



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0079301
(43) 공개일자 2008년08월29일

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-7016629

(22) 출원일자 2008년07월08일

심사청구일자 없음

변역문제출일자 2008년07월08일

(86) 국제출원번호 PCT/US2006/047308

국제출원일자 2006년12월11일

(87) 국제공개번호 WO 2007/075326

국제공개일자 2007년07월05일

(30) 우선권주장

60/749,246 2005년12월09일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(71) 출원인

시애틀 지네틱스, 인크.

미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브
에스.이. 21823

(72) 발명자

드래츠먼, 조나단

미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브
에스.이. 21823

로우, 채-룽

미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브
에스.이. 21823

루이스, 팀

미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브
에스.이. 21823

(74) 대리인

백남훈

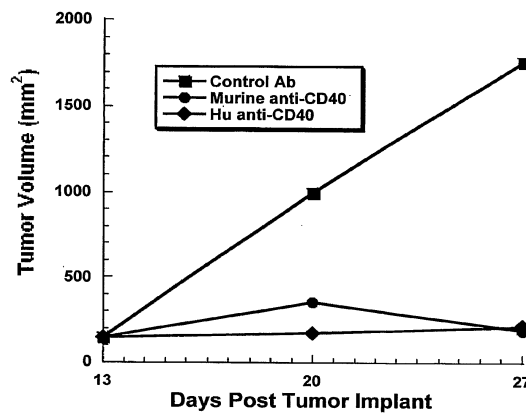
전체 청구항 수 : 총 54 항

(54) CD 4 0 결합제를 이용하는 방법

(57) 요약

CD40-관련 질환의 치료를 위해 CD40 결합제를 사용하는 방법이 제공된다.

대표도 - 도4



(30) 우선권주장

60/811,301	2006년06월05일	미국(US)
60/811,353	2006년06월05일	미국(US)
60/847,234	2006년09월25일	미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

(a) 치료 또는 예방이 요구되는 환자에게 (i) CD40에 면역특이적으로 결합하고; (ii) B 세포 상에서 세포 표면 CD40에 대한 CD40 리간드의 결합을 45% 이상 증가시키는 초기 용량의 CD40 결합제를 투여하고;

(b) 상기 환자에게 제2 용량의 CD40 결합제를 투여하는 것을 포함하고;

상기 초기 용량이 제2 용량보다 적고, 그로 인해 환자는 감소된 사이토카인 방출을 나타내고;

상기 CD40 결합제는 CD40-관련 장애의 세포의 성장 또는 증식을 억제하는, CD40-관련 장애의 치료 또는 예방을 위한 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 초기 용량이 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg 또는 약 4 mg/kg인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 제2 용량이 약 1 mg/kg 내지 약 16 mg/kg인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 제2 용량이 약 1 mg/kg 내지 약 8 mg/kg인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 초기 용량이 및 후속하는 용량이 연속된 시기에 투여되는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 후속하는 용량이 초기 용량 후 2일째, 3일째, 4일째 또는 7일째에 투여되는 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 환자에게 제3 용량의 CD40 결합제를 투여하는 것을 추가로 포함하고, 상기 제3 용량이 제2 용량보다 많거나 동일하고; 사이토카인 방출이 감소되는 방법.

청구항 8

제1항 또는 제7항에 있어서, 그로 인해 CD40 결합제의 투여와 관련된 유해 사례가 감소되는 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 환자에게 제2 용량의 투여 전에 두 번의 초기 용량을 투여하는 것을 추가로 포함하고, 상기 초기 용량은 동일한 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 초기 용량이 2일, 3일 또는 4일의 간격을 두고 투여되는 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 환자에게 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함하고, 상기 치료제가 CD40 결합제에 의해 유도된 사이토카인 방출을 감소시키는 방법.

청구항 12

제12항에 있어서, 상기 치료제가 스테로이드 또는 면역조절제인 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 CD40 결합제가 인간화, 키메라 또는 인간 항체인 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 CD40 결합제가 서열번호: 2의 인간 가변 도메인 중쇄 아형 III 공통 아미노산 서열의 골격 영역과 90% 이상의 동일한 아미노산 서열을 갖는 골격 영역을 포함하는 인간화 중쇄 가변 도메인을 포함하고; 서열번호: 3의 상응하는 중쇄 CDR과 90% 이상의 동일한 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 CDR을 포함하는, 인간화 중쇄 가변 도메인을 포함하는 방법.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 CD40 결합제가 서열번호: 13의 인간 가변 도메인 경쇄 아형 카파 I 공통 아미노산 서열의 골격 영역과 90% 이상의 동일한 서열을 포함하는 인간화 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 서열번호: 14의 상응하는 경쇄 CDR과 90% 이상의 동일한 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 CDR을 포함하는, 인간화 경쇄 가변 도메인을 포함하는 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 CD40 결합제가 서열번호: 13의 인간 가변 도메인 경쇄 아형 카파 I 공통 아미노산 서열의 골격 영역과 90% 이상의 동일한 서열을 포함하는 인간화 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 서열번호: 14의 상응하는 경쇄 CDR과 90% 이상의 동일한 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 CDR을 포함하는, 인간화 경쇄 가변 도메인을 추가로 포함하는 방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 각각의 중쇄 CDR이 서열번호: 3의 상응하는 중쇄 CDR과 90% 이상 동일한 방법.

청구항 18

제14항에 있어서, 상기 중쇄 CDRs가 서열번호: 3의 상응하는 중쇄 CDRs의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 19

제15항 또는 제16항에 있어서, 각각의 경쇄 CDR이 서열번호: 14의 상응하는 경쇄 CDR에 90% 이상 동일한 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 경쇄 CDRs가 서열번호: 14의 경쇄 CDRs의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 21

제14항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인이 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 또는 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 22

제15항에 있어서, 상기 경쇄 가변 도메인이 서열번호: 14, 서열번호: 15, 또는 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 23

제16항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인이 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 또는 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 도메인이 서열번호: 14, 서열번호: 15, 또는 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 24

제13항에 있어서, 상기 CD40 결합제가 인간 IgG 불변 영역을 추가로 포함하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 IgG 불변 영역의 아이소타입이 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 IgG 불변 영역의 아이소타입이 IgG1인 방법.

청구항 27

제15항 또는 제16항에 있어서, 상기 경쇄 불변 도메인이 카파 불변 도메인인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 각각 서열번호: 3 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 4 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 5 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 서열번호: 8 및 서열번호: 14; 서열번호: 9 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 15; 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 또는 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 29

제27항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 또는 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 30

제27항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 또는 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 31

제27항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 각각 서열번호: 3 및 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 32

제27항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 33

제13항에 있어서, 상기 항체가 hu sgn-0, hu sgn-1, hu sgn-2, hu sgn-4, hu sgn-14, hu sgn-15, hu sgn-16, hu sgn-17, hu sgn-18, hu sgn-19, hu sgn-22, hu sgn-23, hu sgn-26 또는 hu sgn-27인 방법.

청구항 34

제1항에 있어서, 상기 CD40 결합제가 항원-결합 항체 절편인 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 항체 절편이 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 절편, 다이아바디, 단쇄 항체, scFv 절편 또는 scFv-Fc인 방법.

청구항 36

제1항에 있어서, 상기 CD40-관련 장애가 만성 림프구성 백혈병, 다발골수종, 비-호지킨 림프종, 호지킨 질환 또는 발덴스트롬 마크로글로불린혈증인 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 CD40-관련 장애가 비-호지킨 림프종인 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 비-호지킨 림프종이 확산 거대 B 세포 림프종인 방법.

청구항 39

제1항에 있어서, 상기 CD40-관련 장애가 자가면역 질환인 방법.

청구항 40

제1항에 있어서, 이를 필요로 하는 환자에게 (c) 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함하고; CD40 발현 세포에 세포독성 또는 세포증식억제 효과를 발휘하고, 상기 치료제가 CD20 항체, 사이클로헥사미드 또는 탈리도미드가 아닌 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 치료제가 CD20 항체, 사이클로헥사미드 또는 탈리도미드가 아닌 방법.

청구항 42

제40항에 있어서, 상기 치료제가 Akt 생존 경로를 억제하는 방법.

청구항 43

제40항에 있어서, 상기 치료제가 인산-AKT 수준을 감소시키거나 억제하는 방법.

청구항 44

제40항에 있어서, 상기 치료제가 보르테오미드, 블레오마이신, CHOP, R-CHOP, ICE 또는 R-ICE인 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 치료제가 CHOP이고, 리툭시맵이 환자에게 투여되지 않는 방법.

청구항 46

제40항에 있어서, 상기 CD40 결합제 및 치료제가 상승효과를 나타내는 방법.

청구항 47

제40항에 있어서, 상기 CD40 결합제 및 치료제가 상승효과를 나타내는 방법.

청구항 48

제2항에 있어서, 상기 초기 용량이 4 mg/kg 이상이고 치료제가 환자에게 투여되고, 상기 치료제가 CD40 결합제에 의해 유도된 사이토카인 방출을 감소시키는 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 치료제가 CD40 결합제의 투여 전에 투여되는 방법.

청구항 50

제1항에 있어서, 상기 환자가 4회 용량 이상의 CD40 결합제의 1주기 이상을 투여 받는 방법.

청구항 51

제1항에 있어서, 상기 환자가 5회 용량 이상의 CD40 결합제의 주기 이상을 투여 받는 방법.

청구항 52

제50항 또는 제51항에 있어서, 상기 환자가 CD40 결합체의 2주기 이상을 투여 받는 방법.

청구항 53

제50항에 있어서, 상기 환자가 초기 용량 후 및 주기 동안에 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 혈장 수준을 유지하는 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 환자가 초기 용량 후 및 주기 동안에 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 혈장 수준을 유지하는 방법.

명세서

기술분야

- <1> 본 발명은 일반적으로 CD40 항체의 치료학적 용도에 관한 것이다. 보다 구체적으로, CD40 발현 세포들로 특정되는 다양한 질환 또는 장애의 치료를 위하여 CD40 항체를 이용하는 방법이 기술된다.

배경기술

- <2> 본 출원은 2005년 12월 9일자로 출원된 미국 가출원 제60/749,246호; 2006년 6월 5일자로 출원된 미국 가출원 제60/811,301호; 2006년 6월 5일자로 출원된 미국 가출원 제60/811,353호; 및 2006년 9월 25일자로 출원된 미국 가출원 제60/847,234호의 이익을 청구하고; 이들 각각은 그 전체로 본원에 참고로서 도입된다.
- <3> CD40은 타입 I 통합 막 당단백질 및 종양 괴사인자(TNF) 수용체 상과(superfamily)의 일원이다. CD40은 정상 및 종양 B 세포, 지상돌기접착상 세포, 기저 상피세포 및 암종을 포함하는 다양한 세포 유형에서 발현된다. 이는 또한 단핵구, 대식세포, 일부 내피세포, 및 모낭 수지상 세포 상에도 존재한다. CD40은 CD10 및 CD19의 출현에 이어 B 세포 전구체 상에 출현하면서, B 세포 개체발생의 초기에, 그러나 CD21, CD23, CD24의 발현, 및 표면 면역글로불린 M (sIgM)의 출현 전에 발현된다 (Uckun 등, 1990, *Blood* 15: 2449). 초기에는 CD40이 형질세포 내로의 B 세포의 말기 분화에 효력이 없음이 보고되었다고 하더라도, CD40은 편도 및 골수-유래 형질세포 상에서 검출되고 있다 (Pellat-Decounynck 등, 1994, *Blood* 84: 2597).
- <4> CD40과 그의 리간드 및 대응-수용체, CD40L (CD154, gp39, 및 TRAP로도 언급됨)과의 상호작용은 체액성 및 세포-매개성 면역반응을 야기한다. CD40L은 활성화된 림프구 CD4⁺ T 세포 상에서 우세하게 발현되는 막형단 단백질이다. TNF 패밀리의 다른 단백질과 같이, CD40L의 구조는 비공유 삼량체의 구조이다. CD40-매개 신호전달은 B 세포 증식, 면역글로불린 (Ig) 동종형 전환, 종자 중심 형성, 및 T 세포-의존성 항체에 대한 반응으로 기억 B 세포 구급에 요구되는 것으로 생각된다. CD40L의 CD40 결합은 CD40 다중화, 수지상 세포, 단핵구, 및 B 세포와 같은 항원 제시 세포를 위한 활성화 신호의 형성, 및 사이토카인-활성화 섬유모세포 및 상피세포를 위한 성장 및 분화 신호의 형성을 가져온다. CD40 신호는 다중화된 수용체로부터 일련의 TNF 수용체 관련 인자들 ("TRAFs")의 동원을 포함하는, 다양한 경로를 통해 변환되는 것으로 보고된다 (Kehry, 1996, *J. Immunol.* 156: 2345-2348). TRAFs의 아집단은 CD40을 포함하는 TNF 수용체 패밀리의 일원과 개별적으로 반응하여, 매우 다양한 하류 기작들에 자극을 제공한다. TRAF1 및 TRAF2는 아폽토시스의 조절에 연관되어 있다 (Speiser 등, 1997, *J. Exp. Med.* 185: 1777-1783; Yeh 등, 1997, *Immunity* 7: 715-725). TRAFs 2, 5, 및 6은 증식 및 활성화 반응에 참여한다. 정상 B 세포에서, CD40L에 대한 CD40의 결합은 수용체 복합체에 TRAF2 및 TRAF3을 동원하고 다른 TRAF's의 하향조절을 유도한다 (Kuhne 등, 1997, *J. Exp. Med.* 186: 337-342).
- <5> 아폽토시스 및 CD40-매개 신호전달은 B 세포 발달 및 분화 동안에 밀접하게 연관된다. B 세포에서 아폽토시스의 일차적인 기능은 미성숙 B 세포의 클론 결손으로, 이는 미성숙 B 세포 내 표면 Ig의 과도한 교차-결합의 결과인 것으로 생각된다. 성숙 B 세포의 운명은 또한 표면 Ig를 통한 신호전달 및 아마도 CD40L 분자에 의해 매개되는, 활성화된 T 세포로부터 유래된 신호의 조합에 의해 조절된다. 표면 Ig 및 CD40 유래 신호들의 조합은 아폽토시스 기작을 무시하고 종자 중심 B 세포 생존을 유지할 수 있다. 종자 중심에서 아폽토시스로부터 이러한 구조는 친화 항체-생산 기억 B 세포의 발달에 결정적이다.
- <6> T 및 B 세포 악성종양 모두에서, 항종양 효과 (아폽토시스를 수반 또는 수반하지 않는 성장 정지)는 주로 악성 세포가 정상 림프구의 활성화를 야기하는 자극에 노출될 때 일어난다. 이러한 활성화-유도 성장 정지는 항원

수용체 또는 동시자극 수용체를 통한 신호와 함께 관찰되고 있다 (Ashwell 등, 1987, *Science* 237: 61; Bridges 등, 1987, *J. Immunol.* 139: 4242; Page 및 Defranco, 1988, *J. Immunol.* 140: 3717; 및 Beckwith 등, 1990, *J. Natl. Cancer Inst.* 82: 501). 특정 자극성 CD40 항체 또는 수용성 CD40L에 의한 CD40 자극은 직접적으로 B 세포 림프종 성장을 억제한다 (Funakoshi 등, 1994, *Blood* 83: 2787-2784; Francisco 등, 2000, *Cancer Res.* 60: 3225-31).

- <7> 자극성 항체의 효과는 항체의 유형에 따라 다르다. 자극성 CD40 항체는 서로 다른 유형일 수 있는데, 예컨대: (1) CD40을 통해 자극성 신호를 전달하지만 CD40 및 CD40L, 예컨대, G28-5 사이의 상호작용을 증가시키거나 (Ledbetter 등, 미국 특허 제5,182,368호; PCT 공개 WO 96/18413), 또는 CD40 및 CD40L 사이의 상호작용을 감소시키지 않는 것들; 및 (2) CD40을 통해 자극성 신호를 전달하고 CD40 및 CD40L, 예컨대, S2C6 사이의 상호작용을 증가시킬 수 있는 것들 (Francisco 등, 2000, *Cancer Res.* 60: 3225-31)이다. 첫 번째 유형의 항체의 투여는 바람직하지 못한 사이토카인 방출과 연관되어 있는 것으로 보고되었다. 두 번째 유형의 항체의 투여 효과는 이전에 보고된 바 없다.

발명의 상세한 설명

<8> 발명의 요약

- <9> 본 발명은 CD40 표면 항원을 발현하는 세포로 특징되는 질환 및 장애의 치료를 위하여 CD40 결합제를 사용하는 방법을 제공한다. CD40 결합제는 인간 B 세포에 자극성 신호를 전달하고, CD40 및 CD40L 사이의 상호작용을 증강시키고, *in vivo* 항-종양 활성을 나타낼 수 있다. CD40 결합제는 CD40 표면 항원을 발현하는 세포의 증식으로 특징되는 다양한 질환 또는 장애의 치료에 사용될 수 있다.

- <10> 일부 태양에서, CD40 결합제는 CD40에 대한 CD40 리간드의 결합을 45% 이상, 50% 이상, 60% 이상 또는 75% 이상 증가시킨다. 다양한 실시형태에서, CD40 결합제는, 예를 들면, 암세포의 증식을 차단하거나, 별법으로, 예를 들면, CD40 표면 항원과의 결합을 통해, 이의 성장을 정지시킬 수 있고 혹은 그의 결핍, 사멸, 또는 별법으로 그의 결손을 야기할 수 있다.

- <11> CD40 결합제는 각각 적어도 에피토프 CD40, 전형적으로 인간 CD40을 특이적으로 인식하는 부분을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD40 결합제는 적어도 CD40에 특이적으로 결합하는 항체의 항원-결합 부위를 포함한다.

- <12> 일부 실시형태에서, CD40-관련 장애의 치료 또는 예방을 위한 방법이 제공된다. 방법은 일반적으로 (i) 면역특이적으로 CD40에 결합하고; (ii) B 세포 상의 세포 표면 CD40에 대한 CD40 리간드의 결합을 45% 이상 증가시키는, CD40 결합제의 초기 용량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. CD40 결합제의 두 번째 용량 역시 환자에게 투여된다. 초기 용량은 전형적으로 두 번째 용량보다 적은데, 이로 인해 환자는, 단독으로 투여된 경우, 상기 제제의 두 번째 용량에 비하여, 감소된 사이토카인 방출을 나타낸다. 초기 투여량은, 예를 들면, 약 0.5 mg/kg 내지 약 8 mg/kg일 수 있다.

- <13> 일부 실시형태에서, CD40 결합제는 CD40, 또는 그의 항원 결합 부위에 특이적으로 결합하는 인간화, 키메라 또는 인간 항체이다. 예를 들어, 항체 또는 항원-결합 부위는 중쇄 가변 도메인 및/또는 경쇄 가변 영역 도메인을 포함할 수 있다. 중쇄 가변 영역 도메인은 서열번호: 2의 인간 가변 도메인 중쇄 아군 III 공통 아미노산 서열의 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 골격 영역, 및 서열번호: 3의 대응하는 중쇄 CDR과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 CDR을 포함할 수 있다. 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 13의 인간 가변 영역 경쇄 아군 카파 I 공통 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 골격 영역, 및 서열번호: 14의 대응하는 경쇄 CDR과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 하나 이상의 CDR을 포함할 수 있다.

- <14> 일부 실시형태에서, 각각의 중쇄 CDR은 서열번호: 3의 대응하는 중쇄 CDR과 90% 이상 동일하다. 일부 실시형태에서, 중쇄 CDRs는 서열번호: 3의 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 각각의 경쇄 CDR은 서열번호: 14의 대응하는 경쇄 CDR과 90% 이상 동일하다. 일부 실시형태에서, 경쇄 CDRs는 서열번호: 14의 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 포함한다.

- <15> 일부 실시형태에서, 항체 또는 항원-결합 부위는 서열번호: 3, SEQ ED NO:4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 또는 서열번호: 11의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 항원-결합 부위는 서열번호: 14, 서열번호: 15, 또는 서열번호: 16의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 또는 항원-결합 부위는 서

서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 또는 서열번호: 11의 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열, 및 서열번호: 14, 서열번호: 15, 또는 서열번호: 16의 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 갖는다.

- <16> 일부 실시형태에서, 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인은 각각 서열번호: 3 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 4 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 5 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 8 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 9 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 15; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 또는 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함한다.
- <17> CD40 결합제는 인간 IgG 불변 영역, 예컨대, 예를 들면, 동종형 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 IgG 불변 영역을 포함할 수 있다. 결합제는 경쇄 불변 영역, 예컨대, 예를 들면, 카파 불변 영역을 포함할 수 있다.
- <18> 일부 실시형태에서, 결합제는 hu sgn-0, hu sgn-1, hu sgn-2, hu sgn-4, hu sgn-14, hu sgn-15, hu sgn-16, hu sgn-17, hu sgn-18, hu sgn-19, hu sgn-22, hu sgn-23, hu sgn-26 또는 hu sgn-27과 같은 항체이다. 일부 실시형태에서, CD40 결합제는 ATCC 기탁번호 PTA-110을 갖는 하이브리도마에 의해 분비되는 단일클론 항체 S2C6와 결합을 위해 경쟁한다.
- <19> CD40 결합제는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 절편, diabody, 단쇄 항체, scFv 절편 또는 scFv-Fc와 같은 항체의 항원-결합 부위일 수 있다. CD40 결합제는 선택적으로 화학요법제, 예컨대 아우리스타틴 (예를 들면, MMAE 또는 MMAF)로 표지되거나 접합될 수 있다.
- <20> 용기 내에 CD40 결합제를 포함하는 키트가 또한 제공된다. 키트는 선택적으로, CD40-관련 질환을 치료하거나 예방하기 위해 항체를 사용하는 지시와 같은, 부가적인 성분(들)을 포함할 수 있다.
- <21> CD40 결합제 및 약학적으로 허용가능한 부형제(들)를 포함하는 약학 조성물이 또한 제공된다.
- <22> 일부 실시형태에서, 인간화 중쇄 가변 영역 및/또는 인간화 경쇄 가변 영역을 암호화하는 분리된 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 폴리뉴클레오타이드는, 예를 들면, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 또는 서열번호: 11의 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 암호화할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한, 예를 들면, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 또는 서열번호: 16의 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 암호화할 수 있다.
- <23> 일부 실시형태에서, 분리된 폴리뉴클레오타이드는 각각 서열번호: 3 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 4 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 5 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 8 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 9 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 15; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 또는 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열 및 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 암호화한다.
- <24> 일부 실시형태에서, 인간 CD40을 발현하는 세포의 성장을 억제하는 방법이 제공된다. 방법은 세포에 CD40 결합제를 투여하는 것을 포함하는데, CD40 결합제는 인간 세포 표면 CD40 항원에 결합한다. CD40 항원에 대한 상기 제제의 결합은 세포의 성장 또는 분화를 억제한다.
- <25> 일부 실시형태에서, CD40-관련 장애를 갖는 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 방법은 CD40 결합제를 환자에게 투여하는 것을 포함하는데, 결합제는 인간 CD40에 결합한다. CD40에 대한 CD40 결합제의 결합은 CD40-관련 장애의 세포의 성장 또는 분화를 억제한다. CD40-관련 장애는, 예를 들면, 만성 림프성 백혈구, 버킷림프종, 다발골수종, T 세포 림프종, 비-버킷림프종, 호지킨병, 발렌스트롬 마크로글로불린혈증 또는 카포시육종일 수 있다.
- <26> 일부 실시형태에서, 말초 B 세포의 고갈을 유도하는 방법이 제공된다. 방법은 CD40 결합제를 세포에 투여하는 것을 포함하는데, 이 결합 절편은 인간 세포 표면 CD40 항원에 결합한다. CD40 항원에 대한 상기 제제의 결합은 이 세포의 고갈을 유도한다. 말초 B 세포는, 예를 들면, 환자에게서 자가면역 반응성을 나타낼 수 있다.
- <27> 본 발명은 첨부된 도면 및 서열목록과 함께, 바람직한 실시형태를 포함하는 하기의 상세한 설명을 참고로 하여 가장 효과적으로 이해될 것이다. 하기의 논의는 기술적이고, 설명적이고 예시적이며, 첨부된 청구항들 중의 어

는 하나에 의해 정의되는 범위를 제한하는 것으로 취해지지 않는다.

<28> 발명의 상세한 설명

<29> 설명의 명확성을 위해서, 제한 없이, 본 발명의 상세한 설명을 하기와 같이 세분한다.

<30> 본 발명에 상표명을 사용할 때, 달리 나타내지 않는 한, 상기 상표명은 또한 제형, 일반적인 약물, 및 제품의 활성 약학 성분(들)의 상표명을 지칭한다.

<31> 달리 한정하지 않는 한, 본 발명에 사용된 모든 기술 및 과학 용어들은 개시된 방법 및 조성물에 속하는 분야의 통상적인 숙련가에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

<32> 정의

<33> 용어 "CD40" 및 "CD40 표면 항원"은 정상 및 종양 B 세포의 표면상에서 발현되는 50 kD 당단백질을 지칭하며, 세포 증식 및 분화에 관여하는 신호에 대한 수용체로서 작용하고 때때로 Bp50이라 칭한다 (Ledbetter 등, 1987, *Immunol.* 138: 788-785). CD40을 암호화하는 cDNA 분자를 버킷 림프종 세포 주 라지 (Raji)로부터 제조된 라이브러리로부터 단리하였다 (Stamenkovic 등, 1989, *EMBO J.* 8: 1403). CD40을 발현하는 세포는 CD40의 표면 발현을 특징으로 하는 임의의 세포, 예를 들어, 이에 한정되는 것은 아니지만, 정상 및 종양 B 세포, 지상돌기집착상 세포, 기저 상피세포, 암종 세포, 대식세포, 내피 세포, 여포성 수상돌기 세포, 편도 세포, 및 골수 유래된 혈장 세포이다. 일부 실시태양에서, 상기 CD40 분자는 인간 CD40 분자이다.

<34> 본원에 사용된 바와 같이, "CD40 항원 에피토프" 및 "CD40 에피토프"란 용어는 항 CD40 항체와 면역반응할 수 있는 분자 (예를 들어 펩타이드) 또는 분자의 단편을 지칭하며 예를 들어 S2C6 단일클론 항체에 의해 인식되는 CD40 항원 결정인자를 포함한다. CD40 항원 에피토프는 단백질, 단백질 단편, 펩타이드 등에 포함될 수 있다. 상기 에피토프는 가장 통상적으로는 단백질, 짧은 올리고펩타이드, 올리고펩타이드 유사물질 (즉 CD40 항원의 항체 결합 성질을 모방하는 유기 화합물), 또는 이들의 조합이다.

<35> 본원에 사용된 바와 같이, "특이적 결합" 및 "특이적으로 결합하는"은 소정의 항원에 결합하는 항체를 지칭한다. 전형적으로는, 상기 항체는 약 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 이상의 친화성으로 결합하며, 상기 소정의 항원에 상기 소정의 항원 이외의 비 특이적 항원 (예를 들어 BSA, 카제인) 또는 밀접하게 관련된 항원에 결합하기 위한 친화성보다 2배 이상 큰 친화성으로 결합한다.

<36> "고유 항체" 및 "고유 면역글로불린"은 본원에서 두 개의 동일한 경쇄 (L) 및 두 개의 동일한 중쇄 (H)로 구성된, 전형적으로 약 150,000 달톤의 이형사합체 당단백질로서 정의된다. 각각의 경쇄는 하나의 이황화 결합에 의해 중쇄에 공유 결합하여 이중이량체를 형성한다. 상기 이중사합체는 상기와 같은 이중이량체의 2개의 동일한 중쇄 간의 공유 다이설파이드 결합에 의해 형성된다. 상기 경쇄 및 중쇄는 하나의 이황화 결합에 의해 함께 결합되지만, 상기 2개의 중쇄들간의 이황화 결합의 수는 면역글로불린 아이소타입에 의해 달라진다. 각각의 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적으로 이격된 쇠간 이황화 가교를 갖는다. 각각의 중쇄는 아미노 말단에 가변 영역 (V_H), 후속적으로 3개 또는 4개의 불변 영역 (CH_1 , CH_2 , CH_3 및 CH_4)뿐만 아니라 CH_1 과 CH_2 사이에 경첩 부위를 갖는다. 각각의 경쇄는 2개의 영역, 즉 아미노 말단 가변 영역 (V_L) 및 카복시 말단 불변 영역 (C_L)을 갖는다. 상기 V_L 영역은 상기 V_H 영역과 비 공유적으로 회합하는 반면, 상기 C_L 영역은 통상적으로 이황화 결합을 통해 상기 CH_1 영역에 공유 결합한다. 특정한 아미노산 잔기들이 상기 경 및 중쇄 가변 영역들 사이에 계면을 형성하는 것으로 여겨진다 (Chothia 등, 1985, *J. Mol. Biol.* 186: 651-663).

<37> "초가변성 (hypervariable)"이란 용어는 상기 가변 영역 내의 몇몇 서열들이 항체들간 서열에 있어서 광범위하게 상이하며 그의 특이적인 항원 결정인자들에 대한 각각의 특정 항체의 결합 및 특이성에 직접적으로 관련되는 잔기들을 함유한다는 사실을 지칭한다. 경쇄 및 중쇄 가변 영역 모두에 있어서 초가변성은 상보성 결정 부위 (CDR) 또는 초가변성 루프 (HVL)로서 공지된 3 개의 분절들에 집중된다. CDR은 문헌 (Kabat 등, 1991, In: Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD.)에서의 서열 비교에 의해 한정되는 반면, HVL은 문헌 (Chothia and Lesk 1987, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917)에 개시된 바와 같이, 상기 가변 영역의 3차원 구조에 따라 구조적으로 한정된다. 이들 두 가지 방법으로 CDR의 약간 상이한 정의가 발생하는 경우, 상기 구조적 정의가 바람직하다. 카바트 (Kabat)에 의해 한정된 바와 같이, CDR-L1은 경쇄 가변 영역에서 대략 잔기 24-34에, CDR-L2는 대략 잔기 50-56에, CDRL3은 대략 잔기 89-97에 위치하며; CDR-H1은 중쇄 가변 영역에서 대략 잔기 31-35에, CDR-H2는 대략 잔기

50-65에, CDR-H3은 대략 잔기 95-102에 위치한다.

- <38> 각각의 중쇄 및 경쇄 내 세 개의 CDRs는 골격 부위(FR)에 의해 분리되는데, 이는 덜 가변적인 경향이 있는 서열을 포함한다. 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 아미노 말단에서 카복시 말단까지, FRs 및 CDRs는 순서대로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4. 상기 FR의 큰 β 시트 배치는 상기 각각의 사슬 내부의 CDR을 서로뿐만 아니라 다른 사슬로부터의 CDR에 가깝게 한다. 생성되는 형태는 항원 결합 부위에 기여하지만 (Kabat 등, 1991, NIH Publ. No. 91-3242, Vol. I, pages 647-669 참조), 모든 CDR 잔기들이 항원 결합에 직접 관여할 필요는 없다.
- <39> FR 잔기 및 Ig 불변 영역은 항원 결합에 직접 관여하는 것이 아니고, 항원 결합에 기여하고/하거나 항체 효과기 작용을 매개한다. 일부 FR 잔기는 적어도 3가지 방식으로, 즉 에피토프에 직접 비 공유 결합함으로써, 하나 이상의 CDR 잔기와 상호작용함으로써, 및 중쇄와 경쇄 간의 계면에 영향을 미침으로써 항원 결합에 현저한 효과를 가질 수 있다. 상기 불변 영역은 항원 결합에 직접 관여하는 것이 아니라, 다양한 Ig 효과기 작용, 예를 들어 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC), 보체 의존성 세포독성(CDC) 및 항체 의존성 세포 식작용(ADCP)을 매개한다.
- <40> 척추동물 면역글로불린의 경쇄를 상기 불변 영역의 아미노산 서열을 근거로, 2개의 확실히 다른 부류, 즉 카파(κ) 및 람다(λ) 중 하나로 지정한다. 비교에 의해, 포유동물 면역글로불린의 중쇄를 불변 영역의 서열에 따라 5개의 주요 부류, 즉 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM 중 하나로 지정한다. IgG 및 IgA를 하위부류(아이소타입), 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂로 추가 분류한다. 면역글로불린의 상이한 부류들에 상응하는 중쇄 불변 영역들을 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 라 칭한다. 상기 고유 면역글로불린 부류의 서브유닛 구조 및 3차원 배치는 널리 공지되어 있다.
- <41> "항체", "항 CD40 항체", "인간화 항 CD40 항체" 및 "변형 인간화 항 CD40 항체"라는 용어는 본 발명에서 가장 광의의 의미로 사용되며, 구체적으로 단일클론 항체 (완전 길이 단일클론 항체), 다클론 항체, 다중특이 항체 (예를 들어 이중특이 항체), 및 항체 단편, 예를 들어 가변 영역 및 목적하는 생물 활성, 예를 들어 CD40 결합을 나타내는 항체의 다른 부분을 포함한다.
- <42> "단일클론 항체" (mAb)란 용어는 실질적으로 동종 항체 집단으로부터 수득되는 항체를 지칭한다; 즉 상기 집단을 포함하는 개별 항체들은 소량으로 존재할 수 있는 천연 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단일클론 항체는 단일 항원 결정인자 (또한 에피토프라 칭한다)에 대해 매우 특이적이다. 수식 어구인 "단일클론의"는 동일한 에피토프에 대한 실질적으로 동종인 항체 집단을 가리키며 임의의 특정한 방법에 의한 상기 항체의 필요한 생산으로서 해석되지 않는다. 단일클론 항체는 당해 분야에 공지된 임의의 기법 또는 방법, 예를 들어 문헌 (Kohler 등, 1975, *Nature* 256: 495]에 처음으로 개시된 하이브리도마 방법, 당해 분야에 공지된 재조합 DNA 방법 (예를 들어 미국 특허 제4,816,567호 참조)에 의해 제조될 수 있다. 또 다른 예에서, 단일클론 항체를 또한 문헌 (Clackson 등, 1991, *Nature* 352: 624-628, 및 Marks 등, 1991, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597]에 개시된 기법을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리할 수 있다.
- <43> 대조적으로, 다클론 항체의 제조에서 상기 항체는 전형적으로는 면역글로불린 아이소타입 및/또는 부류의 이중 집단이며 또한 다양한 에피토프 특이성을 나타낸다.
- <44> 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 하나 이상의 부위 또는 영역 중의 완전한 아미노산 서열의 일부가 또 다른 종으로부터 또는 또 다른 면역글로불린 부류 또는 아이소유형에 속하거나 또는 공통 서열로부터의 단일클론 항체 중의 상응하는 서열과 동일하거나, 유사하거나 상기의 변형인 단일클론 항체의 유형이다. 키메라 항체는, 상기 항체 단편이 그의 모 항체의 목적하는 생물 활성, 예를 들어 동일 에피토프에의 결합을 나타내는 한, 상기와 같은 항체의 단편을 포함한다 (예를 들면, 미국 특허 제4,816,567호; 및 Morrison 등, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6851-6855 참조).
- <45> "항체 단편", "항 CD40 항체 단편", "인간화 항 CD40 항체 단편", "변형 인간화 항 CD40 항체 단편"이란 용어는 완전 길이 항 CD40 항체의 일부를 지칭하며, 이때 가변 부위 또는 작용성, 예를 들어 특이적인 CD40 에피토프 결합은 유지된다. 항체 단편의 예로는, 이에 한정되는 것은 아니지만, Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, scFv 및 scFv-Fc 단편, 다이아바디, 선형 항체, 단쇄 항체, 미니바디, 항체 단편으로부터 형성된 다이아바디, 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체가 있다.
- <46> 특정 유형의 항체 단편은 완전 길이 항체의 효소 처리에 의해 생성될 수 있다. 항체의 파파인 절단은 "Fab" 단편이라 칭하는 2개의 동일한 항원 결합 단편 (이들은 각각 단일 항원 결합 부위를 갖는다), 및 소위 쉽게 결정

화하는 능력으로 인해 잔류 "Fc" 단편을 생성시킨다. 상기 Fab 단편은 또한 경쇄의 불변 영역 및 중쇄의 CH₁ 영역을 함유한다. 펩신 처리는 2개의 항원 결합 부위를 가지며 여전히 항원과 교차 결합할 수 있는 F(ab')₂ 단편을 생성시킨다.

<47> Fab' 단편은 상기 Ch 영역의 C 말단에 몇 개의 추가적인 잔기, 예를 들어 항체 경첩 부위로부터의 하나 이상의 시스테인의 존재에 의해 Fab 단편과 상이하다. Fab-SH는 여기에서 상기 불변 영역의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올 그룹을 갖는 Fab'를 가리킨다. F(ab')₂ 항체 단편은 상기 경첩 부위에서 시스테인 잔기에 의해 결합된 Fab' 단편 쌍이다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링도 또한 공지되어 있다.

<48> "Fv"는 밀착된 비 공유 회합으로 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 영역의 이량체로 이루어진 완전 항원 인식 및 결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이러한 배치에서, 각 가변 영역의 3개의 CDR은 상호작용하여 상기 VH-VL 이량체의 표면에 항원 결합 부위를 한정한다. 집합적으로, 6개의 CDR은 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다.

<49> "단쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 영역을 포함하는 단쇄 Fv 변이체이며, 여기에서 상기 영역들은 단일 폴리펩타이드 사슬 중에 존재하고 항원을 인식하고 결합할 수 있다. 상기 scFv 폴리펩타이드는 상기 scFv가 항체 결합에 목적하는 3차원 구조를 형성할 수 있게 하는 VH와 VL 영역 사이에 배치된 폴리펩타이드 링커를 임의로 함유한다 [예를 들어, 문헌 (Pluckthun, 1994, In The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315) 참조].

<50> 용어 "다이아바디"는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 지칭한다. 각각의 단편은 경쇄 가변 영역 (V_L)에 연쇄상으로 연결된 중쇄 가변 영역 (V_H)을 함유한다. 동일한 사슬 상에서 상기 두 영역 간 접합을 허용하기에 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 상기 결합된 V_H-V_L 영역을 또 다른 사슬의 상보적인 영역과 강제로 접합시켜 2개의 항원 결합 부위를 생성시킨다. 다이아바디는 예를 들어 EP 404,097; WO 93/11161; 및 문헌 (Hollinger 등, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448)에 보다 충분히 개시되어 있다.

<51> "선형 항체"란 용어는 한 쌍의 항원 결합 부위를 형성하는 한 쌍의 직렬 Fd 단편 (V_H-CH₁-V_H-CH₁)을 포함하는 항체를 지칭한다. 선형 항체는 예를 들어 문헌 (Zapata 등 1995, *Protein Eng.* 8 (10): 1057-1062)에 개시된 바와 같이 이중특이적 또는 단일특이적일 수 있다.

<52> CD40 결합제 (예컨대, 인간화 항체 또는 인간화 항체 절편은 면역글로불린 아미노산 서열 변이체, 또는 그의 절편을 포함할 수 있는데, 이들은 소정의 항원에 결합할 수 있고 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 실질적으로 갖는 하나 이상의 FRs 및 비인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 실질적으로 갖는 하나 이상의 CDRs를 포함한다. 상기 비인간 아미노산 서열을 본원에서는 "수입 (import)" 서열이라 지칭하며, 이를 전형적으로는 "수입" 항체 영역, 특히 가변 영역으로부터 취한다. 일반적으로, 인간화 항체는 인간 중쇄 또는 경쇄 가변 영역의 FR 사이에 삽입된, 비인간 항체의 적어도 CDR 또는 HVL을 포함한다. 몇몇 태양에서, 인간화 항 CD40 항체는 인간 공통 서열 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 FR 사이에 삽입된 쥐 단일클론 항체 S2C6으로부터 유래된 CDR 및/또는 HVL 잔기 또는 서열을 함유한다.

<53> 또 다른 태양에서, 인간화 항 CD40 항체는 하나 이상 및 전형적으로는 2개의 가변 영역 (예를 들어 Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc 및 Fv 단편 중에 함유된) 거의 전부를 포함하며, 여기에서 상기 CDR의 전부 또는 거의 전부는 비인간 면역글로불린의 것들에 상응하며, 상기 FR의 전부 또는 거의 전부는 인간 면역글로불린 공통 서열의 것들이다. 또 다른 태양에서, 인간화 항 CD40 항체는 또한 면역글로불린 Fc 부위의 적어도 일부, 전형적으로는 인간 면역글로불린의 것을 포함한다. 통상적으로, 상기 항체는 경쇄뿐만 아니라 적어도 중쇄의 가변 영역을 모두 함유할 것이다. 상기 항체는 또한 적합한 대로, 중쇄의 CH₁, 경첩, CH₂, CH₃ 및/또는 CH₄ 부위 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

<54> 인간화 항 CD40 항체는 임의의 부류의 면역글로불린, 예를 들어 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE, 및 임의의 아이소타입, 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂ 중에서 선택될 수 있다. 예를 들어, 상기 불변 영역은 인간화 항체가 세포독성 활성을 나타내고 아이소타입이 전형적으로는 IgG1인 것을 목적으로 하는 경우 보체 고정 불변 영역일 수 있다. 상기과 같은 세포독성 활성이 바람직하지 않은 경우, 상기 불변 영역은 또 다른 아이소타입, 예를 들어 IgG₂일 수 있다. 또 다른 인간화 항 CD40 항체는 하나보다 많은 면역글로불린 부류 또는 아이소타입으로부터의 서열들을 포함할 수 있으며, 목적하는 효과기 작용을 최적화하기 위해서 특정한 불변 영역

을 선택하는 것은 당해 분야의 통상적인 기술 내에 있다.

- <55> 인간화 항 CD40 항체의 FR 및 CDR, 또는 HVL은 모 서열에 정확하게 상응할 필요가 없다. 예를 들어, 수입 CDR, 또는 HVL, 또는 공통 FR 서열 중의 하나 이상의 잔기는 생성 아미노산 잔기가 어느 한 모 서열 중의 상응하는 위치에서 원래 잔기에 더 이상 동일하지 않게 치환, 삽입 또는 결실에 의해 변경될 수 있다 (예를 들어 돌연변이될 수 있다). 그러나 상기와 같은 변경은 전형적으로는 광범위하지 않을 것이다. 대개, 상기 인간화 항체 잔기의 75% 이상, 보다 대개는 90% 이상, 가장 흔하게는 95% 이상, 또는 98% 이상, 또는 99% 이상으로 모 공통 FR 및 수입 CDR 서열의 잔기에 상응할 것이다.
- <56> 중쇄 및 경쇄 가변 부위 사이의 계면 (" V_L - V_H 계면")에 영향을 미치는 면역글로불린 잔기는 상기 두 사슬의 근접성 또는 배향에 서로에 대해 영향을 미치는 것이다. 사슬간 상호작용에 관여할 수 있는 몇몇 잔기는 V_L 잔기 34, 36, 38, 44, 46, 87, 89, 91, 96 및 98, 및 V_H 잔기 35, 37, 39, 45, 47, 91, 93, 95, 100 및 103을 포함한다 [문헌 (Kabat 등, 면역학적 관심 단백질의 서열, National Institutes of Health, Bethesda, MD., 1987)에 나열된 넘버링 시스템 사용]. 추가의 잔기는 미국 특허 제6,407,213호 (본 발명에 내용 전체가 참고로 인용됨)에 개시된 바와 같이 V_L 잔기 43 및 85, 및 V_H 잔기 43 및 60을 포함한다. 이들 잔기를 단지 인간 IgG에 대해 나타내지만, 이들의 중간 적용도 가능하다. 사슬간 상호작용에 관여하는 것으로 합리적으로 예상되는 수입 항체 잔기들을 상기 공통 서열 내로의 치환을 위해 선택한다.
- <57> 본 발명에 사용된 "공통 서열" 및 "공통 항체"란 용어는 임의의 특정 부류, 아이소타입, 또는 서브유닛 구조의 모든 면역글로불린 중의 각 위치, 예를 들어 인간 면역글로불린 가변 영역에서 가장 흔히 존재하는 아미노산 잔기를 포함하는 아미노산 서열을 지칭한다. 상기 공통 서열은 특정 종 또는 다수의 종들의 면역글로불린을 기본으로 할 수 있다. "공통" 서열, 구조 또는 항체는 몇몇 실시태양에 개시된 바와 같은 공통 인간 서열을 포함하고, 임의의 특정 부류, 아이소타입, 또는 서브유닛 구조의 모든 인간 면역글로불린 중의 각 위치에서 가장 흔히 존재하는 아미노산 잔기를 포함하는 아미노산 서열을 지칭한다. 인간 이외에 다른 종들을 고려하는 공통 인간 구조 및 공통 구조를 제공한다. 따라서, 상기 공통 서열은 각 위치에 하나 이상의 공지된 면역글로불린 중에 존재하지만 임의의 단일 면역글로불린의 전체 아미노산 서열과 정확히 중복될 수 없는 아미노산을 갖는 아미노산 서열을 함유한다. 상기 가변 부위 공통 서열은 임의의 천연 생성 항체 또는 면역글로불린으로부터 수득되지 않는다. 유용한 공통 서열은 문헌 (Kabat 등, 1991, 면역학적 관심 단백질의 서열, 5th Ed. Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD.)에 제공된 데이터로부터 유래된, 인간 가변 경쇄 카파 I 공통 서열 (서열번호: 13) 및 인간 가변 중쇄 서브그룹 III 공통 서열 (서열번호: 2) 및 그의 변이체를 포함한다. 상기 중쇄 및 경쇄 공통 서열 및 그의 변이체의 FR은 인간화 항 CD40 항체의 제조에 유용한 서열을 제공한다. 예를 들어 미국 특허 제6,037,454호 및 제6,054,297호를 참조하라. 몇몇 실시태양에서, 상기 인간화 항체의 제조에 사용된 FR은 인간 가변 경쇄 카파 I 공통 서열 및 인간 가변 중쇄 서브그룹 III 공통 서열에 대한 공통 서열로부터 유래하였다.
- <58> 본 발명에 사용된 바와 같은 "변이체", "항 CD40 변이체", "인간화 항 CD40 변이체" 또는 "변형 인간화 항 CD40"은 각각 인간 공통 서열로부터 유래한 쥐 단일클론 항체 S2C6 및 FR 서열로부터 유래한 적어도 중쇄 가변 CDR 또는 HVL 서열을 갖는 인간화 항 CD40 항체를 지칭한다. 변이체는 아미노산 변화가 상기 항체의 CD40에의 결합을 실질적으로 손상시키지 않는 한, 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 중 하나 또는 2 개 모두 중에 하나 이상의 아미노산 변화를 갖는 것들을 포함한다. 인간화 항 CD40 변이체는 전형적으로는 상기 항체 분자의 개선된 주름을 허용함으로써 항체 성능을 개선시키는 아미노산 치환을 포함한다.
- <59> "단리된" 항체는 그의 천연 환경의 성분으로부터 동정 및 분리 및/또는 회수된 것이다. 상기 항체의 천연 환경의 오염 성분은 상기 항체의 진단 또는 치료 용도를 방해할 수 있는 물질로, 효소, 호르몬 또는 다른 단백질성 또는 비 단백질성 용질일 수 있다. 하나의 태양에서, 상기 항체를
- <60> (a) 로우리 방법에 의해 측정 시 항체 중량의 95% 초과 단리, 및 또 다른 태양에서 99% 초과 단리로, 또는
- <61> (b) 회전 컵 서열화기를 사용한 N 말단 또는 내부 아미노산 서열의 15 잔기 이상을 수득하기에 충분한 단리 정도로, 또는
- <62> (c) 쿠마씨 블루 또는 바람직하게는 은 착색을 사용하여 가시화할 때 환원 또는 비 환원 조건 하에서 SDS-PAGE에 의해 균질한 정도로 정제할 것이다. 단리된 항체는 재조합 세포 내에서 제자리 항체를 포함하며, 따라서 상기 항체의 천연 환경의 하나 이상의 성분은 존재하지 않을 것이다. 그러나 통상적으로는, 단리된 항체는 하나

이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

- <63> 용어 "항체 성능"은 항원의 항체 인식 또는 생체 내 항체의 유효성에 기여하는 인자를 지칭한다. 항체의 아미노산 서열의 변화는 항체 성질, 예를 들어 폴딩에 영향을 미칠 수 있으며 물리적 인자, 예를 들어 항원에의 초기 항체 결합물 (v_0), 항원으로부터 항체의 해리 상수 (K_d), 항원에 대한 항체의 친화성 상수, 항체의 형태, 단백질 안정성, 및 항체의 반감기에 영향을 미칠 수 있다.
- <64> 본 발명에 사용된 "에피토프 표지된"이란 용어는 "에피토프 표지"에 융합된 항 CD40 항체를 지칭한다. "에피토프 표지"는 항체 생산을 위해 에피토프를 제공하기에 충분한 수의 아미노산을 갖지만, 상기 인간화 항 CD40 항체의 목적하는 활성을 방해하지 않도록 고안된 폴리펩타이드이다. 상기 에피토프 표지는 대개 상기 에피토프 표지에 대해 발생한 항체가 실질적으로 다른 에피토프와 교차 반응하지 않도록 충분히 독특하다. 적합한 표지 폴리펩타이드는 일반적으로는 6개 이상의 아미노산 잔기를 함유하며 대개는 약 8 내지 50개, 또는 약 9 내지 30개의 잔기를 함유한다. 에피토프 표지 및 에피토프와 결합하는 항체의 예는 flu HA 표지 폴리펩타이드 및 그의 항체 12CA5 (Field 등, 1988 *Mol. Cell. Biol.* 8: 2159-2165); c-myc 표지 및 상기에 대한 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 및 9E10 항체 (Evan 등, 1985, *Mol. Cell. Biol.* 5 (12): 3610-3616); 및 헤르페스 단순 바이러스 당단백질 D (gD) 표지 및 그의 항체 (Paborsky 등, 1990, *Protein Engineering* 3 (6):547-553)를 포함한다. 몇몇 실시태양에서, 상기 에피토프 표지는 "구조 (salvage) 수용체 결합 에피토프"이다. 본 발명에 사용된 바와 같은 "구조 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자의 생체 내 혈청 반감기를 증가시키는데 기여할 수 있는 상기 IgG 분자 (예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄)의 Fc 부위의 에피토프를 지칭한다.
- <65> 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제 또는 방지하고/하거나 세포를 파괴시키는 물질을 지칭한다. 상기 용어는 방사성 동위원소 (예컨대 I^{131} , I^{125} , Y^{90} , 및 Re^{186}), 화학요법제, 및 독소, 예를 들어 세균, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소 및 그의 단편을 포함하고자 한다. 상기와 같은 세포독성제를 항체, 예를 들어 인간화 항 CD40 항체에, 공지된 표준 과정을 사용하여 커플링시킬 수 있으며 예를 들어 항체에 의한 치료가 지시된 환자를 치료하는데 사용할 수 있다.
- <66> "화학요법제"는 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학요법제의 예시로는 티오테파 및 사이클로포스파미드 (사이토산)(등록상표)와 같은 알킬화제; 부설판, 임프로셀판, 및 피포셀판과 같은 알킬 설포네이트; 벤조도파, 카르보콘, 메투레도파, 및 유레도파와 같은 아지리딘; 알크레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포아마이드, 트리에틸렌티오포스포아마이드, 및 트리메틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토제닌 (특히 불라탁신 및 불라탁시논); 캄포테신 (합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르젤레신, 및 바이젤레신 합성 유사체 포함); 크립토파이신 (특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴, 아우리스타틴, (모노메틸-아우리스타틴 E 및 모노메틸-아우리스타틴 F를 포함); 두오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CBI-TMI 포함); 엘레우세로빈; 판크라티스타틴; 사르코디틴; 스폰지스타틴; 클로로암부칠, 클로로나파진, 클로로포스파미드, 에스트라머스틴, 이포스파미드, 메클로레싸민, 메클로레싸민 산화 염산염, 멜팔란, 노베티신, 페네스테린, 프레드니머스틴과 같은 머스타드 질소; 트로포스파마이드, 우라실 머스타드; 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴과 같은 니트로소우레아; 에네틴 항생제 (예컨대, 칼리케아마이신, 특히 칼리케아마이신 감마 11 및 칼리케아마이신 필, 예를 들면, 문헌 [Agnew, *Chem. Int'l. Ed. Engl.* 33: 183-186] 참조; 다이네마이신 A를 포함하는, 다이네마이신; 클로드로네이트와 같은 비스포스포네이트; 에스페라마이신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 발색단백질 에네틴 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우쓰라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라바이신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-다이아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (아드리아마이신)(등록상표) (몰포르노-독소루비신, 사이아노몰포르노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신, 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루부신, 예소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 마이토마이신 C와 같은 마이토마이신, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 퀘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조토신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 지노루비신과 같은 항생제; 메토크세이트 및 5-플루오우라실 (5-FU)과 같은 항-대사물질; 데노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트와 같은 엽산 유사체; 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌과 같은 퓨린 유사체; 안시타빈, 아자사이티딘, 6-아자우리딘, 카르모피, 사이타라빈, 다이데옥시유리딘, 독시플루리딘, 예녹시타빈, 플록TM유리딘과 같은 피리미딘 유사체; 칼루스테론, 드로모스타놀론, 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 페피티오스탄, 테스토라톤과 같은 안드로젠; 아미노글루테스이미드, 미토탄, 트릴로스탄과 같은 항-adrenals; 프롤린산과 같은 엽산 보충물; 아세

글라톤; 알도포스파미드 글리코사이드; 이미노레블린산; 에닐우라실; 암사크라인; 베스트라부칠; 비산트렌; 에다트랙세이트; 데포파민; 데모콜친; 다이자니쿠온; 엘포미친; 엘리트니움 아세테이트; 에포칠론; 에토글루시드; 갈리엄 나이트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 메이탄신 및 안사미토신과 같은 메이탄시노이드; 미토구아존, 미토크산트론; 모피다몰; 니트라크라인; 펜토스타틴; 페나멧; 피라루비신; 로스코산트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카르바진; PSK π ; 라족산; 라이족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 데카르바진; 만노무스틴; 미타브로니톨; 미토라톨; 피포브로만; 가사이토신; 아라비노사이드 ("아라-C"); 사이클로포스파미드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들면, 파클리탁셀 (탁솔)(등록상표), Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ) 및 도세탁셀 (탁소테레 π , 롱프랑 로리, Antony, France); 클로람부칠; 겐시타빈 (겐자르)(등록상표); 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토티랙세이트; 시스플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 유사체; 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드 (VP-16); 이포스파미드; 미토크산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈 (나벨빈)(등록상표); 노반트론; 테니포시드; 에다트랙세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 크세로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포아이스머라제 억제제 RFS 2000; 다이플루오로메틸노르니틴 (DMFO); 레티노산과 같은 레티노이드; 카페시타빈; 및 상기에 언급된 임의 하나의 약학적으로 허용가능한 염, 산, 또는 유도체를 포함한다. 이 정의에 종양에 대한 호르몬의 작용을 조절하거나 억제하는 항-호르몬 제제가 또한 포함되는데, 예를 들면, 탐옥시펜 (놀바텍스 [등록상표] 포함), 팔록시펜, 드롤록시펜, 4-하이드록시탐옥시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY1 17018, 오나프리스톤, 및 토레미펜 (파레스톤)(등록상표)을 포함하는, 항-에스트로젠 및 선택적 에스트로젠 수용체 조절제 (SERMs); 부신에서 에스트로젠 생산을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예컨대, 예를 들면, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메제스트롤 아세테이트 (메카세)(등록상표), 엑세메스탄, 포르메스탄, 파드로졸, 보로졸 (리비소르)(등록상표), 레트로졸 (페마라)(등록상표), 및 아나스트라졸 (아미리텍스)(등록상표); 및 플루타미드, 닐루타미드, 바이칼루타미드, 류프롤리드, 및 고세렐린과 같은 항-안드로젠; 및 상기에 언급된 임의의 약학적으로 허용가능한 염, 산, 또는 유도체를 포함한다.

<67> 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "전구약물"은 모 약물에 비해 종양 세포에 덜 세포독성이고 효소적으로 활성화되거나 보다 활성인 형태로 전환될 수 있는 전구체 또는 유도체 형태의 약학적으로 활성 물질을 지칭한다. 예를 들면, 문헌 (Wilman, 1986, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy", In *Biochemical Society Transactions*, 14, pp. 375-382, 615th Meeting; Belfast 및 Stella 등, 1985, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery, In: *Directed Drug Delivery*, Borchardt 등, (ed.), pp. 247-267, Humana Press)을 참조하라. 유용한 전구약물로는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 포스페이트 함유 전구약물, 티오포스페이트 함유 전구약물, 설페이트 함유 전구약물 펩타이드 함유 전구약물, D-아미노산 개질된 전구약물, 글리코실화된 전구약물, β -락탐 함유 전구약물, 임의로 치환된 페녹시아세트아미드 함유 전구약물, 및 임의로 치환된 페닐아세트아미드 함유 전구약물, 5-플루오로시토신 및 보다 활성인 세포독성 유리 약물로 전환될 수 있는 다른 5-플루오로유리딘 전구약물이 있다. 전구약물 형태로 유도체화될 수 있는 세포독성 약물의 예로는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 상술한 화학요법제들이 있다.

<68> "표지"란 용어는 항체에 직접 또는 간접적으로 접합된 검출 가능한 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 상기 표지는 그 자체를 검출하거나 (예를 들어 방사성동위원소 표지 또는 형광 표지) 또는 효소 표지의 경우에, 검출할 수 있는 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매화할 수 있다. 표지된 인간화 항 CD40 항체를 제조하여 생체 외 및 생체 내 진단을 포함한 다양한 용도에 사용할 수 있다.

<69> "리포솜"은 다양한 유형의 지질, 인지질 및/또는 계면활성제로 구성된 작은 소낭이다. 리포솜은 임의로 하나 이상의 약학적으로 활성인 작용제에 커플링되거나 상기와 함께, 화합물 또는 제형, 예를 들어 본 발명에 개시된 인간화 항 CD40 항체를 포유동물에게 전달하는데 유용하다. 상기 리포솜의 성분들은 흔히 생물막의 지질 배열과 유사하게, 이중 구조로 배열된다.

<70> "단리된" 핵산 분자는 통상적으로 항체 핵산의 천연 공급원 중에 회합되어 있는 하나 이상의 오염 핵산 분자로부터 동정 및 분리된 핵산 분자이다. 단리된 핵산 분자는 자연에서 발견되는 형태 또는 설정 이외의 것이다. 따라서 단리된 핵산 분자는 천연 세포로 존재하는 핵산 분자와 구분된다. 그러나 단리된 핵산 분자는 예를 들어 상기 핵산 분자가 천연 세포와 상이한 염색체 위치에 있는 경우 항체를 통상적으로 발현하는 세포 중에 함유된 핵산 분자를 포함한다.

<71> "조절 서열"이란 용어는 특정한 숙주 유기체 중의 작동가능하게 결합된 암호화 서열의 발현에 필요한 폴리펩타이드 서열을 지칭한다. 원핵 세포에 사용하기에 적합한 조절 서열은 예를 들어 프로모터, 오퍼레이터, 및 리보솜 결합 부위 서열을 포함한다. 진핵 조절 서열은, 이에 한정되는 것은 아니지만, 프로모터, 폴리아데닐화 신호

및 인헨서를 포함한다. 이들 조절 서열을 원핵 및 진핵 숙주 세포에서 인간화 항 CD40 항체의 발현 및 생산에 사용할 수 있다.

- <72> 핵산 서열은 또 다른 핵산 서열과 작동적 관계에 놓일 때 "작동가능하게 결합"된다. 예를 들어, 핵산 전서열 또는 분비 선두는 폴리펩타이드의 분비에 관여하는 전단백질로서 발현되는 경우 상기 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동가능하게 결합되거나; 프로모터 또는 인헨서는 상기가 암호화 서열의 전사에 영향을 미치는 경우 상기 서열에 작동가능하게 결합되거나; 또는 리보솜 결합 부위는 상기가 번역을 촉진하도록 위치하는 경우 암호화 서열에 작동가능하게 결합된다. 일반적으로, "작동가능하게 결합된"은 결합되는 DNA 서열이 연속되고 분비 선두의 경우에 연속적이고 관독 프레임 내에 있음을 의미한다. 그러나 인헨서는 임의로 연속적이다. 결합을 편리한 제한 부위에서의 연결에 의해 수행할 수 있다. 상기와 같은 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오타이드 어댑터 또는 링커를 사용할 수 있다.
- <73> 본 발명에 사용된 바와 같은 "세포", "세포주" 및 "세포 배양물"이란 표현은 호환적으로 사용되며 모든 상기와 같은 표시는 그의 자손을 포함한다. 따라서 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"는 주체 세포 및 상기로부터 전달 횟수에 관계없이 유래되는 배양물을 포함한다. 모든 자손이 의도적인 또는 천연 돌연변이로 인해, DNA 내용물 중에 정확하게 동일할 수 없음은 또한 물론이다. 통상적으로 형질전환된 세포에서 선별되는 동일한 작용 또는 생물 활성을 갖는 돌연변이 자손이 포함된다. 분명한 표시를 하고자 하는 경우, 내용으로부터 명백할 것이다.
- <74> 치료를 위한 "포유동물"이란 용어는 포유동물로서 분류되는 임의의 동물, 예를 들어 인간, 가축 및 식용 동물, 및 동물원, 스포츠용 또는 애완용 동물, 예를 들어 개, 말, 고양이, 소 등을 지칭한다. 바람직하게는 상기 포유동물은 인간이다.
- <75> 본 발명에 사용된 "질환"은 본 발명에 개시된 인간화 항 CD40 항체에 의한 치료로부터 이점을 얻는 임의의 상태이다. 상기는 만성 및 급성 질환 또는 질환, 예를 들어 포유동물이 문제의 질환에 걸릴 소인이 있는 병리학적 상태들을 포함한다. 본 발명에서 치료하려는 비 제한적인 예 또는 질환으로는 암, 혈액암, 양성 및 악성 종양, 백혈병 및 림프종 및 염증, 혈관형성 및 면역학적 질환이 있다.
- <76> "암" 및 "암성"이란 용어는 전형적으로 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물의 생리학적 상태를 개시함을 지칭한다. 암의 예로는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병이 있다.
- <77> 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "CD40-관련 장애" 또는 "CD40-관련 질환"은 CD40 발현 세포의 변형 또는 제거가 표시되는 상태를 말한다. 이들은 비정상적 증식을 나타내는 CD40-발현 세포 또는 암성 또는 악성 성장과 관련된 CD40-발현 세포를 포함한다. CD40 항원의 비정상적 발현을 나타내는 암의 보다 구체적인 예시는 B 림포블라스토이드 세포, 버킷림프종, 다발골수종, T 세포 림프종, 카포시육종, 골육종, 표피 및 내피 종양, 췌장, 폐, 유방, 난소, 대장, 전립선, 두경부, 피부 (흑색종), 방광, 및 신장 암을 포함한다. 이러한 장애는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 백혈병, B 세포 림프종 및 비-버킷림프종을 포함하는 림프종, 다발골수종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증; 육종, 예컨대 골육종, 유방육종, 악성흑색종, 췌암종, 예컨대 난소 췌암종, 카포시육종/카포시 종양 및 편평세포암종을 포함하는 고형 종양을 포함한다.
- <78> 본원에 사용된 "CD40 관련 질환" 또는 "CD40 관련 질환"이란 용어는 CD40을 발현하는 세포의 변형 또는 제거가 지시되는 상태를 지칭한다. 여기에는 이상 증식을 나타내는 CD40 발현 세포 또는 암 또는 악성 성장과 관련되는 CD40 발현 세포가 포함된다. CD40 항원의 이상 발현을 나타내는 암의 보다 특정한 예로는 B 림프모구성 세포, 버킷 림프종, 다발성 골수종, T 세포 림프종, 카포시 육종, 골육종, 표피 및 내피 종양, 췌장, 폐, 유방, 난소, 결장, 전립선, 두경부, 피부 (흑색종), 방광 및 신장암이 있다. 상기와 같은 질환은, 이에 한정되는 것은 아니지만, 백혈병, 림프종, 예를 들어 B 세포 림프종 및 비 호지킨 림프종, 다발성 골수종, 발덴스트롬 거대글로불린혈증; 고형 종양, 예를 들어 육종, 예를 들어 골육종, 유방 육종, 악성 흑색종, 선암종, 예를 들어 난소 선암종, 카포시 육종/카포시 종양 및 편평 세포 암종을 포함한다.
- <79> CD40 관련된 질환은 또한 면역계 질환 및 질환, 예를 들어 자가면역 질환 및 염증질환을 포함한다. 상기와 같은 상태는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 류마티스성 관절염 (RA), 전신 홍반성 루푸스 (SLE), 피부경화증, 쇼그렌 증후군, 다발성 경화증, 염증성 장 질환 (예를 들어 궤양성 대장염 및 크론병), 폐 염증, 천식 및 특발성 혈소판감소자색반 (ITP)을 포함한다.
- <80> "성장 정지" 또는 "성장 억제"란 어구는 본 발명에 사용 시 세포, 특히 CD40 항원을 발현하는 종양 세포유형의

성장 또는 증식을 억제함을 지칭한다. 따라서 예를 들어 성장 억제는 S 기의 종양 세포 퍼센트를 현저히 감소시킨다.

- <81> 용어 "정맥 내 주입"은 대략 15분 이상, 일반적으로는 대략 30 내지 90분의 기간에 걸쳐 동물 또는 인간 환자의 정맥 내로 작용제를 도입시킴을 지칭한다.
- <82> "정맥 내 일시주사" 또는 "정맥 내 찌르기"란 용어는 대략 15분 이하, 일반적으로는 5분 이하 동안 신체가 약물을 수용하도록 동물 또는 인간의 정맥 내로 약물을 투여함을 지칭한다.
- <83> "피하 투여"란 용어는 약물 용기로부터 비교적 느리고, 지속적인 전달에 의해, 동물 또는 인간 환자의 피부 아래, 바람직하게는 피부와 하부 조직 사이의 포켓 내에 작용제를 도입시킴을 지칭한다. 피부를 하부 조직으로부터 집어올리거나 잡아당겨 상기 포켓을 생성시킬 수도 있다.
- <84> "피하 주입"이란 용어는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 30분 이하, 또는 90분 이하의 기간 동안 약물 용기로부터 비교적 느리고, 지속적인 전달에 의해, 동물 또는 인간 환자의 피부 아래, 바람직하게는 피부와 하부 조직 사이의 포켓 내에 작용제를 도입시킴을 지칭한다. 임의로, 상기 주입은 동물 또는 인간 환자의 피부 아래에 이식된 약물 전달 펌프의 피하 이식에 의해 이루어질 수 있으며, 이때 상기 펌프는 소정량의 약물을 소정의 기간 동안, 예를 들어 30분, 90분, 또는 치료 섭생의 길이에 걸쳐 있는 기간 동안 전달한다.
- <85> "피하 일시주사"란 용어는 동물 또는 인간 환자의 피부 바로 아래에서 약물을 투여함을 지칭하며, 이때 일시주사 약물 전달은 대략 15분 이하; 또 다른 태양에서, 5분 이하만, 더욱 또 다른 태양에서 60초 이하이다. 더욱 또 다른 태양에서, 투여를 피부와 하부 조직 사이의 포켓 내에 하며, 이때 상기 포켓은 상기 피부를 하부 조직으로부터 집어올리거나 잡아당겨 생성시킬 수도 있다.
- <86> 용어 "치료 유효량"은 유리한 환자 결과, 예를 들어 성장 정지 효과 또는 세포의 결실을 일으키는 활성제의 양을 지칭한다. 하나의 태양에서, 상기 치료 유효량은 세포자멸사 활성을 갖거나, 또는 세포사를 유도할 수 있다. 또 다른 태양에서, 상기 치료 유효량은 예를 들어 질환 진행을 늦추는데 유효한 것으로 나타난 표적 혈청 농도를 지칭한다. 효능을 치료하려는 상태에 따라, 통상적인 방식으로 측정할 수 있다. 예를 들어, CD40을 발현하는 세포를 특징으로 하는 종양 질환 또는 질환에서, 효능은 질환 진행까지의 시간 (TTP)을 평가하거나, 또는 반응 속도 (RR)를 측정함으로써 측정할 수 있다.
- <87> 용어 "치료" 및 "요법" 등은 본 발명에 사용된 바와 같이, 질환 또는 질환의 치료뿐만 아니라 예방 또는 억제 수단을 포함하여 임의의 임상적으로 바람직하거나 유리한 효과, 예를 들어, 이에 한정되는 것은 아니지만, 하나 이상의 증상의 경감 또는 완화, 질환 또는 질환 진행의 퇴행, 저지 또는 정지를 유도함을 의미한다. 따라서 예를 들어 치료란 용어는 질환 또는 질환의 증상 개시 전 또는 개시에 이어서 작용제를 투여하여 상기 질환 또는 질환의 하나 이상의 징후를 예방 또는 제거함을 포함한다. 또 다른 예로서, 상기 용어는 상기 질환의 임상적 발현 후에 작용제를 투여하여 상기 질환의 증상들에 대항함을 포함한다. 더욱이, 발병 후 및 임상 증상이 나타난 후에 작용제를 투여하는 것은, 투여가 상기 질환 또는 질환의 임상 매개변수, 예를 들어 조직 손상의 정도 또는 전이의 양 또는 정도에 영향을 미치는 경우, 상기 치료가 상기 질환을 개선시키는 것과 관계없이 본 발명에 사용된 "치료" 또는 "요법"을 포함한다.
- <88> 용어 "패키지 삽입물"은 상기와 같은 치료 제품의 사용에 관한 적응증, 용법, 투여, 금기 및/또는 경고에 대한 정보를 함유하는, 치료 제품의 상업적인 패키지 내에 통상적으로 포함되는 설명서를 지칭한다.
- <89> "AFP"란 약어는 다이메틸발린-발린-돌라아이소류신-돌라프로인-페닐알라닌-p-페닐렌디아민을 지칭한다.
- <90> "MMAE"란 약어는 모노메틸 아우리스타틴 E를 지칭한다.
- <91> "AEB"란 약어는 파라아세틸 벤조산과 아우리스타틴 E를 반응시켜 생성된 에스터를 지칭한다.
- <92> "AEVB"란 약어는 아우리스타틴 E와 벤조일발레르산을 반응시켜 생성된 에스터를 지칭한다.
- <93> "MMAF"란 약어는 도발린-발린-돌라아이소류신-돌라프로인-페닐알라닌을 지칭한다.
- <94> CD40 결합제
- <95> 특이적으로 CD40에 결합하는 CD40 항체 및 다른 결합제 (CD40 결합제로 언급됨)를 사용하는 방법이 본원에 기재되고 기술된다. CD40 항체 및 결합제는 인간 B 세포에 자극성 신호를 전달하여, CD40 및 CD40L 사이에 상호작용을 증강시키고, *in vivo*에서 항-종양 활성을 나타낼 수 있다. CD40 항체 및 다른 CD40 결합제는 암세포의 성

장을 정지시키고, CD40 발현 세포의 결손을 야기하거나, 별법으로는 표적 세포에 세포독성 또는 세포증식억제 효과를 유도하거나 야기할 수 있다. CD40 항체 및 다른 CD40 결합제는 CD40 표면 항원을 발현하는 세포의 증식으로 특징되는 다양한 질환 또는 장애의 치료에 사용될 수 있다.

- <96> 일부 태양에서, CD40 결합제는 CD40에 대한 CD40 리간드의 결합을 45% 이상, 50% 이상, 60% 이상 또는 75% 이상 증가시킨다. CD40에 대한 CD40 리간드의 결합에 있어서의 증가를 결정하는 방법은 미국 특허 제6,838,261호에 개시되어 있다 (그의 기재는 본원에 참고로 도입됨).
- <97> 다양한 실시태양에서, CD40 결합제는, 예를 들면, CD40 표면 항원에의 결합을 통해, 예를 들면, 암세포의 증식을 차단하거나 다르게는 성장을 정지시키거나 그의 결핍, 사멸 또는 다르게는 그의 결손을 야기할 수 있다.
- <98> CD40 결합제 (예컨대, CD40 항체)는 각각 에피토프 CD40, 전형적으로 인간 CD40을 특이적으로 인식하는 일 부분을 적어도 포함한다. 일부 실시태양에서, CD40 항체 또는 다른 CD40 결합제는 CD40에 특이적으로 결합하는 항체의 항원-결합 절편을 포함한다. 일부 실시태양에서, CD40 결합제는 단일클론 항체 (mAb) S2C6과 CD40에 대한 결합에 경쟁한다. 일부 실시태양에서, CD40 결합제는 CD40에 결합하는 인간화 CD40 항체의 항원-결합 절편 (예컨대, 인간 CD40 또는 그의 변이체)을 포함한다. CD40 결합제는 선택적으로 세포독성제 또는 화학요법제에 접합되거나 융합될 수 있다. 일 태양에서, CD40 결합제가 CD40 표면 항원에 결합하여 CD40 발현 세포 유형의 결핍을 야기하는 경우, 이 결합은 일반적으로 *in vivo*에서 CD40 표면 항원 세포에 귀착하는 것을 특징으로 한다. 적합한 결합제는 CD40 결합제가 이 항원을 발현하는 세포를 특이적으로 표적함으로써 치료제로 유용하도록 하기 위해 충분한 친화력 및/또는 결합력으로 CD40 항원에 결합한다.
- <99> S2C6 항체는 예를 들면, 문헌 (Paulie 등, 1984, *Cancer Immunol. Immunother.* 17: 165-179)에 개시되어 있다. S2C6 항체는 *in vivo*에서 항-종양 활성뿐만 아니라 (예컨대, 미국 특허 제6,838,261호 참조), 용량 의존적인 방식으로 원발성 B 세포 증식을 자극하는 이 항체의 능력에 의해 입증된 바와 같이 인간 말초 B 세포에 작용제 활성을 발휘하는 것으로 나타났다 [예컨대, 문헌 (Paulie 등, 1989, *J. Immunol.* 142: 590-595) 참조].
- <100> 일 태양에서, 이러한 분자들이 ATCC에 기탁되어 기탁번호 PTA-110으로 지정된 바와 같은 천연 mAb S2C6 또는 그의 중쇄 또는 경쇄가 아니라면, CD40 결합제는 단일클론 항체 S2C6의 전체 또는 일부분 [경쇄 및/또는 중쇄, 또는 경쇄 CDR 1 (서열번호: 25) 및/또는 2 (서열번호: 26), 및/또는 중쇄 CDR 1 (서열번호: 30), 2 (서열번호: 31), 및/또는 3 (서열번호: 32), 또는 경쇄 CDR3 (서열번호: 27)]을 다른 CDRs 중의 어느 하나 및/또는 4개 중쇄 및 4개 경쇄 골격 영역 중의 하나 이상과 병용하여 포함한다. 이러한 분자들은 서열상에서 및/또는 번역후 수식 과정에서 S2C6과 달라질 수도 있다 (당화, 아미드화, 펩타이드 비-S2C6 서열에 대한 결합 또는 교차-결합, 등).
- <101> 다양한 특정 실시태양에서, CD40 결합제는 면역특이적으로 CD40에 결합하고 (또는 다량체화되어 면역특이적으로 CD40에 결합함), CD40에 대한 결합을 위해 자연 S2C6과 경쟁하고/하거나 45%, 50%, 60% 또는 65% 이상 CD40에 대한 CD40 리간드의 결합을 증가시킨다. 자연 mAb S2C6을 암호화하는 핵산뿐만 아니라, 이러한 분자들을 암호화하는 핵산, 예컨대, S2C6 절편 또는 유도체 또한 본 발명의 범위 내에 속한다. 전술한 단백질의 예컨대, 재조합 방법에 의한 생산이 제공된다.
- <102> 다른 실시태양은 이에 한정되는 것은 아니지만, 기능적으로 활성인, 즉, 전장 S2C6 mAb와 관련된 하나 이상의 공지된 기능적 활성을 나타낼 수 있는, 융합/키메라 단백질을 포함하는 단백질 및 유도체와 같은 CD40 결합제를 제공한다. 이러한 기능적 활성은 이에 한정되는 것은 아니지만 CD40에 결합하는 능력, CD40 신호전달 기작에 자극 신호의 전달 (예컨대, B 세포 증식을 야기하기 위하여), CD40과 CD40L의 상호작용의 상승작용; 종양 성장을 억제하는 능력; 및 면역 반응을 유도하는 능력을 포함한다.
- <103> S2C6을 포함하는 CD40에 대한 항체, 그의 유도체 및 유사체는 인간화 항체, 단쇄 항체, 이중특이적 항체; 및 화학요법제 또는 생물학적 반응 조절제와 같은 치료제에 융합된 항체를 포함한다. 이러한 항체는 이에 한정되는 것은 아니지만, 단일클론, 인간화, 키메라, 단쇄, 이중특이적, Fab 절편, F(ab')₂ 절편, 단쇄 Fv 절편, scFv-Fc 절편, 미니바디 (minibodies), 맥시바디 (maxibodies), 다이아바디 (diabodies), 트리바디 (tribodies), 테트라바디 (tetrabodies), Fab 발현 라이브러리에 의해 생산된 절편, 항-개별특이형 (항-Id) 항체, 및 상기에 언급된 것들 중 하나의 에피토프-결합 절편을 포함한다.
- <104> CD40에 대한 추가적인 단일클론 항체의 제조를 위하여, 배양 상태로 무한증식성 세포주에 의한 항체 분자의 생산을 위해 제공되는 임의의 기술이 사용될 수도 있다 이들은 이에 한정되는 것은 아니지만, 코헬러 및 밀스테인의 하이브리도마 기술 (Kohler 및 Milstein, 1975, *Nature* 256: 495-497; 및 미국 특허 제4,376,110호), 인

간 B-세포 하이브리도마 기술 (Kozbor 등, 1983, *Immunology Today* 4: 72; Cole 등, 1983, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 80: 2026-2030), 및 인간 단일클론 항체를 생산하기 위한 EBV-하이브리도마 기술 (Cole 등, 1985, *단일클론 Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96)를 포함한다. 당분야에 이용가능한 이러한 항체 또는 다른 항-CD40 항체는 예를 들면, may, 예컨대, be used as the basis from which to clone and thus supply a complementary light chain if a 만약 S2C6 중쇄가 재조합적으로 발현된다면 (두 개의 사슬이 동일한 세포 내에서 재조합적으로 발현될 수도 있거나 개별적인 발현 및 정제 후에 *in vitro*에서 혼합될 수도 있음) 클로닝되어 보체 경쇄를 제공하는 것으로부터 기초로서 사용될 수도 있고; 별법으로, 임의의 특이성을 갖는 항체로부터 경쇄가 사용될 수도 있다. S2C6 중쇄를 암호화하거나 S2C6 중쇄 가변 도메인을 포함하는 분자를 암호화하는 핵산 (예컨대, 플라스미드)은 중합체 단백질의 발현을 위해, 항체 경쇄 또는 항체 경쇄를 포함하는 분자를 발현하는 세포 내로 형질감염될 수 있고; 상기 항체 경쇄는 재조합 또는 비-재조합될 수 있으며, 항-CD40 활성을 가질 수도 갖지 않을 수도 있다. 별법으로, S2C6 중쇄 또는 그의 가변 영역을 포함하는 분자 또는 그의 CDR은 선택적으로 발현될 수 있고 보체 경쇄 또는 경쇄 가변 영역의 존재 없이 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 CD40 결합 친화력을 갖는 S2C6 경쇄, 또는 중쇄 CDR 1, 2, 및/또는 3 (각각 서열번호: 30, 31 또는 32)의 하나 이상의 복제수로 구성되거나 이를 포함하는 분자 또는 그의 서열이 CDR 1, 2 또는 3의 하나 이상의 복제수로 구성되거나 이를 포함하는 단백질 (펩타이드 또는 폴리펩타이드)을 제공한다. 특정 실시형태에서, 이러한 단백질은 예컨대, C-말단 아미드화 또는 N-말단 아세틸화에 의해 N 또는 C-말단 변형될 수 있다.

<105> 또한, 적당한 생물학적 활성을 갖는 인간 항체 분자 유래 유전자와 함께 적당한 항원 특이성을 갖는 인간 항체 분자 유래 유전자를 스플라이싱하여 "키메라 항체" (Morrison 등, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci* 81: 6851-6855; Neuberger 등, 1984, *Nature* 312: 604-608; Takeda 등, 1985, *Nature* 314: 452-454)의 생산을 위해 개발된 기술들이 사용될 수 있다. 키메라 항체는 서로 다른 부위가 서로 다른 동물 종으로부터 유래한, 예컨대 생쥐 mAb 유래 가변 영역 및 인간 면역글로불린 불변 영역을 갖는 것들과 같은 분자이다 (예컨대, Cabilly 등, 미국 특허 제4,816,567호; 및 Boss 등, 미국 특허 제5,816,397호 참조). 특정 실시형태에서, 키메라 항체는 ATCC에 기탁되어 기탁번호 PTA-110으로 지정된 하이브리도마에 의해 분비된 단일클론 항체 S2C6의 가변 도메인, 및 인간 불변 영역을 포함한다. 특정 실시형태에서, 키메라 항체의 가변 도메인은 S2C6 V_L (서열번호: 24) 및/또는 S2C6 V_H (서열번호: 29)을 포함한다.

<106> 다른 태양에서, CD40 결합체는 인간화 CD40 항체일 수 있다. 인간화 항체의 생산을 위한 기술들이 개발되어 왔다 (예컨대, Queen, 미국 특허 제5,585,089호; 및 Winter, 미국 특허 제5,225,539호). 면역 글로불린 경쇄 또는 중쇄 가변 영역은 상보성 결정 부위 (CDRs)로 언급되는, 세 개의 고변이 부위에 의해 중단되는 "골격" 부위로 이루어진다. 골격 부위 및 CDRs의 범위는 정확하게 정의되고 있다 ("Sequences of Proteins of Immunological Interest", Kabat, E. 등, U.S. Department of Health and Human Services (1983) 참고). 간략하게, 인간화 항체는 비-인간 종 유래 하나 이상의 CDRs와 인간 면역글로불린 분자 유래 골격 부위를 갖는 비-인간 종 유래 항체 분자이다.

<107> 일부 실시형태에서, CD40 결합체는 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 상기 가변 도메인이 (a) 일련의 세 개 상보성 결정 부위 (CDRs), 및 (b) 일련의 네 개 골격 부위를 포함하는데, 상기 일련의 CDRs가 단일클론 항체 S2C6 유래이고, 상기 일련의 골격 부위가 단일클론 항체 S2C6 내 일련의 골격 부위와는 다른, 항체 또는 그의 유도체로서, 상기 항체 또는 그의 유도체는 CD40에 면역특이적으로 결합한다. 바람직하게는, 일련의 골격 부위는 인간 단일클론 항체, 예컨대, CD40에 결합하지 않는 인간 항체로부터 유래한다.

<108> 특정 실시형태에서, 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 상기 가변 도메인이 (a) 일련의 세 개 상보성 결정 부위 (CDRs), 및 (b) 일련의 네 개 골격 부위를 포함하는데, 상기 일련의 CDRs가 서열번호: 25 또는 서열번호: 26을 포함하고, 상기 일련의 골격 부위가 단일클론 항체 S2C6의 경쇄 내 일련의 골격 부위와 다른 항체 또는 그의 유도체를 제공하는데, 상기 항체 또는 그의 유도체가 CD40에 면역특이적으로 결합한다.

<109> 특정 실시형태에서, 중쇄 가변 도메인을 포함하고, 상기 중쇄 가변 도메인이 (a) 일련의 세 개 상보성 결정 부위 (CDRs), 및 (b) 일련의 네 개 골격 부위를 포함하는데, 상기 일련의 CDRs가 서열번호: 30, 서열번호: 31, 또는 서열번호: 32를 포함하고, 상기 일련의 골격 부위가 단일클론 항체 S2C6의 경쇄 내 일련의 골격 부위와 다른 항체 또는 그의 유도체가 포함되는데, 상기 항체 또는 그의 유도체가 CD40에 면역특이적으로 결합한다.

<110> 특정 실시형태에서, 인간 골격 부위 아미노산은 미국 특허 제6,037,454호에 개시된 바와 같은 중쇄 아형 III 가변 도메인 및 카파 경쇄 가변 도메인에 대한 공통 서열로부터 유래한다. 인간화 CD40 항체는 선택적으로 공통

골격 부위 내 특정 아미노산 치환을 포함한다.

- <111> 이러한 골격 부위 내 아미노산 잔기의 특정 치환은 하기 실시예에 나타난 바와 같이, CDRs 또는 HVLs의 인간 공통 골격 부위 내로의 "직접 교환"에 의해 형성된 인간화 항체에서 입증된 것 이상으로, 결합 친화력 및/또는 안정성을 포함하는 다양한 측면의 항체 성능을 향상시킬 수 있다.
- <112> 일부 실시형태에서, 본원에 기술된 인간화 CD40 항체는 적어도 생쥐 단일클론 항체 S2C6의 CDRs 또는 HVLs 및 실시예 1의 표 3에 기술된 특정 치환을 갖는 인간 공통 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 치환을 갖는 가변 중쇄 아미노산 서열 및 치환을 갖는 가변 경쇄 아미노산 서열의 정렬은 각각 표 3 및 4에 나타내었다. 이들 서열은 서열번호: 3의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- <113> 특정 실시형태에서, 인간화 CD40 항체는 항체 절편이다. 항체 절편의 생산을 위해 다양한 기술들이 개발되어 왔다. 절편은 완전한 항체의 단백질분해 소화에 의해 유도될 수 있다 (예컨대, Morimoto 등, 1992, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24: 107-117; 및 Brennan 등, 1985, *Science* 229: 81 참조). 별법으로, 절편은 재조합 숙주 세포에서 직접적으로 생산될 수 있다. 예를 들어, Fab'-SH 절편은 *E. coli*로부터 직접적으로 회수되어 F(ab')₂ 절편을 형성하기 위해 화학적으로 결합될 수 있다 (예컨대, Carter 등, 1992, *Bio/Technology* 10: 163-167 참조). 다른 접근법에 의해, F(ab')₂ 절편은 재조합 숙주 세포 배양액으로부터 직접적으로 분리될 수 있다. 항체 절편의 생산을 위한 다른 기술들이 당분야의 숙련자에게 자명할 것이다.
- <114> 특정 실시형태는 각각 서열번호: 3 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 4 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 5 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 8 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 9 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 15; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 또는 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열 및 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 포함하는 인간화 CD40항체의 F(ab')₂ 절편을 포함한다. 이러한 실시형태는 항체 이러한 F(ab')₂를 포함하는 완전한 항체를 포함할 수 있다.
- <115> 일부 실시형태는 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 또는 서열번호: 11의 아미노산 서열과 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상 동일한 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는 CD40 결합체를 포함한다. 일부 실시형태는 서열번호: 14, 서열번호: 15, 또는 서열번호: 16의 아미노산 서열과 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상 동일한 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 갖는 CD40 결합체를 포함한다.
- <116> 일부 실시형태는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 CD40 결합체를 포함하는데, 상기 도메인 각각은 각각 서열번호: 3 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 4 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 5 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 8 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 9 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 15; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 또는 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 아미노산 서열과 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- <117> 일부 추가 실시형태는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 CD40 결합체를 포함하는데, 상기 도메인 각각은 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 및 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 아미노산 서열과 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- <118> 부가적인 실시형태는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 CD40 결합체를 포함하는데, 상기 도메인 각각은 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 및 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 아미노산 서열과 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- <119> 다른 실시형태는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 CD40 결합체를 포함하는데, 상기 도메인 각각은 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16의 아미노산 서열과 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이

상 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

- <120> 다른 실시형태는 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 및 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열 및 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 포함하는 인간화 CD40 항체의 F(ab')₂ 절편을 포함한다.
- <121> 또 다른 실시형태는 각각 서열번호: 7 및 서열번호: 14; 각각 서열번호: 6 및 서열번호: 16; 각각 서열번호: 10 및 서열번호: 16; 및 각각 서열번호: 11 및 서열번호: 16의 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열 및 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 포함하는 인간화 CD40 항체의 F(ab')₂ 절편을 포함한다.
- <122> 일부 실시형태는 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인과 서열번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 인간화 CD40 항체의 F(ab')₂ 절편을 포함한다.
- <123> 본원에 사용된 바와 같이, 두 개 이상의 폴리펩타이드 서열의 문맥에서 용어 "동일한" 또는 "백분율 동일성"은 최대 상응성에 대해 비교하고 정렬될 때, 동일하거나 동일한 아미노산 잔기의 특정 비율을 갖는 두 개 이상의 서열 또는 하위서열을 말한다. 백분율 동일성을 결정하기 위하여, 서열들을 최적의 비교 목적을 위해 정렬시킨다 (예컨대, 제2 아미노산 서열과의 최적 정렬을 위해 제1 아미노산 서열에 갭에 도입될 수 있다). 그 후에 아미노산 위치에 상응하는 아미노산 잔기가 비교된다. 제1 서열 내 위치가 제2 서열 내 상응하는 위치로서 동일한 아미노산 잔기에 의해 점유될 때, 그러면 이 분자들은 그 위치에서 동일하다. 두 서열간의 백분율 동일성은 이 서열들에 의해 공유된 동일한 위치의 개수의 함수이다 (즉, % 동일성 = 동일한 위치 개수 #/총 위치 개수 # (예컨대, 중첩 위치) × 100). 일부 실시형태에서, 비교되는 두 개의 서열은, 타당한 정도로, 서열 내에 갭이 도입된 후에 동일한 길이를 갖는다 (예컨대, 비교되는 서열을 벗어나서 연장된 부가적인 서열은 배제함). 예를 들어, 가변 도메인 서열이 비교될 때, 선도 및/또는 불변 도메인 서열은 고려되지 않는다. 두 서열간의 서열 비교를 위해, "상응하는" CDR은 두 개 서열 내 동일한 위치에 있는 CDR을 말한다 (예컨대, 각 서열의 CDR-H1).
- <124> 인간화의 대안으로, 인간 항체가 형성될 수 있다. 예를 들어, 면역집중 시, 내인성 면역글로불린 생산의 부재 시에 인간 항체의 완전한 레퍼토리를 생산할 수 있는 형질전환 동물 (예컨대, 생쥐)이 사용될 수 있다. 예를 들어, 키메라 및 배재계열 돌연변이 생쥐에서 항체 중쇄 연결 영역 (J_H) 유전자의 동형접합 결손이 내인성 항체 생산의 완벽한 억제에 가져옴이 기술된 바 있다. 이러한 배재계열 돌연변이 생쥐에서 인간 배재계열 면역글로불린 유전자 배열의 전달은 항원 집중 시 인간 항체의 생산을 가져올 것이다. 예컨대, 문헌 (Jakobovits 등, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551; Jakobovits 등, 1993, *Nature* 362: 255-258; Bruggermann 등, 1993, *Year in Immuno.* 7: 33); 및 미국 특허 제5,591,669호; 제5,589,369호; 제5,545,807호; 제6,075,181호; 제6,150,584호; 제6,657,103호; 및 제6,713,610호를 참조하라.
- <125> 별법으로, 파아지 디스플레이 기술 (예컨대, McCafferty 등, 1990, *Nature* 348: 552-553 참조)이 비면역화된 공여자 유래 면역글로불린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터 인간 항체 및 항체 절편을 *in vitro*로 생산하는데 사용될 수 있다. 이 기술에 따르면, 항체 V 도메인 유전자는 필라멘트성 박테리오파아지, 예컨대 M13 또는 fd의 주요 또는 소수 외피 단백질 유전자 내로 골격-내 클로닝되고, 파아지 입자의 표면에 기능성 항체 절편으로 표현된다. 필라멘트성 입자는 파아지 게놈의 단일-가닥 DNA 복제수를 포함하기 때문에, 항체의 기능적 특성에 근거한 선별은 또한 그러한 특성을 나타내는 항체를 암호화하는 유전자의 선별을 가져온다. 따라서 파아지는 B-세포의 일부 특성을 모방한다. 파아지 디스플레이는 다양한 형식으로 수행될 수 있는데; 이의 검토를 위해 예컨대 문헌 (Johnson 및 Chiswell, 1993, *Current Opinion in Structural Biology* 3: 564-571)을 참조하라. V-유전자 분절의 수개의 공급원이 파아지 디스플레이를 위해 사용될 수 있다. 문헌 (Clackson 등, 1991, *Nature* 352: 624-628)에서는 면역화된 생쥐의 비장으로부터 유래된 V 유전자의 작은 무작위 복합 라이브러리로부터 항-옥사졸론 항체의 다양한 배열을 분리하였다. 비면역화된 인간 공여자 유래 V 유전자의 레퍼토리가 구축될 수 있고 항원의 다양한 배열 (자가-항원 포함)에 대한 항체가 문헌 (Marks 등, 1991, *J. Mol Biol.* 222: 581-597, 또는 Griffith 등, 1993, *EMBOJ.* 12: 725-734)에 기술된 기술에 따라서 분리될 수 있다. 또한 미국 특허 제5,565,332호 및 제5,573,905호를 참조하라. 상기에 기술된 바와 같이, 인간 항체는 또한 *in vitro*로 활성화된 B 세포에 의해 형성될 수도 있다 (미국 특허 제5,567,610호 및 제5,229,275호 참조).
- <126> 다른 실시형태에서, 단쇄 항체의 생산을 위해 기술된 기술들 (미국 특허 제4,946,778호; Bird, 1988, *Science* 242: 423-426; Huston 등, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5879-5883; 및 Ward 등, 1989, *Nature* 334: 544-546)이 S2C6 서열을 이용하여 단쇄 항체를 생산하기 위해 적용될 수 있다. 단쇄 항체가 아미노산 다리를

통해 Fv 영역의 중쇄 및 경쇄 절편을 연결함으로써 형성되고, 그 결과 단쇄 폴리펩타이드가 된다. 특정 실시형태에서, 단쇄 항체는 각각 서열번호: 24 및 29로 표시되는 아미노산 서열을 포함한다.

<127> 특정 실시형태에서, CD40 폴리펩타이드, 펩타이드 또는 그의 유도체, 또는 서열번호: 23 또는 서열번호: 28의 전부 또는 일부분을 포함하는 그의 유사체에 대한 항체는 이중특이적 항체이다 [일반적으로, 예컨대 문헌 (Fanger 및 Drakeman, 1995, *Drug News and Perspectives* 8:133-137) 참조]. 이러한 이중특이적 항체는 (1) 에피토프 및 (2) 특정 표적을 파괴시키기 위해 세포독성 T-세포를 유발할 수 있는 것으로 동정된, 다양한 "방아쇠" 분자들 중의 하나, 예컨대, 골수 세포 상의 Fc 수용체, 및 T 세포 상의 CD3 및 CD2 모두를 인식하도록 유전적으로 조작된다. 이러한 이중특이적 항체는 당분야의 숙련자에게 공지된 화학적 접합, 하이브리도마, 또는 재조합 분자 생물학 기술에 의해 제조될 수 있다. 특정 실시형태에서, 이중특이적 항체는 S2C6 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인 또는 그의 CDR 서열을 포함하는데, 이 분자는 (예컨대, 골격 부위 또는 인간 불변 도메인 내 아미노산 치환(들)을 가짐으로써) 자연 S2C6 중쇄 또는 경쇄와는 다른 항체 중쇄 또는 경쇄의 구조를 갖는다.

<128> CD40를 인식하는 능력을 보유하는 다른 항체 절편은 공지된 기술에 의해 형성될 수 있다. 예를 들어, 이러한 절편은 이에 한정되는 것은 아니지만: 항체 분자의 펩신 소화에 의해 생산될 수 있는, F(ab')₂ 절편, 및 F(ab')₂ 절편의 이황화 다리의 환원에 의해 형성될 수 있는, F(ab') 절편을 포함한다. 별법으로, Fab 발현 라이브러리가 목적하는 특이성을 갖는 단일클론 Fab의 신속하고 용이한 동정을 가능케 하기 위하여 제작될 수도 있다 (Huse 등, 1989, *Science* 246: 1275-1281). 형성될 수 있는 다른 항체로는 단쇄 Fv 절편, scFv-Fc 절편, 미니바디 (minibodies), 맥시바디 (maxibodies), 다이아바디 (diabodies), 트리바디 (tribodies), 테트라바디 (tetrabodies), 항-개별타입형 (항-Id) 항체, 및 상기 중의 어느 하나의 에피토프-결합 절편을 포함한다.

<129> 일부 실시형태에서, 항체 또는 항체 절편은 효과기 기능을 매개하는 불변영역을 포함한다. 불변 영역은 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC), 항체-의존적 세포성 포식작용 (ADCP) 및/또는 CD40-발현 표적 세포에 대한 보체-의존적 세포독성 (CDC) 반응을 제공할 수 있다. 효과기 도메인(들)은, 예를 들어, Ig 분자의 Fc 영역일 수 있다. 전형적으로, CD40 결합체는 세포독성 백혈구 세포 (예컨대, 자연 살해 (NK) 세포, 포식 세포 (예컨대, 대식세포), 및/또는 혈청 보체 성분)를 동원하고/하거나 활성화시킨다.

<130> 항체의 효과기 도메인은 임의의 적합한 척추동물 종 및 동형으로부터 유래될 수 있다. 서로 다른 동물 종 유래 동형은 효과기 기능을 매개하는 그들의 능력에 있어 차이를 보인다. 예를 들어, CDC 및 ADCC/ADCP를 매개하기 위한 인간 면역글로불린의 능력은 일반적으로 각각 IgM~IgG₁~IgG₃>IgG₂>IgG₄ 및 IgG₁~IgG₃>IgG₂/IgM/IgG₄의 순서이다. 생쥐 면역글로불린은 각각 생쥐 IgM~IgG₃>>IgG_{2b}>IgG_{2a}>>IgG₁ 및 IgG_{2b}>IgG_{2a}>IgG₁>>IgG₃의 순서로 CDC 및 ADCC/ADCP를 매개한다. 다른 실시예에서, 생쥐 IgG_{2a}는 ADCC를 매개하는 반면, 생쥐 IgG₂₃ 및 IgM 모두는 CDC를 매개한다.

<131> CD40 결합체 변형

<132> 다른 태양에서, CD40 결합체의 유도체 (이에 한정되는 것은 아니지만, 절편 포함), 유사체, 및 분자들 (예컨대, 단일클론 항체 또는 mAb로부터 유래된 그의 절편)이 제공된다. S2C6 단백질 유도체 및 유사체를 암호화하는 핵산이 또한 제공된다. 특정 태양에서, 단백질, 유도체, 또는 유사체는 서열번호: 23 또는 서열번호: 28의 서열에 의해 암호화된다.

<133> S2C6 mAb와 관련된 유도체 및 유사체의 생산 및 용도가 제공된다. 특정 실시형태에서, 상기 유사체 또는 유도체는 기능적으로 활성인, 즉 전장의, S2C6 mAb와 관련하여 하나 이상의 기능성 활성을 나타낼 수 있다. 일 실시예로서, 목적하는 결합 특이성을 갖는 이러한 유도체 또는 유사체는 면역분석에, 또는 종양 성장의 억제를 위해 치료학적으로 사용될 수 있다. 특정 실시형태는 CD40에 결합하고 CD40L to CD40에 대한 CD40L의 결합을 강화하는 S2C6 mAb 절편에 관한 것이다. S2C6 단백질의 유도체 또는 유사체는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 방사면역측정법, 효소면역측정법 (ELISA), "샌드위치" 면역분석법, 웨스턴 블롯, 면역형광분석법, 단백질 A 분석법, 면역전기영동분석, 등과 같은 기술을 이용한 경쟁적 및 비-경쟁적 분석 시스템을 포함하는, 당분야에 공지된 다양한 면역분석에 의해 목적하는 활성에 대해서 검사될 수 있다.

<134> 또한, 당분야에 공지된 분석은 세포 증식을 억제하는 능력 (예컨대, 종양 세포 성장의 억제) 또는 세포 증식을 촉진하는 능력 (예컨대, B 세포의 증식)을 *in vivo* 또는 *in vitro*로 검출하거나 측정하기 위해 사용될 수 있다.

<135> 특히, S2C6 mAb 유도체는 기능적으로 동등한 분자에게 제공하는 치환, 첨가 (예컨대, 삽입) 또는 결실에 의해 S2C6 mAb 서열을 변경시킴으로써 제조될 수 있다. 뉴클레오타이드 코딩 서열의 축퇴성에 기인하여, S2C6 mAb를

암호화하는 핵산과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 다른 DNA 서열이 본 발명의 실행에 있어 사용될 수도 있다. 이들은 이에 한정되는 것은 아니지만, 그 서열 내 기능적으로 동등한 아미노산 잔기를 암호화하는 서로 다른 코돈의 치환에 의해 변경되어 침묵 변이를 야기하는 S2C6 mAb 유전자의 전부 또는 일부를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 마찬가지로, S2C6 mAb 유도체는 일차 아미노산 서열로서, 이에 한정되는 것은 아니지만, 기능적으로 동등한 아미노산 잔기가 그 서열 내 잔기로 치환되어 침묵 변이를 야기하는 변경된 서열을 포함하는 S2C6 mAb의 아미노산 서열의 전부 또는 일부를 포함하는 것들을 포함한다. 예를 들어, 그 서열 내 하나 이상의 아미노산 잔기가 기능적 동등물로서 작용하는 유사한 극성의 다른 아미노산으로 치환되어, 침묵 변이를 야기할 수 있다. 서열 내 아미노산에 대한 치환은 그 아미노산이 속한 종류의 다른 일원으로부터 선택될 수도 있다. 예를 들어, 비극성 (소수성) 아미노산은 알라닌, 류우신, 아이소류우신, 발린, 프롤린, 페닐알라닌, 트립토판 및 메티오닌을 포함한다. 극성 중성 아미노산은 글리신, 세린, 트레오닌, 시스테인, 티로신, 아스파라긴 및 글루타민을 포함한다. 양전기로 하전된 (염기성) 아미노산은 아르기닌, 라이신 및 히스티딘을 포함한다. 음전기로 하전된 (산성) 아미노산은 아스파르트산 및 글루탐산을 포함한다. 이러한 치환은 일반적으로 보존성 치환으로 이해된다.

<136> 특정 실시형태에서, S2C6 mAb의 10개 (연속된) 아미노산 이상으로 구성된 S2C6 mAb의 절편으로 이루어지거나 포함된 CD40 결합체가 제공된다. 다른 실시형태에서, 절편은 S2C6 mAb의 20개 이상 또는 50개 이상의 아미노산으로 이루어진다. 특정 실시형태에서, 이러한 절편은 50개, 75개, 100개, 또는 200개 아미노산 이하이다. S2C6 mAbs의 유도체 또는 유사체는 이에 한정되는 것은 아니지만 S2C6 mAb 또는 그의 절편에 실질적으로 동종이거나 (예컨대, 다양한 실시형태에서, 삽입 또는 결실을 포함하지 않는 동일한 크기의 아미노산 서열에 대해 또는 정렬이 당분야에 공지된 컴퓨터 프로그램에 의해 수행될 때, 60% 또는 70% 또는 80% 또는 90% 또는 95% 이상의 동일성) 그의 암호화하는 핵산이 높은 엄격성, 온화한 엄격성, 또는 낮은 엄격성 조건 하에서 코딩 S2C6 유전자 서열에 혼성화될 수 있는, 영역을 포함하는 그러한 분자들을 포함한다.

<137> 특히, 상동성을 결정하기 위한 컴퓨터 프로그램의 예로서 이에 한정되는 것은 아니지만 TBLASTN, BLASTP, FASTA, TEASTA, 및 CLUSTALW가 포함될 수도 있다 (Pearson 및 Lipman, 1988, *Proc. Natl Acad. Sci USA* 85(8): 2444-8; Altschul 등, 1990, *J. Mol. Biol.* 215(3): 403-10; Thompson 등, 1994, *Nucleic Acids Res.* 22(22): 4673-80; Higgins 등, 1996, *Methods Enzymol.* 266: 383-402; Altschul 등, 1990, *J. Mol. Biol.* 215(3): 403-10). 이들 컴퓨터 프로그램 각각의 디폴트 매개변수는 잘 알려져 있고 이용될 수 있다.

<138> 특히, BLAST (Basic Alignment Search Tool)(Altschul 등, 1990, *J. Mol. Biol.* 215: 403-410, "The BLAST Algorithm; Altschul 등, 1997, *Nuc. Acids Res.* 25: 3389-3402)는 문헌 (Karlin 및 Altschul 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 2264-68; 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5873-77)의 통계학적 방법을 이용하여 유의성을 나타내는 서열 유사성을 조사하도록 맞추어진 발견적 조사 알고리즘이다. 5개의 특정 BLAST 프로그램이 하기 업무를 수행한다: 1) BLASTP 프로그램은 단백질 서열 데이터베이스에 대해 아미노산 조회 서열을 비교한다; 2) BLASTN 프로그램은 뉴클레오타이드 서열 데이터베이스에 대해 뉴클레오타이드 조회 서열을 비교한다; 3) BLASTX 프로그램은 단백질 서열 데이터베이스에 대해 뉴클레오타이드 조회 서열의 6-틀 개념적 번역 산물 (양가닥 모두)을 비교한다; 4) TBLASTN 프로그램은 모든 6개 해독틀 내에서 번역된 뉴클레오타이드 서열 (양가닥 모두)에 대해 단백질 조회 서열을 비교한다; 5) TBLASTX 프로그램은 뉴클레오타이드 서열 데이터베이스의 6-틀 번역에 대해 뉴클레오타이드 조회 서열의 6-틀 번역을 비교한다.

<139> 스미스-워터만 (데이터베이스: European Bioinformatics Institute (Smith-Waterman, 1981, *J. Mol. Biol.* 147: 195-197)은 서열 정렬을 위한 수학적으로 rigorous 알고리즘이다.

<140> FASTA [문헌 (Pearson 등, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 2444-2448) 참조]는 스미스-워터만 알고리즘의 발견적 접근법이다. 스미스-워터만 및 FASTA 알고리즘의 과정 및 효과의 일반적인 검토를 위하여, 문헌 (Nicolas 등, 1998, "A Tutorial on Searching Sequence Databases and Sequence Scoring Methods") 및 거기에 언급된 참고문헌들을 참조하라.

<141> S2C6 mAb 유도체 및 유사체는 당분야에 공지된 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다. 그들의 생산을 야기하는 조작이 유전자 또는 단백질 수준에서 야기될 수 있다. 예를 들어, 클로닝된 S2C6 유전자 서열은 당분야에 공지된 수많은 전략들 중의 어느 하나에 의해 변경될 수 있다 (Sambrook 등, 1989, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.). 서열은 제한적 엔도뉴클레아제(들)를 이용하여 적당한 위치에서 절단되고, 이어서 추가적인 효소적 변형이 수반되고, 요구된다면, 분리되고 *in vitro*에서 연결될 수 있다. S2C6 단백질의 유도체 또는 유사체를 암호화하는 변형된 유

전자의 생산에 있어서, 변형된 유전자가, 목적하는 S2C6 단백질이 암호화되는 유전자 영역 내에서, 번역 종결 신호에 의해 방해받지 않는, 자연 단백질과 동일한 번역 해독틀 내에서 존재하는 것을 보증하도록 주의를 기울여야만 한다.

<142> 또한, S2C6 핵산 서열은, 번역, 개시, 및/또는 종결 신호를 생성하고/하거나 파괴하기 위하여, 또는 이후의 *in vitro* 변형을 용이하게 하기 위하여 코딩 영역 내 변화를 야기하고/하거나 새로운 제한적 엔도뉴클레아제 부위를 형성하기 위하여, *in vitro* 또는 *in vivo*에서 돌연변이될 수 있다. 이에 한정되는 것은 아니지만, 화학적 돌연변이, *in vitro* 부위-지정 돌연변이 (Hutchinson 등, 1978, *J. Biol. Chem.* 253: 6551), 돌연변이 함유 프라이머를 이용한 PCR 등을 포함하는, 당분야에 공지된 돌연변이를 위한 임의의 기술이 사용될 수 있다.

<143> S2C6 mAb 서열의 조작은 또한 단백질 수준에서 이루어질 수도 있다. 번역 동안 또는 후에, 예컨대, 당화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단기에 의해 유도체화, 단백질분해 절단, 항체 분자 또는 다른 세포성 리간드에 대한 연결, 등에 의해 다르게 변형되는 S2C6 단백질 절편 또는 다른 유도체 또는 유사체가 포함된다. 수많은 화학적 변형들 중의 어느 하나가, 이에 한정되는 것은 아니지만, 브롬화 시아노젠, 트립신, 케모트립신, 파파인, V8 프로테아제, NaBH₄에 의한 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포밀화, 산화, 환원, 튜니카마이신의 존재 하에 대사적 합성, 등을 포함하는 공지된 기술들에 의해 수행될 수도 있다.

<144> 또한, S2C6 mAb의 유사체 및 유도체는 화학적으로 합성될 수 있다. 예를 들어, 목적하는 도메인을 포함하고, 혹은 목적하는 *in vitro* 활성을 매개하는, S2C6 mAb의 일부분에 상응하는 펩타이드가 펩타이드 합성기의 사용에 의해 합성될 수 있다. 나아가, 요구된다면, 비고전적인 아미노산 또는 화학적 아미노산 유사체가 S2C6 mAb 서열 내로 치환 또는 첨가로서 도입될 수 있다. 비고전적 아미노산은 이에 한정되는 것은 아니지만, 대개 통상적인 아미노산의 D-이성질체, 알파-아미노 아이소부티르산, 4-아미노부티르산, Abu, 2-아미노 부티르산, 감마-Abu, 엡실론-Ahx, 6-아미노 헥사노산, Aib, 2-아미노 아이소부티르산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르류우신, 노르발린, 하이드록시프롤린, 사르코신, 시트룰린, 시스테인산, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, 베타-알라닌, 플루오로-아미노산, 베타-메틸 아미노산과 같은 변조 아미노산, C알파-메틸 아미노산, N알파-메틸 아미노산, 및 아미노산 유사체를 포함한다. 나아가, 아미노산은 D (우향) 또는 L (좌향)일 수 있다.

<145> CD40 결합체는 또한 CD40 항체 또는 그의 항원-결합 절편의 변형을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체를 효과기 기능과 관련하여 암을 치료하는데 있어 상기 항체의 효과를 증강시키기 위하여, 변형시키는 것이 바람직할 수도 있다. 이러한 변형 중의 하나는 Fc 영역 내로 시스테인 잔기(들)의 도입으로, 이는 이 영역 내 사슬간 이황화 결합 형성을 가능케 한다. 그렇게 형성된 동종이합체 항체는 향상된 내재화 능력 및/또는 증가된 보체-매개 세포 사멸 및/또는 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC)을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 문헌 (Caron 등, 1992, *J. Exp Med.* 176: 1191-1195; 및 Shopes, 1992, *J. Immunol.* 148: 2918-2922)을 참조하라. 증가된 항-종양 활성을 갖는 동종이합체 항체는 또한 문헌 (Wolff 등, 1993, *Cancer Research* 53: 2560-2565)에 기술된 바와 같은 이형이관능성 교차-연계자를 이용하여 제조될 수도 있다. 별법으로, 항체는 이중 Fc 영역을 포함하여, 그 항체의 보체 용해 및 ADCC 능력을 증강시키도록 조작될 수 있다. 문헌 (Stevenson 등, 1989, *Anti-Cancer Drug Design* 3: 219-230)을 참조하라.

<146> ADCC를 지지하기 위한 향상된 능력을 갖는 항체는 그들의 Fc 영역의 당화 양식을 변형시킴으로써 제조되어 왔다. 이는 C_H2 도메인 내 아스파라긴 잔기, N297에서의 항체 당화가 ADCC에 필수불가결한 IgG 및 Fc γ 수용체 사이의 상호작용에 관여하기 때문에 가능하다. 숙주 세포주는 증가된 이등분면 N-아세틸글루코사민 또는 감소된 푸코오스와 같은, 변형된 당화를 갖는 항체를 발현하도록 조작되어 왔다. 푸코오스 감소는 이등분면 N-아세틸글루코사민의 존재 시에 증가하는 것보다 ADCC 활성에 보다 큰 증강을 제공한다. 더욱이, 저 푸코오스 항체에 의한 ADCC의 증강은 Fc γ RIIIa V/F 다형성과 관계가 없다.

<147> 항체의 Fc 영역의 아미노산 서열의 변형은 ADCC를 증강시키도록 조작하는 당화의 대안이다. Fc γ 수용체에 대한 인간 IgG₁ 상의 결합 부위는 광범위한 돌연변이 분석에 의해 결정되고 있다. 이는 Fc γ RIIIa에 대한 결합 친화력을 증가시키고 *in vitro*에서 ADCC를 증강시키는 Fc 돌연변이를 갖는 인간화 IgG₁ 항체의 형성을 야기한다. 또한, 많은 서로 다른 순열의 결합 특성, 예컨대, 다른 Fc γ R 수용체에는 변화되지 않은 혹은 감소된 결합을 갖는 특이적 Fc γ R 수용체에 대한 향상된 결합을 갖는 Fc 변이체들이 얻어졌다.

<148> 일부 실시형태에서, Fc 영역은, 그의 기제가 본원에 참고로 도입된, 미국 특허 출원 공개 제2006-0003412호 및 제2006-0008883호에 기술된 바와 같이 변형될 수 있다.

- <149> 다른 특정 실시형태에서, CD40 결합제 (예컨대, S2C6 mAb, 절편, 유사체, 또는 유도체)는 융합 또는 키메라 단백질 생성물로서 발현될 수도 있다 (단백질, 절편, 유사체, 또는 본원에서 또한 면역접합으로도 언급되는, 다른 단백질의 이중 단백질 서열에 펩타이드 결합을 통해 연결된 유도체를 포함함). 이중 단백질 서열은 이에 한정되는 것은 아니지만, 인터페론-알파, 인터페론 감마, 인터류킨-2, 인터류킨-4, 인터류킨-6, 및 종양 괴사 인자, 또는 그의 기능적으로 활성인 단백질을 포함하는, 생물학적 반응 조절제를 포함할 수 있다. 별법으로, 이중 단백질 서열은 베타-락타마제 또는 카복실에스터라제와 같은 효소 혹은 브리오딘 1, 슈도모나스 외독소 A와 같은 독소, 혹은 겔로닌, 혹은 그의 기능적으로 활성인 부분을 포함할 수 있다. 또한, CD40 결합제 단백질은 이에 한정되는 것은 아니지만, 알킬화제 (예컨대, 머스타드 질소, 니트로소우레아, 트리아젠); 항대사물질 (예컨대, 엽산 유사체, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체); 자연 생성물 (예컨대, 항생제, 효소, 생물학적 반응 조절제); 기타 제제 (예컨대, 치환된 우레아, 백금 배위결합 복합체); 및 호르몬 및 길항제 (예컨대, 에스트로젠, 안드로젠, 항안드로젠, 고나도트로핀 방출 호르몬 유사체); 또는 그의 기능적으로 활성인 부분을 포함하는, 화학요법제에 화학적으로 연결될 수 있다 [예컨대, 문헌 (Goodman 및 Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition, McGraw-Hill, pp. 1225-1287, 1996) 참조]. S2C6 키메라 단백질 생성물의 생산에 적합한 이중 단백질 및 화학요법제의 다른 비제한적 예시는 당분야의 숙련자에게 공지되어 있다. 이러한 키메라 생성물은 목적하는 아미노산 서열들을 암호화하는 적합한 핵산 서열들을 적당한 해독틀 내로 당분야에 공지된 방법들에 의해 연결시키고, 당분야에 공지된 통상적인 방법에 의해 키메라 생성물을 발현시켜 제조될 수 있다. 별법으로, 이러한 키메라 생성물은 단백질 합성 기술, 예컨대 펩타이드 합성기의 사용에 의해 제조될 수도 있다. 다른 실시형태에서, 이중 단백질 서열은, 예컨대 당분야에 공지된 화학적 교차결합제의 사용에 의해, 펩타이드 결합이 아닌 다른 결합에 의해 S2C6-관련 서열에 화학적으로 결합될 수 있다.
- <150> 특정 실시형태에서, CD40 결합제는 다른 단백질의 아미노산 서열에 펩타이드 결합을 통해 그의 아미노- 또는 카복시-말단에 연결된 S2C6 mAb 또는 그의 절편 (바람직하게는 적어도 S2C6 mAb의 도메인 또는 모티프, 혹은 S2C6 mAb의 10개, 50개 또는 10개 이상의 아미노산으로 구성됨)을 포함하는 키메라 또는 융합 단백질이다. 특정 실시형태에서, 상기 다른 단백질은 독소, 효소 또는 생물학적 반응 조절제이다.
- <151> 특정 실시형태에서, 다른 단백질의 아미노산 서열은 다른 단백질 또는 기능적으로 활성인 다른 단백질의 일부분의 6개, 10개, 20개, 또는 30개 이상의 연속된 아미노산이다. 일 실시형태에서, 이러한 키메라 단백질은 그 단백질을 암호화하는 핵산의 재조합 발현에 의해 생산된다 (다른 단백질의 코딩 서열에 해독틀 내 연결된 S2C6 mAb-암호화 서열을 포함함). 이러한 키메라 생성물은, 적당한 해독틀 내에서, 당분야에 공지된 방법에 의해 목적하는 아미노산 서열들을 암호화하는 적합한 핵산 서열들을 서로 연결시키고, 당분야에 공지된 통상적인 방법에 의해 키메라 단백질을 발현시켜 제조될 수 있다. 별법으로, 이러한 키메라 단백질은 단백질 합성 기술, 예컨대 펩타이드 합성기의 사용에 의해 제조될 수도 있다. 임의의 이중 단백질-암호화 서열에 융합된 S2C6 mAb 유전자의 일부분을 포함하는 키메라 유전자가 제작될 수도 있다. 특정 실시형태는 6개 또는 15개 또는 50개 이상의 아미노산의 S2C6 mAb의 절편, 혹은 S2C6 mAb의 하나 이상의 기능적 활성을 나타내는 (예컨대, 하나 이상의 CDRs의 복제수를 포함) 절편을 포함하는 키메라 단백질에 관한 것이다.
- <152> 특정 실시형태에서, S2C6 mAb 또는 그의 유도체는 이에 한정되는 것은 아니지만, 독소루비신, 파클리탁셀, 도세탁셀, 또는 아우리스타틴을 포함하는 화학요법 약물에 화학적으로 연결된다. 이러한 S2C6 mAb-약물 접합체는 이 약물을 CD40을 발현하는 세포에 전달할 수 있다. 하나 이상의 약물 분자가 S2C6 mAb 또는 유사체에 연결될 수 있다. 연결은 이에 한정되는 것은 아니지만, 하이드라존, 펩타이드 또는 탄수화물 연결을 포함한다.
- <153> 다른 태양은 화학요법제, 독소 (예컨대, 세균, 진균, 식물, 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소, 또는 그의 절편), 또는 방사성동위원소 (즉, 방사능접합체)와 같은 세포독성제에 접합된 CD40 결합제 (예컨대, a CD40 항체 또는 그의 절편)를 포함하는 면역접합체를 포함한다.
- <154> 이러한 면역접합체의 제조에 유용한 화학요법제가 상기에 기술되었다. 유용한 면역접합체를 형성하는데 사용될 수 있는 효소적으로 활성인 독소 및 그의 절편은 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합 활성 절편, 외독소 A 사슬 (슈도모나스 아에루지노사 유래), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데친 A 사슬, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디 (Aleurites fordii) 단백질, 다이안친 단백질, 파이토라카 아메리카나 (Phytolacca americana) 단백질 (PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 차란티아 (Momordica charantia) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 (Saponaria officinalis) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 트리코테센, 및 기타 등등을 포함한다. 다양한 방사선훈족이 방사능접합된 CD40 결합제의 생산에 이용 가능하다. 그 예시는 ²¹²Bi, ¹³¹I, ¹³¹In, ⁹⁰Y, 및 ¹⁸⁶Re를 포함한다.

- <155> CD40 결합체 및 세포독성제 또는 화학요법제의 접합은 N-석시니미딜-3-(2-피리딜다이티올) 프로피오네이트 (SPDP), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이중관능성 유도체 (예컨대 다이메틸 아디피미데이트 HCL), 활성 에스테르 (예컨대 다이석시니미딜 서베레이트), 알데하이드 (예컨대 글루타르알데하이드), 비스-아지도 화합물 (예컨대 비스 (p-아지도벤조일) 헥사다이아민), 비스-다이아조늄 유도체 (예컨대 비스-(p-다이아조늄벤조일)-에틸렌다이아민), 다이아이소시아네이트 (예컨대 톨루엔 2,6-다이아이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대 1,5-다이플루오로-2,4-다이니트로벤젠)과 같은 다양한 이중관능성 단백질 결합체를 사용하여, 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 리진 면역독소는 문헌 (Vitetta 등, 1987, *Science* 238: 1098)에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소¹⁴-표지된 1-아이소티오시아나토벤질-3-메틸다이에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사선헌종의 접합을 위한 예시적인 킬레이트화제이다. 예컨대, 국제 공개 WO 94/11026을 참조하라. 결합체는 또한, 그의 기재가 본원에 참고로서 도입된, 공개된 EP 특허 출원 제0 624 377 호에 기재된 바와 같은, 절단가능 링커를 이용하여 형성될 수 있다.
- <156> 다른 실시형태에서, CD40 결합체는 종양 예비표적화예의 사용을 위해 "수용체" (예컨대 스트렙타비딘)에 접합될 수도 있다. 이 과정에서, 항체-수용체 결합체는 환자에게 투여되고, 이어서 소거제를 사용하여 순환계로부터 비결합 결합체를 제거한 후 상기 수용체 (예컨대, 아비딘)에 선택적으로 결합하는 "리간드"를 투여하는데, 상기 리간드는 세포독성제 (예컨대, 방사선헌종)에 접합된 상태이다.
- <157> 본원에 기재된 CD40 결합체는 또한 면역리포솜으로서 제제화될 수 있다. 항체를 포함하는 리포솜은 문헌 (Epstein 등, 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 3688; Hwang 등, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4030); 및 미국 특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호에 기재된 바와 같은, 당분야의 공지된 방법에 의해 제조된다. 강화된 순환 시간을 갖는 리포솜이, 예를 들면, 미국 특허 제5,013,556호에 기재되어 있다.
- <158> 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 이용한 역상 증발법에 의해 제조될 수 있다. 리포솜은 목적하는 직경을 갖는 리포솜을 양산하기 위하여 지정된 기공 크기의 필터를 통해 압출된다. 본원에 기재된 항체의 Fab' 절편은 이황화물 상호교환 반응을 통해 문헌 (Martin 등, 1982, *J. Biol. Chem.* 257: 286-288)에 기재된 바와 같은 리포솜에 접합될 수 있다. 화학요법제 (예컨대 독소루비신)가 리포솜 내에 선택적으로 포함된다. 예컨대, 문헌 (Gabizon 등, 1989, *J. National Cancer Inst.* 81(19): 1484)을 참조하라.
- <159> 특정 실시형태에서, 예를 들어, 종양 침투를 증가시키기 위해서는 완전한 항체 보다 항체 절편을 사용하는 것이 바람직할 수도 있다. 그의 혈청 반감기를 증가시키기 위해서는 항체 절편을 변형시키는 것이 바람직할 수도 있다. 이는, 예를 들면, 항체 절편 내로 구제 수용체 결합 에피토프의 도입에 의해 달성될 수 있다. 일 방법에서, 항체 절편의 적합한 영역이 변경될 수 있고 (예컨대, 돌연변이), 혹은 에피토프가, 예를 들면, DNA 또는 펩타이드 합성에 의해 말단 또는 중간에서 항체 절편에 융합되는 펩타이드 표지 내로 도입될 수 있다. 예컨대, WO 96/32478을 참조하라.
- <160> 다른 실시형태에서, CD40 결합체의 공유 변형이 또한 포함된다. 이는, 만약 적용가능하다면, 화학적 합성에 의해, 혹은 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 만들어질 수도 있다. 항체의 공유 변형의 다른 유형이 항체의 표적하는 아미노산 잔기와 선택된 결사슬 또는 아미노- 또는 카복시-말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도 화제와 반응시킴으로써 상기 분자 내로 도입될 수 있다.
- <161> 공유 변형은 시스테인 잔기, 히스티딘 잔기, 라이신 및 아미노-말단 잔기, 아르기닌 잔기, 티로신 잔기, 카복실 결기 (아스파르트산 또는 글루탐산), 글루타민 및 아스파라긴 잔기, 또는 세린, 또는 트레오닌 잔기의 변형을 포함한다. 공유 변형의 다른 유형은 항체에 글리코시드의 화학적 또는 효소적 결합을 포함한다.
- <162> 항체에 존재하는 임의의 탄수화물 모이어티의 제거는 화학적으로 또는 효소적으로 수행될 수 있다. 화학적 탈당화는 문헌 (Hakirnuddin 등, 1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259: 52; 및 Edge 등, 1981, *Anal Biochem.* 118: 131)에 기재되어 있다. 항체 상의 탄수화물 모이어티의 효소적 절단은 문헌 (Thotakura 등, 1987, *Meth. Enzymol.* 138: 350)에 기재된 바와 같은 다양한 내- 및 외-글리코시다제의 사용에 의해 달성될 수 있다.
- <163> 유용한 공유 변형의 다른 유형은, 하나 이상의 미국 특허 제4,640,835호, 미국 특허 제4,496,689호, 미국 특허 제4,301,144호, 미국 특허 제4,670,417호, 미국 특허 제4,791,192호 및 미국 특허 제4,179,337호에 개시된 방식으로, 다양한 비단백질성 중합체 중의 하나, 예컨대, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 또는 폴리옥시알킬렌에 항체를 연결하는 것을 포함한다.

- <164> 치료 용도
- <165> CD40 결합제는 본원에 기재된 바와 같이 CD40의 발현과 관련된 다양한 장애의 치료에 유용하다.
- <166> CD40 결합제는 비경구, 피하, 복막내, 폐내, 및 비강내를 포함하는, 임의의 적당한 방법에 의해, 그리고 국소적인 면역조절성 치료가 요구된다면, 병변내 투여에 의해 투여될 수 있다 (관류 또는 이식 전에 이식편을 항체와 접촉시킴을 포함). CD40 결합제는, 예를 들면, 주입으로서 혹은 볼루스로서 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복막내, 또는 피하 투여를 포함한다. 또한, CD40 결합제는 특히 항체의 투여량을 감소시키면서, 맥박 주입에 의해 적절히 투여된다. 일 태양에서, 투여는 부분적으로 투여가 단기인지 만성인지에 따라서, 주사에 의해, 가장 바람직하게는 정맥내 또는 피하 주사에 의해 제공된다.
- <167> 질환의 예방 또는 치료를 위하여, 항체의 적절한 투여량은 상기에 정의된 바와 같은, 치료되는 질환의 유형, 그 질환의 중증도 및 경과, 항체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 이전 요법, 환자의 임상 병력 및 항체에 대한 반응, 및 주치의의 재량과 같은 다양한 요인들에 따라 달라질 것이다. 항체는 일회 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적절히 투여된다.
- <168> 면역학적 장애 또는 CD40-발현 암의 치료 또는 예방에 효과적인 CD40 결합제 (예컨대, CD40 항체)의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, *in vitro* 분석이 최적 투여량 범위를 결정하는 것을 보조하기 위해 선택적으로 사용될 수도 있다. 체제화에 사용되는 정확한 투여량은 또한 투여 경로 및 면역학적 장애 또는 CD40-발현 암의 단계에 따라 달라질 것이고, 진료의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야만 한다. 효과적인 투여량은 *in vitro* 또는 동물 모델 테스트 시스템 유래 용량-반응 곡선으로부터 외삽에 의해 추정될 수도 있다.
- <169> 일부 실시형태에서, CD40 결합제의 용량이 CD40-발현 장애, 예컨대 면역학적 장애 또는 CD40-발현 암을 갖는 환자에게 투여된다. 이 용량은 환자의 체중을 기준으로 전형적으로 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg이다. 환자에게 투여되는 용량은 환자의 체중으로 기준으로 약 0.1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg일 수 있다.
- <170> 예시적인 용량은, 이에 한정되는 것은 아니지만, 1 ng/kg 내지 100 mg/kg을 포함한다. 일부 실시형태에서, 용량은 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 7 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 9 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 11 mg/kg, 약 12 mg/kg, 약 13 mg/kg, 약 14 mg/kg, 약 15 mg/kg 또는 약 16 mg/kg이다. 이 용량은, 예를 들면, 매일, 1주일에 1회 (매주), 1주일 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 1주일에 5회, 1주일에 6회, 격주로 또는 매달 투여될 수 있다.
- <171> 특정 실시형태에서, 용량은 약 0.5 mg/kg/주, 약 1 mg/kg/주, 약 2 mg/kg/주, 약 3 mg/kg/주, 약 4 mg/kg/주, 약 5 mg/kg/주, 약 6 mg/kg/주, 약 7 mg/kg/주, 약 8 mg/kg/주, 약 9 mg/kg/주, 약 10 mg/kg/주, 약 11 mg/kg/주, 약 12 mg/kg/주, 약 13 mg/kg/주, 약 14 mg/kg/주, 약 15 mg/kg/주 또는 약 16 mg/kg/주이다. 일부 실시형태에서, 용량은 약 1 mg/kg/주 내지 약 15 mg/kg/주의 범위이다. 일부 실시형태에서, 용량은 약 1 mg/kg/주 내지 약 10 mg/kg/주의 범위이다. 일부 실시형태에서, 용량은 약 1 mg/kg/주 내지 약 8 mg/kg/주의 범위이다.
- <172> 다른 실시형태에서, 용량은 약 4 mg/kg/주 이상, 약 5 mg/kg/주 이상, 약 6 mg/kg/주 이상, 약 7 mg/kg/주 이상, 또는 약 8 mg/kg/주 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 용량은 약 4 mg/kg/주 내지 약 15 mg/kg/주의 범위이다. 일부 실시형태에서, 용량은 약 4 mg/kg/주 내지 약 10 mg/kg/주의 범위이다. 일부 실시형태에서, 용량은 약 4 mg/kg/주 내지 약 8 mg/kg/주의 범위이다.
- <173> 일부 실시형태에서, CD40 결합제가 하나 이상의 주기로 투여되는, 단계적으로 상승하는 투여 계획이 사용된다. 각각의 주기는 전형적으로 1주일 이상의 비-투여 기간이 수반된다. 각각의 투여 주기는 1주 이상, 2주 이상, 3주 이상, 4주 이상, 또는 5주 이상 지속될 수 있다. 각각의 비-투여 기간은 1주 이상, 2주 이상, 3주 이상 또는 4주 이상 지속될 수 있다.
- <174> 각각의 주기는 초기 (제1) 용량에 이터 연속된, 보다 높은 용량을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 용량은 아-치료적 또는 아-최적 용량이고, 이어서 후에 보다 높은 용량 투여가 수반된다. 다른 실시형태에서, 초기 용량은 치료적 용량이고, 이어서 후에 보다 높은 용량 투여가 수반된다. 본원에 사용된 바와 같이, 아-최적 용량은 바람직한 치료적 용량보다 적은 용량을 말한다. 선택적으로, 투여 수준은 바람직한 (표적하는) 치료학적으로 효과적인 용량이 달성될 때까지 증가하도록 지속될 수 있다 (예컨대, 제3 고 용량, 제4 고 용량, 제5 고 용

량, 등).

- <175> 초기 용량은 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 또는 그 이상 횟수로 투여될 수 있다. 투여 간격은 매일, 격일로, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 6일마다 또는 매주일 수 있다. 일부 실시형태에서, 초기 용량은, 예를 들면, 2일마다, 3일마다, 4일마다 또는 5일마다 투여될 수 있다. 예시적인 실시형태에서, 초기 용량은 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg 또는 약 6 mg/kg일 수 있다.
- <176> 후속 용량은 초기 용량(들)과 비교하여, 전형적으로 증가된다. 예를 들어, 초기 용량은 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg 또는 약 6 mg/kg일 수 있다. 초기 용량은 선택적으로 반복될 수 있다 (즉, 2회 투여됨). 후속 용량은 초기 용량보다 많으며, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 7 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 9 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 11 mg/kg, 약 12 mg/kg, 약 13 mg/kg 또는 약 16 mg/kg일 수 있다. 후속 용량은 매일, 2일마다, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 6일마다, 매주, 7일마다, 8일마다, 9일마다, 10일마다, 격주로 또는 매달 투여될 수 있다.
- <177> 일부 실시형태에서, 초기 용량은 1일째에 투여되고, 이어서 제2 투여가 2일째에, 3일째에, 4일째에 또는 5일째에 투여된다. 제3 투여는 선택적으로 3일째에, 4일째에, 5일째에, 6일째에, 7일째에, 8일째에, 9일째에 또는 10일째에 투여될 수 있다. 추가적인 용량이, 예를 들면, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 6일마다, 7일마다, 8일마다, 9일마다 또는 10일마다 투여될 수 있다.
- <178> 일부 실시형태에서, 투여 간격은 다음과 같다: 1 mg/kg의 초기 용량; 선택적으로 1 mg/kg의 제2 용량이 수반됨; 2 mg/kg의 후속 용량; 3 mg/kg의 후속 용량; 및 선택적으로 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg 또는 8 mg/kg의 1회 이상의 후속 용량. 다른 실시형태에서, 초기 용량은 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg 또는 6 mg/kg이고 후속 용량은 표적 치료 용량이다.
- <179> 예시적인 투여 주기는 하기를 포함한다:

Week 1		Week 2	Week 3	Week 4	Week 5
Day 1	Day 4	Day 8	Day 15	Day 22	Day 29
1 mg/kg	1 mg/kg	2 mg/kg	3 mg/kg	3 mg/kg	3 mg/kg
1 mg/kg	1 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	4 mg/kg	4 mg/kg
1 mg/kg	1 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	6 mg/kg	6 mg/kg
1 mg/kg	1 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	6 mg/kg	8 mg/kg
1 mg/kg	1 mg/kg	4 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg
1 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg
2 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg
2 mg/kg	4 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg
4 mg/kg	4 mg/kg	8 mg/kg	12 mg/kg	12 mg/kg	12 mg/kg
4 mg/kg	8 mg/kg	12 mg/kg	12 mg/kg	12 mg/kg	12 mg/kg
8 mg/kg	8 mg/kg	16 mg/kg	16 mg/kg	16 mg/kg	16 mg/kg

<181>

- <182> 일부 실시형태에서, 한 주기의 CD40 결합제가 투여되는 환자는 초기 투여 후 및 주기 동안에 5 µg/ml 이상의 혈장 농도를 유지한다. 일부 실시형태에서, 한 주기의 CD40 결합제가 투여되는 환자는 초기 투여 후 및 주기 동안에 10 µg/ml 이상의 혈장 농도를 유지한다.

- <183> 일부 실시형태에서, 점차적으로 상승하는 투여 계획은 완전 치료 용량의 투여 (예컨대, 3, 4, 6, 8, 12, 또는 16 mg/kg)와 비교하여, CD40 결합제의 투여와 관련한 하나 이상의 유해 사례를 감소시키거나 예방한다. 이러한 유해 효과는, 예를 들면, 고혈압, 발진, 두통, 동굴 두통, 두통/무균성 뇌막염, 식용부진, 증가된 체온, 증가된 크레아티닌, 요로 감염, 상기도 감염, 보행 장애, 피로, 오한, 구토, 어지럼증, 설사, 결막염, 호중성백혈구감소, 빈혈 또는 상승된 간 아미노전이효소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 등급 3의 유해 사례의 발생 또는 빈도가 감소된다. 일부 실시형태에서, 등급 2의 유해 사례의 발생 또는 빈도가 감소된다. 일부 실시형태에서, 등급 1의 유해 사례의 발생 또는 빈도가 감소된다. 일부 실시형태에서, 점차적으로 증가하는 투여 계획은 점차적으로 증가하는 투여 계획에서 초기 용량 (예컨대, 표적 치료 용량 대신에 투여)을 받지 않은 환자와 비교하여, 환자 내 제1-용량 사이토카인 방출을 감소시킨다.
- <184> 일부 실시형태에서, CD40 결합제는 사이토카인 방출을 감소시키는 치료제와 동시-투여된다. 치료제는 CD40 결합제의 투여 전, 동안, 또는 후에 투여될 수 있다. 예를 들어, CD40 결합제는 사이토카인 방출을 감소시키는 치료제와 동시-투여될 수 있다 (예컨대, 다발골수종 또는 NHL의 치료에서). 치료제는, 예를 들면, 코르티코스테로이드 (예컨대, 메틸프레드니솔론), 다이페닐드라민, 아세트아미노펜, 리톡시맵과 같은 스테로이드, 또는 투여량의 CD40 결합제에 의해 촉발된 사이토카인 방출을 억제하거나 감소시키는 다른 제제일 수 있다. 예를 들어, 사이토카인 방출을 감소시키는 치료제는 용량 (예컨대, 제1 용량)의 CD40 결합제의 전에, 동시에 또는 후에 투여될 수 있다.
- <185> 일부 실시형태에서, CD40 결합제는 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 갖는 환자에게 리톡시맵 (예컨대, 약 2 mg/kg)과 함께 동시-투여된다. 일부 실시형태에서, 스테로이드 (예컨대, 텍사메타손, 프레드니손, 프레드니솔론 또는 메틸프레드니솔론)는 CD40 결합제의 투여 전에 투여된다.
- <186> CD40 결합제는 제형화되고, 조제되어, 우수한 의학적 실행과 일관된 방식으로 투여될 것이다. 이러한 관계에서 고려되어야 할 요인은 치료되는 특정 장애, 치료되는 특정 포유동물, 개별적 환자의 임상적 상태, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 계획, 및 개입의에게 공지된 다른 요인들을 포함한다. 투여되는 CD40 결합제의 "치료학적 유효량"은 이러한 상태에 의해 좌우될 것이고, CD40 발현과 관련된 장애의 예방, 개선 또는 치료에 필요한 최소량이다.
- <187> CD40 결합제는, 선택적이지만, 문제의 장애를 예방하거나 치료하기 위해 일반적으로 사용되는 하나 이상의 제제와 함께 제형화될 필요가 없다. 이러한 다른 제제의 유효량은 제형 내에 존재하는 CD40 결합제의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기에 기술된 다른 요인들에 좌우된다. 이들은 일반적으로 동일한 투여량으로 이전에 본원에 사용된 바와 같은 투여 경로로 혹은 이전에 사용된 투여량의 약 1 내지 99%의 양으로 사용된다.
- <188> *CD40-관련 장애*
- <189> CD40 결합제는 CD40의 발현, 예컨대 면역 세포 (예컨대, 림프구 또는 수지상 세포)의 부적당한 활성화로 특징되는 CD40-발현 암 또는 면역학적 장애를 치료하거나 예방하는데 유용하다. CD40의 이러한 발현은, 예를 들면, 세포 표면에서 증가된 CD40 단백질 및/또는 발현된 CD40의 변경된 항원성에 기인할 수 있다. 본원에 기술된 방법에 따른, 면역학적 장애의 치료 또는 예방은 유효량의 CD40 결합제를 이러한 치료 또는 예방이 요구되는 환자에 투여하여, 상기 제제가 (i) CD40을 발현하고 그 질환 상태와 관련되는 활성화된 면역 세포에 결합하고, (ii) 그 활성화된 면역 세포에 세포독성, 세포증식억제, 또는 면역조절성 효과를 발휘함으로써 달성된다.
- <190> 면역 세포의 부적당한 활성화로 특징되고 본원에 기술된 방법에 의해 치료되거나 예방될 수 있는 면역학적 질환은, 예를 들면, 그 장애의 원인이 되는 과민성 반응(들)의 유형에 따라 구분될 수 있다. 이러한 반응은 전형적으로 4가지 유형으로 구분된다: 초과민 반응, 세포독성 (세포용해) 반응, 면역 복합체 반응, 또는 세포-매개 면역 (CMI) 반응 (지연형 과민 (DTH) 반응으로도 언급됨). [예컨대, 문헌 (William E. *Fundamental Immunology* Paul ed., Raven Press, N. Y., 3rd ed. 1993) 참조]
- <191> 이러한 면역학적 질환의 구체적인 예시는 하기를 포함한다: 류마티스성 관절염, 자가면역 탈수초성 질환 (예컨대, 다발경화증, 알레르기성 뇌척수염), 내분비 안구병증, 포도막막염, 전신홍반루푸스, 중증근육무력증, 그레이브스병, 사구체신염, 자가면역 간장 장애, 염증성장자병 (예컨대, 크론병 또는 켈양대장염), 과민증, 알레르기 반응, 쇼그렌 증후군, 타입 I 당뇨병, 원발성 담즙성 간경변, 베게너 육아종증, 섬유근육통, 다발근육염, 피부근육염, 염증성 근육염, 다발성 내분비 부전, 슈미트 증후군, 자가면역 포도막염, 에디슨병, 부신염, 갑상선염, 하시모토 갑상선염, 자가면역 갑상선 질환, 악성빈혈, 위점막위축, 만성 간염, 루포이드 간염, 죽상동맥경화증, 아 급성 피부 홍반 루푸스, 부갑상선기능저하, 드레슬러 증후군, 자가면역 저혈소판증, 특발성 혈소판 감

소성 자반병, 용혈빈혈, 심상성천포창, 천포창, 포진상 피부염, 원형탈모증, 유사천포창, 공포증, 진행성 전신 경화증, CREST 증후군 (석회증, 레이노 현상, 식도 운동장애, 손발가락 경화증, 및 모세관 혈관확장), 남성 및 여성 자가면역 불임증, 강직척추염, 켈양대장염, 혼합결합조직병, 결절성 다발동맥염, 전신성 케사혈관염, 아토피피부염, 아토피비염, 군페스츄어 증후군, 샤가스병, 사코이드증, 류마티스열, 천식, 반복 유산, 항인지질 증후군, 농부페, 다형홍반, 심장절개후 증후군, 쿠싱 증후군, 자가면역 만성 활동 간염, 새 사육가 폐, 독성표피 괴사용해, 알포트 증후군, 폐포염, 알레르기성 폐포염, 섬유화 폐포염, 간질성 폐질환, 결절홍반, 괴저농피증, 수혈부작용, 타카야스 동맥염, 류마티스성 다발성 근육통, 측두동맥염, 주혈흡충증, 거세포 동맥염, 회충증, 아스페르길루스증, 샘플러 증후군, 습진, 육아종성 림프종, 베체트병, 케이플란 증후군, 가와사키병, 탕기, 뇌척수염, 심내막염, 심내막심근섬유증, 안그내염, 지속용기홍반, 건선, 태아적모구증, 호산구성 근막염, 술만 증후군, 펠트 증후군, 사상충증, 섬모체염, 만성 섬모체염, 이시성 섬모체염, 푸치 섬모체염, IgA 신장병증, 헤노흐-셰라인 자반증, 이식대숙주병, 이식 거부반응, 심근병증, 이튼-램버트 증후군, 재발성 다발신경병증, 한랭글로불린혈증, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 예반 증후군, 급성 호흡곤란 증후군, 폐염증, 골다공증, 지연형 과민반응 및 자가면역 생식선 부전.

<192> 따라서 본원에 기술된 방법은 B 림프구 (예컨대, 전신 홍반 루푸스, 군페스츄어 증후군, 류마티스성 관절염 및 타입 I 당뇨병), Th₁-림프구 (예컨대, 류마티스성 관절염, 다발경화증, 건선, 쇼그렌 증후군, 하시모토 갑상선염, 그레이브병, 원발성 담즙성 강건변, 베게너 육아종증, 결핵, 또는 이식대숙주병), 또는 Th₂-림프구 (예컨대, 아토피피부염, 전신 홍반 루푸스, 아토피천식, 비결막염, 알레르기 비염, 오멘 증후군, 전신경화증, 또는 만성 이식대숙주병)의 장애의 치료를 포함한다. 일반적으로, 수지상 세포를 포함하는 장애는 Th₁-림프구 또는 Th₂-림프구의 장애를 포함한다.

<193> 일부 실시형태에서, 면역학적 장애는 그 장애와 관련된 활성화된 T 세포가 CD40을 발현하는 T 세포 장애와 같은, T 세포-매개 면역학적 장애이다. CD40 결합체는 이러한 CD40-발현 활성화 T 세포를 고갈시키기 위해 투여될 수 있다. 특정 실시형태에서, CD40 항체 또는 제제의 투여는 CD40-발현 활성화 T 세포를 고갈시킬 수 있는 반면, 휴지기 T 세포는 CD40 또는 제제에 의해 실질적으로 고갈되지 않는다. 이러한 관계에 있어서, "실질적으로 고갈되지 않는"은 약 60% 이하, 또는 약 70% 이하 또는 약 80% 이하의 휴지기 T 세포가 고갈되지 않는 것을 의미한다.

<194> 본원에 기술된 바와 같은 CD40 결합체는 또한 CD40-발현 암의 치료 또는 예방에 유용하다. 본원에 기재된 방법에 따른 CD40-발현 암의 치료 또는 예방은 유효량의 CD40 결합체를 이러한 치료 또는 예방이 요구되는 환자에게 투여하고, 그로 인해 그 제제가 (i) CD40-발현 암세포에 결합하고 (ii) CD40-발현 암세포의 증식을 고갈시키거나 억제하는 세포독성 또는 세포증식억제 효과를 발휘하게 함으로써 달성된다.

<195> 본원에 기재된 방법에 의해 치료되거나 예방될 수 있는 CD40-발현 암은, 예를 들면, 급성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병 (예컨대, 골수모세포, 쫓골수세포, 골수구성, 단핵세포, 또는 적백혈병), 만성 백혈병, 만성 골수구성 (과립구성) 백혈병, 또는 만성 림프구성 백혈병과 같은 백혈병; 진성적혈구 증가증; 림프종 (예컨대, 호지킨병 또는 비호지킨병); 다발골수종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증; 증쇄병; 육종 및 암종과 같은 고형 종양 (예컨대, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 뼈육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 윤활막종, 종피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 대장암종, 결장암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평세포암종, 샘암종, 한선암종, 피지샘암종, 유두암종, 유두모양 샘암종, 낭샘암종, 속질암종, 기관지원성암종, 신세포암종, 간암, 간내 쓸개관암종, 용모막암종, 고환종, 배아암종, 율름종양, 자궁경부암, 자궁암, 정소암, 폐암종, 소세포폐암종, 비소세포폐암종, 방광암종, 상피암종, 신경아교종, 별아교세포종, 속질모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경초종, 희소돌기아교세포종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 망막모세포종, 비인강암종, 또는 식도암종)을 포함한다.

<196> 비호지킨 림프종의 CD40 발현 유형은 무통성 (예컨대, 소포, 가장자리 구역, 소세포 림프구 림프종), 공격성 (예컨대, 외투막 세포) 및 고도 공격성 (예컨대, 버킷 림프종, 급성 림프모구성 백혈병) 및 확산 거대 B-세포 림프종 (예컨대, 종자증심 (예컨대, BCL-6 양성) 또는 활성화 B-세포 림프종)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 비호지킨 림프종은 버킷 림프종, 급성 림프모구성 백혈병 또는 확산 거대 B-세포 림프종과 같은 고도 공격성 림프종이다.

<197> 일부 실시형태에서, 환자는 공격성 (즉, 불안정한), 재발성 또는 불응성 질환을 갖는다.

<198> 약학 조성물 및 그의 투여

- <199> CD40 결합제 (예컨대, 항-CD40 항체)를 포함하는 조성물이 면역 장애 또는 CD40-발현 암이 발병했거나 발병할 위험이 있는 환자에게 투여될 수 있다. 본 발명은 나아가 CD40 발현 암 또는 면역 장애의 예방 또는 치료를 위한 약제의 제조에 있어서 CD40 결합제 (예컨대, 항-CD40 항체)의 용도를 제공한다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "환자"는 예컨대, 인간 및 비-인간 포유동물, 예컨대 영장류, 설치류, 및 개류를 포함하는, CD40-결합제가 투여될 수 있는 임의의 포유동물 환자를 의미한다. 본원에 기술된 방법을 이용한 치료에 보다 명확히 의도된 환자는 인간을 포함한다. 항체 또는 제제는 단독으로 또는 면역 장애 또는 CD40-발현 암의 예방 및 치료에 사용되는 다른 조성물과 병용하여 투여될 수 있다.
- <200> 다양한 전달 시스템이 CD40 결합제를 투여하는데 공지되어 있고 사용될 수 있다. 도입 방법은 이에 한정되는 것은 아니지만, 피내, 근육내, 복막내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외 및 경구 경로를 포함한다. CD40 결합제는 예를 들면, 주입, 블루스 또는 주사에 의해 투여될 수 있고, 화학요법제와 같은 다른 생물학적 활성 제제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신성 또는 국소적일 수 있다.
- <201> 특정 실시형태에서, CD40 결합제 조성물은 주사에 의해, 카테터에 의해, 좌약에 의해, 또는 임플란트에 의해 투여되고, 여기서 임플란트는 시알라스틱 (sialastic) 막과 같은 막 또는 섬유를 포함하는, 다공성, 비다공성, 또는 아교성 물질이다. 전형적으로, 이 조성물을 투여할 때, CD40 항체 또는 제제가 흡수하지 않는 물질이 사용된다.
- <202> 다른 실시형태에서, CD40 항체 또는 제제는 조절 방출 시스템으로 전달된다. 일 실시형태에서, 펌프가 사용될 수도 있다 [예컨대, 문헌 (Langer, 1990, *Science* 249: 1527-1533; Sefton, 1989, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14: 201; Buchwald 등, 1980, *Surgery* 88: 507; Saudek 등, 1989, *N. Engl. J. Med.* 321: 574) 참조]. 다른 실시형태에서, 중합체성 물질이 사용될 수 있다. 예컨대, 문헌 (Langer 및 Wise eds., *Medical Applications of Controlled Release* CRC Press, Boca Raton, Florida, 1974; Smolen 및 Ball eds., *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* Wiley, New York, 1984; Ranger 및 Peppas, 1983, *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23: 61)을 참조하라. 또한 문헌 (Levy 등, 1985, *Science* 228: 190; During 등, 1989, *Ann. Neurol.* 25: 351; Howard 등, 1989, *J. Neurosurg.* 71: 105)을 참조하라. 다른 조절 방출 시스템이 예를 들면, 상기 문헌 (Langer)에 기술되어 있다.
- <203> CD40 결합제 (예컨대, CD40 항체)는 치료학적 유효량의 결합제 및 하나 이상의 약학적으로 양립가능한 성분들을 포함하는 약학 조성물로서 투여될 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물은 전형적으로 하나 이상의 약학적 담체를 포함한다 (예컨대, 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예컨대 땅콩유, 대두유, 광물유, 참기름 등)을 포함하는, 물 및 오일과 같은 멸균액. 물은 약학 조성물이 정맥내로 투여될 때 더욱 전형적인 담체이다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스와 및 글리세롤 용액이 또한, 특히 주사가 가능한 용액을 위해, 액상 담체로서 사용될 수 있다. 적합한 약학적 부형제는, 예를 들면, 전분, 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올, 및 기타 등등을 포함한다. 다른 적합한 약학적 부형제는 아미노산 (예컨대, 아르기닌, 히스티딘, 글리신), 계면활성제 (예컨대, 폴리소르베이트) 및 당 및 당알코올 (예컨대, 수크로오스 또는 소르비톨 및 다른 폴리올 (예컨대, 크레탈로스))을 포함한다. 요구된다면, 조성물은 또한 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 포함할 수 있다. 이들 조성물은 용액, 분산액, 에멀전, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 서방출성 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 트리글리세라이드와 같은 전통적인 결합제 및 담체와 함께 좌약으로 제형화될 수 있다. 경구 제형은 약학적 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 스테아레이트, 셀룰로오스, 마그네슘 카보네이트 등과 같은 표준 담체를 포함할 수 있다. 적합한 약학적 담체의 예시가 문헌 ("*Remington's Pharmaceutical Sciences*" by E.W. Martin)에 기재되어 있다. 이러한 조성물은 환자에게 적당한 투여를 위한 형태를 제공하기 위하여 적당한 양의 담체와 함께, 전형적으로 정제된 형태로, 치료학적 유효량의 핵산 또는 단백질을 포함할 것이다. 제형은 투여 방식에 상응한다.
- <204> 전형적 실시형태에서, 약학 조성물은 인간에게로의 정맥내 투여에 적합한 약학 조성물로서 통상적인 방법에 따라 제형화된다. 전형적으로, 정맥내 투여용 조성물은 멸균 등장성 수성 완충액 내 용액이다. 필요한 경우에, 약학 조성물은 또한 주사 부위에 고통을 완화시키기 위하여 용해제와 리그노카인 (lignocaine)과 같은 국소 마취제를 포함할 수 있다. 일반적으로, 상기 성분들은 개별적으로 또는, 예를 들면 활성 제제의 양을 표시하는 앰플 또는 사세이 (sachette)와 같이 용접 밀폐된 용기 내 동결 건조된 분말 또는 무수분 농축물로서, 단일 투여 형태 내에 함께 혼합된 형태로 공급된다. 약학 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우에, 멸균 약학적 등급의 물 또는 식염수를 포함하는 주입병을 이용하여 투여될 수 있다. 약학 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우에,

주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플이 투여 전에 상기 성분들이 혼합될 수 있도록 제공될 수 있다.

- <205> 또한, 약학 조성물은 (a) 동결건조된 형태로 CD40 결합제 (예컨대, 항-CD40 항체)를 포함하는 용기 및 (b) 주사용 약학적으로 허용가능한 희석제 (예컨대, 멸균수)를 포함하는 제2 용기를 포함하는 약학적 키트로서 제공될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 희석제는 동결건조된 항-CD40 항체 또는 제제의 재구성 또는 희석을 위해 사용될 수 있다. 약학적 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 규정된 지시 사항이 이러한 용기(들)에 부수적으로 포함될 수 있는데, 이 지시 사항은 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매의 상기 기관에 의한 허가를 나타낸다.
- <206> 일부 실시형태에서, CD40 결합제를 함유하는 약학 조성물은 상기 결합제에 접합되거나 접합되지 않은, 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 항-CD40 항체 또는 CD40 결합제는 면역 장애 또는 CD40-발현 암의 치료 또는 예방을 위하여 하나 이상의 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 예를 들면, 병용 요법은 세포증식억제제, 세포독성제, 또는 면역조절제를 포함할 수 있다. 병용 요법은 또한, 활성화된 림프구, 수지상 세포 또는 CD40-발현 암세포의 표면에 CD40 이외에 다른 수용체 또는 수용체 복합체를 표적하는 제제의 투여를 포함할 수 있다. 이러한 제제의 예는 활성화된 림프구, 수지상 세포 또는 CD40-발현 암세포의 표면에 있는 분자에 결합하는 제2, 비-CD40 항체를 포함한다. 다른 예는 이러한 수용체 또는 수용체 복합체를 표적하는 리간드를 포함한다. 전형적으로, 이러한 항체 또는 리간드는 활성화된 림프구, 수지상 세포 또는 CD40-발현 암세포 상의 세포 표면 수용체에 결합하여 활성화된 림프구, 수지상 세포 또는 CD40-발현 암세포에 세포증식억제 또는 세포독성 신호를 전달함으로써 항-CD40 항체의 세포독성 또는 세포증식억제 효과를 증강시킨다.
- <207> 이러한 병용 투여는 질환 매개변수 (예컨대, 증상의 중증도, 증상의 횟수, 또는 재발 빈도)에 부가적이거나 상승적인 효과를 나타낸다.
- <208> 병용 투여를 위한 치료 계획과 관련하여, 특정 실시형태에서, 항-CD40 항체 또는 CD40 결합제가 치료제와 동시에 투여된다. 다른 특정 실시형태에서, 치료제는 적어도 1시간 및 수개월까지 항-CD40 항체 또는 CD40 결합제의 투여 전에 또는 수반되어, 예를 들면 적어도 1시간, 5시간, 12시간, 하루, 일주일, 1개월, 또는 3개월까지 항-CD40 항체 또는 CD40 결합제의 투여 전에 또는 수반되어 투여된다.
- <209> 세포독성제 또는 면역조절제의 유용한 종류는, 예를 들면 항류블린제, 아우리스타틴 (auristatin)(예컨대, MMAE, 또는 MMAF), DNA (minor groove binders), DNA 복제 억제제, 알킬화제 (예컨대, 시스-플라틴 [cis-platin], 모노(플라티늄), 비스(플라티늄) 및 트라이-핵 플라티늄 복합체 및 카보플라틴과 같은 플라티늄 복합체), 안트라사이클린, 항생제, 항폴린산제 (antifolates), 항대사물질, 화학요법 민감제, 듀오카르마이신 (duocarmycins), 에포토사이드, 플루오르화 피리미딘, 이온운반체, 렉시트로핀 (lexitropsins), 니트로소우레아 (nitrosoureas), 플라티놀 (platinols), 전-형성 화합물, 퓨린 항대사물질, 퓨로마이신, 방사선 감작제, 스테로이드, 타산, 국소이성화효소 억제제, 빈카 알칼로이드, 또는 기타를 포함한다.
- <210> 개별적인 세포독성제 또는 면역조절제는, 예를 들면, 안드로젠, 안트라마이신 (AMC), 아스파라기나제, 5-아자사이티딘, 아자티오프린, 블레오마이신, 보르테조미 (예컨대, VELCADE), 부설판, 부티오닌 설포시딘, 캄토텐신, 카보플라틴, 카르머스틴 (BSNU), CC-1065, 클로로암부칠, 시스플라틴, 콜히친, 사이클로포스파미드, 시타라빈, 시티딘 아라비노사이드, 사이토칼라신 B, 다카르바진, 닥티노마이신 (이전에는 악티노마이신), 다우노루비신, 데카르바진, 도세탁셀, 독소루비신, 에스트로젠, 5-플루오르데옥시우리딘, 5-플루오로우라실, 그라마이시딘 D, 하이드록시우레아, 이다루비신, 이포스파미드, 이리노테칸, 레나리도마이드 (REVLIMID), 로무스틴 (CCNU), 메클로르에타민 (mechlorethamine), 멜팔란, 6-머캅토피린, 메토크세이트, 미쓰라마이신, 마이토마이신 C, 마이토크산트론, 니트로이미다졸, 파클리탁셀, 팔리카마이신 (palicamycin), 프로카르비진, 스트렙토조토신, 테노포사이드, 6-티오구아닌, 티오TEPA, 토포데칸, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈, VP-16 및 VM-26을 포함한다.
- <211> 일부 전형적인 실시형태에서, 치료제는 세포독성제이다. 적합한 세포독성제는, 예를 들면 돌라스타틴 (예컨대, 아우리스타틴 E, AFP, MMAF, MMAE, AEB 또는 AEBB), DNA 소 고랑 결합제 (예컨대, 에네디인 [enediynes] 및 렉스트로핀 [lexitropsins]), 듀오카르마이신 [duocarmycin], 타산 (예컨대, 파클리탁셀 및 도세탁셀), 퓨로마이신, 빈카 알칼로이드, CC-1065, SN-38, 토포데칸, 몰포리노-독소루비신, 라이족신 (rhizoxin), 사이아노몰포리노-독소루비신, 에치노마이신 (echinomycin), 콤브레타스타틴 (combretamycin), 네트로핀 (netropsin), 에포틸론 (epotilone) A 및 B, 에스트라무스틴 (estramustine), 크립토파이신 (cryptophysin), 세마도틴 (cemadotin), 메이탄시노이드 (maytansinoids), 디스코데르몰라이드 (discodermolide), 엘레우세로빈 (eleutherobin), 또는 마이토크산트론 (mitoxantrone)을 포함한다.

- <212> 일부 실시형태에서, 세포독성제는, 예를 들면, 독소루비신, 파클리탁셀, 멜팔란, 빈카 알칼로이드, 메토트렉세이트, 마이토마이신 C 또는 에토포사이드와 같은 통상적인 화학요법제이다. 또한, CC-1065 유사체, 칼리체아마이신 (calicheamicin), 메이스타틴 (maytansine), 돌라스타틴 (dolastatin) 10의 유사체, 라이족신, 및 팔리톡신 (palytoxin)과 같은 강력한 제제가 항-CD40 항체 또는 그의 제제에 연결될 수 있다.
- <213> 특정 실시형태에서, 세포독성제 또는 세포증식억제제는 아우리스타틴 E (당분야에는 또한 돌라스타틴-10으로도 알려짐) 또는 그의 유사체이다. 전형적으로, 아우리스타틴 E 유사체는 예컨대, 아우리스타틴 E와 케토산 사이에 형성된 에스테르이다. 예를 들어, 아우리스타틴 E는 각각 AEB 및 AEBV를 생산하기 위하여 파라아세틸 벤조산 또는 벤조일발레르산과 반응될 수 있다. 다른 전형적인 아우리스타틴 유도체는 AFP, MMAF, 및 MMAE를 포함한다. 아우리스타틴 E 및 그의 유도체의 합성 및 구조는, 예를 들면, 그의 기재가 본원에 참고로서 도입되는, 미국 특허 출원 공개 제2004-0157782 A1호 및 제2005-0238649호; 국제 특허 출원 제PCT/US03/24209호, 국제 특허 출원 제PCT/US02/13435호, 및 미국 특허 제6,884,869호; 제6,323,315호; 제6,239,104호; 제6,034,065호; 제5,780,588호; 제5,665,860호; 제5,663,149호; 제5,635,483호; 제5,599,902호; 제5,554,725호; 제5,530,097호; 제5,521,284호; 제5,504,191호; 제5,410,024호; 제5,138,036호; 제5,076,973호; 제4,986,988호; 제4,978,744호; 제4,879,278호; 제4,816,444호; 및 제4,486,414호에 기재되어 있다.
- <214> 특정 실시 형태에서, 세포독성 제제는 DNA 소 고랑 결합제이다 (예컨대, 미국 특허 제6,130,237호를 참조하라). 예를 들면, 일부 실시형태에서, 상기 소 고랑 결합제는 CBI 화합물이다. 다른 실시형태에서, 상기 소 고랑 결합제는 에네디인 (예컨대, 칼리체아마이신 [calicheamicin])이다.
- <215> 항-튜블린 제제의 예는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 탁산 (예컨대, 탁솔(등록상표) [파클리탁셀], 탁소테레 (Taxotere)(등록상표) [도세탁셀]), T67 (툴라릭, Tularik), 빈카 알칼로이드 (예컨대, 빈크리스타틴, 빈블라스틴, 빈데신, 및 비노렐빈), 및 돌라스타틴 (예컨대, 아우리스타틴 E, AFP, MMAF, MMAE, AEB, AEBV)을 포함한다. 다른 항튜블린 제제는, 예를 들면, 바카틴 (baccatin) 유도체, 탁산 유사체 (예컨대, 에포틸론 A 및 B), 노코다졸 (nocodazole), 콜히친 및 콜치미드 (colcimid), 에스트라무스틴, 크립토파이신, 세마도틴, 메이탄시노이드, 콤프레타스타틴, 디스코데르몰리드, 및 엘레우세로빈을 포함한다.
- <216> 일부 실시형태에서, 세포독성제는 다른 그룹의 항-튜블린제인, 메이탄시노이드이다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 메이탄시노이드는 메이탄신 (maytansine) 또는 DM-I (ImmunoGen, Inc.; 문헌 [Chari 등, 1992, *Cancer Res.* 52: 127-131] 참조)이다.
- <217> 일부 실시형태에서, 치료제는 방사성동위원소가 아니다.
- <218> 일부 실시형태에서, 세포독성 또는 면역억제 제제는 항대사산물이다. 항대사산물은, 예를 들면, 퓨린 길항제 (예컨대, 아조티로프린 [zothioprine] 또는 마이코페놀레이트 모페틸 [mycophenolate mofetil]), 디하이드로폴레이트 리덕타제 억제제 (예컨대, 메토트렉세이트), 에이사이클로비어 (acyclovir), 갱시클로비어 (gancyclovir), 지도부딘 (zidovudine), 비다라빈 (vidarabine), 리바바린 (ribavarin), 아지도티미딘 (azidothymidine), 시티딘 아라비노사이드 (cytidine arabinoside), 아만타딘 (amantadine), 다이테옥시우리딘, 아이오도테옥시우리딘, 포스카르넷 (poscarnet), 또는 트라이플루리딘 (trifluridine)일 수 있다.
- <219> 다른 실시형태에서, 세포독성 또는 면역억제 제제는 타크로리무스 (tacrolimus), 사이클로스포린 또는 라파마이신 (rapamycin)이다. 또 다른 실시형태에서, 세포독성 제제는 알데스레우킨 (aldesleukin), 알렘즈주마브 (alemtuzumab), 알리트레티노인 (alitretinoin), 알로푸리놀 (allopurinol), 알트레타민 (altretamine), 아미포스틴 (amifostine), 아나스트라졸 (anastrozole), 삼산화비소 (arsenic trioxide), 벅사로텐 (bexarotene), 벅사로텐, 칼루스테론 (calusterone), 카페시타빈 (capecitabine), 셀레코시브 (celecoxib), 클라드리빈 (cladribine), 다르베포에틴 알파 (Darbepoetin alfa), 데니류킨 디프티톡스 (Denileukin diftotox), 텍스라족산 (dexrazoxane), 드로모스타놀론 프로피오네이트 (dromostanolone propionate), 에피루비신, 에포에틴 알파 (Epoetin alfa), 에스트라무스틴, 엑세메스탄 (exemestane), 필그라스티 (Filgrastim), 플록스우리딘 (floxuridine), 플루다라빈 (fludarabine), 플벤스트란트 (fulvestrant), 겐시타빈 (gemcitabine), 겐즈주마브 오조가미신 (gemtuzumab ozogamicin), 고세렐린 (goserelin), 이다루비신 (idarubicin), 이포스파미드, 이마티니브 메실레이트 (imatinib mesylate), 인테페론 알파-2a, 이리노테칸 (irinotecan), 레트로졸 (letrozole), 류코보린 (leucovorin), 레바미솔 (levamisole), 메클로레타민 (meclorethamine) 또는 질소 머스타드 (nitrogen mustard), 메제스트롤 (megestrol), 메스나 (mesna), 메토트렉세이트, 메톡살렌 (methoxsalen), 마이토마이신 C, 마이토탄 (mitotane), 난드로롤론 펜프로피오네이트 (nandrolone phenpropionate), 오프렐베킨

(oprelvekin), 옥살리플라틴 (oxaliplatin), 파미드로네이트 (pamidronate), 페가데마세 (pegademase), 페가스파라가세 (pegaspargase), 페그필그라스탐 (pegfilgrastim), 펜토스타틴 (pentostatin), 피포브로만 (pipobroman), 플리카마이신 (plicamycin), 포르피머 소듐 (porfimer sodium), 프로카바진 (procarbazine), 퀴나크라인 (quinacrine), 라스부리카제 (rasburicase), 레블리미드 (revlimid), 사르그라모스탐 (Sargramostim), 스트렙토조토신 (streptozocin), 탐옥시펜 (tamoxifen), 테모졸로미드 (temozolomide), 테니포시드 (teniposide), 테스토락톤 (testolactone), 티오구아닌 (thioguanine), 토레미펜 (toremifene), 토시투모마브 (Tositumomab), 트라즈주마브 (Trastuzumab), 트레티노인 (tretinoin), 우라실 머스타드 (uracil mustard), 발루비신 (valrubicin), 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈 (vinorelbine) 및 졸레드로네이트 (zoledronate)이다.

<220> 부가적인 실시형태에서, 상기 약제는 인간화 항-HER2 단일클론 항체; RITUXAN (리투시마브 [rituximab]; Genentech, Inc., South San Francisco, CA); 키메라 항-CD20 단일클론 항체; OVAREX (AltaRex Corporation, MA); PANOREX (Glaxo Wellcome, NC; 생쥐 IgG2a 항체); 세톡시마브 에르비투스 (Cetuximab Erbitux)(Imclone Systems Inc., NY; 항-EGFR IgG 키메라 항체); 비탁신 (Vitaxin)(MedImmune, Inc., MD); 캄페스 (Campath) I/H (Leukosite, MA; 인간화 IgG1 항체); 스마트 MI95 (Protein Design Labs, Inc., CA; 인간화 항-CD33 IgG 항체); 림포사이드 (LymphoCide)(Immunomedics, Inc., NJ; 인간화 항-CD22 IgG 항체); 스마트 ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA; 인간화 항-HLA-DR 항체); 온코라임 (Oncolym)(Techniclone, Inc., CA; 방사성표지 생쥐 항-HLA-Dr10 항체); 알로문 (Allomune)(BioTransplant, CA; 인간화 항-CD2 mAb); 아바스틴 (Avastin)(Genentech, Inc., CA; 항-VEGF 인간화 항체); 에프라츠주마브 (Epratuzamab)(Immunomedics, Inc., NJ and Amgen, CA; 항-CD22 항체); 및 세아시드 (CEAcide)(Immunomedics, NJ; 인간화 항-CEA 항체)이다.

<221> 다른 적합한 항체는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 하기 항원에 대한 항체를 포함한다: CA125, CA15-3, CA19-9, L6, 루이스 Y, 루이스 X, 알파 태아단백질, CA 242, 태반 알칼리성 인산효소, 전립선 특이 항원, 전립선산 포스파타제 (prostatic acid phosphatase), 표피 성장 인자, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, 항-트랜스페린 수용체, p97, MUC1-KLH, CEA, gp100, MART1, 전립선 특이 항원, IL-2 수용체, CD20, CD52, CD33, CD22, 인간 융모성 성선자극호르몬 (chorionic gonadotropin), CD38, 뮤신 (mucin), P21, MPG, 및 Neu 발암유전자 산물.

<222> 일부 실시형태에서, 치료제는 면역조절제이다. 면역조절제는, 예를 들면, 갠시클로비어, 에탄에르셉트 (etanercept), 타크롤리무스 (tacrolimus), 사이클로스포린, 라파마이신, 사이클로포스파미드, 아자티오프린, 마이코페놀레이트 모페틸 또는 메토티렉세이트일 수 있다. 별법으로, 면역조절제는, 예를 들면, 글루코코르티코이드 (예컨대, 코티솔 또는 알도스테론) 또는 글루코코르티코이드 유사체 (예컨대, 텍사메타손, 프레드니손 또는 메틸-프레드니손 (예컨대, 솔루-메드롤))일 수 있다.

<223> 적합한 사이클로옥시게나제 (cyclooxygenase) 억제제는 메클로페남산 (meclofenamic acid), 메페남산 (mefenamic acid), 카르프로펜 (carprofen), 다이클로페낙 (diclofenac), 다이플루니살 (diflunisal), 펜부펜 (fenbufen), 페노프로펜 (fenoprofen), 이부프로펜 (ibuprofen), 인도메타신 (indomethacin), 케토프로펜 (ketoprofen), 나부메톤 (nabumetone), 나프록센 (naproxen), 설린닥 (sulindac), 테녹시캄 (tenoxicam), 톨메틴 (tolmetin), 및 아세틸살리실산 (acetylsalicylic acid)을 포함한다.

<224> 적합한 리포옥시게나제 (lipoxygenase) 억제제는 산화환원 (redox) 억제제 (예컨대, 카테콜 부탄 유도체, 노르 다이하이드로구아이아레트산 [nordihydroguaiaretic acid, NDGA], 마소프로콜 [masoprocol], 페니돈 [phenidone], 이아노팔렌 [lanopalen], 인다졸리논 [indazolinones], 나파자트롬 [naphazatrom], 벤조푸라놀 [benzofuranol], 알킬하이드록실아민), 및 비-산화환원 억제제 (예컨대, 하이드록시티아졸 [hydroxythiazoles], 메톡시알킬티아졸 [methoxyalkylthiazoles], 벤조피란 및 그의 유도체, 메톡시테트라하이드로피란 [methoxytetrahydropyran], 보스웰산 [boswellic acids] 및 보스웰산의 아세틸화 유도체, 및 사이클로알킬 라디칼을 갖는 퀴놀린메톡시페닐아세트산 [quinolinemethoxyphenylacetic acids]), 및 산화환원 억제제의 전구체를 포함한다.

<225> 다른 적합한 리포옥시게나제 억제제는 항산화제 (예컨대, 페놀, 프로필 갈레이트, 플라보노이드 및/또는 플라보노이드 함유 자연 발생 성분, 플라본의 하이드록실화 유도체, 플라보놀, 다이하이드로퀘세틴, 루테올린 (luteolin), 갈란긴 (galangin), 오로볼 (orobol), 찰콘 유도체, 4,2',4'-트라이하이드록시찰콘 (trihydroxychalcone), 오르쏘-아미노페놀, N-하이드록시우레아, 벤조푸라놀 (benzofuranols), 엡셀렌 (ebselen) 및 감소하는 셀레노효소의 활성을 증가시키는 종류), 철 킬레이트제 (예컨대, 하이드록삼산 및 그의 유도체, N-하이드록시우레아, 2-벤질-1-나프톨, 카테콜, 하이드록실아민, 카르노솔 트롤록스 [carnosol trolox]

C, 카테콜, 나프톨, 설과살라진, 질레우톤 [zyleuton], 5-하이드록시안트라닐산 [5-hydroxyanthranilic acid] 및 4-(오메가-아릴알킬)페닐알카노산), 이미다졸-함유 화합물 (예컨대, 케토코나졸 [ketoconazole] 및 이트라코나졸), 페노티아진 (phenothiazines) 및 벤조피란 유도체를 포함한다.

<226> 또 다른 적합한 리포옥시게나제 억제제는 에이코사노이드 (eicosanoids)의 억제제 (예컨대, 옥타데카테트라에노산 [octadecatetraenoic], 에이코사테트라에노산 [eicosatetraenoic], 도코사펜타에노산 [docosapentaenoic], 에이코사헥사에노산 [eicosahexaenoic] 및 도코사헥사에노산 [docosahexaenoic] 및 그의 에스테르, PGE1 (프로스타글란딘 E1), PGA2 (프로스타글란딘 A2), 비프로스톨 (viprostol), 15-모노하이드록시에이코사노산, 15-모노하이드록시-에이코사트라이에노산 및 15-모노하이드록시에이코사펜타에노산, 및 류코트리엔 [leukotrienes] B5, C5 및 D5), 칼슘 흐름을 방해하는 화합물, 페노티아진 (phenothiazines), 다이페닐부틸아민 (diphenylbutylamines), 베라파밀 (verapamil), 푸코사이드 (fucoside), 커큐민 (curcumin), 클로로젠산 (chlorogenic acid), 카페인산 (caffeic acid), 5,8,11,14-에이코사테트라에노산 (ETYA), 하이드록시페닐레틴 아마이드 (hydroxyphenylretinamide), 이오나팔렌 (Ionapalen), 에스쿨린 (esculin), 다이에틸카르바마진 (diethylcarbamazine), 페난트롤린 (phenantrolin), 바이칼레인 (baicalein), 프록시크로밀 (proxicromil), 티오에테르 (thioethers), 다이알릴 설페이트 및 다이-(1-프로페닐) 설페이트를 포함한다.

<227> 류코트리엔 수용체 길항제는 칼시트리올 (calcitriol), 온타졸라스트 (ontazolast), 바이에르 Bay-x-1005, 시바-게이지 (Ciba-Geigy) CGS-25019C, 엠셀렌, 레오 덴마크 (Leo Denmark) ETH-615, 릴리 (Lilly) LY-293111, 오노 (Ono) ONO-4057, 테루모 (Terumo) TMK-688, 베링거 잉겔하임 (Boehringer Ingelheim) BI-RM-270, 릴리 LY 213024, 릴리 LY 264086, 릴리 LY 292728, 오노 ONO LB457, 화이자 (Pfizer) 105696, 퍼듀 프레데릭 (Perdue Frederick) PF 10042, 롱프랑 로리 (Rhone-Poulenc Rorer) RP 66153, 스미스클라인 비참 (SmithKline Beecham) SB-201146, 스미스클라인 비참 SB-201993, 스미스클라인 비참 SB-209247, 시얼리 (Searle) SC-53228, 수미타모 (Sumitamo) SM 15178, 아메리칸 홈 프로덕츠 (American Home Products) WAY 121006, 바이에르 Bay-o-8276, 워너-램버트 (Warner-Lambert) CI-987, 워너-램버트 CI-987BPC-15LY 223982, 릴리 LY 233569, 릴리 LY-255283, 마크로넥스 (MacroNex) MNX-160, 머크 (Merck and Co.) MK-591, 머크 MK-886, 오노 ONO-LB-448, 퍼듀 프레데릭 PF-5901, 롱프랑 로리 RG 14893, 롱프랑 로리 RP 66364, 롱프랑 로리 RP 69698, 시오노오기 (Shionoogi) S-2474, 시얼리 SC-41930, 시얼리 SC-50505, 시얼리 SC-51146, 시얼리 SC-52798, 스미스클라인 비참 SKandF-104493, 레오 덴마크 SR-2566, 타나베 (Tanabe) T-757 및 테이진 (Teijin) TEI-1338을 포함한다.

<228> 일부 실시형태에서, 치료제는 비타민 C 또는 사이클로헥시미드가 아니다. 일부 실시형태에서, 치료제는 IMiD3 [3-(4-아미노-1-옥소-1,3-다이하이드로-아이소인돌-2-일)-피페리딘-2,6-디온]이다. 다른 실시형태에서, 치료제는 IMiD3이 아니다. 일부 실시형태에서, 치료제는 CD40L이 아니다. 일부 실시형태에서, 치료제는 탈리노마이드가 아니다. 일부 실시형태에서, 치료제는 외인성 사이토카인이 아니다. 특정 실시형태에서, 치료제는 IL-4가 아니다.

<229> 일부 실시형태에서, 요법은 CHOP (사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 프레드니솔론), R-CHOP (리톡시맵, 사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 프레드니솔론), ACVBP (독소루비신, 사이클로포스파미드, 빈데신, 블레오마이신, 프레드니손), ICE (이다루비신, 고용량 고용량 시토신 아라비노사이드, 에토포사이드), R-ICE (리톡시맵, 이다루비신, 고용량 시토신 아라비노사이드, 에토포사이드), CNOP (사이클로포스파미드, 마이토칸트론, 빈크리스틴, 프레드니손), m-BACOD (메토트렉세이트, 블레오마이신, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 텍사메타손, 류코보린), MACOP-B (메토트렉세이트, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 프레드니손, 블레오마이신, 류코보린), ProMACE CytaBOM (프레드니손, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 에토포사이드, 시타라빈, 블레오마이신, 빈크리스틴, 메토트렉세이트, 류코보린) 또는 GVD (겔시타빈, 빈크리스틴, 독소루비신)와 같은 병용 요법이다.

<230> 일부 실시형태에서, 다발골수종을 갖는 환자는 CD40 결합제 및 레나리도마이드로 치료된다. 환자는, 예를 들면, 공격성 또는 불응성 다발골수종을 가질 수도 있다. 환자는, 예를 들면, CD40 결합제의 1 내지 4주 용량 (예컨대, 약 0.5 mg/kg 내지 약 16 mg/kg)을 투여 받을 수도 있다.

<231> 일부 실시형태에서, 비-호지킨 림프종 (NHL)을 갖는 환자는 CD40 결합제 (예컨대, 약 0.5 mg/kg 내지 약 8 mg/kg) 및 CHOP 또는 R-CHOP로 치료된다. 환자는 새로 진단되거나 (예컨대, 이전에는 NHL에 대해 치료받지 않음), 이전에 치료될 수 있다 (예컨대, 재발하거나 이전 치료가 실패한 경우). 비-호지킨 림프종은 무통성이거나 공격성일 수 있다.

<232> 일부 실시형태에서, 비-호지킨 림프종 (NHL)을 갖는 환자는 CD40 결합제 (예컨대, 약 0.5 mg/kg 내지 약 8

mg/kg) 및 ICE 또는 R-ICE로 치료된다. 환자는 새로 진단되거나 (예컨대, 이전에는 NHL에 대해 치료받지 않음), 이전에 치료될 수 있다 (예컨대, 재발하거나 이전 치료가 실패한 경우). 비-호지킨 림프종은 무통성이거나 공격성일 수 있다.

<233> 일부 실시형태에서, 확산 거대 B 세포 림프종 (DLBCL)을 갖는 환자는 CD40 결합제 및 R-CHOP 또는 CHOP로 치료된다. 환자는 새로 진단되거나 (예컨대, 이전에는 DLBCL에 대해 치료받지 않음), 이전에 치료될 수 있다 (예컨대, 재발하거나 이전 치료가 실패한 경우). 일부 실시형태에서, CHOP는 리투시맵 없이 투여된다.

<234> 일부 실시형태에서, 외투막 세포 림프종 또는 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 갖는 환자는 CD40 결합제 및 리투시맵으로 치료된다. 일부 실시형태에서, 만성 림프구성 백혈병 (CLL)을 갖는 환자는 CD40 결합제 및 리투시맵으로 치료된다.

<235> 제조 품목

<236> 다른 태양에서, 상기에 기술된 장애의 치료에 유용한 물질을 포함하는 제조 품목이 포함된다. 제조 품목은 용기와 라벨을 포함한다. 적합한 용기는, 예를 들면, 병, 바이알, 주사, 및 테스트 튜브를 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 물질로 만들어질 수 있다. 용기는 그 상태를 치료하기에 효과적인 조성물을 수용하고 멸균 입구 포트를 가질 수 있다. 예를 들면, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘에 의해 뚫힐 수 있는 마개를 갖는 바이알일 수 있다. 조성물 내 활성제는 인간화 항-CD40 항체이다. 용기 상에 또는 그와 연관된 라벨은 조성물이 정해진 상태를 치료하는데 사용됨을 지시한다. 제조 품목은 추가로 인산염-완충 식염수, 링거 용액, 및 텍스트로스 용액과 같은 약학적으로 허용가능한 완충액을 포함하는 제2 용기를 포함할 수 있다. 제조 품목은 다른 완충액, 희석제, 충전제, 바늘, 주사기, 및 사용을 위한 지시사항이 담긴 포장 삽입물을 포함하는, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

<237> ATCC 기탁

<238> 단일클론 항체 S2C6의 ATCC 기탁은 특허 진행의 목적으로 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약의 조항에 따라 1999년 5월 25일자로 이루어졌다. ATCC는 미국, 버지니아 20110-2209, 마나사스, 유니버시티 대로 10801에 위치하고 있다. ATCC 기탁은 PTA-110의 기탁번호가 주어졌다. ATCC는 미국, 버지니아 20110-2209, 마나사스, 유니버시티 대로 10801에 위치하고 있다. 임의의 기탁은 당분야의 숙련자에게 편리하게 제공되며 이는 기탁이 35 U.S.C. 단락 112 하에서 요구되는 승인이 아니다. 기탁된 실시형태가 발명의 특정 태양의 단일 예시로서 의도되고 기능적으로 동등한 임의의 항체가 본 발명의 범위 내에 포함되기 때문에, 본원에 기술된 것은 기탁된 항체에 의해 그 범위 내로 제한되지 않는다. 본원에서 물질의 기탁은 본원에 포함된 서면상의 기재가 그의 최선의 방식을 포함하여 발명의 임의의 태양의 실시를 허용하기에 부적합함을 승인하는 것이 아니며, 그것이 나타내는 특정한 실례로 청구범위의 범위를 제한하는 것으로도 해석되지 않는다. 실제로, 본원에 나타내고 기술된 이들에 덧붙여 본 발명의 다양한 변형이 전술한 기재로부터 당분야의 숙련자에게 자명해질 것이고 첨부된 청구범위의 범위 내에 속할 것이다.

<239> 본 발명은 발명의 범위를 제한하기 위한 것이 아닌, 하기 실시예에서 더 구체적으로 설명된다. 하기 실시예에 기술된 세포주는 아메리칸 타입 컬처 컬렉션 (American Type Culture Collection, ATCC) 또는 Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany (DMSZ)에 의해 특정된 조건에 따라 배양액 내에서 유지되었다. 세포 배양 시약은 인비트로젠 (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA)으로부터 입수하였다.

실시예

<248> 실시예 1: 인간화 CD40 항체의 생산

<249> 인간화 항-CD40 항체는 일반적으로 생쥐 항-CD40 공여자 항체의 CDRs를 수용자 인간 항체 내로 이입시킴으로써 제조되었다. 공여자 항체는 미국 특허 제6,838,261호에 기술되고 B-림프구에 대해 강력한, 성장-촉진 신호를 제공하는 것으로 입증된 생쥐 단일클론 항체 S2C6이었다. 예컨대, 문헌 (Paulie 등, 2000, *J. Immunol.* 142: 590을 참조하라. 인간 아형 III 중쇄 가변 도메인 (서열번호: 2) 및 인간 카파 아형 I 경쇄 가변 도메인 (서열번호: 13)의 보존적 서열을 인간 수용자 중쇄 및 경쇄 도메인으로 사용하기 위하여 일반적으로 문헌 (Carter 등, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 89: 4285); 미국 특허 제6,037,454호, 및 미국 특허 제6,054,297호에 기재된 바와 같이 수득하였다. 인간화 항체 변이체는 국제 공개 제WO 2006/128103호 (그의 기재가 본원에 참고로서 도입됨)에 기술된 바와 같이 제조되었다. 항체 변이체의 서열은 하기 표 1 및 2에 나타내었다.

<250> 표 1

Heavy Chain Variable Domain						
Ab/SEQ ID NO	10	20	30	40	50	
sgn-0/3	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-1/4	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-2/5	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-4/6	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-14/7	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-15/8	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-16/9	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-17/6	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-18/6	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-19/7	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-22/10	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-23/11	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-26/10	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
sgn-27/11	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGYSFT	GYIHWVRQA	PGKGLEWVAR	
CDR-H1						
	60	70	80	90	100	
sgn-0/3	VIPNNGGTSY	NQKFGRFTI	SRDNSKNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-1/4	VIPNNGGTSY	NQKFGRFTI	SVDNSKNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-2/5	VIPNNGGTSY	NQKFGRFTI	SRDKSKNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-4/6	VIPNNGGTSY	NQKFGRATL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-14/7	VIPNNGGTSY	NQKFGRFTL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-15/8	VIPNNGGTSY	NQKFGRATI	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-16/9	VIPNNGGTSY	NQKFGRATL	SVDNSKNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-17/6	VIPNNGGTSY	NQKFGRATL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-18/6	VIPNNGGTSY	NQKFGRATL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-19/7	VIPNNGGTSY	NQKFGRFTL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-22/10	VIPNAGGTSY	NQKFGRFTL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-23/11	VIPNQGGSY	NQKFGRFTL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-26/10	VIPNAGGTSY	NQKFGRFTL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
sgn-27/11	VIPNQGGTSY	NQKFGRFTL	SVDNSKNTAY	LQMNSLRAED	TAVYYCAREG	
CDR-H2						
	110					
sgn-0/3	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-1/4	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-2/5	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-4/6	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-14/7	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-15/8	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-16/9	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-17/6	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-18/6	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-19/7	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-22/10	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-23/11	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-26/10	I--- YWWGQGTLV	TVS				
sgn-27/11	I--- YWWGQGTLV	TVS				
CDR-H3						

<252>

<253> 표 2

Light Chain Variable Domain					
Ab/SEQ ID NO	10	20	30	40	50
sgn-0/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-1/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-2/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-4/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-14/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-15/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-16/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-17/15	DVQVTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-18/16	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-19/16	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-22/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-23/14	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-26/16	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
sgn-27/16	DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRSSQSLV	HSNGNTFLHW	YQQKPGKAPK
CDR-L1					
	60	70	80	90	100
sgn-0/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-1/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-2/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-4/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-14/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-15/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-16/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-17/15	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-18/16	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-19/16	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-22/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-23/14	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-26/16	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
sgn-27/16	LLIYTVSNRF	SGVPSRFSGS	GSCTDFTLTI	SSLQPEDFAT	YYCSQTTHVP
CDR-L2			CDR-L3		
	110				
sgn-0/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-1/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-2/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-4/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-14/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-15/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-16/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-17/15	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-18/16	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-19/16	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-22/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-23/14	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-26/16	WTFGQGTKVE	IKR			
sgn-27/16	WTFGQGTKVE	IKR			

<255>

<256> 이러한 변이체 경쇄 및 중쇄 가변 도메인을 이용하여 제작된 항체의 결합 활성을 분석하였다. 각각의 항체를 동일한 농도로 희석한 후, 연속적으로 희석하였다. 희석된 항체를 미세분석 플레이트 상에 고정된 CD40에 대한 결합에 대해 분석하였다. 변이체 항체에 대한 친화도 결합 데이터를 표 3에 나타내었다. 부모 생쥐 항체의 결합 활성에 근접한 결합 활성을 나타내는 항체는 sgn-14, sgn-18, sgn-19, sgn-22, sgn-23, sgn-26, 및 sgn-27이었고, 변이체 sgn-14, sgn-18, sgn-26, 및 sgn-27은 부모 생쥐 항체, SGN-14의 결합 활성에 더욱 근접한 결합 활성을 나타내었고, 변이체 sgn-26은 이 분석에서 가장 우수한 성능을 보였다.

<257> 표 3

Antibody	Heavy Chain Variable Domain	Light Chain Variable Domain	Binding Data 1	Binding Data 2	Binding Data 3
----------	-----------------------------	-----------------------------	----------------	----------------	----------------

<258>

SGN-14	SEQ ID NO: 1 Donor	SEQ ID NO: 12 Donor	1.00	1.33	1.16
hu sgn-0	SEQ ID NO: 3 Template	SEQ ID NO: 14 Template	75.31	75.31	-
hu sgn-1	SEQ ID NO: 4 R72V	SEQ ID NO: 14 Template	23.63	19.31	-
hu sgn-2	SEQ ID NO: 5 N74K	SEQ ID NO: 14 Template	471.37	370.87	-
hu sgn-4	SEQ ID NO: 6 F68A I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 14 Template	2.23 1.83 3.12 1.41	2.46	-
hu sgn-14	SEQ ID NO: 7 I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 14 Template	1/11 0.86 0.77	0.69 0.77	-
hu sgn-15	SEQ ID NO: 8 F68A R72V L79A	SEQ ID NO: 14 Template	10.54 4.67	2.71	-
hu sgn-16	SEQ ID NO: 9 F68A I69L R72V	SEQ ID NO: 14 Template	44.00 9.78 7.99	1.82 1.83	-
hu sgn-17	SEQ ID NO: 6 F68A I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 15 I2V M4V	3.60 1.76	3.56	-
hu sgn-18	SEQ ID NO: 6 F68A I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 16 Y92F	0.96 0.67	1.03	
hu sgn-19	SEQ ID NO: 7 I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 16 Y92F	0.481 1.06	0.501 0.98 0.92 1.14	-
hu sgn-22	SEQ ID NO: 10 N55A I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 14 Template	1.44 1.41 1.80 0.93	0.84	-
hu sgn-23	SEQ ID NO: 11 N55Q I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 14 Template	2.11 1.58 2.38 0.72	0.90	-
hu sgn-26	SEQ ID NO: 10 N55A I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 16 Y92F	0.92 1.02 1.02 1.06	0.92	-
hu sgn-27	SEQ ID NO: 11 N55Q I70L R72V L79A	SEQ ID NO: 16 Y92F	1.04 1.03 0.94 0.83	1.40	-

실시예 2: 인간화 CD40 항체에 의한 In Vitro 신호전달

CD40⁺ NHL 세포에 결합하는 인간화 항-CD40 항체 (Hu sgn-0; SGN-40으로도 언급됨)는 activates signaling through the ERK1/2 MAP 키나아제, p38 MAP 키나아제, 및 NF-κB 경로를 통해 신호전달을 활성화시킨다. Ramos 세포 (2% 혈청에서 배양됨)를 항-인간 IgG와 교차-연결된 인간화 CD40 항체 (XL)로 15분간 자극하였다.

신호전달의 활성화는 ERK1/2 (Thr202/Tyr204), p38 (Thr180/Tyr182), 및 AKT (Ser473)의 인산화를 인식하는 항체를 이용한 웨스턴 블롯 분석에 의해 검출하였다. NFκB 활성화는 HkB-a 단백질의 분해를 측정함으로써 검출하였다. 도 2를 참고하면, SGN-40은 스트레스-유도성 p38 MAP 키나아제 및 NF-κB, p42/44 MAP 키나아제를 포함하는 전-생존 경로를 활성화시켰다. AKT 신호전달은 인간화 CD40 항체에 의해 적당히 상승하였다.

추가적인 연구에서, Ramos 세포 (2% FBS)를 교차-연결된 인간화 CD40 항체 또는 대조군 hIgG로 72시간 이상 처리하였다 (1.0 mg/ml mAb). 정상화 단백질 추출물을 전-아포토시스 Bcl-2 패밀리 일원인 Bid에 대해 웨스턴 블롯팅 분석으로 분석하였다. 도 3A를 참고하면, 교차-연결된 항-CD40 항체는 Bid를 상향 조절하였다. 도 3B를 참고하면, 캐스페이즈-3/7 기질 폴리(ADP-라이보스) 중합효소의 분해 (절단된-PARP)는 Asp214에서 절단된 PARP를 인식하는 항체를 이용하는 웨스턴 블롯팅에 의해 규정 시간 이상 관찰하였다. 인간화 CD40 항체의 아포토시스-유도 활성화와 일관되게, 캐스페이즈-3 및 그의 하류 기질 폴리(ADP-라이보스) 중합체의 절단이 NHL 세포주에서 검출되었다. 항체-매개 신호전달은 삼합체 재조합 인간화 CD40 리간드 (rhCD40L)에 의해 매개되는 것과 유사하게 정량적이었다 (결과 미제시). 그러나 신호전달의 전반적인 증폭은 SGN-40의 부분 효능 특성과 일관되게, rhCD40L에 비하여 인간화 CD40 항체에서 더 낮았다.

또한, 결정적인 전-생존 신호인, 구성적 인산-AKT 수준은 암종에서 보고된 높은 수준과는 달리, 대부분의 고-등

급 림프종 세포주 및 원발성 NHL 표본에서는 매우 낮은 것으로 확인되었다. 낮은 AKT 활성은 SGN-40 신호전달에 대응하여 림프종 세포가 아포토시스로 유도하는 경향이 있을 수도 있다.

<265> 실시예 3: 약물 병용을 이용한 In Vitro 연구

<266> 인간화 CD40 항체 (SGN-40)는 Ramos NHL 세포에 대한 수개의 화학요법제의 활성을 증강시킨다. 화학요법 약물의 2-배수 연속 희석액을 인간 IgG의 Fc γ 영역에 대해 특이적인 염소 항체의 F(ab')₂ 절편으로 교차연결된 SGN-40 (30.0 ng/ml - 0.0586 ng/ml)의 존재 또는 부재 하에 Ramos 세포 (2% FBS에서 배양)에 첨가하였다. 세포를 72시간 동안 처리한 후, 증식율을 측정하기 위하여 4시간 동안 ³H-티미딘으로 표지하였다. 약물 단독 또는 인간화 CD40 항체 병용의 용량 반응 곡선을 엑셀로 정리하였고, 병용 지수 (Combination Indices, CI)를 칼쿠신 분석 패키지 (Calculusyn analysis package, Biosoft)를 이용하여 결정하였다. 1.0보다 현저히 낮은 CI 값은 상승작용을 나타낸다. 1.0보다 현저히 큰 CI 값은 1.0 길항작용을 나타낸다. 1.0과 동일한 CI 값은 상가작용을 나타낸다. 이들 연구를 위하여, 달리 지시되지 않는 한 n = 3이다.

<267> 하기 표 4를 참고하면, 인간화 CD40 항체는 시스플라틴, 말팔란, 또는 미토토크산트론과 병용될 때 상가 활성을 나타내고 블레오마이신과 병용될 때 상승적이다.

<268> 표 4

In Vitro Drug Combinations				
Drug	ED ₅₀	ED ₇₅	ED ₉₀	Effect
Ara-C	0.95	0.90	0.90	Additive
Bleomycin	0.78	0.57	0.48	Synergistic
Cisplatin	1.04	0.89	0.78	Additive → Syn.
Melphalan	0.91	0.90	0.96	Additive
Mitoxantrone	0.70	0.97	0.99	Syn. → Add.
(n=2)				
TNF α	0.70	0.61	0.60	Synergistic
(n=2)				
Etoposide	1.78	1.18	0.97	Antagonistic. → Add.

<269> 실시예 4: 인간화 CD40 항체의 항-종양 활성

<270> 인간화 항-CD40 항체의 항-종양 활성을 SCID 림프종 이종이식 모델에서 분석하였다. 5백만 개의 Ramos 종양 세포를 약물 치료를 시작하기 13일 전에 SCID 마우스 (10/그룹) 내로 피하 주사하였다. 생쥐 항-CD40 항체 또는 인간화 S2C6을 투여된 8 또는 5회분 용량으로 일주일에 3회 (4 mg/kg/용량) 복막내로 주입하였다. 종양 성장에 대해 마우스를 조사하였고, 종양 부피를 14일 연구 기간동안 매주마다 측정하였다. 도 4에 나타낸 결과는 대조군 마우스에서는 종양 성장이 거의 9-배 증가한 반면, 동일한 기간에 걸쳐, 생쥐 항-CD40 항체 또는 인간화 S2C6로 처리된 마우스에서의 종양 성장은 무시할만한 수준임을 보여준다. 상기 결과는 인간화 항체가 B 림프종 이종이식 모델에서 종양 성장을 억제하는데 생쥐 항-CD40 항체만큼 효과적임을 입증한다.

<272> 실시예 5: 인간화 CD40 항체에 의해 연장된 생존

<273> 종양이 있는 마우스의 생존에 대한 인간화 항-CD40 항체의 효과를 SCID 마우스 림프종 이종이식 모델에서 분석하였다. 항체 치료 3일 전에 백만 개의 Ramos 종양 세포를 SCID 마우스 (10/그룹)의 피하에 접종하였다. 마우스

스를 생쥐 또는 인간화 항-CD40 항체, 또는 Ig 대조군으로 총 5회 용량에 대해 일주일에 2회 (4 mg/kg/용량) 복강내로 투여하여 처리하였다. 사망률에 대해서 마우스 우리를 매일 조사하였다. 도 5에 나타난 결과는 대조군으로 처리된 마우스는 모두 종양 접종 후 34일 이상 생존하지 못한 반면, 생쥐 항-CD40 항체로 처리된 10마리 중 8마리 마우스 및 인간화 항-CD40 항체로 처리된 모든 10마리 마우스가 종양 이식 후 90일째에도 생존하였음을 보여준다. 상기 결과는 인간화 항체가 B 림프종 이종이식 모델에서 SCID 마우스의 연장된 생존에 생쥐 항-CD40 항체만큼 효과적임을 입증한다.

<274> 실시예 6: 병용 요법

<275> 모델 국소화된 림프종에, 5×10^6 Ramos 버킷 림프종 세포를 C.B.-17 SCID 마우스 (Harlan, Indianapolis, IN)의 오른쪽 옆구리 내에 피하로 이식하였다. 치료는 다섯 마리 동물의 각 그룹 내 평균 종양 크기가 100 mm^3 가 될 때 개시하였다. CHOP를 하기의 투여 계획을 이용하여, 단일 과정에 대해 단독으로 또는 인간화 CD40 항체 (hu sgn-0; SGN-40)와 병용하여 사용하였다: 30 mg/kg의 사이클로포스파미드, i.v. q1d \times 1; 2.475 mg/kg의 독소루비신, i.v. q1d \times 1; 0.375 mg/kg의 빈크리스틴, i.v. q1d \times 1; 및 0.15 mg/kg의 프레드니손, p.o. q1d \times 5. 단독으로 또는 프레드니손 또는 CHOP와 병용하여 사용될 때, CD40 항체를 4 mg/kg q4d \times 4로 i.p. 투여하였다. 종양 크기는 식 $(L \times W^2)/2$ 를 사용하여 결정하였다.

<276> 도 6A를 참고하면, 치료의 개시는 Rx로 표시된다. CHOP, 프레드니손, CD40 항체, CD40 항체와 프레드니손 및 CD40 항체와 CHOP의 처리는 비처리된 대조군과 비교하였다. CHOP 단독 처리는 종양 성장에 거의 영향을 미치지 않았다. CHOP 및 인간화 CD40 항체의 처리는 다른 처리에 비하여 실질적으로 더 우수하였다.

<277> SGN-40 단독 또는 CHOP 또는 프레드니손과의 병용 처리의 효과를 비교하기 위하여, SCED 마우스에 Ramos 세포를 피하 이식하고, 상기에 기술된 바와 같이 SGN-40 단독 또는 CHOP와 병용하여 투여하였다. 또한, 프레드니손 스테로이드를 단독으로 (0.15 mg/kg, q1d \times 5 po) 또는 SGN-40 (4.0 mg/kg, q4d \times 4 ip)과 병용하여 투여하였다.

<278> 도 6B를 참고하면, CHOP 또는 프레드니손은 단독으로 투여될 때 거의 효과를 나타내지 않았다. 반대로, CHOP 및 프레드니손 모두는 SGN-40와 병용하여 투여될 때 매우 우수한 효과를 나타내었다.

<279> 추가적인 연구에서, 인간화 CD40 항체 SGN-40은 이종이식 모델에서 생존을 촉진하는데 유사하게 효과적인 것으로 나타났다. 간략하게, IM-9 세포 (마우스 당 1×10^6)를 좌측 이종이식 모델 내 SCED 마우스 내에 정맥내로 도입하였다. 동물을 종양 세포 주입하고 3일 후에 SGN-40 (4.0 mg/kg, q2d \times 9, ip) 또는 프레드니손 (0.15 mg/kg, q1d \times 5, po)을 단독으로, 또는 병용하여 처리하였다. 생존률을 카플란-메이어 곡선 (Kaplan-Meier curve)을 이용하여 도표로 나타내었다 (결과 미제시). 상기에 진술한 바와 같이, SGN-40의 효능은 프레드니손의 존재 또는 부재 하에서 본질적으로 동일하였다.

<280> 실시예 7: NHL 이종이식 모델에서 유사한 활성을 갖는 SGN-40 및 리툭시맵

<281> SGN-40 및 리툭시맵의 효능을 비교하기 위하여, SCID 마우스에 5×10^6 Ramos 세포를 피하로 이식하고, 처리 전에 종양을 100 mm^3 까지 성장시켰다. Ramos 종양 성장 결과를 카플란-메이어 플롯 (GraphPad Prism)을 이용하여 종양 부피에서 4배 이상의 증가를 갖는 각 그룹 내 마우스의 비율로서 도표로 나타내었다. 마우스에 SGN-40 또는 리툭시맵을 각각 (4 mg/kg, q4d \times 4 ip) 또는 CHOP 화학요법제 (CH0, q1d \times 1, iv; P, q1d \times 5, po)와 병용하여 투여하였다.

<282> 도 7을 참고하면, SGN-40 및 리툭시맵은 단독으로 또는 CHOP와 병용하여 유사한 효능을 나타내었다.

<283> 실시예 7: 점증된 투여 계획

<284> 개방-표지, 다중-투여, 단일군, 단계 I 프로토콜을 다섯 개의 임상 부위에서 개시하였다. 초기에는, 다발골수종으로 진단된, 등록된 환자들에게 0.5, 1, 2 및 4 mg/kg/주의 코호트-특이적 용량 수준 (cohort-specific dose level)으로 인간화 CD40 항체 (hu sgn-0)의 주입액을 주마다 정맥내로 투여하였다. 4 mg/kg 수준의 제1 용량과 관련된 등급 3 사이토카인 방출 증후군 때문에, 본 연구를 2주 이상 환자-간 용량 점증이 가능하도록 수정하였다. 3, 4, 6 및 8 mg/kg/주의 코호트 특이적 용량을 사용하였다. 환자 적격성 기준은 다음을 포함한다: 환자는 적어도 두 개의 이전 전신 요법이 반드시 실패하였고; 화학요법 후 적어도 4주째이고; 최소 반응 (MR) 이상을 경험한 환자들이 요법의 제2 주기에 적격이다.

<285> 교정된 용량 점증 개요를 하기 표 5에 나타내었다.

<286> 표 5

Cohort	Week 1		Week 2	Week 3	Week 4	Week 5
	Day 1	Day 4	Day 8	Day 15	Day 22	Day 29
I	1	1	2	3	3	3
II	1	1	2	4	4	4

<287>

III	1	1	2	4	6	6
IV	1	1	2	4	6	8

<288>

<289> 환자 인구 통계는 다음과 같다: 성별: 남성 (14), 여성 (9); 평균 연령: 61세 (40-77세 범위); 인종: 백인 (17), 흑인 (2), 라틴아메리칸 (2), 그 외 (2); 초기 진단으로부터 평균 시간: 6.3년 (1.7-14.1년 범위); 이전 요법의 평균 횟수: 5.5회 (2-10회 범위), 보르테조미, 9회; 탈리도마이드 15회; 레블리마이드 (등록상표), 4회; 멜팔란, 6회; 병용 화학요법, 17회; 및 자가이식, 5회 포함.

<290> 환자에게 유해 사례가 발생하는지 관찰하였다. 인간화 CD40 항체의 투여는 사이트카인 방출을 촉발하는 것으로 보이고, 혈장 내 TNF-알파 수준은 단지 제1 주입에 의해 증가하였다. 약물-부하 기간은 제1-용량 사이트카인 방출 증후군을 감소시켰다. 프로토콜의 수정에 이어서, 제1 용량-관련 사이트카인 방출의 증후군은 현저히 감소되어 제거되었다. 또한, 지금까지 조사된 낮은 용량에서 조차도, 항종양 활성에 대한 예비적인 증거가 확인되었다

<291> **Example 8: 약물동력학**

<292> 인간화 CD40 항체, SGN-40을 다발골수종을 갖는 환자에게 첫째 1주일간 1회 투여하고, 1주일에 1회 40을 첫째 1주일간 2회 투여하고 다음 4주간 1주일에 1회 투여하였다. 최종 투여를 받지 않은 환자는 분석으로부터 제외시켰다. SGN-40의 최대 혈청 농도 (C_{max})는 29일째 최후 용량에 수반하여 관찰되었고 36일째 이후 7일간 연속하는 전체 수준은 표 6에 각각의 코호트로 나타내었다. 최후 주입 후 반감기 및 이 데이터의 1 구획 모델 적합으로부터 0일째부터 50일째까지의 농도 시간 곡선 하의 면적을 또한 계산하였다 (n/a는 적용가능하지 않음을 의미함). 데이터는 또한 나타낸 바와 같이 평균± 표준 오차로 표시된다. 데이터는 코호트 I 36일째 C_{min} (N=2), 및 코호트 II, T_{1/2} 및 AUC₀₋₅₀ (N=1)을 제외하고는 평균± 표준 오차 (N>3)로 표시된다. 환자는 약 10 마이크로그램/ml 이상의 혈장 SGN-40 농도를 유지하였다.

표 7

Cohort	Day 29 C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	Day 36 C_{\min} ($\mu\text{g/mL}$)	$T_{1/2}$ (Days)	AUC_{0-50} ($\mu\text{g-d/mL}$)
I	45.40 ± 14.31	9.94 $\pm \text{n/a}$	2.67 ± 1.08	653.93 ± 154.65
II	143.00 ± 27.78	69.93 ± 14.08	4.61 $\pm \text{n/a}$	2086.02 $\pm \text{n/a}$
III	149.25 ± 29.34	41.57 ± 19.22	3.85 ± 1.37	1988.88 ± 439.74
IV	244.25 ± 96.00	112.84 ± 50.40	5.39 ± 1.84	3441.73 ± 1382.79

특허 출원, 특허, 및 과학적 간행물을 포함하는, 다양한 참조가 본원에 인용되고, 그의 내용은 그 전체로서 참조로서 본원에 포함된다. 본원에서 임의의 참조의 인용 및 확인은 이러한 참조가 본 발명에 대한 선행 기술로서 이용가능하다는 승인으로서 해석되지 않을 것이다.

본원에 기술된 기술의 적용은 본원에 기술된 특정 실시형태에 의한 범위 내로 제한되지 않는다. 실제로, 다양한 변형이 본원에 포함된 기술 및 그에 수반되는 실시예에 비추어 당분야의 통상적인 기술을 갖는 자의 능력 내에 포함될 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

도면의 간단한 설명

도 1A 및 1B는 인간화 CD40 항체의 중쇄의 폴리펩타이드 (서열번호: 18) 및 암호화 (서열번호: 17) 및 상보적 DNA 서열을 나타낸다. 폴리펩타이드 서열은 선도 서열, 가변 영역, 및 인간 IgG₁ 불변 영역의 위치를 나타내도록 주석을 달았다. 도 1C는 인간화 CD40 항체의 경쇄의 폴리펩타이드 (서열번호: 21) 및 암호화 (서열번호: 20) 및 상보적 DNA 서열을 나타낸다. 폴리펩타이드 서열은 선도 서열, 가변 영역, 및 인간 카파 불변 영역의 위치를 나타내도록 주석을 달았다.

도 2는 NHL (Ramos 세포)에서 신호전달 기작에 대한 인간화 CD40 항체의 효과를 나타낸다.

도 3은 Bid 단백질을 상향 조절하고 아포토시스를 *in vitro* 촉진하는 인간화 CD40 항체를 나타낸다.

도 4는 종양 이식하고 13일 후에 개시된 치료에서, 대조군 항체, 생쥐 항-CD40 항체, 및 인간화 항-CD40 항체의 처리가 2주 동안에 측정된 종양 부피에 대한 효과를 나타낸다.

도 5는 대조군 항체, 생쥐 항-CD40 항체, 및 인간화 항-CD40 항체의 처리가 종양-형성 생쥐의 생존에 미치는 효과를 나타낸다.

도 6A는 CD40 항체 단독 또는 CHOP와의 병용 치료 시 림프종 모델에서의 결과를 나타낸다.

도 6B는 CD40 항체 단독 또는 CHOP 또는 프레드니손과의 병용 치료 시 림프종 모델에서의 결과를 나타낸다.

도 7은 NHL 이종이식 모델에서 SGN-40 및 리투시맵의 비교를 나타낸다.

도면

도면1A

	Leader Sequence	Variable Region
1	M G W S C I I L F L V A T A T G V H S E V Q L V . ATGGGATGGT CATGTATCAT CCTTTTCTA GTAGCAACTG CAACTGGAGT ACATTGAGAA GTTCAGCTGG TACCCTACCA GTACATAGTA GGAAAAAGAT CATCGTTGAC GTTGACCTCA TGTAAGTCTT CAAGTCGACC	
71	E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y S . TGGAGTCTGG CGGTGGCCTG GTGCAGCCAG GGGGCTCACT CCGTTTGTCC TGTGCAGCTT CTGGCTACAG ACCTCAGACC GCCACCGGAC CACGTCGGTC CCCCAGTGA GGCAAACAGG ACACGTCGAA GACCGATGTC	
141	F T G Y Y I H W V R Q A P G K G L E W V A R V . CTTCACCGGT TATTACATCC ACTGGGTCGG TCAGGCCCCG GGTAAAGGCC TGGAAATGGT TCGAAGGGTT GAAGTGGCCA ATAATGTAGG TGACCCAGGC AGTCCGGGGC CCATTCCCGG ACCTTACCCA ACGTTCCCAA	
211	I P N A G G T S Y N Q K F K G R F T L S V D N S . ATTCCCTAACG CCGCGGTAC CAGTTATAAC CAGAAGTTCA AGGGCCGTTT CACATTGAGC GTCGACAATT TAAGGATTGC GGCCGCCATG GTCAATATTG GTCTTCAAGT TCCCGGCAA GTGTAACCTG CAGCTGTATA	
281	K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R . CCAAAAACAC AGCATACCTG CAGATGAACA GCCTGCGTGC TGAGGACACT GCCGTCTATT ATTGTGCTCG GGTTTTTGTG TCGTATGGAC GTCTACTTGT CGGACGCACG ACTCCTGTGA CGGCAGATAA TAACACGAGC	Human G1 Constant Region
351	E G I Y W W G Q G T L V T V S S A S T K G P S . AGAGGGTATC TACTGGTGGG GTCAAGGAAC CCTGGTCACC GTCTCCTCGG CCTCCACCAA GGGCCCATCG TCTCCCATAG ATGACCACCC CAGTTCCTTG GGACCACTGG CAGAGGAGCC GGAGGTGGTT CCCGGGTAGC	Human G1 Constant Region
421	V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D . GTCTTCCCCC TGGCACCCCT CTCCAAGAGC ACCTCTGGGG GCACAGCGGC CCTGGGCTGC CTGGTCAAGG CAGAAGGGGG ACCGTGGGAG GAGGTTCTCG TGGAGACCCC CGTGTGCGCG GGACCCGACG GACCAGTTCC	Human G1 Constant Region
491	Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P . ACTACTTCCC CGAACCCTG ACGGTGTCGT GGAATCAGG CGCCCTGACC AGCGGCGTGC ACACCTTCCC TGATGAAGGG GCTTGGCCAC TGCCACAGCA CTTTGAGTCC GCGGGACTGG TCGCCGCACG TGTGAAGGG	Human G1 Constant Region
561	A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G . GGCTGTCTTA CAGTCCTCAG GACTCTACTC CCTCAGCAGC GTGGTACTG TGCCCTCTAG CAGCTTGGGC CCGACAGGAT GTCAGGAGTC CTGAGATGAG GGAGTCGTCG CACCACTGAC ACGGGAGATC GTCGAACCCC	Human G1 Constant Region
631	T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K . ACCCAGACCT ACATCTGCAA CGTGAATCAC AAGCCAGCA ACACCAAGGT GGACAAGAAA GTTGAGCCCA TGGGTCTGGA TGATAGCGTT GCACCTAGTG TTCGGGTCGT TGTGTTCCA CCTGTTCTTT CAACTCGGGT	

도면1B

```

-----
Human G1 Constant Region
-----
701  . S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F .
    AATCTTGTGA CAAAACCTCAC ACATGCCCCAC CGTGCCCCAGC ACCTGAACCTC CTGGGGGGGAC CGTCAGTCTTT
    TTAGAACAACCT GTTTTGTAGTG TGTACGGGTG GCACGGGTGCG TGGACTTGAG GACCCCCCTG GCAGTCAGAA

-----
Human G1 Constant Region
-----
771  . L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V
    CCTCTTCCCC CAAAACCCA AGGACACCCT CATGATCTCC CGGACCCCTG AGGTCACATG CGTGGTGGTG
    GGAGAAGGGG GGTTTTGGGT TCCTGTGGGA GTACTAGAGG GCCTGGGGAC TCCAGTGATC GCACCACCAC

-----
Human G1 Constant Region
-----
841  . D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K .
    GACGTGAGCC ACGAAGACCC TGAGGTCAAG TTCAACTGGT ACGTGGACGG CGTGGAGGTG CATAATGCCA
    CTGCACTCGG TGCTTCTGGG ACTCCAGTTC AAGTTGACCA TGCACCTGCC GCACCTCCAC GTATTACGGT

-----
Human G1 Constant Region
-----
911  . T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q .
    AGACAAAGCC GCGGGAGGAG CAGTACAACA GCACGTACCG TGTGGTCAGC GTCCTCACCG TCCTGCACCA
    TCTGTTTCGG CGCCCTCCTC GTCATGTTGT CGTGCATGGC ACACCACTCG CAGGAGTGGC AGGACGTGGT

-----
Human G1 Constant Region
-----
981  . D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K
    GGACTGGCTG AATGGCAAGG AGTACAAGTG CAAGGTCTCC AACAAAGCCC TCCCAGCCCC CATCGAGAAA
    CCTGACCGAC TTACCGTTCC TCATGTTTCC GTTCCAGAGG TTGTTTCGGG AGGGTCGGGG GTAGCTCTTT

-----
Human G1 Constant Region
-----
1051 . T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M .
    ACCATCTCCA AAGCCAAAGG GCAGCCCCGA GAACCAAGG TGTACACCCT GCCCCCATCC CGGGAAGAGA
    TGGTAGAGGT TTCGGTTTCC CGTCGGGGCT CTTGGTGTCC ACATGTGGGA CGGGGGTAGG GCCCTTCTCT

-----
Human G1 Constant Region
-----
1121 . T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W .
    TGACCAAGAA CCAGGTCAGC CTGACCTGCC TGGTCAAAGG CTTCTATCCC AGCGACATCG CCGTGGAGTG
    ACTGGTTCTT GGTCCAGTCG GACTGGACGG ACCAGTTTCC GAAGATAGGG TCGCTGTAGC GGCACCTCAC

-----
Human G1 Constant Region
-----
1191 . E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F
    GGAGAGCAAT GGGCAGCCGG AGAACAACCTA CAAGACCACG CCTCCCGTGC TGGACTCCGA CGGCTCCTTC
    CCTCTCGTTA CCCGTCGGCC TCTTGTGAT GTTCTGGTGC GGAGGGCACG ACCTGAGGCT GCCGAGGAAG

-----
Human G1 Constant Region
-----
1261 . F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M .
    TTCCTCTACA GCAAGCTCAC CGTGGACAAG AGCAGGTGGC AGCAGGGGAA CGTCTTCTCA TGCTCCGTGA
    AAGGAGATGT CGTTCGAGTG GCACCTGTTC TCGTCCACCG TCGTCCCCTT GCAGAAGAGT ACGAGGCACT

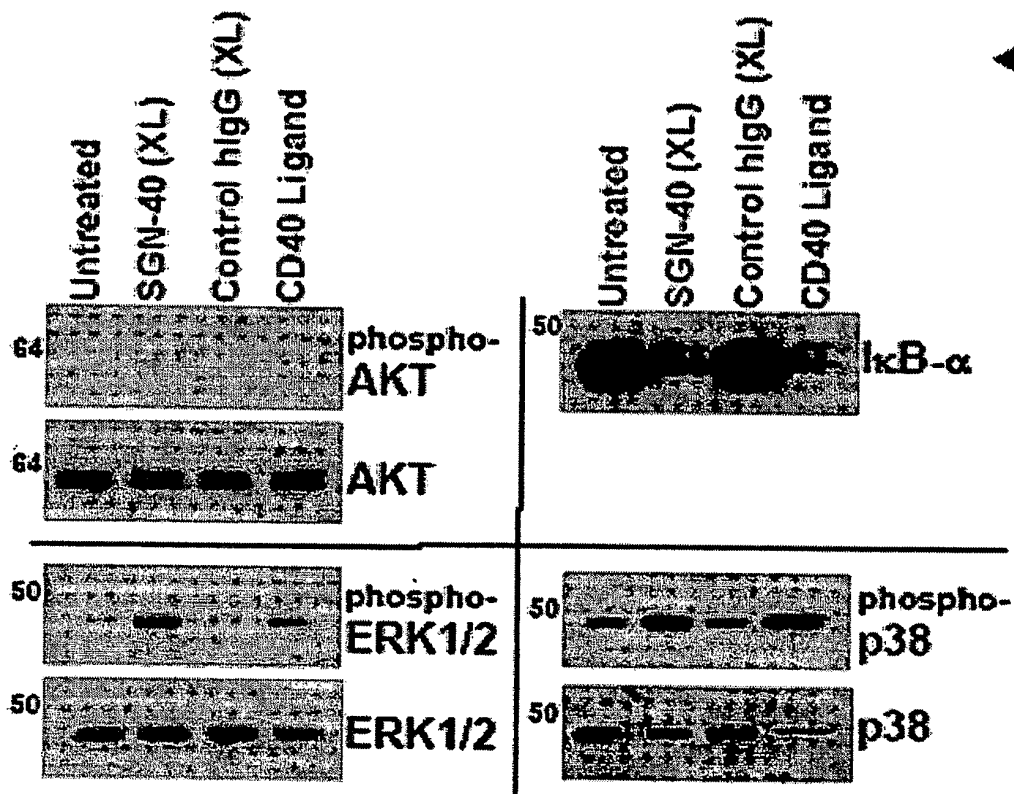
-----
Human G1 Constant Region
-----
1331 . H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K *
    TGCATGAGGC TCTGCACAAC CACTACACGC AGAAGAGCCT CTCCTGTCT CCGGGTAAAT GA
    ACGTACTCCG AGACGTGTTG GTGATGTGCG TCTTCTCGGA GAGGGACAGA GGCCCATTTA CT

```

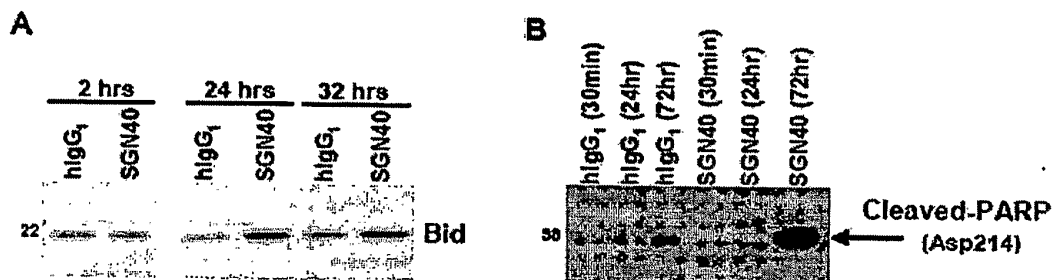

도면1C

	Leader Sequence	Variable Region
1	M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D I Q M T . ATGGGATGGT CATGTATCAT CCTTTTCTA GTAGCAACTG CAACCGGTGT ACATTCAGAT ATCCAGATGA TACCCTACCA GTACATAGTA GGAAAAAGAT CATCGTTGAC GTTGCCACA TGTAAGTCTA TAGGTCTACT	
71	Variable Region Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R S S Q S . CCCAGTCCCC GAGCTCCCTG TCCGCCTCTG TGGGCGATAG GGTCAACATC ACCTGCAGAT CCAGTCAAAG GGTCAGGGG CTCGAGGGAC AGGCGGAGAC ACCCGCTATC CCAGTGGTAG TGGACGTCTA GGTCAGTTTC	
141	Variable Region L V H S N G N T F L H W Y Q Q K P G K A P K L CTTAGTACAT AGCAATGGTA ACACTTTCCT CCACTGGTAT CAACAGAAAC CAGGAAAAGC TCCGAAACTA GAATCATGTA TCGTTACCAT TGTGAAAGGA GGTGACCATA GTTGTCTTTG GTCCTTTTCG AGGCTTTGAT	
211	Variable Region L I Y T V S N R F S G V P S R F S G S G S G T D . CTGATTACA CTGTTAGCAA CCGGTTCTCT GGAGTCCCTT CTCGCTTCTC TGGATCCGGT TCTGGGACGG GACTAAATGT GACAATCGTT GGCCAAGAGA CCTCAGGGAA GAGCGAAGAG ACCTAGGCCA AGACCCTGCC	
281	Variable Region F T L T I S S L Q P E D F A T Y F C S Q T T H . ATTTCACTCT GACCATCAGC AGTCTGCAGC CAGAAGACTT CGCTACGTAT TTCTGTAGTC AGACTACTCA TAAAGTGAGA CTGCTAGTCG TCAGACGTCG GTCTTCTGAA GCGATGCATA AAGACATCAG TCTGATGAGT	Human Kappa Constant Region
351	Variable Region V P W T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F TGTTCCATGG ACATTTGGAC AGGGTACCAA GGTGGAGATC AAACGAACTG TGGCTGCACC ATCTGTCTTC ACAAGSTACC TGTAACCTG TCCCATGGTT CCACCTCTAG TTTGCTTGAC ACCGACGTGG TAGACAGAAG	Human Kappa Constant Region
421	Variable Region I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y . ATCTTCCCGC CATCTGATGA GCAGTTGAAA TCTGGAAGTCT CTTCTGTTGT GTGCCTGCTG AATAACTTCT TAGAAGGGCG GTAGACTACT CGTCAACTTT AGACCTTGAC GAAGACAACA CACGGACGAC TTATTGAAGA	Human Kappa Constant Region
491	Variable Region P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V . ATCCCAGAGA GGCCAAAGTA CAGTGAAGG TGGATAACGC CCTCCAATCG GGTAACCTCC AGGAGAGTGT TAGGGTCTCT CCGGTTTCAT GTCACCTTCC ACCTATTGCG GGAGGTTAGC CCATTGAGGG TCCTCTCACA	Human Kappa Constant Region
561	Variable Region T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y CACAGAGCAG GACAGCAAGG ACAGCACCTA CAGCCTCAGC AGCACCCTGA CGCTGAGCAA AGCAGACTAC GTGTCTCGTC CTGTCTTCC TGTCGTGGAT GTCGGAGTCG TCGTGGGACT GCGACTCGTT TCGTCTGATG	Human Kappa Constant Region
631	Variable Region E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N . GAGAAACACA AAGTCTACGC CTGCGAAGTC ACCCATCAGG GCCTGAGCTC GCCCCTCACA AAGAGCTTCA CTCTTTGTGT TTCAGATGCG GACGCTTCAG TGGGTAGTCC CGGACTCGAG CGGGCAGTGT TTCTCGAAGT	Human Kappa Constant Region
701	Variable Region R G E C * ACAGGGGAGA GTGTTAA TGTCCCTCT CACAATT	

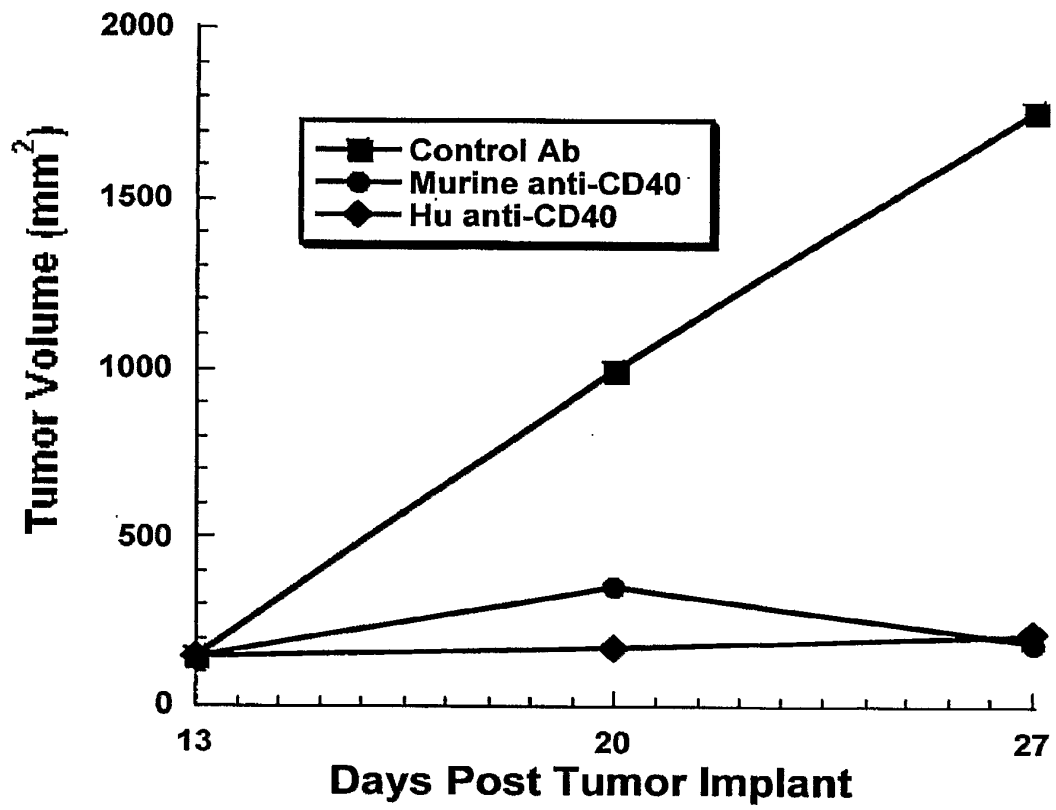
도면2



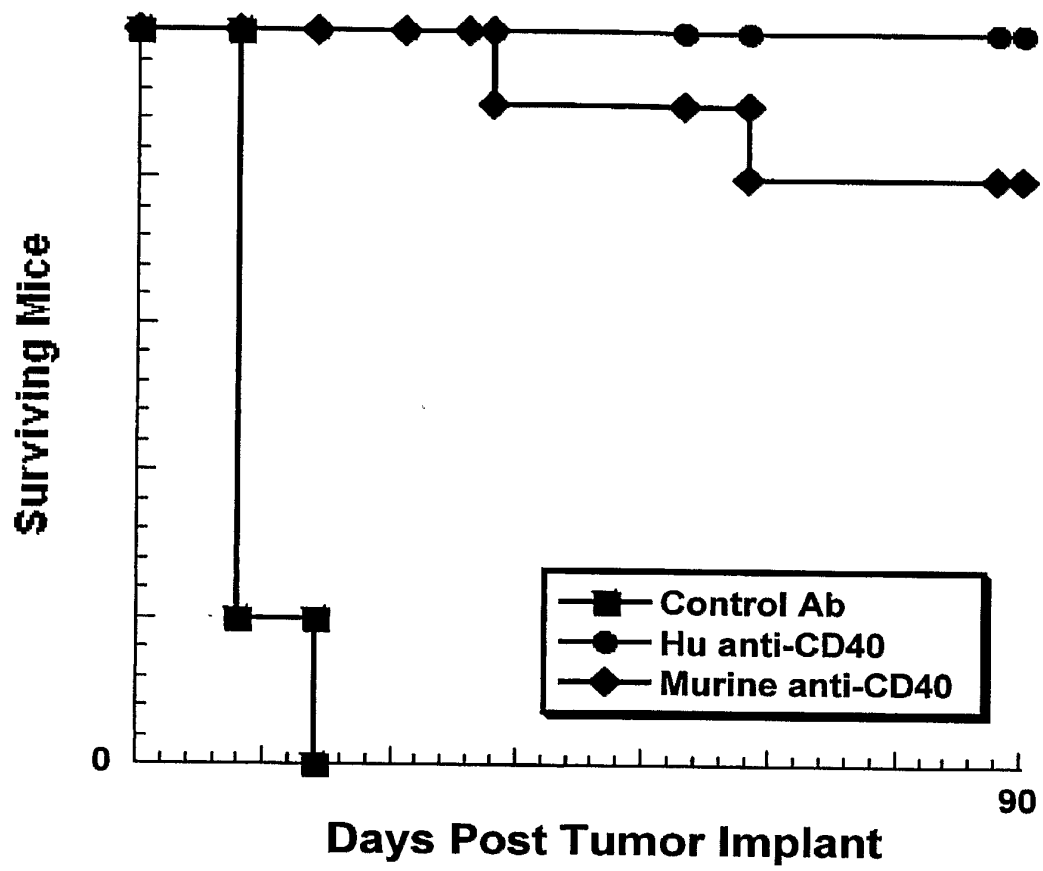
도면3



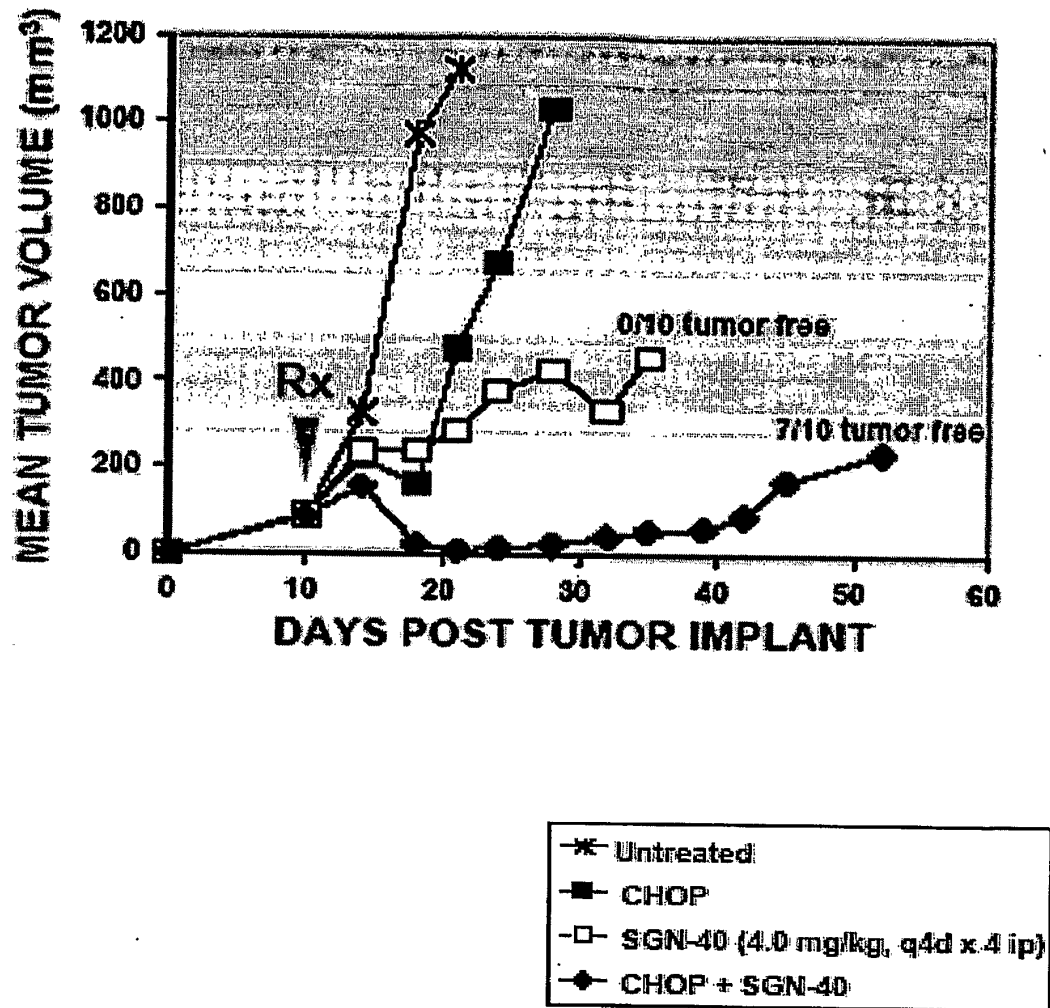
도면4



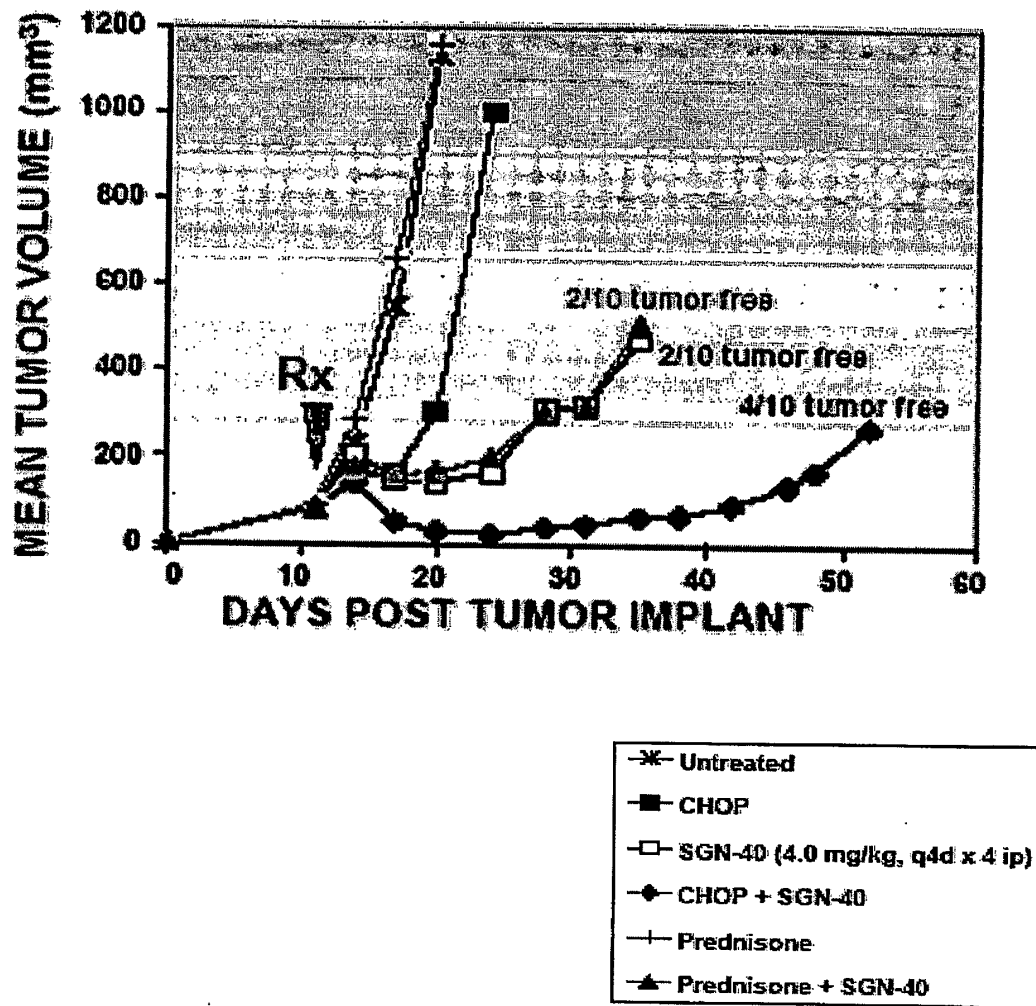
도면5



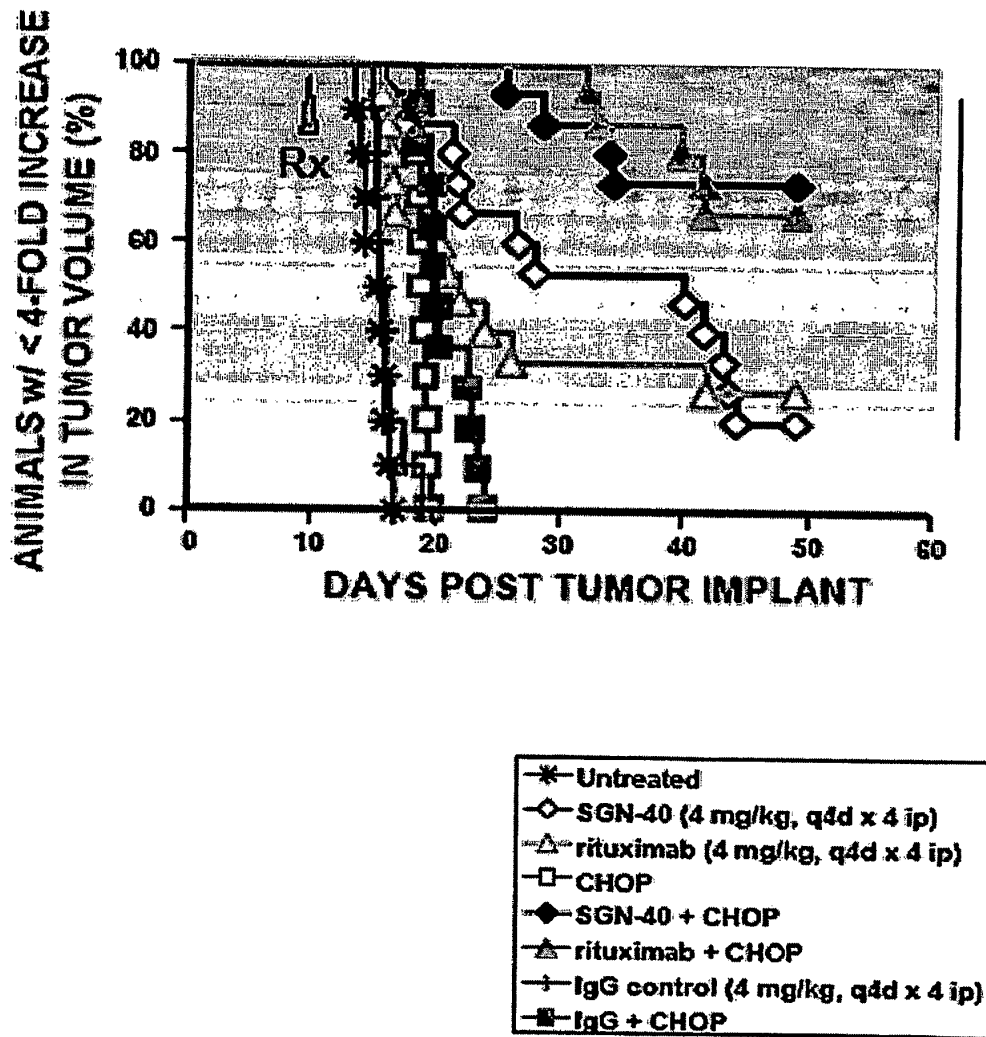
도면6A



도면6B



도면7



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Seattle Genetics, Inc.
Jonathan G. Drachman
Che-Leung Law
Tim Lewis

<120> METHODS OF USING HUMANIZED CD40 ANTIBODIES

<130> Hu CD40

<160> 22

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 113

<212> PRT

<213> MusMusculus

<400> 1

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

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

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Val Ile Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly His Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser

<210> 2

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 2

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

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

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

Ala Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Arg Gly Gly Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser
115

<210> 3

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser

<210> 4

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 4

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser

<210> 5

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 5

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

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

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

35 40 45

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser

<210> 6

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 6

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

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

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

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

50

55

60

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser

<210> 7

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

100 105 110

Ser

<210> 8

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 8

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser

<210> 9

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 9

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

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

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

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

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

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

Ala	Arg	Glu	Gly	Ile	Tyr	Trp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
			100					105					110		

Ser

<210> 10

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 10

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

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

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

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

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

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

Ala	Arg	Glu	Gly	Ile	Tyr	Trp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
		100						105					110		

Ser

<210> 11

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 11

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

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

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

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

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

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

Ala	Arg	Glu	Gly	Ile	Tyr	Trp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
		100						105					110		

Ser

<210> 12

<211> 113

<212> PRT

<213> MusMusculus

<400> 12

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

Ala	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser
			20					25					30		

Asn	Gly	Asn	Thr	Phe	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
	35						40					45			

Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Thr	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Thr
				85					90					95	

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

Arg

<210> 13

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 13

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

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

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

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

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

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

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

<210> 14

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 14

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 15

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 15

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser
		20						25					30		

Asn	Gly	Asn	Thr	Phe	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala
	35						40					45			

Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Thr	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				

Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile
65					70					75					80

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg

<210> 16

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 16

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser
			20					25					30		

Asn	Gly	Asn	Thr	Phe	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala
		35					40					45			

Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Thr	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				

Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile
65					70					75					80

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

85

90

95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 17

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 17

atgggatggt catgtatcat cctttttcta gtagcaactg caactggagt acattcagaa 60

gttcagctgg tggagtctgg cggtaggcctg gtcagaccag ggggctcact ccgtttgtcc 120

tgtgcagctt ctggctacag cttcaccggt tattacatcc actgggtccg tcaggccccg 180

ggtaagggcc tggaatgggt tgcaagggtt attcctaacg ccggcgggtac cagttataac 240

cagaagtcca agggccgttt cacattgagc gtcgacaatt ccaaaaacac agcatacctg 300

cagatgaaca gccctgcgtgc tgaggacact gccgtctatt attgtgctcg agagggtatc 360

tactggtggg gtcaaggaac cctggtcacc gtctctcctgg cctccaccaa gggcccatcg 420

gtcttcccc tggcaccttc ctccaagagc acctctgggg gcacagcggc cctgggctgc 480

ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc 540

agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtctcag gactctactc cctcagcagc 600

gtggtgactg tgccctctag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac 660

aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa gttgagccca aatcttgtga caaaactcac 720

acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 780

ccaaaacca aggacacct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg 840

gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900

cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 960

gtcctcaccg tctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc 1020

aacaaagccc tccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1080

gaaccacagg tgtacacct gcccctatcc cgggaagaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1140

ctgacctgcc tggtaaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200

gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1260

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320

tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380

ccgggtaaat ga 1392

<210> 18

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 18

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45

Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Val Ile Pro Asn Ala Gly Gly Thr Ser Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu
115 120 125

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
130 135 140

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
145 150 155 160

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
165 170 175

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
180 185 190

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
195 200 205

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
210 215 220

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
225 230 235 240

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

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

325

330

335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 19

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 19

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

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

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140

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

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

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

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

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

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

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 20

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 20

atgggatggt catgtatcat cctttttcta gtagcaactg caaccggtgt acattcagat	60
atccagatga cccagtcgcc gagtcacctg tccgcctctg tgggcgatag ggtcaccatc	120
acctgcagat ccagtcaaag cttagtacat agcaatggta acactttcct ccactggtat	180
caacagaaac caggaaaagc tccgaaacta ctgatttaca ctgttagcaa ccggttctct	240
ggagtccttt ctgccttctc tggatccggt tctgggacgg atttactct gaccatcagc	300
agtctgcagc cagaagactt cgctacgtat ttctgtagtc agactactca tgttccatgg	360
acatttggac agggtagcaa ggtggagatc aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc	420
atcttccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cttctgttgt gtgcctgctg	480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg	540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	600
agcacctga cgtgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc	660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttaa	717

<210> 21

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 21

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Val His Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys
100 105 110

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 22

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 22

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

130 135 140

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

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

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

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

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

<210> SEQ ID NO 23

<211> LENGTH: 336

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: Mus musculus

<220> FEATURE:

<221> NAME/KEY: CDS

<222> LOCATION: (1)..(336)

<400> SEQUENCE: 24

gat gtt gtg gtg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga 48
Asp Val Val Val Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

gct caa gcc tcc atc tct tgc aga tct agt cag agc ctt gta cac agt 96
Ala Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20	25	30	
aat gga aac acc ttt tta cat tgg tac ctg cag aag cca ggc cag tct Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			144
35	40	45	
cca aaa ctc ctg atc tac aca gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc cca Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro			192
50	55	60	
gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca ctc aag atc Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			240
65	70	75	80
agc aga gtg gag gct gag gat ctg gga gtt tat ttc tgc tct caa act Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr			288
85	90	95	
aca cat gtt ccg tgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc caa Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Gln			336
100	105	110	

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 24

<211> LENGTH: 112

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 24

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

1	5	10	15
Ala Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser			
20	25	30	
Asn Gly Asn Thr Phe Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr			
85	90	95	
Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Gln			
100	105	110	

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 25

<211> LENGTH: 16

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 25

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu His
1 5 10 15

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 26

<211> LENGTH: 7

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 26

Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 27

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 27

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Trp Thr
1 5

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 28

<211> LENGTH: 342

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: Mus musculus

<220> FEATURE:

<221> NAME/KEY: CDS

<222> LOCATION: (1).. (342)

<400> SEQUENCE: 28

gag gtc cag ctg cag cag tct gga cct gac ctg gtg aag cct ggg gct 48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

tca gtg aag atc tcc tgc aag gct tct ggt tac tca ttc act ggc tac 96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

tac ata cac tgg gtg aag cag agc cat gga aag agc ctt gag tgg att 144
Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

gga cgt gtt att cct aac aat gga ggc act agt tac aac cag aag ttc 192
Gly Arg Val Ile Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

aag ggc aag gcc ata tta act gta gac aag tca tcc agc aca gcc tac 240
Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

atg gaa ctc cgc agc ctg aca tct gag gac tct gcg gtc tat tac tgt 288
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

gca aga gaa ggg atc tac tgg tgg ggc cac ggc acc act ctc aca gtc 366
Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly His Gly Thr Thr Leu Thr Val

100 105 110

tcc tca 342
Ser Ser

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 29

<211> LENGTH: 114

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 29

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

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

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Val Ile Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly His Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 30

<211> LENGTH: 6

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 30

Thr Gly Tyr Tyr Ile His
1 5

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 31

<211> LENGTH: 17

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 31

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

Gly

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 32

<211> LENGTH: 4

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 32

Glu Gly Ile Tyr
1

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 33

<211> LENGTH: 48

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 33

agatctagtc agagccttgt acacagtaat ggaaacacct tttacat

48

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 34

<211> LENGTH: 21

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 24

acagtttcca accgattttc t

21

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 35

<211> LENGTH: 18

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 35

actggctact acatacac

18

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 36

<211> LENGTH: 51

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 36

cgtgttattc ctaacaatgg aggcactagt tacaaccaga agttcaaggg c

51

<200> SEQUENCE CHARACTERISTICS:

<210> SEQ ID NO 37

<211> LENGTH: 12

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: Mus musculus

<400> SEQUENCE: 37

gaagggatct ac

12