세포 사이의 비교적 일관된 세포 직경으로 나타났다. HPB-ALL은 DAPT 및 항-NRR1 둘 모두에 감수성이었고, 이는 상기 작용제로 각각 처리된 세포의 유의하게 보다 작은 크기로 나타났다. TALL-1은 DAPT에는 감수성이었지만 항-NRR1에는 저항성이었고, 이는 항-NRR1 또는 대조군 작용제에 의해서는 그렇지 않지만 DAPT로 처리된 세포의 유의하게 보다 작은 크기로 나타났다. 이러한 결과는 상기 기재된 성장 연구와 일치하였다.

[0134] 도 7에 나타낸 바와 같이, 아포토시스 측정치는 또한 이들 3종의 부류의 T-ALL을 반영한다. P-12 이치까와 세포주, HPB-ALL 세포주 및 TALL-1 세포주를 도 6에 대해 상기 기재된 것과 같이 처리하였다. 세포를 도 7의 x 축 상의 7-AAD (세포 사멸 마커)로 염색하고, 도 7의 y 축 상의 아넥신 V (아포토시스에 대한 마커)로 염색하여 FACS로 분석하였다. 이중 양성 집단에서의 세포의 백분율에 기초하면, DAPT 또는 항-NRR1에 의한 처리는 HPB-ALL 세포에서 아포토시스성 세포 사멸을 증가시켰다. 대조적으로, P-12 이치까와 세포는 처리 둘 모두에 대해 저항성인 반면, TALL-1 세포는 DAPT에 감수성이었지만 항-NRR1에는 그렇지 않았다. 이러한 결과는 상기 기재된 성장 연구 및 세포 직경 측정치와 일치한다.

[0135] 도 8에 나타낸 바와 같이, 세포 증식 검정의 결과는 또한 이들 3종의 부류의 T-ALL을 반영한다. P-12 이치까와 세포주, HPB-ALL 세포주 및 TALL-1 세포주를 도 6에 대해 상기 기재된 것과 같이 처리하였다. 증식을 표시하기 위해 Ki-67 염색을 사용하여 세포를 FACS로 분석하였다 (좌측 패널). FACS 피크의 좌측으로의 이동은 Ki-67에 대한 낮은 염색 및 감소된 증식을 나타내고, 반대로 FACS 피크의 우측으로의 이동은 Ki-67에 대한 높은 염색 및 증가된 증식을 나타낸다. 이러한 증식 검정에 기초하면, HPB-ALL은 DAPT 및 항-NRR1 둘 모두에 대해 감수성이며, TALL-1은 DAPT에 대해서는 감수성이지만 항-NRR1에는 그렇지 않고, P-12 이치까와 세포는 둘 모두에 대해 저항성이었다. 또한, 이러한 결과는 상기 기재된 다른 검정으로부터의 결과 뿐만 아니라 도 8의 우측 패널에 나타낸 아포토시스 측정치와 일치하였다. 이 패널은 아넥신 V/7-AAD 이중 음성 (비-아포토시스성) 세포에 대한 세포 계수를 보여준다. 낮은 세포 계수 (즉, 낮은 수의 아넥신 V/7-AAD 이중 음성 (비-아포토시스성) 세포)는

증가된 아포토시스를 나타내며, 이는 차례로 좌측 패널에서의 감소된 증식과 관련된다.

[0136] B. GSI-반응성, 항-NRR1 저항성 TALL-1 세포는 부분적으로 항-NRR3에 감수성이다

[0137] 상기 기재된 바와 같이, HPB-ALL 및 TALL-1로 대표되는 3종의 부류의 T-ALL 중 2종은 GSI에 대해 둘 모두 감수성이지만, 전자는 항-NRR1에 감수성이지만, 후자는 그렇지 않다는 점에서 상이하다. GSI에 대한 감수성이 하나 이상의 Notch 수용체에 대한 역할을 시사하므로, 본 발명자들은 Notch1에 부가적이거나 이와 다른 Notch 수용체가 후자의 부류의 T-ALL의 항-Notch1 NRR에 대한 저항성에 소정의 역할을 하는지의 여부에 의문을 가졌다. 이러한 의문을 다루기 위해, 성장이 Notch3 신호전달에 의존적인지의 여부를 시험하기 위해 처리의 하위세트에서 10 µg/ml의 Notch3-특이적 길항제를 또한 포함시킨 것을 제외하고, CCRF-CEM 세포, HPB-ALL 세포 및 TALL-1 세포를 도 3-5에 기재된 바와 같이 처리하였다. 본 연구에 사용된 Notch3-특이적 길항제는 마우스 항-인간 Notch3 모노클로날 항체 256A-4였고, 그의 단리 및 특성화는 미국 특허 출원 공보 번호 US 2008/0226621 A1에 논의되어 있다. 편의상, 256A-4를 본원에서는 "항-NRR3"이라 칭하고, 또한 도면에서는 "α-N3"라고도 칭한다.

[0138] 그 결과 TALL-1의 성장은 부분적으로 항-NRR3에 감수성이며 항-NRR1 + 항-NRR3에 대해서는 훨씬 더 감수성이 나타났는데 (도 9a-9f 참조), 이는 Notch3 뿐만 아니라 Notch1을 통한 신호전달이 세포주가 왜 DAPT에는 감수성이지만 항-NRR1에 대해서는 그렇지 않은지를 설명함을 시사한다. 구체적으로, 대조군 (DMSO- 또는 α-gD-처리된) 세포의 경우 약 53-54%가 DAPT 처리 후에 G0/G1 상태에 있음에 비해 TALL-1 세포는 거의 83%가 DAPT 처리 후에 G0/G1 상태에 있었다. 항-NRR3의 처리는 세포의 약 61%가 G0/G1에 있게 했고, 항-NRR1의 첨가는 이러한 수치를 약 68%로 증가시켰다. 대조적으로, CCRF-CEM은 시험된 모든 처리에 저항성이므로 보였고 (도 10a-10f), 각각 세포의 약 52-57%가 G0/G1 상태에 있음을 나타내었다. HPB-ALL은 DAPT 및 항-NRR1 처리 둘 모두에 대해 감수성이므로 보였지만 (각각 세포의 약 67%가 G0/G1 상태에 있음을 나타냄), 항-NRR3 처리에 대해서는 그렇지 않았다 (세포의 약 37%가 G0/G1 상태에 있음을 나타냄) (도 11a-11f).

[0139] 도 9b-9f의 상기 실험의 결과를 도 14에 다시 플롯팅하였다. TALL-1 세포 배양은 대략 5×10^5 세포/ml로 시작하였고, y 축은 표시된 조건 하에서의 도 9b-9f에 기재된 바와 같은 처리 이후의 세포의 수/ml (백만 개의 세포의 단위)이다. 도 14는 항-NRR1 및 항-NRR3이 각각 개별적으로 낮은 세포 계수를 야기함을 나타낸다. 그러나 항-NRR1 및 항-NRR3의 조합은 DAPT에 의해 관찰되는 수준에 근접하게 세포 계수를 낮추는데 보다 확연한 효과를 가졌다.

[0140] C. Notch3은 항-NRR3-감수성 세포에서 활성화된다

[0141] 3종의 부류의 T-ALL에서의 Notch3의 활성화 상태를 조사하기 위해, 절단된 (즉, 활성화된) Notch3 ICD를 인식하는 신규 항-Notch3 ICD 항체를 개발하였다. 표준 절차를 이용하여, 부위 S3에서 감마 세크레타제 절단으로부터 생성될 것으로 예상되는 Notch3 ICD의 N 말단에 상응하는 펩티드에 대해 토끼 폴리클로날 항체를 생성시켰다. 사용된 펩티드 서열은 다음과 같다: VMVARRKREHSTLW (서열 4). 번역화를 위해 펩티드를 BSA에 접합시켰다. 단 백질 A 칼럼 상에서 폴리클로날 항체를 정제한 다음 도 12에 나타낸 바와 같이 이뮤노블롯팅에 사용하였다. 항체가 핵성의 절단된 Notch3 ICD를 인식하는지의 여부를 시험하기 위해, 기저 유방암 세포주 MDA-MB-468을 사용하였다. 이 세포주는 높은 수준의 Notch3을 발현한다. 세포를 고정된 Jag1 (알앤디 시스템즈(R&D Systems)) (또는 대조군으로서 Fc)로 처리하여 Notch 신호전달을 유도하고, 유도 후 표시된 시점에 세포질 (C) 및 핵 (N) 분획을 단리하였다. Jag1 유도없이 존재하는 Notch3 ICD의 수준을 조사하기 위한 대조군으로서, 나타낸 바와 같이 유도되지 않은 세포를 DAPT (5 µM), DMSO (DAPT에 대한 비히클) 또는 프로테아솜 억제제 MG132로 처리하여 Notch3 ICD를 안정화시켰다. CREB 및 튜블린은 각각 핵 및 세포질 단백질에 대한 마커로서 작용하였다. 도 12의 결과는 항-Notch3 ICD 항체가 핵에 국한되고 Jag1에 의해 유도되는 예상되는 크기의 밴드를 인식한다는 것을 보여준다.

[0142] 이어서 이러한 신규 항-Notch3 ICD 항체를 사용하여 3종의 부류의 T-ALL에서의 Notch3의 활성화 상태를 조사하였다. 도 13에 나타낸 바와 같이, P12-이치가와, HPB-ALL 및 TALL-1 세포의 핵 분획을 절단된, 활성화된 Notch1 ICD (셀 시그널링 테크놀로지스)를 인식하는 상업적으로 입수가능한 폴리클로날 항체인 항-Notch1 Val1744 (상부 패널), 또는 항-Notch3 ICD 항체 (α-N3 ICD Y935, 하부 패널)와 이뮤노블롯팅시켰다. Notch1을 발현하는 3T3 세포 (3T3-N1) 및 MDA-MB-468 (MB468) 세포를 대조군으로 사용하였다. 이전의 도면에 도시된 성장 억제 연구와 일치하게, TALL-1은 높은 수준의 활성화된 Notch3을 발현하였지만 활성화된 Notch1은 발현하지 않았다 (각각 하부 및 상부 패널의 TALL-1 레인과 비교). 또한, TALL-1에서 활성화된 Notch3의 생성은 DAPT에 의해서는 차단되었지만 항-NRR1에 의해서는 그렇지 않았다 (하부 패널). 게다가, 예상한 대로, HPB-ALL 세포는 높은 수준의 활성화된 Notch1을 발현하였고, 이는 DAPT 또는 항-NRR1 항체에 의해 차단될 수 있었다 (상부

패널의 HPB-ALL 라인 참조). 대조군에 대해서는, 활성화된 Notch1이 Jagged으로 처리된 3T3-N1 세포 (+jag)에서 보다 밝은, 상향-이동된 밴드로 관찰되었다 (상부 패널). 또한, 활성화된 Notch3은 DAPT의 부재하에서 항-Notch3 효능제 항체 (A13, 미국 특허 출원 공보 US 2008/0118520 A1에 256A-13으로 기재됨)로 처리된 MDA-MB-468 세포에서 희미하지만 검출가능한 밴드로서 관찰되었다 (하부 패널).

[0143] 전술된 발명이 이해를 명확하게 하고자 하는 목적으로 설명 및 실시예로서 약간 상세하게 기재되었지만, 상기의 상세한 설명 및 실시예가 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원에서 언급된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시내용은 그 전문이 명확하게 참고로 포함된다.

도면

도면1a

2556 잔기 오버랩에서 90.7% 동일; 스코어 13215.0; 갭 빈도 : 1.0%

인간	1	MPLLLAPLLCLALLPALAARGPRCSQPGETCLNGGKCEAANGTEACVCGGAFVGPQCQDP	
마우스	1	MPRLLTPLLCLTLLPALAARGLRCSQPSGTCLNGGRCEVASGTEACVCSGAFVQRCQDS	

		신호 펩티드 EGF1	
인간	61	NPCLSTPCKNAGTCHVVDRRGVADYACSCALGFSGPLCLTPLDNACLTNPGRNGGTCDLL	
마우스	61	NPCLSTPCKNAGTCHVVDHGGTVDYACSCPLGFSGPLCLTPLDNACLANPCRNGGTCDLL	

		EGF2	EGF3
인간	121	TLTEYKCRCPGWSGKSCQQADPCASNPCANGGQCLPFEASYICHCPPSFHGPTCRQDVN	
마우스	121	TLTEYKCRCPGWSGKSCQQADPCASNPCANGGQCLPFESSYICRPPGFHGPTCRQDVN	

		EGF4	
인간	181	ECGQKPLCRHGGTCHNEVGSYRCVCRATHTGPNCRERPVVPCSPSPCQNGGTCRPTGDVT	
마우스	181	ECSQNPGLCRHGGTCHNEIGSYRCACRATHTGPHCELVPVPCSPSPCQNGGTCRPTGDTT	

		EGF5	EGF6
인간	241	HECACLPGFGTGQNCENIDDCPGNNCKNGGACVDGVNTYNCRCPPPEWTGQYCTEDVDECQ	
마우스	241	HECACLPGFAGQNCENVDDCPGNNCKNGGACVDGVNTYNCRCPPPEWTGQYCTEDVDECQ	

		EGF7	EGF8
인간	301	LMPNACQNGGTCHNTHGGYNCVGVNGWTGEDCSENIDDCASAACFHGATCHDRVASFYCE	
마우스	301	LMPNACQNGGTCHNTHGGYNCVGVNGWTGEDCSENIDDCASAACFQGATCHDRVASFYCE	

		EGF9	
인간	361	CPHGRTGLLCHLNDAICISNPCNEGSNCDTNPVNGKAICTCPSGYTGPAQSQDVDECSLGA	
마우스	361	CPHGRTGLLCHLNDAICISNPCNEGSNCDTNPVNGKAICTCPSGYTGPAQSQDVDECSLGA	

		EGF10	EGF11
인간	421	NPCEHAGKCIINTLGSFECQCLQGYTGPRCEIDVNECVSNPCQNDATCLDQIGEFQCIOMP	
마우스	421	NPCEHAGKCLINTLGSFECQCLQGYTGPRCEIDVNECISNPCQNDATCLDQIGEFQCIOMP	

		EGF12	
인간	481	GYEGVHCEVNTDECASSPCLHNGRCLDKINEFQCECPTGFTGHLQYDVDECASTPCKNG	
마우스	481	GYEGVYCEINTDECASSPCLHNGHMDKINEFQCCPRGFNGHLQYDVDECASTPCKNG	

		EGF13	EGF14
인간	541	AKCLDGPNTYTCVCTEGYTGTHCEVDIDECDPDPCHYGSKDGVATFTCLCRPGYTGHHHC	
마우스	541	AKCLDGPNTYTCVCTEGYTGTHCEVDIDECDPDPCHYGSKDGVATFTCLCQPGYTGHHHC	

		EGF15	
인간	601	ETNINECSSQPCRHHGTCQDRDNAYLFCFLKGTTPNCEINLDDCASSPCDSGTCLDKID	
마우스	601	ETNINECHSQPCRHHGTCQDRDNSYLCLKGTTPNCEINLDDCASNPDSGTCLDKID	

		EGF16	EGF17

도면1b

인간	661	GYECACEPGYTGSMCNINIDE CAGN PCHNGGTCEDGINGFTCRCP EGYHDPTCLSEVNEC	
마우스	661	GYECACEPGYTGSMCNVNI DE CAGS PCHNGGTCEDGIAGFTCRCP EGYHDPTCLSEVNEC	
		*****	*****
		EGF18	EGF19
인간	721	NSNPCVHGACRDSLNGYKCD CD P GWSGTNC DI NNNECE SNPCVNGGTCCKDMTSGYVCTCR	
마우스	721	NSNPCIHGACRDLNGYKCD CAPGWSGTNC DI NNNECE SNPCVNGGTCCKDMTSGYVCTCR	
		*****	*****
		EGF20	
인간	781	EGFSGPNCQTNINECASNPCLNQGTCID DVAGYKCNCLLPYTGATCEVVLAPCAPSPCRN	
마우스	781	EGFSGPNCQTNINECASNPCLNQGTCID DVAGYKCNCLLPYTGATCEVVLAPCATSPCKN	
		*****	*****
		EGF21	EGF22
인간	841	GGECRQSEDIYESFSCVCP T GWQGTCEVDINECVLSPCRHGASCQNT HGGYRCHCQAGYS	
마우스	841	SGVCKESEDYESFSCVCP T GWQGTCEVDINECVKSPCRHGASCQNTNGSYRCLCQAGYT	
		* * *****	* * *****
		EGF23	
인간	901	GRNCE TDIDDCRPNPCHNGG S CT DGI NTAFCDC L P GFRGTFCEEDINECASDPCRNGANC	
마우스	901	GRNCE SDIDDCRPNPCHNGG S CT DGI NTAFCDC L P GFGAFCEEDINECASNPCQNGANC	
		*****	*****
		EG24	EGF25
인간	961	TDCVDSYTCTCPAGFSGIHCEN NTPDCTESSCFNGGTCVDGINSFTCLCPPGFTGSYCQH	
마우스	961	TDCVDSYTCTCPVGFNGIHCEN NTPDCTESSCFNGGTCVDGINSFTCLCPPGFTGSYCQY	
		*****	*****
		EGF26	
인간	1021	DVNECD SQPCLHG GTCQDGC GSYRCTCPQGYTGPNCQNLVHWCDSSPCKNGGKCWQTH TQ	
마우스	1021	DVNECD SRPCLHG GTCQDSYGYKCTCPQGYTGLNCQNLVRWCD SAPCKNGGRCWQ T N TQ	
		*****	*****
		EGF27	EGF28
인간	1081	YRCECP SGW TGLYCDVPSV SCEVAAQRQGV DVARLCQH GGLCVDAGNTHHRCQAGYTGS	
마우스	1081	YHCECRSGW TGVNCDVLSV SCEVAAQKRGI DVTLLCQH GGLCVD EGDKHYCHCQAGYTGS	
		* * *****	* * *****
		EGF29	
인간	1141	YCEDLVDECS P SP C QNGATCTDYLGGYSCKCVAGYHG VNCSEEI DECLSHPCQNGGTC LD	
마우스	1141	YCEDEVDECS P NP C QNGATCTDYLGGFSCKCVAGYHGSNCSEEI NECLSQPCQNGGTC ID	
		*****	*****
		EGF30	EGF31
인간	1201	LPNTYKCS CPRGTQGVHCE INVDDCNPPVDPVSRSPKCFNNGTCVDQVGGYSCTCPPGFV	
마우스	1201	LTNSYKCS CPRGTQGVHCE INVDDCHPPLDPASRSPKCFNNGTCVDQVGGYTCTCPPGFV	
		* * *****	* * *****
		EGF32	
인간	1261	GERCEGDVNECLSNPCDARGTQNCVQRVND FHCECRAGHTGRRCE SVINGCKGKPKNGG	
마우스	1261	GERCEGDVNECLSNPCDPRGTQNCVQRVND FHCECRAGHTGRRCE SVINGCRGKPKNGG	
		*****	*****
		EGF33	EGF34

도면1c

인간	1321	TCAVASNTARGFICKCPAGFEGATCENDARTCGSLRCLNGGTCISGPRSPPTCLCLGPFTG
마우스	1321	VCAVASNTARGFICRCPAGFEGATCENDARTCGSLRCLNGGTCISGPRSPPTCLCLGSFTG

		EGF35
인간	1381	PECQFPASSPCLGGNPCYNQGTCEPTSESPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFSGGAGRDI
마우스	1381	PECQFPASSPCVGSNPCYNQGTCEPTSENFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDI

		EGF36
인간	1441	PPPLIEEACELPECQEDAGNKVCSLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYF
마우스	1441	PPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYF

		LNR_A LNR_B
인간	1501	SDGHCDQSQCNSAGCLFDGFDCQRAEGQCNPFLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLD
마우스	1501	SDGHCDQSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPFLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLD

		LNR_C
인간	1561	CAEHVPERLAAGTLVVVLMPEQLRNSSFHFLRELSRVLHTNVVFKRDAHGQQMIFPYY
마우스	1561	CAEHVPERLAAGTLVLLVLLPPDQLRNSSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAHGQQMIFPYY

		HD-N
인간	1621	GREEELRKHPIKRAAEGWAAPDALLGQVKASLLPGGSEGGRRRRELDPMDVRGSIVYLEI
마우스	1621	GHEEELRKHPIKRSTVGWAT-----SSLPGTS-GGRQRRELDPMDIRGSIVYLEI

		s1 HD-C
인간	1681	DNRQCQVQASSQCQFSATDVA AFLGALASLGSLNIPYK IEAVQSETVEPPPPAQLHFMVVA
마우스	1671	DNRQCQVQSSQCQFSATDVA AFLGALASLGSLNIPYK IEAVKSEPVEPPLPSQLHLMVVA

		s2 TM
인간	1741	AAAFVLLFFVCGVLLSRKRRRQHGQLWFPPEGFKVSEASKKKRREPLGEDSVGLKPLKNA
마우스	1731	AAAFVLLFFVCGVLLSRKRRRQHGQLWFPPEGFKVSEASKKKRREPLGEDSVGLKPLKNA

인간	1801	SDGALMDDNQNEWGDEDELETKKFRFEEPVVLPLDSDQTDHRQWTQQHLDAADLRMSAMAP
마우스	1791	SDGALMDDNQNEWGDEDELETKKFRFEEPVVLPLDSDQTDHRQWTQQHLDAADLRMSAMAP

인간	1861	TPPQGEVDADCMDVNVRGPDGFTPLMIASCSSGGLETGNSEEEEDAPAVISDFIYQGASL
마우스	1851	TPPQGEVDADCMDVNVRGPDGFTPLMIASCSSGGLETGNSEEEEDAPAVISDFIYQGASL

인간	1921	HNQTDRTGETALHLAARYSRSDAAKRLLEASADANIQDNMGRTPPLHAAVSADAQGQVFQIL
마우스	1911	HNQTDRTGETALHLAARYSRSDAAKRLLEASADANIQDNMGRTPPLHAAVSADAQGQVFQIL

도면1d

```

인간 1981 IRNRATDL DARMHDGTTPLILAARLAVEGMLEDLINSHADVNAVDDLKGSALHWAAAVNN
마우스 1971 LRNRATDL DARMHDGTTPLILAARLAVEGMLEDLINSHADVNAVDDLKGSALHWAAAVNN
*****

인간 2041 VDAAVVLLKNGANKDMQNNREETPLFLAAREGSYETAKVLLDHFANRDI TDHMDRLPRDI
마우스 2031 VDAAVVLLKNGANKDMQNNREETPLFLAAREGSYETAKVLLDHFANRDI TDHMDRLPRDI
*****

인간 2101 AQERMHHDIVRLLDEYNLVRSPQLHGAPLGGTPTLSPPLCSPNGYLGSLKPGVQGGKVRK
마우스 2091 AQERMHHDIVRLLDEYNLVRSPQLHGAPLGGTPTLSPPLCSPNGYLGSLKPGVQGGKVRK
*****

인간 2161 PSSKGLACGSKEAKDLKARRKKSQDGKGCLLDSSGMLSPVDSLESPHGYLSDVASPPLLP
마우스 2151 PSTKGLACGSKEAKDLKARRKKSQDGKGCLLDSSGMLSPVDSLESPHGYLSDVASPPLLP
** *****

인간 2221 SPFQQSPSVPLNHLPGMPDTHLGIHGLNVAAKPEMAALGGGRLAFETGPPRLSHLPVAS
마우스 2211 SPFQQSPSMPLSHLPMPDTHLGIHGLNVAAKPEMAALAGGSRLAFETGPPRLSHLPVAS
*****

인간 2281 GTSTVLGSSSGGALNFTVGGSTSLNGQCEWLSRLQSGMVPNQYNPLRGSVAPGPLSTQAP
마우스 2271 SASTVLSTNGTGAMNFTVGPASLNGQCEWLPRLQNGMVPNQYNPLRGPVTPGTLSTQAA
*****

인간 2341 SLQHGMVGPLHSSLAASALSQMMSYQGLPSTRLATQPHLVQTQQVQPQNLQMQQQNLQPA
마우스 2331 GLQHSMGMLHSSSLSTNTLSPII-YQGLPNTRLATQPHLVQTQQVQPQNLQLQPQNLQP-
*** * *****

인간 2401 NIQQQSLQPPPPPPQPHLGVSSAASGHLGRSFLSGEPSQADVQPLGPSLAVHTILPQE
마우스 2389 -----PSQPHLSVSSAANGHLGRSFLSGEPSQADVQPLGPSLAVHTILPQE
* *****

인간 2461 SPALPTSLPSSLVPPVTAQFLTPPSQHSYSS-PVDNTPSHQLQVPEHPFLTPSPESPDQ
마우스 2436 SQALPTSLPSSMVPMTTQFLTPPSQHSYSSPVDNTPSHQLQVPEHPFLTPSPESPDQ
* *****

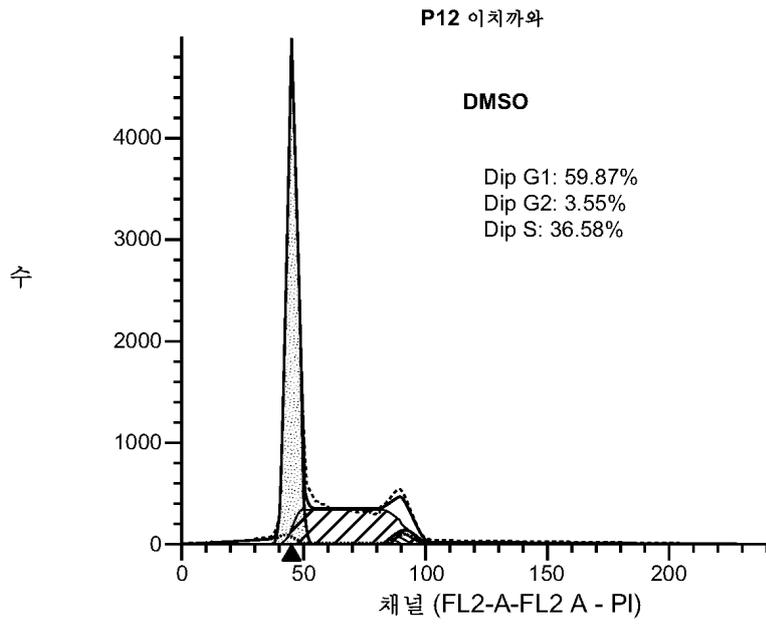
인간 2520 WSSSSPHSNVSDWSEGVSSPPTSMQSQIARIPEAFK
마우스 2496 WSSSSPHSNISDWSEGISPPTTMTSPQIITHIPEAFK
*****
    
```

도면2

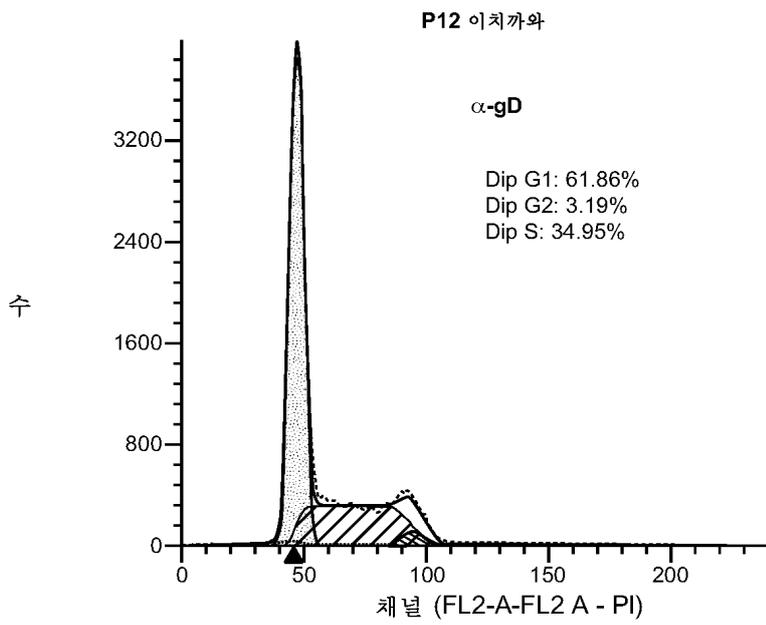
인간 Notch 3의 아미노산 서열 (NP_000426)

1 MGPARGRRR RRRPMSPPPP PPPVRALPLL LLLAGPGAAA PPCLDGSPCA NNGRCTLPLS
 61 REAACLCPG WVGRCQLED PCHSGPCAGR GVCQSSVAVG TARFSCRCPR GFRGPDCLP
 121 DFCLSSPCAH GARCSVGPDG RFLCSCPPGY QGRSCRSDVD ECRVGEPCRH GGTCLNTPGS
 181 FRCQCPAGYT GPLCENPAVP CAPSPCRNGG TCRQSGDLTY DCACLPGFEG QNCEVNVDDC
 241 PGHRCINGGT CVDGVNTYNC QCPPEWTGQF CTEDVDECQL QPNACHNGGT CFNTLGGHSC
 301 VCVNGWTGES CSQNIDDCAT AVCFHGATCH DRVASFYCAC PMGKTGLLCH LDDACVSNPC
 361 HEDAICDTPN VNGRAICTCP PGFTGGACDQ DVDECSIGAN PCEHLGRCVN TQGSFLCQCG
 421 RGYTGPRCET DVNECLSGPC RNQATCLDRI GQFTICMAG FTGTYCEVDI DECQSSPCVN
 481 GGVCKDRVNG FSTCTPSGF'S GSTCQLDVDE CASTPCRNGA KCVDPDGYE CRCAEGFEGT
 541 LCDRNVDDCS PDPCHHGRCV DGIASFSCAC APGYTGTRCE SQVDECRSQP CRHGGKCLDI
 601 VDKYLCRCPS GTTGVNCEVN IDDCASNPCT FGVCRDGINR YDCVCQPGFT GPLCNVEINE
 661 CASSPCGEGG SCVDENGFR CLCPPGSLPP LCLPPSHPCA HEPCHGICY DAPGGFRVCV
 721 BPGWSGPRCS QSLARDACES QPCRAGGTC SDGMGFHCTC PPGVQGRQCE LLSPTPNPC
 781 EHGRCESAP GQIPVCSQP GWQGRQQD VDECAGPAPC GPHGICTNLA GSFSTCHGG
 841 YTGPCSDQDI NDCDPNPLN GGSCQDGVGS FSCSCLPGA GPRCARDVDE CLSNPCGPGT
 901 CTDHVASFIC TCPPGYGGFH CEQDLPCSP SSCFNGGTCV DGVNSFSLC RPYTGAHCQ
 961 HEADPLSRP CLHGGVCSAA HPGFRCTCLE SFTGQCQTL VDWCSPQCPQ NGGRCVQTGA
 1021 YLCPPGWSG RLCDIRSLPC REAAAQIGVR LEQLCQAGGQ CVDEDSHYC VCPEGRTGSH
 1081 CEQEVDPCLA QPCQHGCTCR GYMGGYMCEC LPGYNGDNCE DDVDECASQP CQHGGSCIDL
 1141 VARYLCSCP GTLGLVCEIN EDDCGPGLP DSGPRCLHNG TCVDLVGGFR CTCPPGYTGL
 1201 RCEADINECR SGACHAHR DCLQDPGGGF RCLCHAGFSG PRCQTVLSP ESQPCQHGQ
 1261 CRPSPGGGG LFTFCHCAQP FWGPRCERVA RSCRELQCPV GVPCQOTPRG PRCACPPGLS
 1321 GPSCRSFPGS PPGASNASCA AAPCLHGGSC RPAPLAPFFR CACAQGTGP RCEAPAAAPE
 1381 **VSE**EPRCPRA **ACQAKRGDQR CDRECNSPGC GWDGGDCSL S VGDVWRQCEA LQCWRLFNNS**
 1441 **RCDPACSSPA CLYDNFDCHA GGRERTCNPV YEKYCADHFA DGRCDQGCNT EECGWDGLDC**
 1501 **ASE**VPELLAR GVLVLTVLLP PEBLLRSSAD FLQRLSAILR TSLRFRLDAH GQAMVFPYHR
 1561 PSPGSEPRAR RELAPEVIGS VVMLEIDNRL CLQSPENDHC FPDQAQAADY LGALSAVERL
 1621 DFPYPLRDVR GEPLPEPEPS VPLLPLLVAG AVLLLVLVVL GVMVARRKRE HSTLWFPEGF
 1681 SLHKDVASGH KGRREPVGQD ALGMKNMAK ESLMGEVATD WMDTECPKAK RLKVEEPGMG
 1741 ABEAVDCRQW TQHHLVAADI RVAPAMALTP PQGDADADGM DVNVVRGPDGF TPLMLASFEG
 1801 GALEPMPTEE DEADTSASI ISDLICQGAQ LGARTDRTGE TALHLAARYA RADAARKRLD
 1861 AGADTNAQDH SGRTPHHTAV TADAQGVFQI LIRNRSTDLD ARMADGSTAL ILAARLAVEG
 1921 MVEELIASHA DVNAVDLGLK SALHWAAVN NVEATLALLK NGANKDMQDS KEETPLFLAA
 1981 REGSYBAAKL LLDHFANREI TDHLDRLPD VAQERLHQDI VRLLDQPSGP RSPPGPHGLG
 2041 PLLCPPGAF L PGLKAAQSGS KKSRRPPGKA GLGPQGRGR GKKLTLACPG PLADSSVTL S
 2101 PVDSLDSRP FGGPPASPGG FPLEGPYAAA TATAVSLAQL GPGRAGLGR QPPGGCVLSL
 2161 GLLNPVAVPL DWARLPPPAP PGPSFLPLA PGPQLLNPGT PVSPQERPPP YLAVPGHGEE
 2221 YPVAGAHSSP PKARFLRVPS EHPYLTSPSE SPEHWASPSP PSLSDWSEST PSPATATGAM
 2281 ATTTGALPAQ PLPLSVPSL AQAQTQLGPQ PEVTPKRQVL A (서열 3)

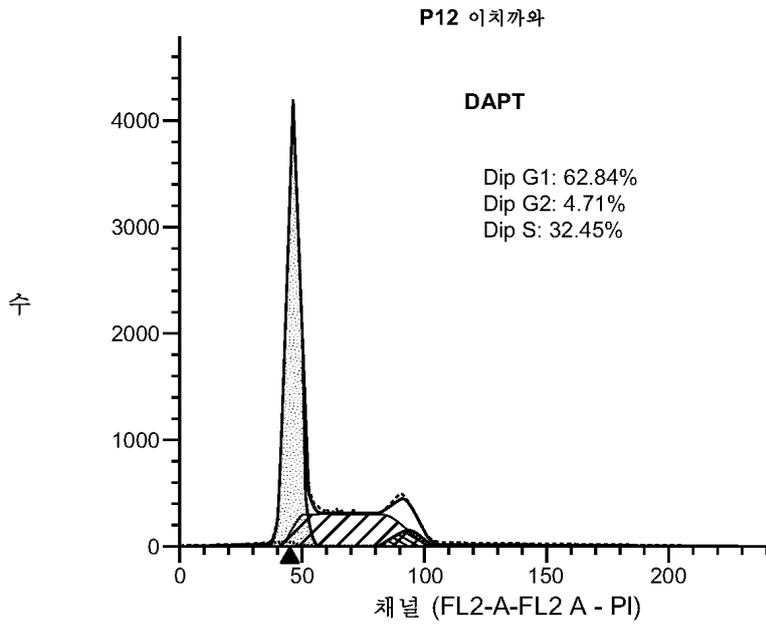
도면3a



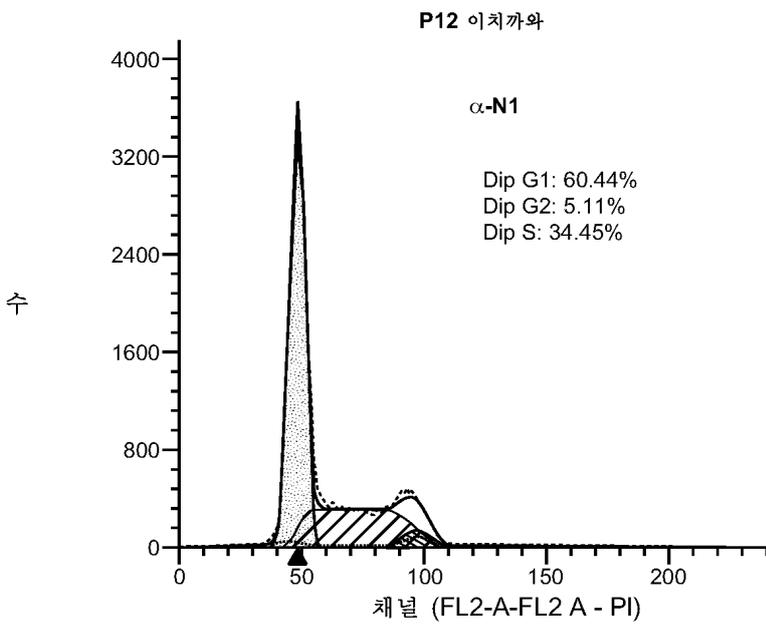
도면3b



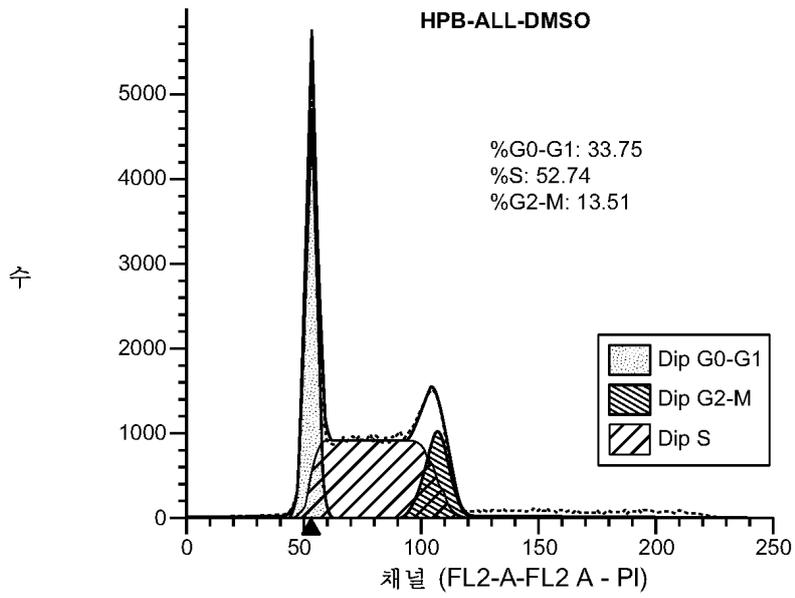
도면3c



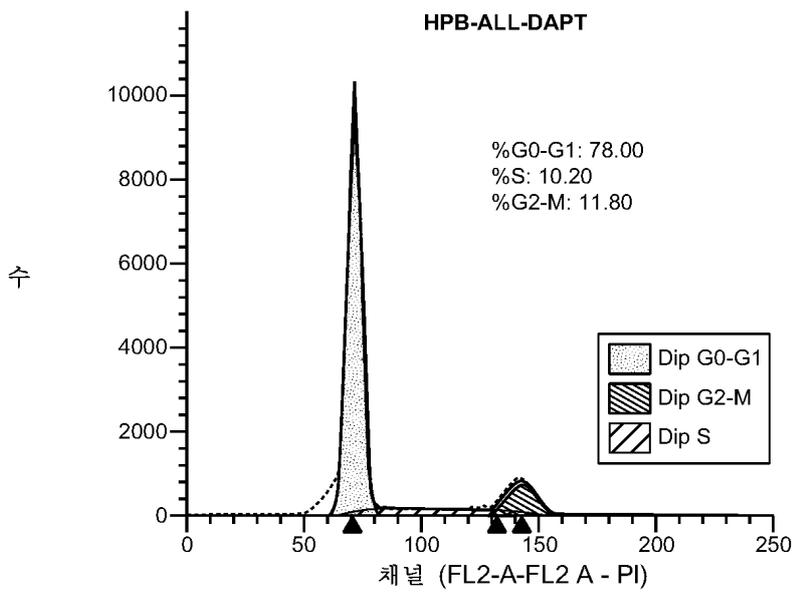
도면3d



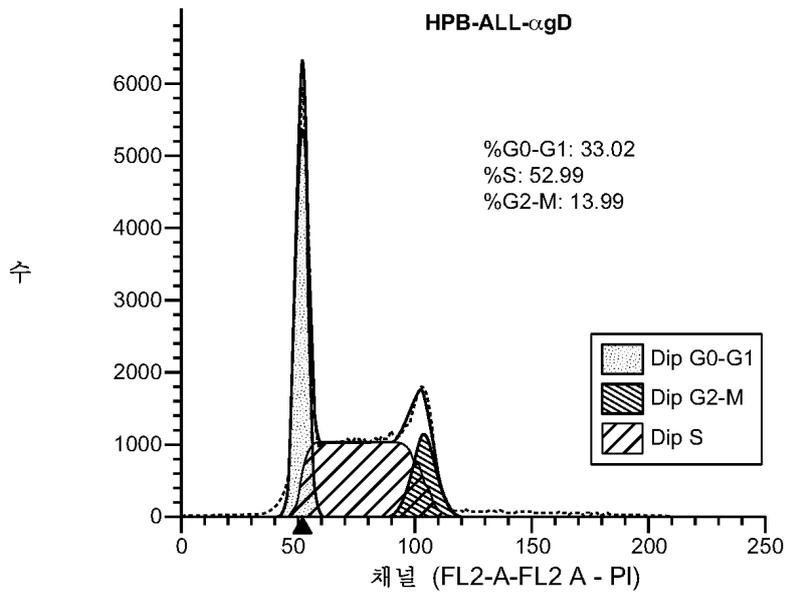
도면4a



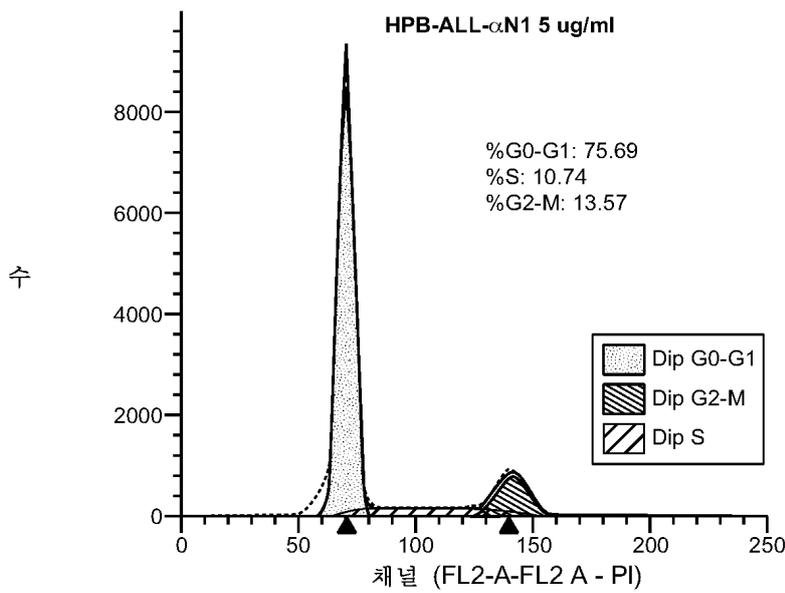
도면4b



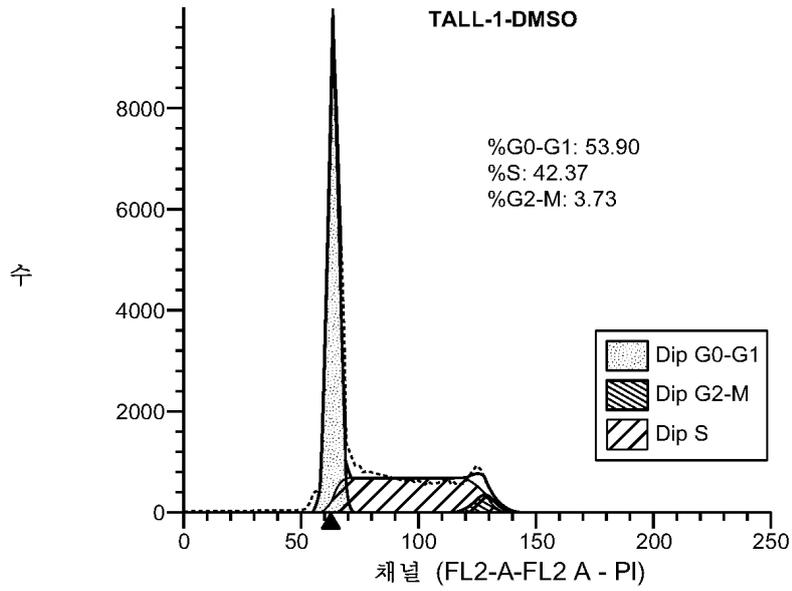
도면4c



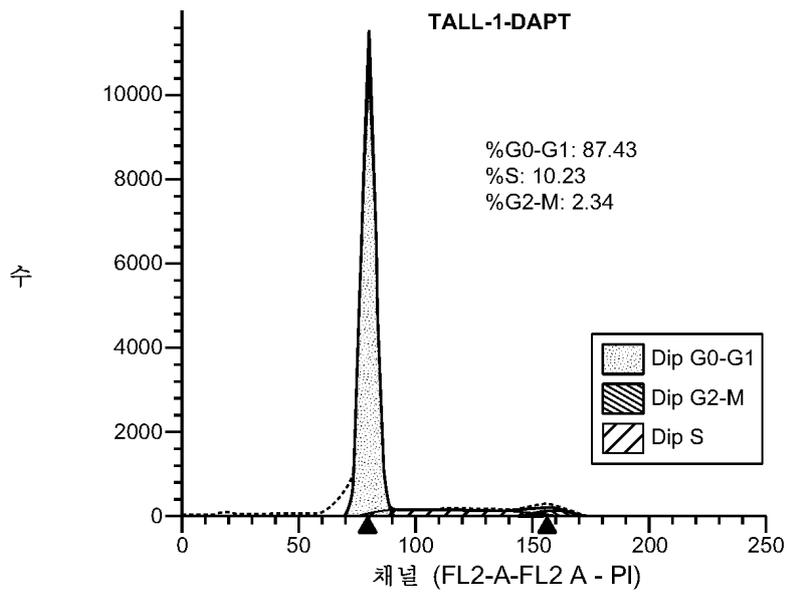
도면4d



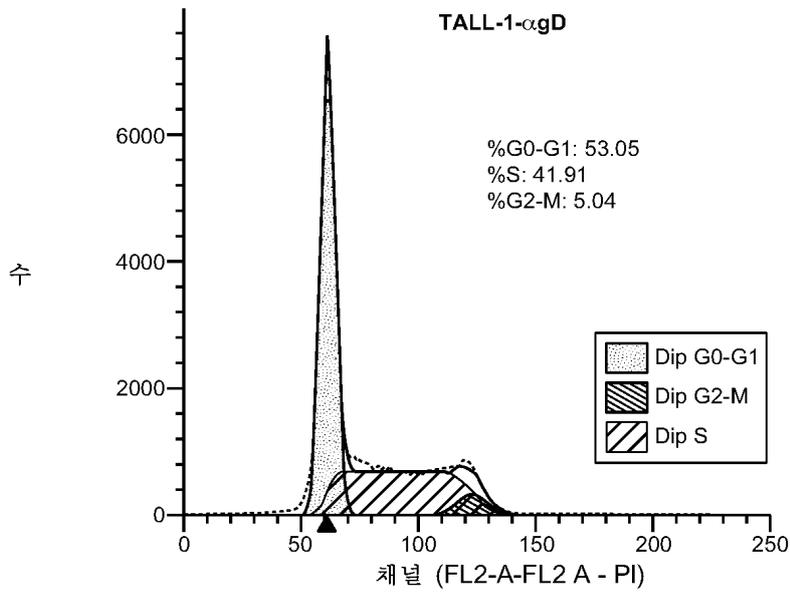
도면5a



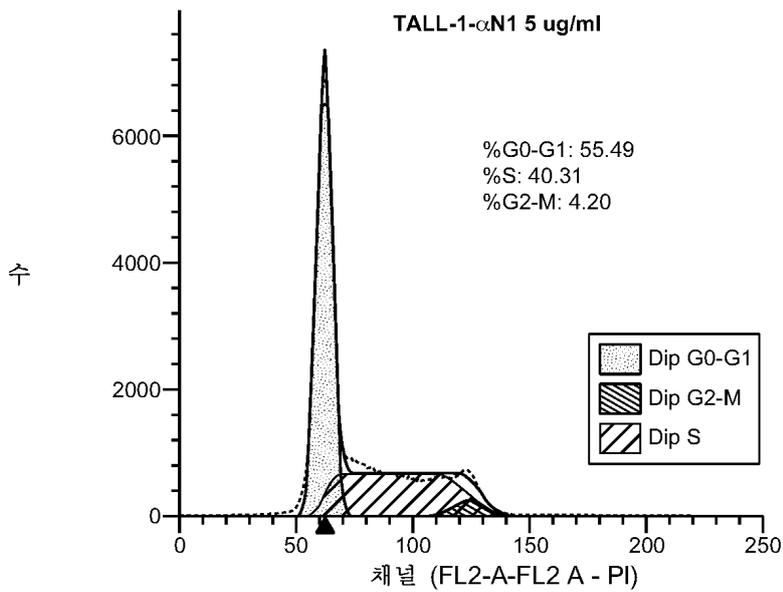
도면5b



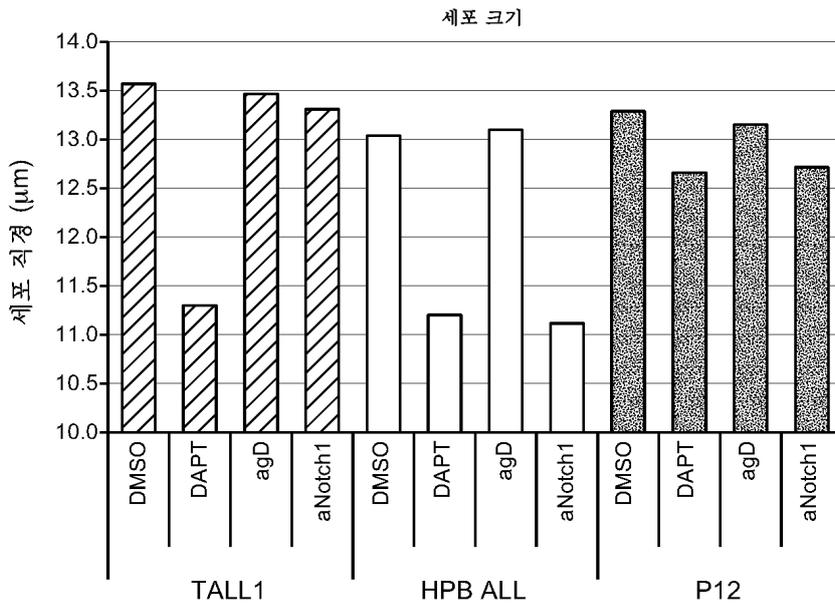
도면5c



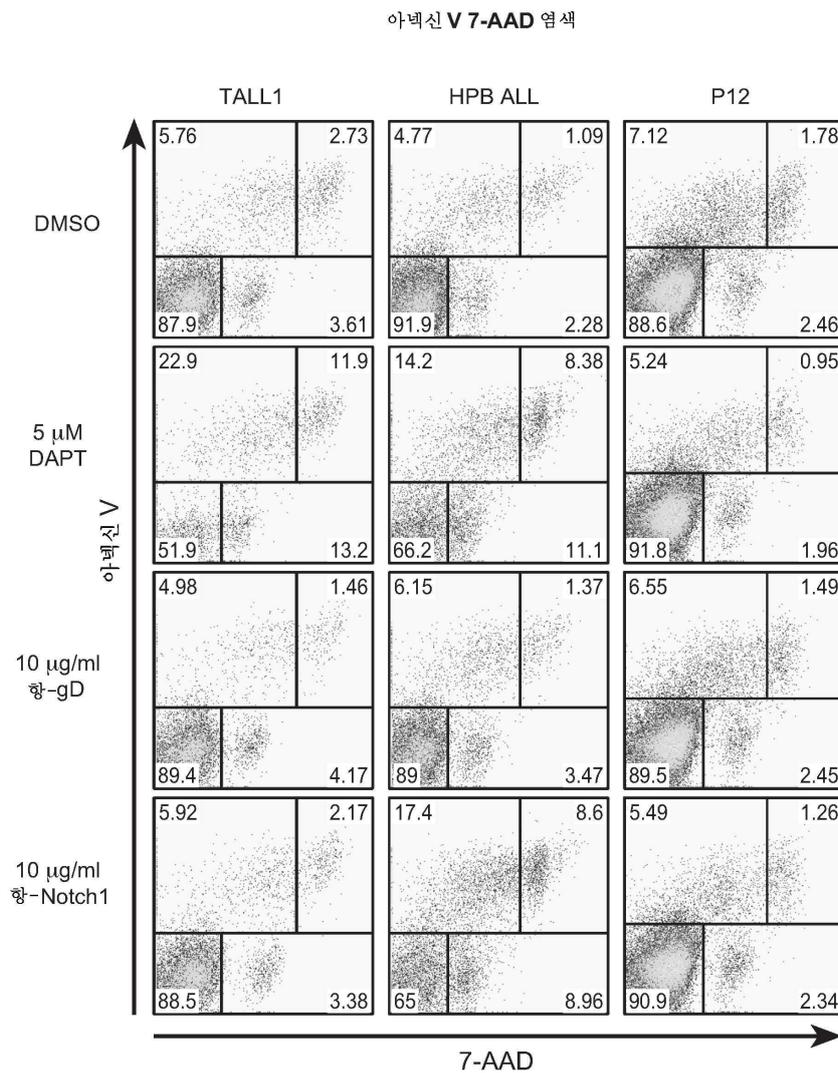
도면5d



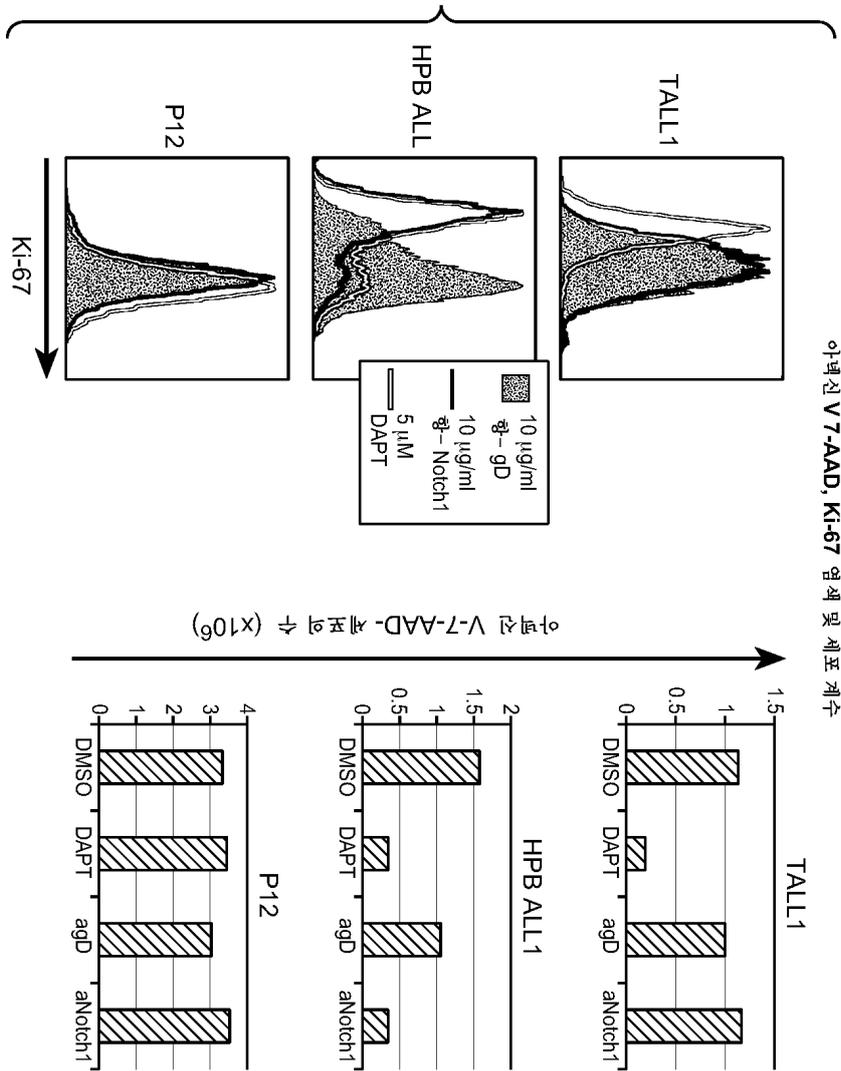
도면6



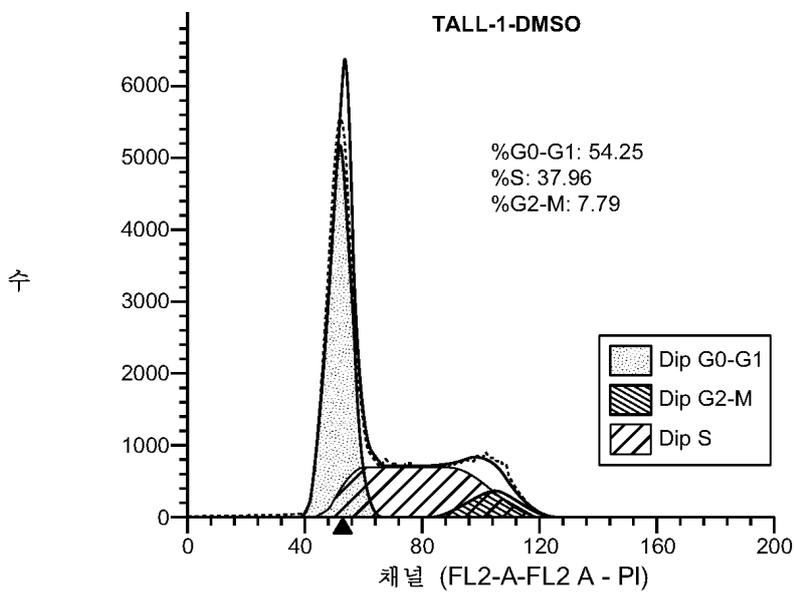
도면7



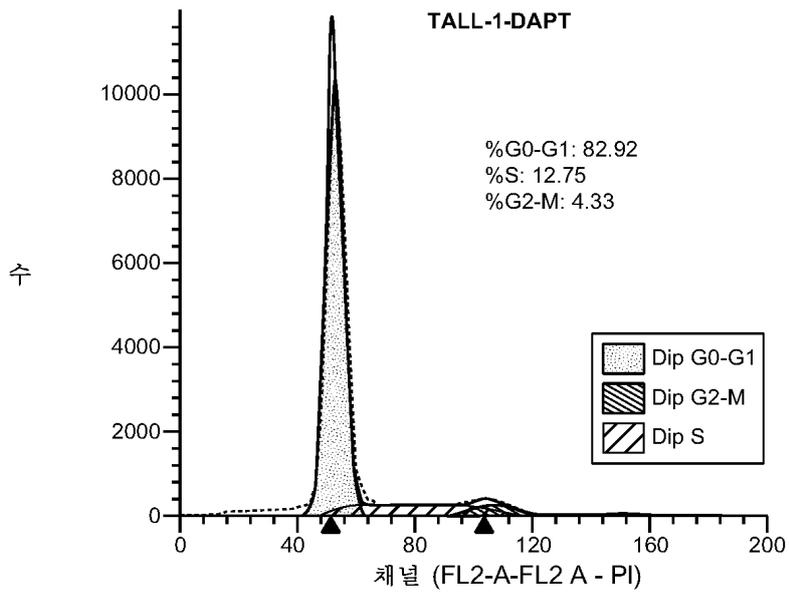
도면8



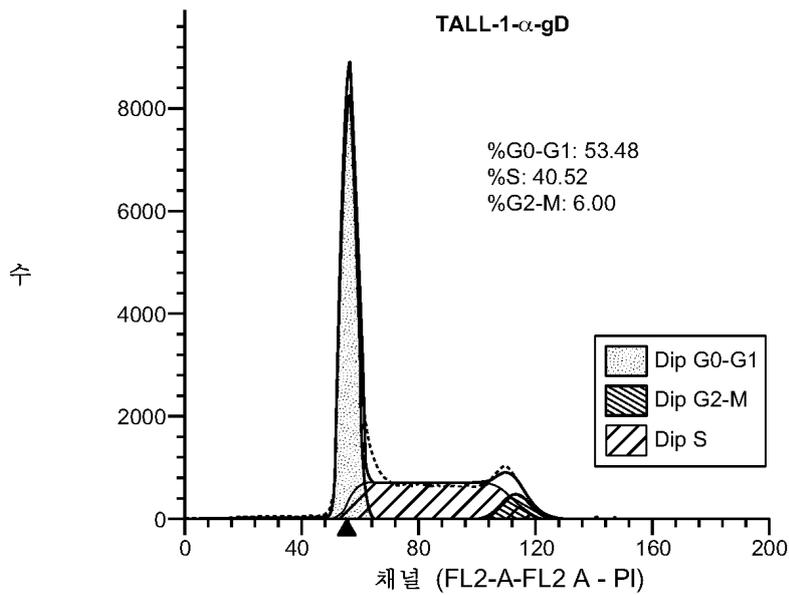
도면9a



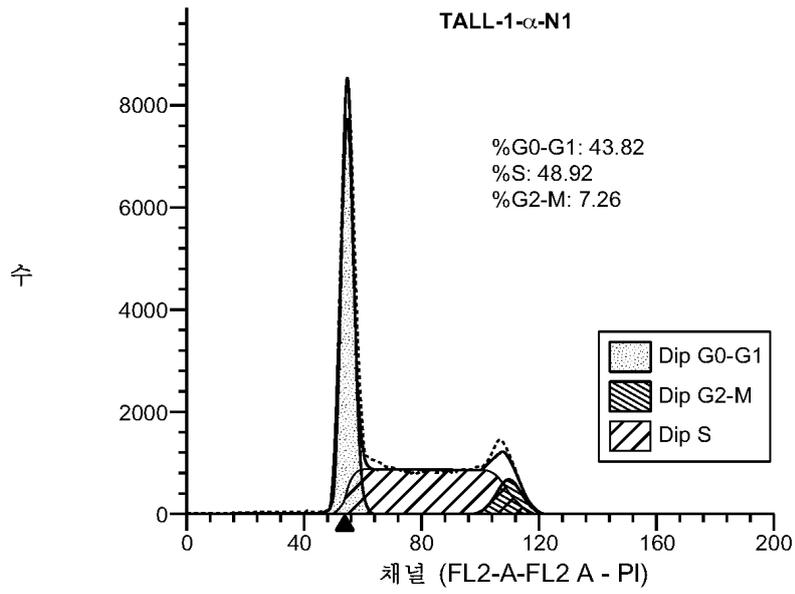
도면9b



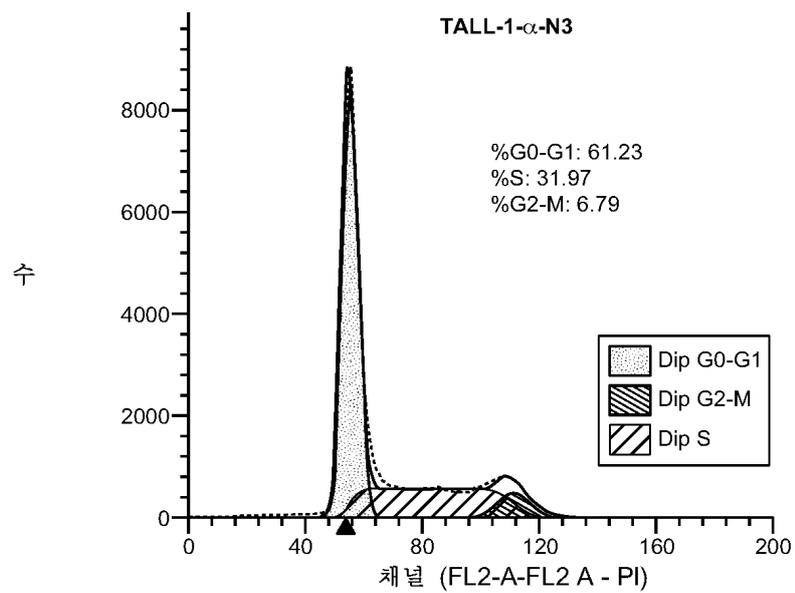
도면9c



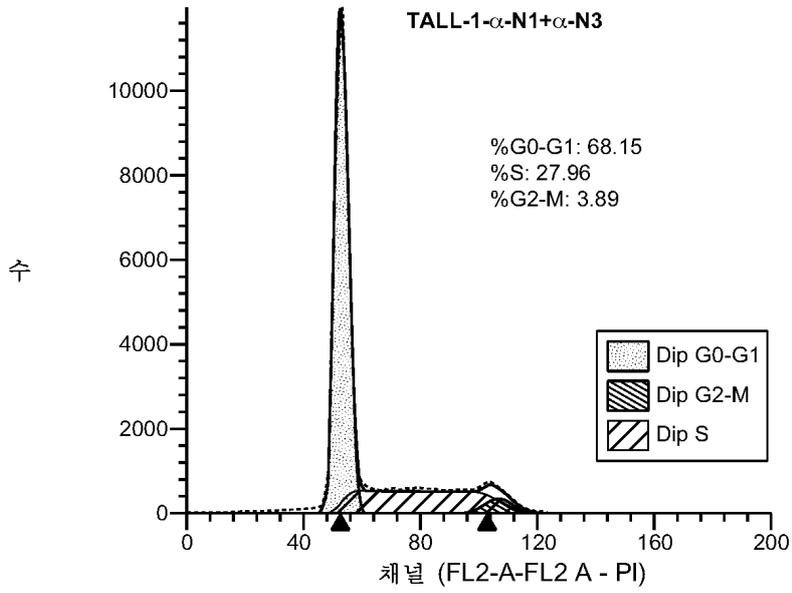
도면9d



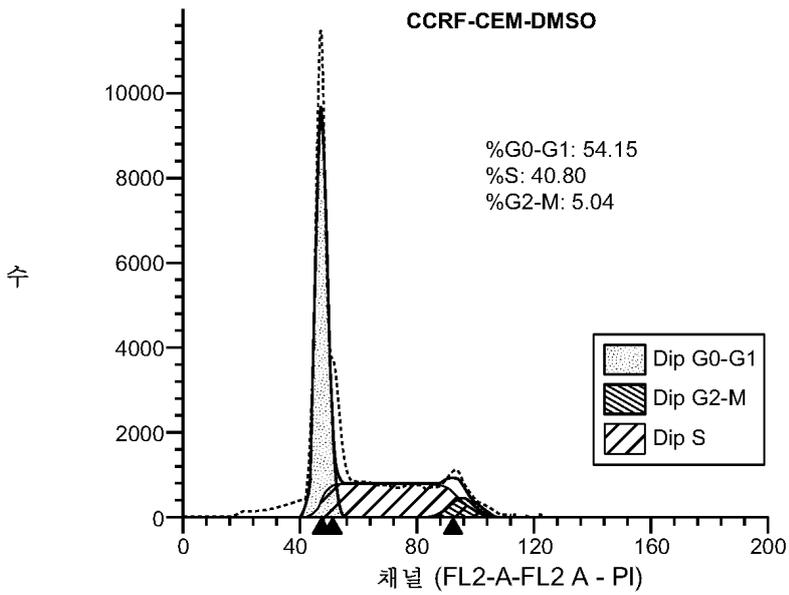
도면9e



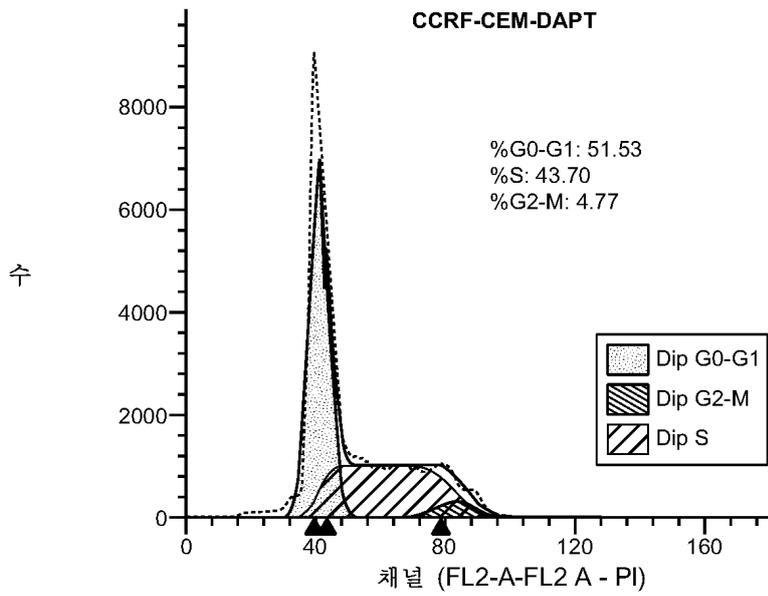
도면9f



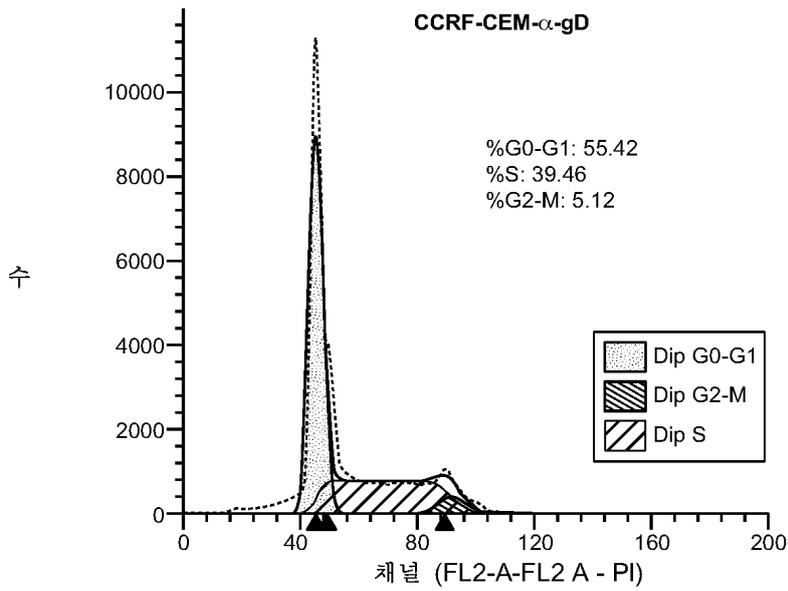
도면10a



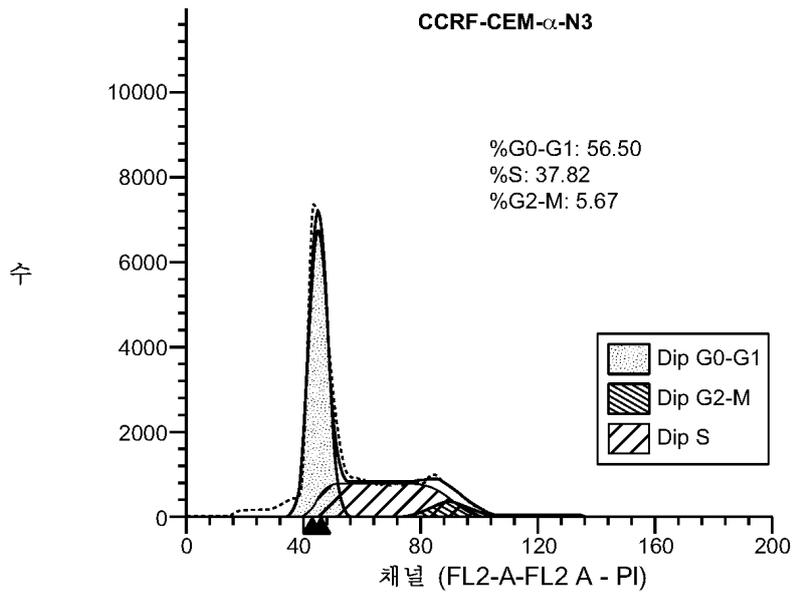
도면10b



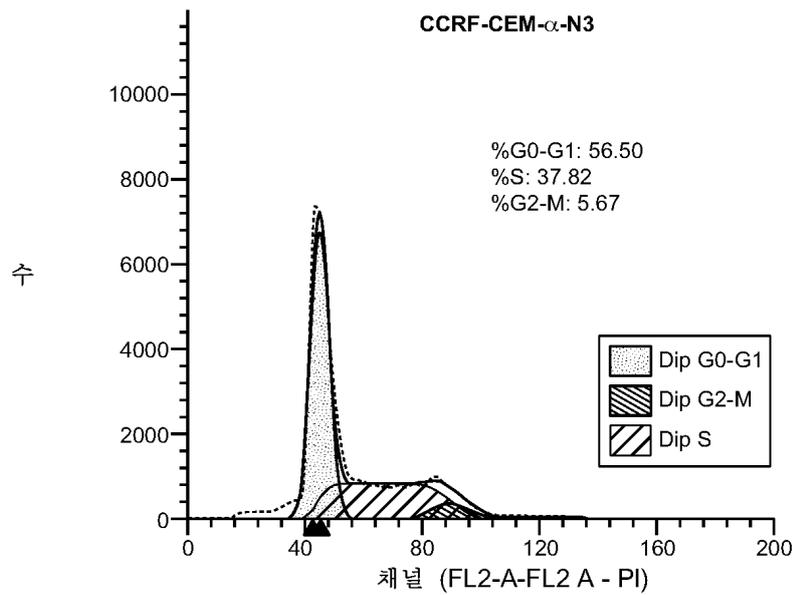
도면10c



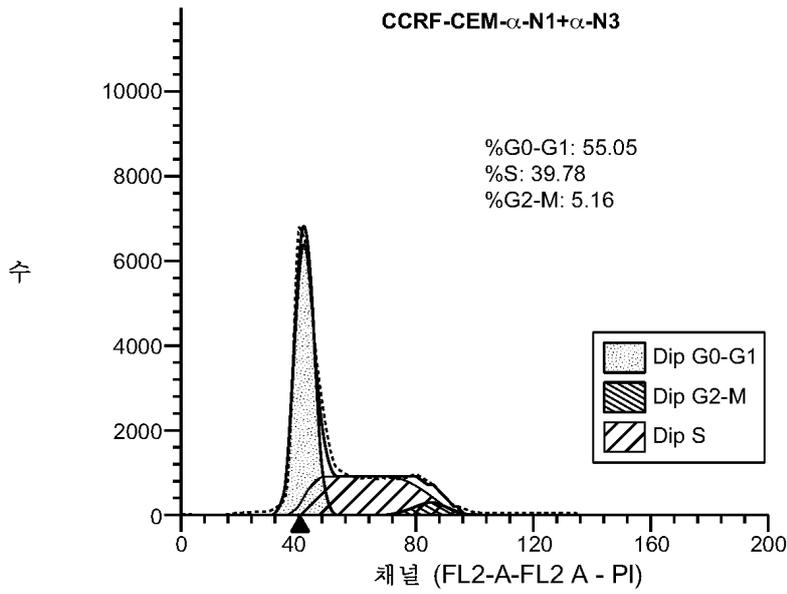
도면10d



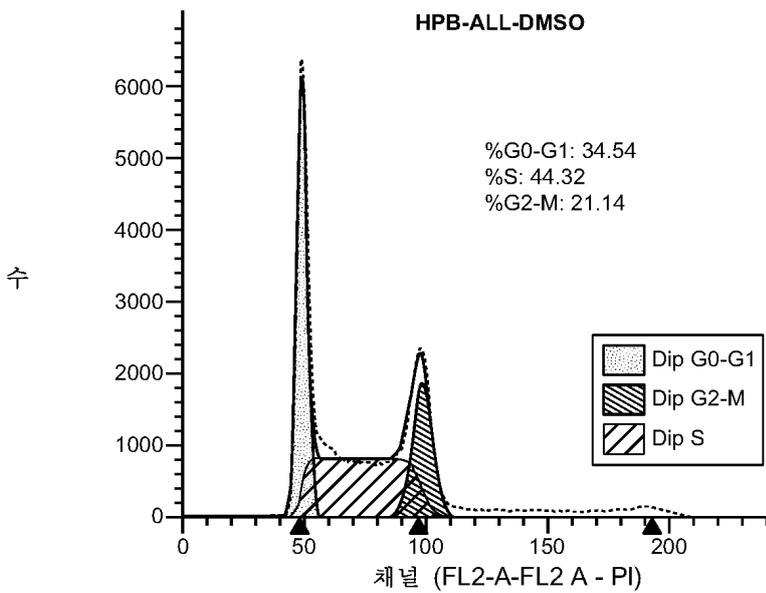
도면10e



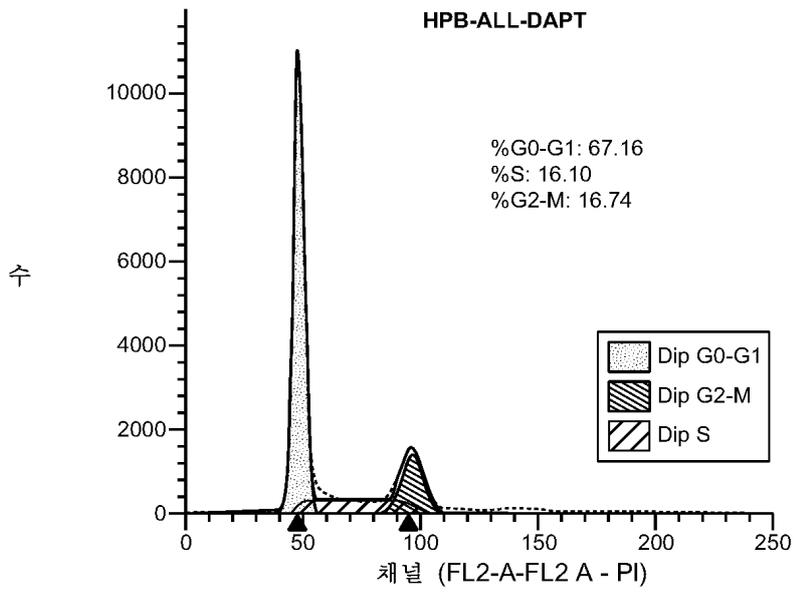
도면10f



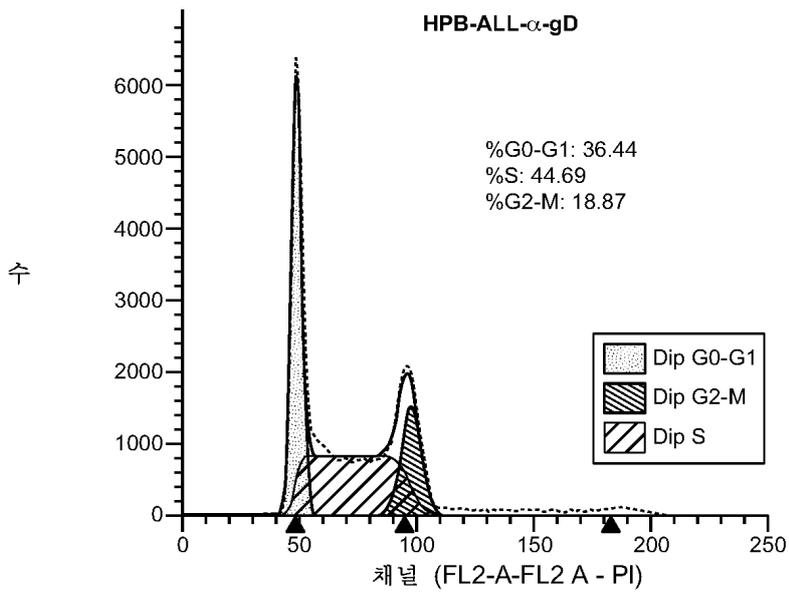
도면11a



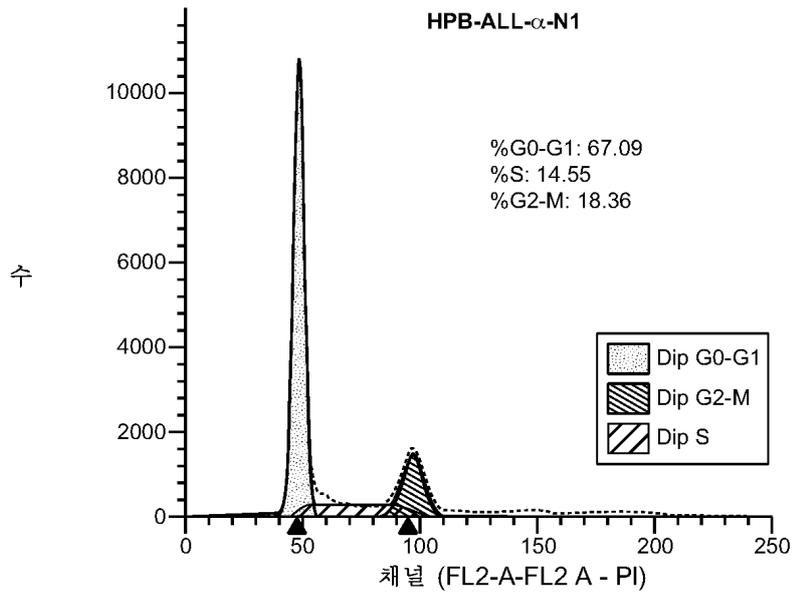
도면11b



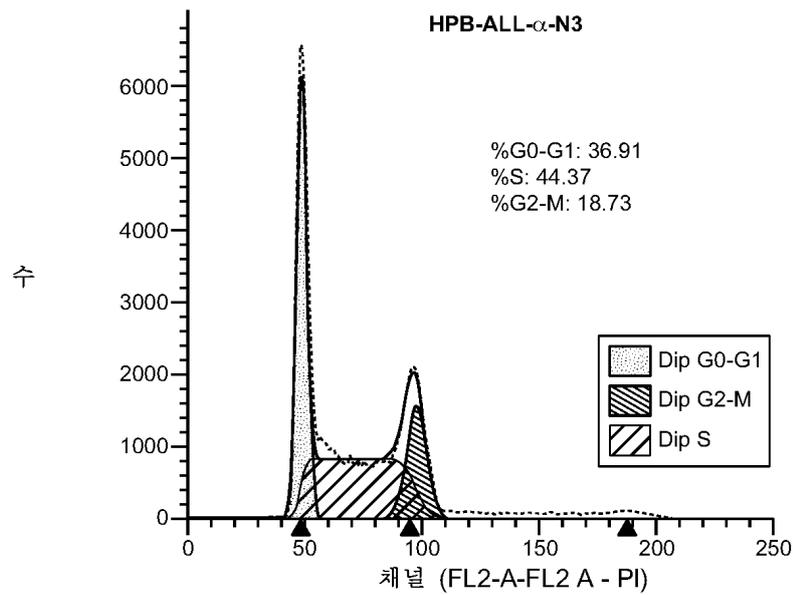
도면11c



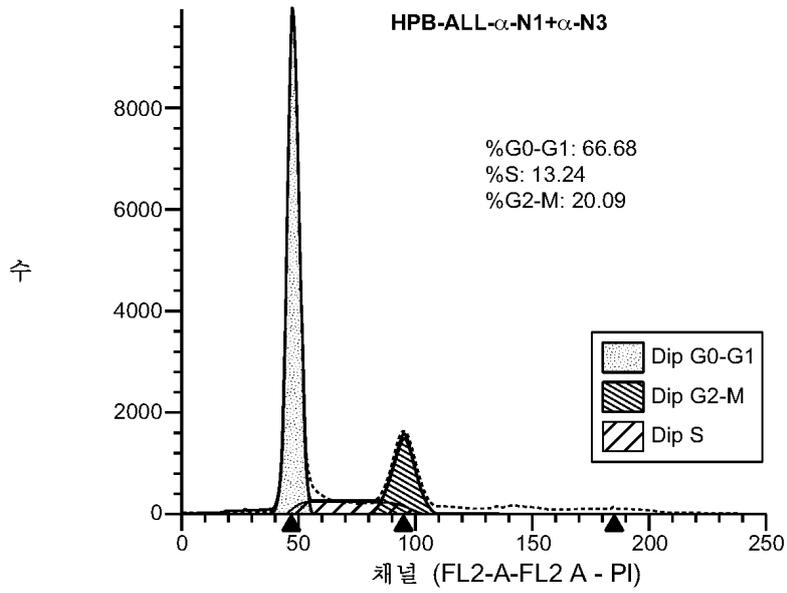
도면11d



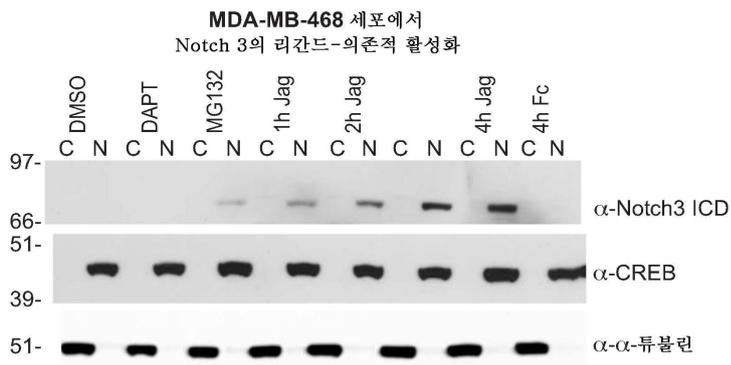
도면11e



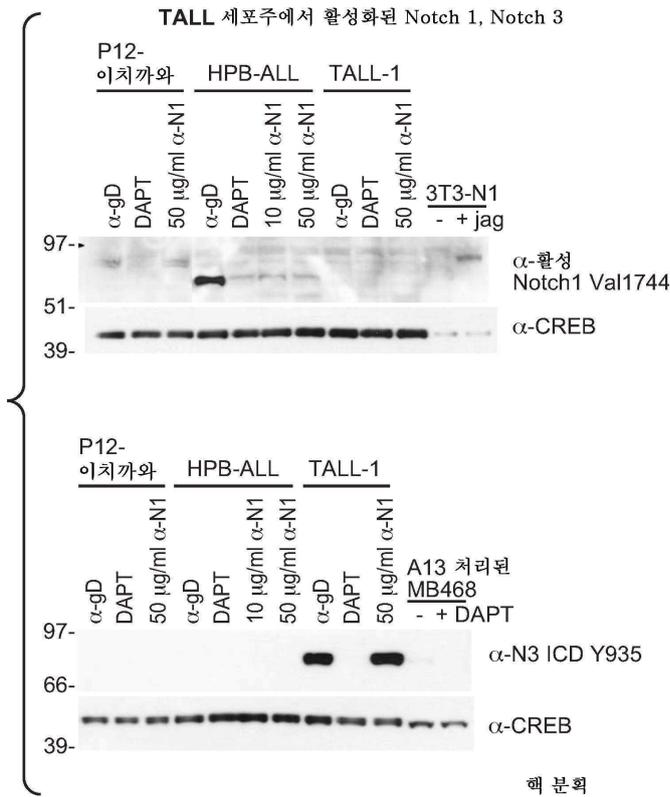
도면11f



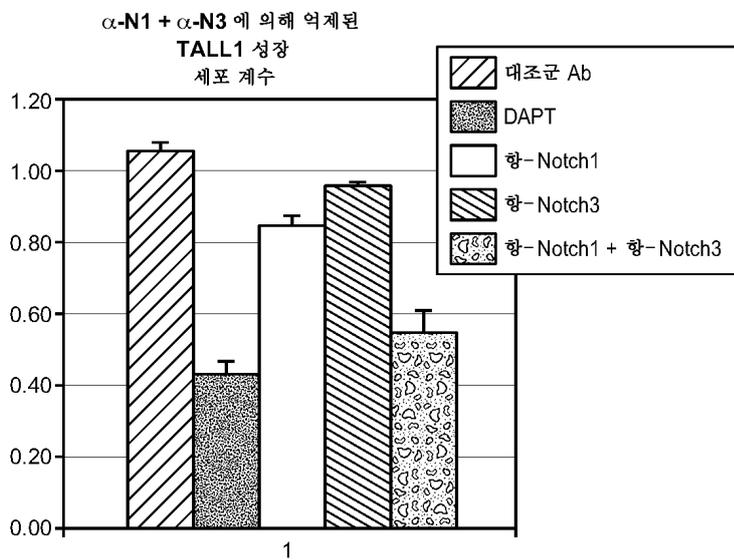
도면12



도면13



도면14



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC.; SIEBEL, CHRISTIAN W.

<120> METHODS OF TREATING CANCER USING NOTCH ANTAGONISTS

<130> P4371R1 WO

<140><141><150> 61/247,298

<151> 2009-09-30

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2555

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Pro Leu Leu Ala Pro Leu Leu Cys Leu Ala Leu Leu Pro Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Gly Gly Lys Cys Glu Ala Ala Asn Gly Thr Glu Ala Cys Val Cys

35 40 45

Gly Gly Ala Phe Val Gly Pro Arg Cys Gln Asp Pro Asn Pro Cys Leu

50 55 60

Ser Thr Pro Cys Lys Asn Ala Gly Thr Cys His Val Val Asp Arg Arg

65 70 75 80

Gly Val Ala Asp Tyr Ala Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Ser Gly Pro

85 90 95

Leu Cys Leu Thr Pro Leu Asp Asn Ala Cys Leu Thr Asn Pro Cys Arg

100 105 110

Asn Gly Gly Thr Cys Asp Leu Leu Thr Leu Thr Glu Tyr Lys Cys Arg

115 120 125

Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Lys Ser Cys Gln Gln Ala Asp Pro Cys

130 135 140

Ala Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Pro Phe Glu Ala

145 150 155 160

Ser Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Ser Phe His Gly Pro Thr Cys Arg

165 170 175

Gln Asp Val Asn Glu Cys Gly Gln Lys Pro Gly Leu Cys Arg His Gly
 180 185 190

Gly Thr Cys His Asn Glu Val Gly Ser Tyr Arg Cys Val Cys Arg Ala
 195 200 205

Thr His Thr Gly Pro Asn Cys Glu Arg Pro Tyr Val Pro Cys Ser Pro
 210 215 220

Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Arg Pro Thr Gly Asp Val Thr
 225 230 235 240

His Glu Cys Ala Cys Leu Pro Gly Phe Thr Gly Gln Asn Cys Glu Glu
 245 250 255

Asn Ile Asp Asp Cys Pro Gly Asn Asn Cys Lys Asn Gly Gly Ala Cys
 260 265 270

Val Asp Gly Val Asn Thr Tyr Asn Cys Arg Cys Pro Pro Glu Trp Thr
 275 280 285

Gly Gln Tyr Cys Thr Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln Leu Met Pro Asn
 290 295 300

Ala Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys His Asn Thr His Gly Gly Tyr Asn
 305 310 315 320

Cys Val Cys Val Asn Gly Trp Thr Gly Glu Asp Cys Ser Glu Asn Ile
 325 330 335

Asp Asp Cys Ala Ser Ala Ala Cys Phe His Gly Ala Thr Cys His Asp
 340 345 350

Arg Val Ala Ser Phe Tyr Cys Glu Cys Pro His Gly Arg Thr Gly Leu
 355 360 365

Leu Cys His Leu Asn Asp Ala Cys Ile Ser Asn Pro Cys Asn Glu Gly
 370 375 380

Ser Asn Cys Asp Thr Asn Pro Val Asn Gly Lys Ala Ile Cys Thr Cys
 385 390 395 400

Pro Ser Gly Tyr Thr Gly Pro Ala Cys Ser Gln Asp Val Asp Glu Cys
 405 410 415

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

Ser Met Cys Asn Ile Asn Ile Asp Glu Cys Ala Gly Asn Pro Cys His
 675 680 685
 Asn Gly Gly Thr Cys Glu Asp Gly Ile Asn Gly Phe Thr Cys Arg Cys
 690 695 700
 Pro Glu Gly Tyr His Asp Pro Thr Cys Leu Ser Glu Val Asn Glu Cys
 705 710 715 720
 Asn Ser Asn Pro Cys Val His Gly Ala Cys Arg Asp Ser Leu Asn Gly
 725 730 735
 Tyr Lys Cys Asp Cys Asp Pro Gly Trp Ser Gly Thr Asn Cys Asp Ile
 740 745 750
 Asn Asn Asn Glu Cys Glu Ser Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys
 755 760 765
 Lys Asp Met Thr Ser Gly Tyr Val Cys Thr Cys Arg Glu Gly Phe Ser
 770 775 780
 Gly Pro Asn Cys Gln Thr Asn Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys
 785 790 795 800
 Leu Asn Gln Gly Thr Cys Ile Asp Asp Val Ala Gly Tyr Lys Cys Asn
 805 810 815
 Cys Leu Leu Pro Tyr Thr Gly Ala Thr Cys Glu Val Val Leu Ala Pro
 820 825 830
 Cys Ala Pro Ser Pro Cys Arg Asn Gly Gly Glu Cys Arg Gln Ser Glu
 835 840 845
 Asp Tyr Glu Ser Phe Ser Cys Val Cys Pro Thr Gly Trp Gln Gly Gln
 850 855 860
 Thr Cys Glu Val Asp Ile Asn Glu Cys Val Leu Ser Pro Cys Arg His
 865 870 875 880
 Gly Ala Ser Cys Gln Asn Thr His Gly Gly Tyr Arg Cys His Cys Gln
 885 890 895
 Ala Gly Tyr Ser Gly Arg Asn Cys Glu Thr Asp Ile Asp Asp Cys Arg
 900 905 910
 Pro Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Ser Cys Thr Asp Gly Ile Asn Thr

915 920 925
 Ala Phe Cys Asp Cys Leu Pro Gly Phe Arg Gly Thr Phe Cys Glu Glu
 930 935 940
 Asp Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asp Pro Cys Arg Asn Gly Ala Asn Cys
 945 950 955 960
 Thr Asp Cys Val Asp Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe Ser
 965 970 975
 Gly Ile His Cys Glu Asn Asn Thr Pro Asp Cys Thr Glu Ser Ser Cys

 980 985 990
 Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Ile Asn Ser Phe Thr Cys Leu
 995 1000 1005
 Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Ser Tyr Cys Gln His Asp Val Asn
 1010 1015 1020
 Glu Cys Asp Ser Gln Pro Cys Leu His Gly Gly Thr Cys Gln Asp
 1025 1030 1035
 Gly Cys Gly Ser Tyr Arg Cys Thr Cys Pro Gln Gly Tyr Thr Gly

 1040 1045 1050
 Pro Asn Cys Gln Asn Leu Val His Trp Cys Asp Ser Ser Pro Cys
 1055 1060 1065
 Lys Asn Gly Gly Lys Cys Trp Gln Thr His Thr Gln Tyr Arg Cys
 1070 1075 1080
 Glu Cys Pro Ser Gly Trp Thr Gly Leu Tyr Cys Asp Val Pro Ser
 1085 1090 1095
 Val Ser Cys Glu Val Ala Ala Gln Arg Gln Gly Val Asp Val Ala

 1100 1105 1110
 Arg Leu Cys Gln His Gly Gly Leu Cys Val Asp Ala Gly Asn Thr
 1115 1120 1125
 His His Cys Arg Cys Gln Ala Gly Tyr Thr Gly Ser Tyr Cys Glu
 1130 1135 1140
 Asp Leu Val Asp Glu Cys Ser Pro Ser Pro Cys Gln Asn Gly Ala
 1145 1150 1155

Thr Cys Thr Asp Tyr Leu Gly Gly Tyr Ser Cys Lys Cys Val Ala
 1160 1165 1170
 Gly Tyr His Gly Val Asn Cys Ser Glu Glu Ile Asp Glu Cys Leu
 1175 1180 1185
 Ser His Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Leu Asp Leu Pro Asn
 1190 1195 1200
 Thr Tyr Lys Cys Ser Cys Pro Arg Gly Thr Gln Gly Val His Cys
 1205 1210 1215
 Glu Ile Asn Val Asp Asp Cys Asn Pro Pro Val Asp Pro Val Ser
 1220 1225 1230
 Arg Ser Pro Lys Cys Phe Asn Asn Gly Thr Cys Val Asp Gln Val
 1235 1240 1245
 Gly Gly Tyr Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Val Gly Glu Arg
 1250 1255 1260
 Cys Glu Gly Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys Asp Ala
 1265 1270 1275
 Arg Gly Thr Gln Asn Cys Val Gln Arg Val Asn Asp Phe His Cys
 1280 1285 1290
 Glu Cys Arg Ala Gly His Thr Gly Arg Arg Cys Glu Ser Val Ile
 1295 1300 1305
 Asn Gly Cys Lys Gly Lys Pro Cys Lys Asn Gly Gly Thr Cys Ala
 1310 1315 1320
 Val Ala Ser Asn Thr Ala Arg Gly Phe Ile Cys Lys Cys Pro Ala
 1325 1330 1335
 Gly Phe Glu Gly Ala Thr Cys Glu Asn Asp Ala Arg Thr Cys Gly
 1340 1345 1350
 Ser Leu Arg Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Ile Ser Gly Pro Arg
 1355 1360 1365
 Ser Pro Thr Cys Leu Cys Leu Gly Pro Phe Thr Gly Pro Glu Cys
 1370 1375 1380
 Gln Phe Pro Ala Ser Ser Pro Cys Leu Gly Gly Asn Pro Cys Tyr

1385	1390	1395
Asn Gln Gly Thr Cys Glu Pro Thr Ser Glu Ser Pro Phe Tyr Arg		
1400	1405	1410
Cys Leu Cys Pro Ala Lys Phe Asn Gly Leu Leu Cys His Ile Leu		
1415	1420	1425
Asp Tyr Ser Phe Gly Gly Gly Ala Gly Arg Asp Ile Pro Pro Pro		
1430	1435	1440
Leu Ile Glu Glu Ala Cys Glu Leu Pro Glu Cys Gln Glu Asp Ala		
1445	1450	1455
Gly Asn Lys Val Cys Ser Leu Gln Cys Asn Asn His Ala Cys Gly		
1460	1465	1470
Trp Asp Gly Gly Asp Cys Ser Leu Asn Phe Asn Asp Pro Trp Lys		
1475	1480	1485
Asn Cys Thr Gln Ser Leu Gln Cys Trp Lys Tyr Phe Ser Asp Gly		
1490	1495	1500
His Cys Asp Ser Gln Cys Asn Ser Ala Gly Cys Leu Phe Asp Gly		
1505	1510	1515
Phe Asp Cys Gln Arg Ala Glu Gly Gln Cys Asn Pro Leu Tyr Asp		
1520	1525	1530
Gln Tyr Cys Lys Asp His Phe Ser Asp Gly His Cys Asp Gln Gly		
1535	1540	1545
Cys Asn Ser Ala Glu Cys Glu Trp Asp Gly Leu Asp Cys Ala Glu		
1550	1555	1560
His Val Pro Glu Arg Leu Ala Ala Gly Thr Leu Val Val Val Val		
1565	1570	1575
Leu Met Pro Pro Glu Gln Leu Arg Asn Ser Ser Phe His Phe Leu		
1580	1585	1590
Arg Glu Leu Ser Arg Val Leu His Thr Asn Val Val Phe Lys Arg		
1595	1600	1605
Asp Ala His Gly Gln Gln Met Ile Phe Pro Tyr Tyr Gly Arg Glu		
1610	1615	1620

Glu Glu Leu Arg Lys His Pro Ile Lys Arg Ala Ala Glu Gly Trp
 1625 1630 1635
 Ala Ala Pro Asp Ala Leu Leu Gly Gln Val Lys Ala Ser Leu Leu
 1640 1645 1650
 Pro Gly Gly Ser Glu Gly Gly Arg Arg Arg Arg Glu Leu Asp Pro
 1655 1660 1665
 Met Asp Val Arg Gly Ser Ile Val Tyr Leu Glu Ile Asp Asn Arg
 1670 1675 1680
 Gln Cys Val Gln Ala Ser Ser Gln Cys Phe Gln Ser Ala Thr Asp
 1685 1690 1695
 Val Ala Ala Phe Leu Gly Ala Leu Ala Ser Leu Gly Ser Leu Asn
 1700 1705 1710
 Ile Pro Tyr Lys Ile Glu Ala Val Gln Ser Glu Thr Val Glu Pro
 1715 1720 1725
 Pro Pro Pro Ala Gln Leu His Phe Met Tyr Val Ala Ala Ala Ala
 1730 1735 1740
 Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu Leu Ser Arg
 1745 1750 1755
 Lys Arg Arg Arg Gln His Gly Gln Leu Trp Phe Pro Glu Gly Phe
 1760 1765 1770
 Lys Val Ser Glu Ala Ser Lys Lys Lys Arg Arg Glu Pro Leu Gly
 1775 1780 1785
 Glu Asp Ser Val Gly Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ala Ser Asp Gly
 1790 1795 1800
 Ala Leu Met Asp Asp Asn Gln Asn Glu Trp Gly Asp Glu Asp Leu
 1805 1810 1815
 Glu Thr Lys Lys Phe Arg Phe Glu Glu Pro Val Val Leu Pro Asp
 1820 1825 1830
 Leu Asp Asp Gln Thr Asp His Arg Gln Trp Thr Gln Gln His Leu
 1835 1840 1845
 Asp Ala Ala Asp Leu Arg Met Ser Ala Met Ala Pro Thr Pro Pro

1850	1855	1860
Gln Gly Glu Val Asp Ala Asp Cys Met Asp Val Asn Val Arg Gly		
1865	1870	1875
Pro Asp Gly Phe Thr Pro Leu Met Ile Ala Ser Cys Ser Gly Gly		
1880	1885	1890
Gly Leu Glu Thr Gly Asn Ser Glu Glu Glu Glu Asp Ala Pro Ala		
1895	1900	1905
Val Ile Ser Asp Phe Ile Tyr Gln Gly Ala Ser Leu His Asn Gln		
1910	1915	1920
Thr Asp Arg Thr Gly Glu Thr Ala Leu His Leu Ala Ala Arg Tyr		
1925	1930	1935
Ser Arg Ser Asp Ala Ala Lys Arg Leu Leu Glu Ala Ser Ala Asp		
1940	1945	1950
Ala Asn Ile Gln Asp Asn Met Gly Arg Thr Pro Leu His Ala Ala		
1955	1960	1965
Val Ser Ala Asp Ala Gln Gly Val Phe Gln Ile Leu Ile Arg Asn		
1970	1975	1980
Arg Ala Thr Asp Leu Asp Ala Arg Met His Asp Gly Thr Thr Pro		
1985	1990	1995
Leu Ile Leu Ala Ala Arg Leu Ala Val Glu Gly Met Leu Glu Asp		
2000	2005	2010
Leu Ile Asn Ser His Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Asp Leu Gly		
2015	2020	2025
Lys Ser Ala Leu His Trp Ala Ala Ala Val Asn Asn Val Asp Ala		
2030	2035	2040
Ala Val Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asn Lys Asp Met Gln Asn		
2045	2050	2055
Asn Arg Glu Glu Thr Pro Leu Phe Leu Ala Ala Arg Glu Gly Ser		
2060	2065	2070
Tyr Glu Thr Ala Lys Val Leu Leu Asp His Phe Ala Asn Arg Asp		
2075	2080	2085

Ile Thr Asp His Met Asp Arg Leu Pro Arg Asp Ile Ala Gln Glu
 2090 2095 2100
 Arg Met His His Asp Ile Val Arg Leu Leu Asp Glu Tyr Asn Leu
 2105 2110 2115
 Val Arg Ser Pro Gln Leu His Gly Ala Pro Leu Gly Gly Thr Pro
 2120 2125 2130
 Thr Leu Ser Pro Pro Leu Cys Ser Pro Asn Gly Tyr Leu Gly Ser
 2135 2140 2145
 Leu Lys Pro Gly Val Gln Gly Lys Lys Val Arg Lys Pro Ser Ser
 2150 2155 2160
 Lys Gly Leu Ala Cys Gly Ser Lys Glu Ala Lys Asp Leu Lys Ala
 2165 2170 2175
 Arg Arg Lys Lys Ser Gln Asp Gly Lys Gly Cys Leu Leu Asp Ser
 2180 2185 2190
 Ser Gly Met Leu Ser Pro Val Asp Ser Leu Glu Ser Pro His Gly
 2195 2200 2205
 Tyr Leu Ser Asp Val Ala Ser Pro Pro Leu Leu Pro Ser Pro Phe
 2210 2215 2220
 Gln Gln Ser Pro Ser Val Pro Leu Asn His Leu Pro Gly Met Pro
 2225 2230 2235
 Asp Thr His Leu Gly Ile Gly His Leu Asn Val Ala Ala Lys Pro
 2240 2245 2250
 Glu Met Ala Ala Leu Gly Gly Gly Gly Arg Leu Ala Phe Glu Thr
 2255 2260 2265
 Gly Pro Pro Arg Leu Ser His Leu Pro Val Ala Ser Gly Thr Ser
 2270 2275 2280
 Thr Val Leu Gly Ser Ser Ser Gly Gly Ala Leu Asn Phe Thr Val
 2285 2290 2295
 Gly Gly Ser Thr Ser Leu Asn Gly Gln Cys Glu Trp Leu Ser Arg
 2300 2305 2310
 Leu Gln Ser Gly Met Val Pro Asn Gln Tyr Asn Pro Leu Arg Gly

2315	2320	2325
Ser Val Ala Pro Gly Pro Leu	Ser Thr Gln Ala Pro	Ser Leu Gln
2330	2335	2340
His Gly Met Val Gly Pro Leu	His Ser Ser Leu Ala	Ala Ser Ala
2345	2350	2355
Leu Ser Gln Met Met Ser Tyr	Gln Gly Leu Pro Ser	Thr Arg Leu
2360	2365	2370
Ala Thr Gln Pro His Leu Val	Gln Thr Gln Gln Val	Gln Pro Gln
2375	2380	2385
Asn Leu Gln Met Gln Gln Gln	Asn Leu Gln Pro Ala	Asn Ile Gln
2390	2395	2400
Gln Gln Gln Ser Leu Gln Pro	Pro Pro Pro Pro Pro	Gln Pro His
2405	2410	2415
Leu Gly Val Ser Ser Ala Ala	Ser Gly His Leu Gly	Arg Ser Phe
2420	2425	2430
Leu Ser Gly Glu Pro Ser Gln	Ala Asp Val Gln Pro	Leu Gly Pro
2435	2440	2445
Ser Ser Leu Ala Val His Thr	Ile Leu Pro Gln Glu	Ser Pro Ala
2450	2455	2460
Leu Pro Thr Ser Leu Pro Ser	Ser Leu Val Pro Pro	Val Thr Ala
2465	2470	2475
Ala Gln Phe Leu Thr Pro Pro	Ser Gln His Ser Tyr	Ser Ser Pro
2480	2485	2490
Val Asp Asn Thr Pro Ser His	Gln Leu Gln Val Pro	Glu His Pro
2495	2500	2505
Phe Leu Thr Pro Ser Pro Glu	Ser Pro Asp Gln Trp	Ser Ser Ser
2510	2515	2520
Ser Pro His Ser Asn Val Ser	Asp Trp Ser Glu Gly	Val Ser Ser
2525	2530	2535
Pro Pro Thr Ser Met Gln Ser	Gln Ile Ala Arg Ile	Pro Glu Ala
2540	2545	2550

Phe Lys

2555

<210> 2

<211> 2531

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Met Pro Arg Leu Leu Thr Pro Leu Leu Cys Leu Thr Leu Leu Pro Ala

1 5 10 15

Leu Ala Ala Arg Gly Leu Arg Cys Ser Gln Pro Ser Gly Thr Cys Leu

 20 25 30

Asn Gly Gly Arg Cys Glu Val Ala Asn Gly Thr Glu Ala Cys Val Cys

 35 40 45

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

50 55 60

Ser Thr Pro Cys Lys Asn Ala Gly Thr Cys His Val Val Asp His Gly

65 70 75 80

Gly Thr Val Asp Tyr Ala Cys Ser Cys Pro Leu Gly Phe Ser Gly Pro

 85 90 95

Leu Cys Leu Thr Pro Leu Asp Asn Ala Cys Leu Ala Asn Pro Cys Arg

 100 105 110

Asn Gly Gly Thr Cys Asp Leu Leu Thr Leu Thr Glu Tyr Lys Cys Arg

 115 120 125

Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Lys Ser Cys Gln Gln Ala Asp Pro Cys

 130 135 140

Ala Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Pro Phe Glu Ser

145 150 155 160

Ser Tyr Ile Cys Arg Cys Pro Pro Gly Phe His Gly Pro Thr Cys Arg

 165 170 175

Gln Asp Val Asn Glu Cys Ser Gln Asn Pro Gly Leu Cys Arg His Gly

 180 185 190

Gly Thr Cys His Asn Glu Ile Gly Ser Tyr Arg Cys Ala Cys Arg Ala

Cys Glu Ile Asp Val Asn Glu Cys Ile Ser Asn Pro Cys Gln Asn Asp
 450 455 460
 Ala Thr Cys Leu Asp Gln Ile Gly Glu Phe Gln Cys Ile Cys Met Pro
 465 470 475 480
 Gly Tyr Glu Gly Val Tyr Cys Glu Ile Asn Thr Asp Glu Cys Ala Ser
 485 490 495

 Ser Pro Cys Leu His Asn Gly His Cys Met Asp Lys Ile Asn Glu Phe
 500 505 510
 Gln Cys Gln Cys Pro Lys Gly Phe Asn Gly His Leu Cys Gln Tyr Asp
 515 520 525
 Val Asp Glu Cys Ala Ser Thr Pro Cys Lys Asn Gly Ala Lys Cys Leu
 530 535 540
 Asp Gly Pro Asn Thr Tyr Thr Cys Val Cys Thr Glu Gly Tyr Thr Gly
 545 550 555 560

 Thr His Cys Glu Val Asp Ile Asp Glu Cys Asp Pro Asp Pro Cys His
 565 570 575
 Tyr Gly Ser Cys Lys Asp Gly Val Ala Thr Phe Thr Cys Leu Cys Gln
 580 585 590
 Pro Gly Tyr Thr Gly His His Cys Glu Thr Asn Ile Asn Glu Cys His
 595 600 605
 Ser Gln Pro Cys Arg His Gly Gly Thr Cys Gln Asp Arg Asp Asn Ser
 610 615 620

 Tyr Leu Cys Leu Cys Leu Lys Gly Thr Thr Gly Pro Asn Cys Glu Ile
 625 630 635 640
 Asn Leu Asp Asp Cys Ala Ser Asn Pro Cys Asp Ser Gly Thr Cys Leu
 645 650 655
 Asp Lys Ile Asp Gly Tyr Glu Cys Ala Cys Glu Pro Gly Tyr Thr Gly
 660 665 670
 Ser Met Cys Asn Val Asn Ile Asp Glu Cys Ala Gly Ser Pro Cys His
 675 680 685

 Asn Gly Gly Thr Cys Glu Asp Gly Ile Ala Gly Phe Thr Cys Arg Cys

Asp Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala Asn Cys
 945 950 955 960
 Thr Asp Cys Val Asp Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Val Gly Phe Asn
 965 970 975
 Gly Ile His Cys Glu Asn Asn Thr Pro Asp Cys Thr Glu Ser Ser Cys
 980 985 990
 Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Ile Asn Ser Phe Thr Cys Leu
 995 1000 1005

 Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Ser Tyr Cys Gln Tyr Asp Val Asn
 1010 1015 1020
 Glu Cys Asp Ser Arg Pro Cys Leu His Gly Gly Thr Cys Gln Asp
 1025 1030 1035
 Ser Tyr Gly Thr Tyr Lys Cys Thr Cys Pro Gln Gly Tyr Thr Gly
 1040 1045 1050
 Leu Asn Cys Gln Asn Leu Val Arg Trp Cys Asp Ser Ala Pro Cys
 1055 1060 1065

 Lys Asn Gly Gly Arg Cys Trp Gln Thr Asn Thr Gln Tyr His Cys
 1070 1075 1080
 Glu Cys Arg Ser Gly Trp Thr Gly Val Asn Cys Asp Val Leu Ser
 1085 1090 1095
 Val Ser Cys Glu Val Ala Ala Gln Lys Arg Gly Ile Asp Val Thr
 1100 1105 1110
 Leu Leu Cys Gln His Gly Gly Leu Cys Val Asp Glu Gly Asp Lys
 1115 1120 1125

 His Tyr Cys His Cys Gln Ala Gly Tyr Thr Gly Ser Tyr Cys Glu
 1130 1135 1140
 Asp Glu Val Asp Glu Cys Ser Pro Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala
 1145 1150 1155
 Thr Cys Thr Asp Tyr Leu Gly Gly Phe Ser Cys Lys Cys Val Ala
 1160 1165 1170
 Gly Tyr His Gly Ser Asn Cys Ser Glu Glu Ile Asn Glu Cys Leu

1175	1180	1185
Ser Gln Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asp Leu Thr Asn		
1190	1195	1200
Ser Tyr Lys Cys Ser Cys Pro Arg Gly Thr Gln Gly Val His Cys		
1205	1210	1215
Glu Ile Asn Val Asp Asp Cys His Pro Pro Leu Asp Pro Ala Ser		
1220	1225	1230
Arg Ser Pro Lys Cys Phe Asn Asn Gly Thr Cys Val Asp Gln Val		
1235	1240	1245
Gly Gly Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Val Gly Glu Arg		
1250	1255	1260
Cys Glu Gly Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys Asp Pro		
1265	1270	1275
Arg Gly Thr Gln Asn Cys Val Gln Arg Val Asn Asp Phe His Cys		
1280	1285	1290
Glu Cys Arg Ala Gly His Thr Gly Arg Arg Cys Glu Ser Val Ile		
1295	1300	1305
Asn Gly Cys Arg Gly Lys Pro Cys Lys Asn Gly Gly Val Cys Ala		
1310	1315	1320
Val Ala Ser Asn Thr Ala Arg Gly Phe Ile Cys Arg Cys Pro Ala		
1325	1330	1335
Gly Phe Glu Gly Ala Thr Cys Glu Asn Asp Ala Arg Thr Cys Gly		
1340	1345	1350
Ser Leu Arg Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Ile Ser Gly Pro Arg		
1355	1360	1365
Ser Pro Thr Cys Leu Cys Leu Gly Ser Phe Thr Gly Pro Glu Cys		
1370	1375	1380
Gln Phe Pro Ala Ser Ser Pro Cys Val Gly Ser Asn Pro Cys Tyr		
1385	1390	1395
Asn Gln Gly Thr Cys Glu Pro Thr Ser Glu Asn Pro Phe Tyr Arg		
1400	1405	1410

Cys Leu	Cys Pro	Ala Lys	Phe	Asn Gly	Leu Leu	Cys	His Ile	Leu
1415			1420				1425	
Asp Tyr	Ser Phe	Thr Gly	Gly	Ala Gly	Arg Asp	Ile	Pro Pro	Pro
1430			1435			1440		
Gln Ile	Glu Glu	Ala Cys	Glu	Leu Pro	Glu Cys	Gln	Val Asp	Ala
1445			1450			1455		
Gly Asn	Lys Val	Cys Asn	Leu	Gln Cys	Asn Asn	His	Ala Cys	Gly
1460			1465			1470		
Trp Asp	Gly Gly	Asp Cys	Ser	Leu Asn	Phe Asn	Asp	Pro Trp	Lys
1475			1480			1485		
Asn Cys	Thr Gln	Ser Leu	Gln	Cys Trp	Lys Tyr	Phe	Ser Asp	Gly
1490			1495			1500		
His Cys	Asp Ser	Gln Cys	Asn	Ser Ala	Gly Cys	Leu	Phe Asp	Gly
1505			1510			1515		
Phe Asp	Cys Gln	Leu Thr	Glu	Gly Gln	Cys Asn	Pro	Leu Tyr	Asp
1520			1525			1530		
Gln Tyr	Cys Lys	Asp His	Phe	Ser Asp	Gly His	Cys	Asp Gln	Gly
1535			1540			1545		
Cys Asn	Ser Ala	Glu Cys	Glu	Trp Asp	Gly Leu	Asp	Cys Ala	Glu
1550			1555			1560		
His Val	Pro Glu	Arg Leu	Ala	Ala Gly	Thr Leu	Val	Leu Val	Val
1565			1570			1575		
Leu Leu	Pro Pro	Asp Gln	Leu	Arg Asn	Asn Ser	Phe	His Phe	Leu
1580			1585			1590		
Arg Glu	Leu Ser	His Val	Leu	His Thr	Asn Val	Val	Phe Lys	Arg
1595			1600			1605		
Asp Ala	Gln Gly	Gln Gln	Met	Ile Phe	Pro Tyr	Tyr	Gly His	Glu
1610			1615			1620		
Glu Glu	Leu Arg	Lys His	Pro	Ile Lys	Arg Ser	Thr	Val Gly	Trp
1625			1630			1635		
Ala Thr	Ser Ser	Leu Leu	Pro	Gly Thr	Ser Gly	Gly	Arg Gln	Arg

1640	1645	1650
Arg Glu Leu Asp Pro Met Asp Ile Arg Gly Ser Ile Val Tyr Leu		
1655	1660	1665
Glu Ile Asp Asn Arg Gln Cys Val Gln Ser Ser Ser Gln Cys Phe		
1670	1675	1680
Gln Ser Ala Thr Asp Val Ala Ala Phe Leu Gly Ala Leu Ala Ser		
1685	1690	1695
Leu Gly Ser Leu Asn Ile Pro Tyr Lys Ile Glu Ala Val Lys Ser		
1700	1705	1710
Glu Pro Val Glu Pro Pro Leu Pro Ser Gln Leu His Leu Met Tyr		
1715	1720	1725
Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly		
1730	1735	1740
Val Leu Leu Ser Arg Lys Arg Arg Arg Gln His Gly Gln Leu Trp		
1745	1750	1755
Phe Pro Glu Gly Phe Lys Val Ser Glu Ala Ser Lys Lys Lys Arg		
1760	1765	1770
Arg Glu Pro Leu Gly Glu Asp Ser Val Gly Leu Lys Pro Leu Lys		
1775	1780	1785
Asn Ala Ser Asp Gly Ala Leu Met Asp Asp Asn Gln Asn Glu Trp		
1790	1795	1800
Gly Asp Glu Asp Leu Glu Thr Lys Lys Phe Arg Phe Glu Glu Pro		
1805	1810	1815
Val Val Leu Pro Asp Leu Ser Asp Gln Thr Asp His Arg Gln Trp		
1820	1825	1830
Thr Gln Gln His Leu Asp Ala Ala Asp Leu Arg Met Ser Ala Met		
1835	1840	1845
Ala Pro Thr Pro Pro Gln Gly Glu Val Asp Ala Asp Cys Met Asp		
1850	1855	1860
Val Asn Val Arg Gly Pro Asp Gly Phe Thr Pro Leu Met Ile Ala		
1865	1870	1875

Ser Cys Ser Gly Gly Gly Leu Glu Thr Gly Asn Ser Glu Glu Glu
 1880 1885 1890
 Glu Asp Ala Pro Ala Val Ile Ser Asp Phe Ile Tyr Gln Gly Ala
 1895 1900 1905

 Ser Leu His Asn Gln Thr Asp Arg Thr Gly Glu Thr Ala Leu His
 1910 1915 1920
 Leu Ala Ala Arg Tyr Ser Arg Ser Asp Ala Ala Lys Arg Leu Leu
 1925 1930 1935
 Glu Ala Ser Ala Asp Ala Asn Ile Gln Asp Asn Met Gly Arg Thr
 1940 1945 1950
 Pro Leu His Ala Ala Val Ser Ala Asp Ala Gln Gly Val Phe Gln
 1955 1960 1965

 Ile Leu Leu Arg Asn Arg Ala Thr Asp Leu Asp Ala Arg Met His
 1970 1975 1980
 Asp Gly Thr Thr Pro Leu Ile Leu Ala Ala Arg Leu Ala Val Glu
 1985 1990 1995
 Gly Met Leu Glu Asp Leu Ile Asn Ser His Ala Asp Val Asn Ala
 2000 2005 2010
 Val Asp Asp Leu Gly Lys Ser Ala Leu His Trp Ala Ala Ala Val
 2015 2020 2025

 Asn Asn Val Asp Ala Ala Val Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asn
 2030 2035 2040
 Lys Asp Met Gln Asn Asn Lys Glu Glu Thr Pro Leu Phe Leu Ala
 2045 2050 2055
 Ala Arg Glu Gly Ser Tyr Glu Thr Ala Lys Val Leu Leu Asp His
 2060 2065 2070
 Phe Ala Asn Arg Asp Ile Thr Asp His Met Asp Arg Leu Pro Arg
 2075 2080 2085

 Asp Ile Ala Gln Glu Arg Met His His Asp Ile Val Arg Leu Leu
 2090 2095 2100
 Asp Glu Tyr Asn Leu Val Arg Ser Pro Gln Leu His Gly Thr Ala

2105	2110	2115
Leu Gly Gly Thr Pro Thr Leu Ser Pro Thr Leu Cys Ser Pro Asn		
2120	2125	2130
Gly Tyr Leu Gly Asn Leu Lys Ser Ala Thr Gln Gly Lys Lys Ala		
2135	2140	2145
Arg Lys Pro Ser Thr Lys Gly Leu Ala Cys Gly Ser Lys Glu Ala		
2150	2155	2160
Lys Asp Leu Lys Ala Arg Arg Lys Lys Ser Gln Asp Gly Lys Gly		
2165	2170	2175
Cys Leu Leu Asp Ser Ser Ser Met Leu Ser Pro Val Asp Ser Leu		
2180	2185	2190
Glu Ser Pro His Gly Tyr Leu Ser Asp Val Ala Ser Pro Pro Leu		
2195	2200	2205
Leu Pro Ser Pro Phe Gln Gln Ser Pro Ser Met Pro Leu Ser His		
2210	2215	2220
Leu Pro Gly Met Pro Asp Thr His Leu Gly Ile Ser His Leu Asn		
2225	2230	2235
Val Ala Ala Lys Pro Glu Met Ala Ala Leu Ala Gly Gly Ser Arg		
2240	2245	2250
Leu Ala Phe Glu Pro Pro Pro Pro Arg Leu Ser His Leu Pro Val		
2255	2260	2265
Ala Ser Ser Ala Ser Thr Val Leu Ser Thr Asn Gly Thr Gly Ala		
2270	2275	2280
Met Asn Phe Thr Val Gly Ala Pro Ala Ser Leu Asn Gly Gln Cys		
2285	2290	2295
Glu Trp Leu Pro Arg Leu Gln Asn Gly Met Val Pro Ser Gln Tyr		
2300	2305	2310
Asn Pro Leu Arg Pro Gly Val Thr Pro Gly Thr Leu Ser Thr Gln		
2315	2320	2325
Ala Ala Gly Leu Gln His Ser Met Met Gly Pro Leu His Ser Ser		
2330	2335	2340

Leu Ser Thr Asn Thr Leu Ser Pro Ile Ile Tyr Gln Gly Leu Pro
 2345 2350 2355
 Asn Thr Arg Leu Ala Thr Gln Pro His Leu Val Gln Thr Gln Gln
 2360 2365 2370
 Val Gln Pro Gln Asn Leu Gln Leu Gln Pro Gln Asn Leu Gln Pro
 2375 2380 2385

 Pro Ser Gln Pro His Leu Ser Val Ser Ser Ala Ala Asn Gly His
 2390 2395 2400
 Leu Gly Arg Ser Phe Leu Ser Gly Glu Pro Ser Gln Ala Asp Val
 2405 2410 2415
 Gln Pro Leu Gly Pro Ser Ser Leu Pro Val His Thr Ile Leu Pro
 2420 2425 2430
 Gln Glu Ser Gln Ala Leu Pro Thr Ser Leu Pro Ser Ser Met Val
 2435 2440 2445

 Pro Pro Met Thr Thr Thr Gln Phe Leu Thr Pro Pro Ser Gln His
 2450 2455 2460
 Ser Tyr Ser Ser Ser Pro Val Asp Asn Thr Pro Ser His Gln Leu
 2465 2470 2475
 Gln Val Pro Glu His Pro Phe Leu Thr Pro Ser Pro Glu Ser Pro
 2480 2485 2490
 Asp Gln Trp Ser Ser Ser Ser Pro His Ser Asn Ile Ser Asp Trp
 2495 2500 2505

 Ser Glu Gly Ile Ser Ser Pro Pro Thr Thr Met Pro Ser Gln Ile
 2510 2515 2520
 Thr His Ile Pro Glu Ala Phe Lys
 2525 2530
 <210> 3
 <211> 2321
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Met Gly Pro Gly Ala Arg Gly Arg Arg Arg Arg Arg Pro Met Ser

1 5 10 15
 Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Val Arg Ala Leu Pro Leu Leu Leu Leu
 20 25 30

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

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

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

 Leu Pro Gly Phe Glu Gly Gln Asn Cys Glu Val Asn Val Asp Asp Cys
 225 230 235 240
 Pro Gly His Arg Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Val Asn
 245 250 255

Thr Tyr Asn Cys Gln Cys Pro Pro Glu Trp Thr Gly Gln Phe Cys Thr
 260 265 270
 Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln Leu Gln Pro Asn Ala Cys His Asn Gly
 275 280 285

 Gly Thr Cys Phe Asn Thr Leu Gly Gly His Ser Cys Val Cys Val Asn
 290 295 300
 Gly Trp Thr Gly Glu Ser Cys Ser Gln Asn Ile Asp Asp Cys Ala Thr
 305 310 315 320
 Ala Val Cys Phe His Gly Ala Thr Cys His Asp Arg Val Ala Ser Phe
 325 330 335
 Tyr Cys Ala Cys Pro Met Gly Lys Thr Gly Leu Leu Cys His Leu Asp
 340 345 350

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

 Cys Gln Cys Gly Arg Gly Tyr Thr Gly Pro Arg Cys Glu Thr Asp Val
 420 425 430
 Asn Glu Cys Leu Ser Gly Pro Cys Arg Asn Gln Ala Thr Cys Leu Asp
 435 440 445
 Arg Ile Gly Gln Phe Thr Cys Ile Cys Met Ala Gly Phe Thr Gly Thr
 450 455 460
 Tyr Cys Glu Val Asp Ile Asp Glu Cys Gln Ser Ser Pro Cys Val Asn
 465 470 475 480

 Gly Gly Val Cys Lys Asp Arg Val Asn Gly Phe Ser Cys Thr Cys Pro
 485 490 495
 Ser Gly Phe Ser Gly Ser Thr Cys Gln Leu Asp Val Asp Glu Cys Ala

Gly Met Gly Phe His Cys Thr Cys Pro Pro Gly Val Gln Gly Arg Gln
 755 760 765
 Cys Glu Leu Leu Ser Pro Cys Thr Pro Asn Pro Cys Glu His Gly Gly
 770 775 780
 Arg Cys Glu Ser Ala Pro Gly Gln Leu Pro Val Cys Ser Cys Pro Gln
 785 790 795 800

 Gly Trp Gln Gly Pro Arg Cys Gln Gln Asp Val Asp Glu Cys Ala Gly
 805 810 815
 Pro Ala Pro Cys Gly Pro His Gly Ile Cys Thr Asn Leu Ala Gly Ser
 820 825 830
 Phe Ser Cys Thr Cys His Gly Gly Tyr Thr Gly Pro Ser Cys Asp Gln
 835 840 845
 Asp Ile Asn Asp Cys Asp Pro Asn Pro Cys Leu Asn Gly Gly Ser Cys
 850 855 860

 Gln Asp Gly Val Gly Ser Phe Ser Cys Ser Cys Leu Pro Gly Phe Ala
 865 870 875 880
 Gly Pro Arg Cys Ala Arg Asp Val Asp Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys
 885 890 895
 Gly Pro Gly Thr Cys Thr Asp His Val Ala Ser Phe Thr Cys Thr Cys
 900 905 910
 Pro Pro Gly Tyr Gly Gly Phe His Cys Glu Gln Asp Leu Pro Asp Cys
 915 920 925

 Ser Pro Ser Ser Cys Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Val Asn
 930 935 940
 Ser Phe Ser Cys Leu Cys Arg Pro Gly Tyr Thr Gly Ala His Cys Gln
 945 950 955 960
 His Glu Ala Asp Pro Cys Leu Ser Arg Pro Cys Leu His Gly Gly Val
 965 970 975
 Cys Ser Ala Ala His Pro Gly Phe Arg Cys Thr Cys Leu Glu Ser Phe
 980 985 990

 Thr Gly Pro Gln Cys Gln Thr Leu Val Asp Trp Cys Ser Arg Gln Pro

995	1000	1005
Cys Gln Asn Gly Gly Arg Cys Val Gln Thr Gly Ala Tyr Cys Leu		
1010	1015	1020
Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Arg Leu Cys Asp Ile Arg Ser Leu		
1025	1030	1035
Pro Cys Arg Glu Ala Ala Ala Gln Ile Gly Val Arg Leu Glu Gln		
1040	1045	1050
Leu Cys Gln Ala Gly Gly Gln Cys Val Asp Glu Asp Ser Ser His		
1055	1060	1065
Tyr Cys Val Cys Pro Glu Gly Arg Thr Gly Ser His Cys Glu Gln		
1070	1075	1080
Glu Val Asp Pro Cys Leu Ala Gln Pro Cys Gln His Gly Gly Thr		
1085	1090	1095
Cys Arg Gly Tyr Met Gly Gly Tyr Met Cys Glu Cys Leu Pro Gly		
1100	1105	1110
Tyr Asn Gly Asp Asn Cys Glu Asp Asp Val Asp Glu Cys Ala Ser		
1115	1120	1125
Gln Pro Cys Gln His Gly Gly Ser Cys Ile Asp Leu Val Ala Arg		
1130	1135	1140
Tyr Leu Cys Ser Cys Pro Pro Gly Thr Leu Gly Val Leu Cys Glu		
1145	1150	1155
Ile Asn Glu Asp Asp Cys Gly Pro Gly Pro Pro Leu Asp Ser Gly		
1160	1165	1170
Pro Arg Cys Leu His Asn Gly Thr Cys Val Asp Leu Val Gly Gly		
1175	1180	1185
Phe Arg Cys Thr Cys Pro Pro Gly Tyr Thr Gly Leu Arg Cys Glu		
1190	1195	1200
Ala Asp Ile Asn Glu Cys Arg Ser Gly Ala Cys His Ala Ala His		
1205	1210	1215
Thr Arg Asp Cys Leu Gln Asp Pro Gly Gly Gly Phe Arg Cys Leu		
1220	1225	1230

Cys His Ala Gly Phe Ser Gly Pro Arg Cys Gln Thr Val Leu Ser
 1235 1240 1245
 Pro Cys Glu Ser Gln Pro Cys Gln His Gly Gly Gln Cys Arg Pro
 1250 1255 1260
 Ser Pro Gly Pro Gly Gly Gly Leu Thr Phe Thr Cys His Cys Ala
 1265 1270 1275
 Gln Pro Phe Trp Gly Pro Arg Cys Glu Arg Val Ala Arg Ser Cys
 1280 1285 1290

 Arg Glu Leu Gln Cys Pro Val Gly Val Pro Cys Gln Gln Thr Pro
 1295 1300 1305
 Arg Gly Pro Arg Cys Ala Cys Pro Pro Gly Leu Ser Gly Pro Ser
 1310 1315 1320
 Cys Arg Ser Phe Pro Gly Ser Pro Pro Gly Ala Ser Asn Ala Ser
 1325 1330 1335
 Cys Ala Ala Ala Pro Cys Leu His Gly Gly Ser Cys Arg Pro Ala
 1340 1345 1350

 Pro Leu Ala Pro Phe Phe Arg Cys Ala Cys Ala Gln Gly Trp Thr
 1355 1360 1365
 Gly Pro Arg Cys Glu Ala Pro Ala Ala Ala Pro Glu Val Ser Glu
 1370 1375 1380
 Glu Pro Arg Cys Pro Arg Ala Ala Cys Gln Ala Lys Arg Gly Asp
 1385 1390 1395
 Gln Arg Cys Asp Arg Glu Cys Asn Ser Pro Gly Cys Gly Trp Asp
 1400 1405 1410

 Gly Gly Asp Cys Ser Leu Ser Val Gly Asp Pro Trp Arg Gln Cys
 1415 1420 1425
 Glu Ala Leu Gln Cys Trp Arg Leu Phe Asn Asn Ser Arg Cys Asp
 1430 1435 1440
 Pro Ala Cys Ser Ser Pro Ala Cys Leu Tyr Asp Asn Phe Asp Cys
 1445 1450 1455
 His Ala Gly Gly Arg Glu Arg Thr Cys Asn Pro Val Tyr Glu Lys

1460	1465	1470
Tyr Cys Ala Asp His Phe Ala Asp Gly Arg Cys Asp Gln Gly Cys		
1475	1480	1485
Asn Thr Glu Glu Cys Gly Trp Asp Gly Leu Asp Cys Ala Ser Glu		
1490	1495	1500
Val Pro Ala Leu Leu Ala Arg Gly Val Leu Val Leu Thr Val Leu		
1505	1510	1515
Leu Pro Pro Glu Glu Leu Leu Arg Ser Ser Ala Asp Phe Leu Gln		
1520	1525	1530
Arg Leu Ser Ala Ile Leu Arg Thr Ser Leu Arg Phe Arg Leu Asp		
1535	1540	1545
Ala His Gly Gln Ala Met Val Phe Pro Tyr His Arg Pro Ser Pro		
1550	1555	1560
Gly Ser Glu Pro Arg Ala Arg Arg Glu Leu Ala Pro Glu Val Ile		
1565	1570	1575
Gly Ser Val Val Met Leu Glu Ile Asp Asn Arg Leu Cys Leu Gln		
1580	1585	1590
Ser Pro Glu Asn Asp His Cys Phe Pro Asp Ala Gln Ser Ala Ala		
1595	1600	1605
Asp Tyr Leu Gly Ala Leu Ser Ala Val Glu Arg Leu Asp Phe Pro		
1610	1615	1620
Tyr Pro Leu Arg Asp Val Arg Gly Glu Pro Leu Glu Pro Pro Glu		
1625	1630	1635
Pro Ser Val Pro Leu Leu Pro Leu Leu Val Ala Gly Ala Val Leu		
1640	1645	1650
Leu Leu Val Ile Leu Val Leu Gly Val Met Val Ala Arg Arg Lys		
1655	1660	1665
Arg Glu His Ser Thr Leu Trp Phe Pro Glu Gly Phe Ser Leu His		
1670	1675	1680
Lys Asp Val Ala Ser Gly His Lys Gly Arg Arg Glu Pro Val Gly		
1685	1690	1695

Gln Asp Ala Leu Gly Met Lys Asn Met Ala Lys Gly Glu Ser Leu
 1700 1705 1710

Met Gly Glu Val Ala Thr Asp Trp Met Asp Thr Glu Cys Pro Glu
 1715 1720 1725

Ala Lys Arg Leu Lys Val Glu Glu Pro Gly Met Gly Ala Glu Glu
 1730 1735 1740

Ala Val Asp Cys Arg Gln Trp Thr Gln His His Leu Val Ala Ala
 1745 1750 1755

Asp Ile Arg Val Ala Pro Ala Met Ala Leu Thr Pro Pro Gln Gly
 1760 1765 1770

Asp Ala Asp Ala Asp Gly Met Asp Val Asn Val Arg Gly Pro Asp
 1775 1780 1785

Gly Phe Thr Pro Leu Met Leu Ala Ser Phe Cys Gly Gly Ala Leu
 1790 1795 1800

Glu Pro Met Pro Thr Glu Glu Asp Glu Ala Asp Asp Thr Ser Ala
 1805 1810 1815

Ser Ile Ile Ser Asp Leu Ile Cys Gln Gly Ala Gln Leu Gly Ala
 1820 1825 1830

Arg Thr Asp Arg Thr Gly Glu Thr Ala Leu His Leu Ala Ala Arg
 1835 1840 1845

Tyr Ala Arg Ala Asp Ala Ala Lys Arg Leu Leu Asp Ala Gly Ala
 1850 1855 1860

Asp Thr Asn Ala Gln Asp His Ser Gly Arg Thr Pro Leu His Thr
 1865 1870 1875

Ala Val Thr Ala Asp Ala Gln Gly Val Phe Gln Ile Leu Ile Arg
 1880 1885 1890

Asn Arg Ser Thr Asp Leu Asp Ala Arg Met Ala Asp Gly Ser Thr
 1895 1900 1905

Ala Leu Ile Leu Ala Ala Arg Leu Ala Val Glu Gly Met Val Glu
 1910 1915 1920

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

1925	1930	1935
Gly Lys Ser Ala Leu His Trp	Ala Ala Ala Val	Asn Asn Val Glu
1940	1945	1950
Ala Thr Leu Ala Leu Leu Lys	Asn Gly Ala Asn Lys	Asp Met Gln
1955	1960	1965
Asp Ser Lys Glu Glu Thr Pro	Leu Phe Leu Ala Ala	Arg Glu Gly
1970	1975	1980
Ser Tyr Glu Ala Ala Lys Leu	Leu Leu Asp His Phe	Ala Asn Arg
1985	1990	1995
Glu Ile Thr Asp His Leu Asp	Arg Leu Pro Arg Asp	Val Ala Gln
2000	2005	2010
Glu Arg Leu His Gln Asp Ile	Val Arg Leu Leu Asp	Gln Pro Ser
2015	2020	2025
Gly Pro Arg Ser Pro Pro Gly	Pro His Gly Leu Gly	Pro Leu Leu
2030	2035	2040
Cys Pro Pro Gly Ala Phe Leu	Pro Gly Leu Lys Ala	Ala Gln Ser
2045	2050	2055
Gly Ser Lys Lys Ser Arg Arg	Pro Pro Gly Lys Ala	Gly Leu Gly
2060	2065	2070
Pro Gln Gly Pro Arg Gly Arg	Gly Lys Lys Leu Thr	Leu Ala Cys
2075	2080	2085
Pro Gly Pro Leu Ala Asp Ser	Ser Val Thr Leu Ser	Pro Val Asp
2090	2095	2100
Ser Leu Asp Ser Pro Arg Pro	Phe Gly Gly Pro Pro	Ala Ser Pro
2105	2110	2115
Gly Gly Phe Pro Leu Glu Gly	Pro Tyr Ala Ala Ala	Thr Ala Thr
2120	2125	2130
Ala Val Ser Leu Ala Gln Leu	Gly Gly Pro Gly Arg	Ala Gly Leu
2135	2140	2145
Gly Arg Gln Pro Pro Gly Gly	Cys Val Leu Ser Leu	Gly Leu Leu
2150	2155	2160

Asn Pro Val Ala Val Pro Leu Asp Trp Ala Arg Leu Pro Pro Pro
 2165 2170 2175

Ala Pro Pro Gly Pro Ser Phe Leu Leu Pro Leu Ala Pro Gly Pro
 2180 2185 2190

Gln Leu Leu Asn Pro Gly Thr Pro Val Ser Pro Gln Glu Arg Pro
 2195 2200 2205

Pro Pro Tyr Leu Ala Val Pro Gly His Gly Glu Glu Tyr Pro Val
 2210 2215 2220

Ala Gly Ala His Ser Ser Pro Pro Lys Ala Arg Phe Leu Arg Val
 2225 2230 2235

Pro Ser Glu His Pro Tyr Leu Thr Pro Ser Pro Glu Ser Pro Glu
 2240 2245 2250

His Trp Ala Ser Pro Ser Pro Pro Ser Leu Ser Asp Trp Ser Glu
 2255 2260 2265

Ser Thr Pro Ser Pro Ala Thr Ala Thr Gly Ala Met Ala Thr Thr
 2270 2275 2280

Thr Gly Ala Leu Pro Ala Gln Pro Leu Pro Leu Ser Val Pro Ser
 2285 2290 2295

Ser Leu Ala Gln Ala Gln Thr Gln Leu Gly Pro Gln Pro Glu Val
 2300 2305 2310

Thr Pro Lys Arg Gln Val Leu Ala
 2315 2320

<210> 4
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <400> 4

Val Met Val Ala Arg Arg Lys Arg Glu His Ser Thr Leu Trp
 1 5 10

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 9

【변경전】

항제

【변경후】

항제