



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0148237
(43) 공개일자 2022년11월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2863 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7033462
- (22) 출원일자(국제) 2021년02월26일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년09월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2021/051636
- (87) 국제공개번호 WO 2021/171257
국제공개일자 2021년09월02일
- (30) 우선권주장
62/982,852 2020년02월28일 미국(US)

- (71) 출원인
심포젠 에이/에스
덴마크 발레루프 페데르스트루프베즈 93 (우:
2750)
- (72) 발명자
그제탕, 토르벤
덴마크 4040 윌링에 비베베즈 7
린드스테드, 트린
덴마크 3520 파룸 하일데벤겏 13
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 33 항

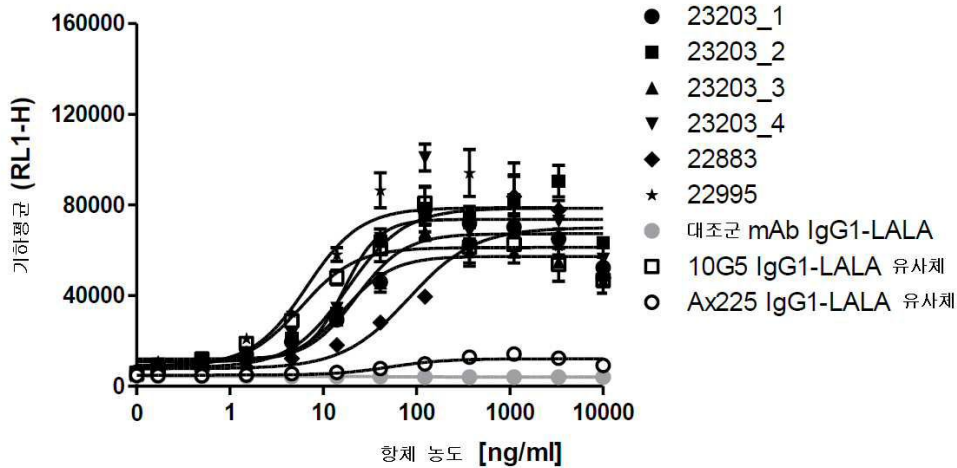
(54) 발명의 명칭 항-AXL 항체 및 조성물

(57) 요약

본 개시내용은 항-AXL 항체, 및 AXL 활성과 관련된 질병 및 질환, 예를 들어 암을 치료하는데 이들을 사용하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1a

인간 AXL



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/71 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

(72) 발명자

윌러, 안톤

덴마크 2830 비룸 리구스터벤겟 41

위사예, 앤

덴마크 2800 콘젠스 링뷔 그린란드베즈 1

멜란더, 예바 마리아 칼슨

스웨덴 216 14 림함 겐가탄 42씨

야콥센, 야누스 슈

덴마크 2820 겐토프테 플랜타게베즈 52

한센, 랜디 웨스

덴마크 4000 로스킬데 제날더마르켄 3

명세서

청구범위

청구항 1

항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부로서, 상기 항체가

- a) SEQ ID NO: 43 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 44 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC; 또는
- b) SEQ ID NO: 13 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 14 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- c) SEQ ID NO: 3 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC) 및 SEQ ID NO: 4 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC);
- d) SEQ ID NO: 23 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 24 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- e) SEQ ID NO: 33 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 34 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- f) SEQ ID NO: 53 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함하는 항체와 동일한 인간 AXL 에피토프에 결합하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부.

청구항 2

제1항에 있어서,

- a) 상기 항체의 중쇄가
 - i) 각각 SEQ ID NO: 45-47의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역(H-CDR)-1-3;
 - ii) SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH);
 - iii) SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
 - iv) SEQ ID NO: 43 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하며;
- b) 상기 항체의 경쇄는
 - i) 각각 SEQ ID NO: 48-50의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역(L-CDR)-1-3;
 - ii) SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL);
 - iii) SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
 - iv) SEQ ID NO: 44 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부.

청구항 3

제1항에 있어서,

- a) 상기 항체의 중쇄가
 - i) 각각 SEQ ID NO: 15-17의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역(H-CDR)-1-3;
 - ii) SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH);
 - iii) SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
 - iv) SEQ ID NO: 13 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하며;

b) 상기 항체의 경쇄는

- i) 각각 SEQ ID NO: 18-20의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역(L-CDR)-1-3;
- ii) SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL);
- iii) SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- iv) SEQ ID NO: 14 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부.

청구항 4

제1항에 있어서,

a) 상기 항체의 중쇄가

- i) 각각 SEQ ID NO: 5-7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역(H-CDR)-1-3;
- ii) SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH);
- iii) SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
- iv) SEQ ID NO: 3 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하며;

b) 상기 항체의 경쇄는

- i) 각각 SEQ ID NO: 8-10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역(L-CDR)-1-3;
- ii) SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL);
- iii) SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- iv) SEQ ID NO: 4 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부.

청구항 5

제1항에 있어서,

a) 상기 항체의 중쇄가

- i) 각각 SEQ ID NO: 25-27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역(H-CDR)-1-3;
- ii) SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH);
- iii) SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
- iv) SEQ ID NO: 23 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하며;

b) 상기 항체의 경쇄는

- i) 각각 SEQ ID NO: 28-30의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역(L-CDR)-1-3;
- ii) SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL);
- iii) SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- iv) SEQ ID NO: 24 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부.

청구항 6

제1항에 있어서,

a) 상기 항체의 중쇄가

- i) 각각 SEQ ID NO: 35-37의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역(H-CDR)-1-3;

- ii) SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH);
 - iii) SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
 - iv) SEQ ID NO: 33 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하며;
- b) 상기 항체의 경쇄는
- i) 각각 SEQ ID NO: 38-40의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역(L-CDR)-1-3;
 - ii) SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL);
 - iii) SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
 - iv) SEQ ID NO: 34 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부.

청구항 7

제1항에 있어서,

- a) 상기 항체의 중쇄가
- i) 각각 SEQ ID NO: 55-57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역(H-CDR)-1-3;
 - ii) SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH);
 - iii) SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
 - iv) SEQ ID NO: 53 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하며;
- b) 상기 항체의 경쇄는
- i) 각각 SEQ ID NO: 58-60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역(L-CDR)-1-3;
 - ii) SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL);
 - iii) SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
 - iv) SEQ ID NO: 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부.

청구항 8

항-AXL 항체 또는 이의 항원 결합부로서, 상기 항체는

- a) 각각 SEQ ID NO: 45-50;
- b) 각각 SEQ ID NO: 15-20;
- c) 각각 SEQ ID NO: 5-10;
- d) 각각 SEQ ID NO: 25-30;
- e) 각각 SEQ ID NO: 35-40; 또는
- f) 각각 SEQ ID NO: 55-60의 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3 아미노산 서열을 포함하는, 항-AXL 항체 또는 이의 항원 결합부.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 항체가

- a) 각각 SEQ ID NO: 43 및 44;
- b) 각각 SEQ ID NO: 13 및 14;
- c) 각각 SEQ ID NO: 3 및 4;

d) 각각 SEQ ID NO: 23 및 24;

e) 각각 SEQ ID NO: 33 및 34; 또는

f) 각각 SEQ ID NO: 53 및 54의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열 및 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 포함하는, 항-AXL 항체 또는 항원 결합부.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 항체가

a) 각각 SEQ ID NO: 43 및 44;

b) 각각 SEQ ID NO: 13 및 14;

c) 각각 SEQ ID NO: 3 및 4;

d) 각각 SEQ ID NO: 23 및 24;

e) 각각 SEQ ID NO: 33 및 34; 또는

f) 각각 SEQ ID NO: 53 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는, 항-AXL 항체 또는 항원 결합부.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG인, 항-AXL 항체.

청구항 12

제11항에 있어서, 항체가 IgG₁인, 항-AXL 항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 F_c 영역에서 적어도 하나의 돌연변이를 포함하는, 항-AXL 항체.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 IgG₁이고, 중쇄 아미노산 234번 및 235번 위치 중 어느 하나 또는 둘 모두에서 돌연변이를 포함하며, 이는 IMGT[®] 넘버링 방식에 따라 넘버링된, 항-AXL 항체.

청구항 15

제14항에 있어서, 234번 및 235번 위치의 아미노산 잔기 중 어느 하나 또는 둘 모두가 Leu에서 Ala로 변이되는, 항-AXL 항체.

청구항 16

a) SEQ ID NO: 43 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC) 및 SEQ ID NO: 44 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC);

b) SEQ ID NO: 13 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 14 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;

c) SEQ ID NO: 3 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 4 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;

d) SEQ ID NO: 23 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 24 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;

e) SEQ ID NO: 33 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 34 및 62의 아미노산 서열을 포함하는

LC; 또는

f) SEQ ID NO: 53 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함하는 항-AXL 항체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원 결합부가

- a) 3×10^{-8} M 이하의 K_D 로 인간 AXL에 결합하는 특성;
- b) 8×10^{-8} M 이하의 K_D 로 시노몰구스 AXL에 결합하는 특성;
- c) 마우스 AXL에는 결합하지 않는 특성;
- d) 인간 AXL의 Ig1 또는 Ig2 도메인에 결합하는 특성;
- e) 인간 AXL에 대한 GAS6의 결합을 억제하는 특성;
- f) GAS6의 존재 하에 시험관내에서 H1299 세포의 증식을 억제하는 특성;
- g) GAS6의 부재하에 효능 활성을 나타내지 않는 특성;
- h) 외인성 AXL을 안정적으로 발현하는 MDA-MB-468-AXL 세포에서 포스파티딜세린-함유 리포솜의 GAS6 유도된 흡수를 억제하는 특성; 및
- i) 생체 내에서 종양 성장을 억제하는 특성으로부터 선택되는 적어도 하나의 특성을 갖는, 항-AXL 항체 또는 항원 결합부.

청구항 18

제17항에 있어서, 항체 또는 항원 결합부가 상기 특성 중 적어도 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개 또는 모두를 갖는, 항-AXL 항체 또는 항원 결합부.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-AXL 항체 또는 항원 결합부 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 면역자극제, 백신, 화학요법제, 항신생물제, 항혈관신생제 또는 티로신 키나제 억제제를 추가로 포함하는 약학적 조성물.

청구항 21

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-AXL 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 경쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 이 둘 모두를 포함하는 단리된 핵산 분자.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 핵산 분자가 SEQ ID NO: 41, 42, 11, 12, 1, 2, 21, 22, 31, 32, 51 및 52 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단리된 핵산 분자.

청구항 23

제21항 또는 제22항의 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터로서, 상기 벡터가 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현 조절 서열을 추가로 포함하는, 벡터.

청구항 24

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-AXL 항체의, 중쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 경쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 숙주 세포.

청구항 25

항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 생성하는 방법으로서, 제24항에 따른 숙주 세포를 제공하는 단계, 상기 항체 또는 결합부의 발현에 적합한 조건 하에 상기 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 생성된 항체 또는 결합부를 분리시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 1개 또는 2개의 별개의 항-AXL 항체의 항원-결합부를 포함하는 이중-특이적 결합 분자.

청구항 27

환자에서 암을 치료하기 위한 방법으로서, 치료적 유효량의 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부, 제19항 또는 제20항의 약학적 조성물 또는 제26항의 이중-특이적 결합 분자를 상기 환자에 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 암이 피부, 폐, 장, 결장, 난소, 뇌, 전립선, 신장, 연조직, 조혈계, 두경부, 간, 뼈, 방광, 유방, 위, 자궁, 자궁경부 및 췌장으로 구성된 군으로부터 선택되는 조직에 있는, 방법.

청구항 29

제27항에 있어서, 암이 흑색종, 두경부암, 교모세포종, 갑상선암, 비소세포폐암, 유방암(예를 들어, 삼중음성 유방암), 췌장암, 난소암, 자궁경부암, 난관암종, 원발성 복막암종, 자궁내막암, 요로상피암종, 신장세포암종, 결장직장암, 직장암, 전립선암, 중피종, 편평세포암종, 육종, 만성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 소림프구성 백혈병, 골수이형성 증후군 또는 호지킨 림프종인, 방법.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 면역자극제, 백신, 화학요법제, 항신생물제, 항혈관신생제, 티로신 키나제 억제제 또는 방사선 요법을 환자에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항의 방법에서 환자의 암을 치료하기 위한 의약을 제조하는데 있어서 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부, 제19항 또는 제20항의 약학적 조성물 또는 제26항의 이중-특이적 결합 분자의 용도.

청구항 32

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항의 방법에서 환자의 암을 치료하는데 사용하기 위한, 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합부, 제19항 또는 제20항의 약학적 조성물 또는 제26항의 이중-특이적 결합 분자.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 인간인, 방법, 용도, 또는 항체 또는 항원-결합부, 약학적 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원에 대한 교차 참조

[0001]

[0002] [0001] 본 출원은 2020년 2월 28일에 출원된 미국 특허 가출원 62/982,852로부터의 우선권을 주장한다. 그 우선권 출원의 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] [0002] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 전체 내용이 참조로 통합된다. 2021년 2월 23일에 생성된 서열 목록의 전자 사본은 022675_W0062_SL.txt라는 이름의 43,951바이트 크기를 갖는다.

배경 기술

[0005] 발명의 배경

[0006] [0003] UFO, JTK11, Tyro7 또는 ARK로도 알려진 AXL은 대식세포 및 수지상 세포를 포함하는 골수 세포의 서브 세트에서 발현되고 수용체 티로신 키나제(RTK)의 TAM(Tyro3-Axl-Mer) 패밀리의 구성원이다. TAM RTK는 식세포에 의한 아포토시스 세포의 흡수에 관여하는 포스포티딜세린-감지 수용체이다. 이러한 키나제는 지속적인 공격과 세포 회전율에 대한 조직 및 기관 대상체의 항상성을 유지하는 데 중요하다. AXL에 대한 리간드는 성장 저지 특이적 6(GAS6)으로, 이는 아포토시스 세포의 포스포티딜세린과 AXL 사이의 링커 역할을 하고 효능 세포증(efferocytosis)으로 알려진 과정에서 세포 파편의 흡수를 촉진한다.

[0007] [0004] 비정상적으로 상승된 TAM 활성화는 중앙 진행, 상피에서 중간엽으로의 전이, 전이 및 표적 요법에 대한 내성과 강하게 연관되어 있다. AXL-매개된 효능작용은 AXL-발현 세포가 항원을 T 세포에 제시하여 염증유도 사이토킨을 생성하는 능력이 감소된 면역-억제 상태로 들어가는 것으로 보였다. GAS6-유도된 활성화 시 AXL은 PI3K/AKT 신호 전달 경로를 통해 중앙 세포에 강력한 생존 신호를 제공한다. GAS6 및 AXL의 증가된 발현은 암 환자의 불량한 예후와 상관관계가 있다.

[0008] [0005] 암 진행에서 AXL의 중요한 역할의 관점에서, AXL을 표적으로 하는 새롭고 개선된 항암 요법이 필요하다.

발명의 내용

[0009] 발명의 개요

[0010] [0006] 본 발명은 AXL을 표적으로 하는 신규한 재조합 항체, 뿐만 아니라 이들 항체 중 하나 이상을 포함하는 약학적 조성물, 및 암 치료를 위한 항체 및 약학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 본원에 기재된 항체 및 조성물은 환자의 암을 치료하는 방법에 사용될 수 있거나; 환자의 암 치료용 의약의 제조에 사용될 수 있거나; 환자의 암 치료에 사용하기 위한 것일 수 있다. 항체 치료를 포함하는 이러한 암에 대해 현재 이용가능한 치료와 비교하여, 본원에 기재된 항체 및 조성물은 단독으로 또는 또 다른 암 치료제와 조합하여 우수한 임상 반응을 제공할 수 있는 것으로 고려된다.

[0011] [0007] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 또는 22883과 동일한 인간 AXL 에피토프와의 결합에 결정 또는 교차-경쟁하거나 이에 결합하는 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공한다. 특정 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 상기 항체의 6개 CDR, 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열에 의해 정의된다.

[0012] [0008] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공하며, 여기서

[0013] a) 상기 항체의 중쇄는

[0014] i) 각각 SEQ ID NO: 5-7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역(H-CDR)-1-3;

[0015] ii) SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인(VH);

[0016] iii) SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는

[0017] iv) SEQ ID NO: 3 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하며;

[0018] b) 상기 항체의 경쇄는

[0019] i) 각각 SEQ ID NO: 8-10의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역(L-CDR)-1-3;

- [0020] ii) SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(VL);
- [0021] iii) SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- [0022] iv) SEQ ID NO: 4 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC)를 포함한다.
- [0023] [0009] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공하며, 여기서
- [0024] a) 상기 항체의 중쇄는
 - [0025] i) 각각 SEQ ID NO: 15-17의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR-1-3;
 - [0026] ii) SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH;
 - [0027] iii) SEQ ID NO: 13의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
 - [0028] iv) SEQ ID NO: 13 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함하며;
- [0029] b) 상기 항체의 경쇄는
 - [0030] i) 각각 SEQ ID NO: 18-20의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR-1-3;
 - [0031] ii) SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
 - [0032] iii) SEQ ID NO: 14의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
 - [0033] iv) SEQ ID NO: 14 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.
- [0034] [0010] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공하며, 여기서
- [0035] a) 상기 항체의 중쇄는
 - [0036] i) 각각 SEQ ID NO: 25-27의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR-1-3;
 - [0037] ii) SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH;
 - [0038] iii) SEQ ID NO: 23의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
 - [0039] iv) SEQ ID NO: 23 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함하며;
- [0040] b) 상기 항체의 경쇄는
 - [0041] i) 각각 SEQ ID NO: 28-30의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR-1-3;
 - [0042] ii) SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
 - [0043] iii) SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
 - [0044] iv) SEQ ID NO: 24 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.
- [0045] [0011] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공하며, 여기서
- [0046] a) 상기 항체의 중쇄는
 - [0047] i) 각각 SEQ ID NO: 35-37의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR-1-3;
 - [0048] ii) SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH;
 - [0049] iii) SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
 - [0050] iv) SEQ ID NO: 33 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함하며;
- [0051] b) 상기 항체의 경쇄는
 - [0052] i) 각각 SEQ ID NO: 38-40의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR-1-3;
 - [0053] ii) SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
 - [0054] iii) SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
 - [0055] iv) SEQ ID NO: 34 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

- [0056] [0012] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공하며, 여기서
- [0057] a) 상기 항체의 중쇄는
- [0058] i) 각각 SEQ ID NO: 45-47의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR-1-3;
- [0059] ii) SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH;
- [0060] iii) SEQ ID NO: 43의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
- [0061] iv) SEQ ID NO: 43 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함하며;
- [0062] b) 상기 항체의 경쇄는
- [0063] i) 각각 SEQ ID NO: 48-50의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR-1-3;
- [0064] ii) SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0065] iii) SEQ ID NO: 44의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- [0066] iv) SEQ ID NO: 44 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

- [0067] [0013] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공하며, 여기서
- [0068] a) 상기 항체의 중쇄는
- [0069] i) 각각 SEQ ID NO: 55-57의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR-1-3;
- [0070] ii) SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH;
- [0071] iii) SEQ ID NO: 53의 아미노산 서열을 포함하는 VH; 또는
- [0072] iv) SEQ ID NO: 53 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC를 포함하며;
- [0073] b) 상기 항체의 경쇄는
- [0074] i) 각각 SEQ ID NO: 58-60의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR-1-3;
- [0075] ii) SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL;
- [0076] iii) SEQ ID NO: 54의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는
- [0077] iv) SEQ ID NO: 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.

[0078] [0014] 본 개시내용은 또한, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부의, 중쇄 또는 이의 항원-결합부, 경쇄 또는 이의 항원-결합부, 또는 이 둘 모두를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자, 벡터 및 숙주 세포를 제공한다. 추가로, 본 개시내용은 상기 숙주 세포를 배양함으로써 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부를 생성하는 방법, 뿐만 아니라 본원에 기재된 항체 또는 항원-결합부를 혼합함으로써 항체 조성물을 생성하는 방법을 제공한다.

[0079] [0015] 본 발명의 다른 특징, 목적 및 이점은 다음의 상세한 설명에서 명백하다. 그러나, 상세한 설명은 본 발명의 구현예 및 양태를 나타내는 반면 제한이 아니라 단지 예시로서 제공된다는 것을 이해해야 한다. 본 발명의 범위 내에서 다양한 변경 및 수정은 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0080] 도면의 간단한 설명

[0016] **도 1a 내지 도 1c**는 CHO-S 세포 상에 일시적으로 발현되는 인간(**도 1a**) 및 시노블구스(**도 1b**) AXL 세포 외 도메인(ECD)에 대한 표시된 항-인간 AXL 항체의 결합 프로파일을 보여주는 그래프 세트이다. 모의 형질감염된 CHO-S 세포를 음성 대조군으로 사용하였다(**도 1c**). 데이터는 평균 \pm SEM(n=3)으로 표시된다.

[0017] **도 2**는 항-AXL 항체 처리 후 H1299 세포의 증식을 보여주는 그래프이다. 추가 특성규명을 위해 박스 친 항체를 선택하였다. 데이터는 X 축에서 GAS6의 존재하의 증식성 반응 및 Y 축에서 GAS6의 부재하의 증식성 반응이며, 처리되지 않은 대조군(GAS6 없음)으로 정규화되었다. 수평 및 수직 점선은 각 설정(+ 또는 - GAS6)에 대해 개별적으로 정규화된, GAS6 부재하의 대조군과 비교하여 GAS6 추가 시 증식 수준을 나타낸다. 각 데이터 포

인트는 각 축에 대한 세 가지 기술 복제의 평균을 나타낸다.

[0018] 도 3은 리간드 GAS6의 존재(상부 패널) 또는 부재(하부 패널) 하에 표시된 항체로 처리된 H1299 세포의 증식을 보여주는 한 쌍의 그래프이다. 데이터는 처리되지 않은 대조군으로 정규화되었으며 곡선의 각 데이터 포인트는 평균 ± SEM을 나타낸다(n=3).

[0019] 도 4는 표시된 항체로 처리된 MDA-MB-468-AXL 세포에 의한 GAS6-유도된 리포솜 흡수를 나타내는 그래프이다. 데이터는 GAS6-처리된 대조군(점선)으로 정규화되고 평균 ± SEM으로 표시된다. 각 데이터 포인트는 세 가지 기술 복제의 평균을 나타낸다.

[0020] 도 5a 및 5b는 인간 유방암 MDA-MB-231 세포가 이식된 NOD.Scid 마우스에서 종양 성장에 대한 2개의 AXL 항체(22995 및 23203_2) 또는 비히클 처리의 효과를 보여주는 한 쌍의 그래프이다. 회색 부분은 처리 기간을 나타낸다. 데이터는 평균 ± SEM으로 표시된다. **** P<0.0001.

[0021] 도 6은 SPR에 의한 고전적인 샌드위치 검정에서 시험된, 표시된 항체 및 AXL 리간드, GAS6에 대한 교차 경쟁 결과를 나타내는 표이다. 표면의 각 항체에 대한 재조합 AXL-ECD 결합 능력의 차이를 보정하기 위해 데이터를 정규화하였다. 샌드위치 항체는 흰색으로 표시되고 차단 항체는 회색으로 표시된다.

[0022] 도 7은 각 항체에 대한 전장 인간 AXL-ECD에 대한 항체 결합에 대해 정규화된, 포획된 인간/마우스 키메라 단백질에 대한 지시된 항체의 결합에 대한 생물층 간섭계(BLI) 반응(nm)을 도시한 표이다. 마우스 AXL 서열("MoAXL")은 도메인 Ig1, Ig2, Fn1 또는 Fn2("HuIg1", "HuIg2", "HuFn1" 및 "HuFn2", 굵게 표시됨)에 대한 인간 AXL 서열로 교환되었다. 회색은 결합 반응이 없음을 나타낸다; 음성 반응은 펜타-His 표면으로부터 포획된 항원이 약간 해리되었기 때문이다. 데이터는 하나의 대표적인 실험에서 가져온 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0081] 발명의 상세한 설명

[0082] 본 개시내용은 암 환자와 같은 환자에서 AXL 활성을 억제하는데 사용될 수 있는 새로운 항-인간 AXL 항체를 제공한다. 달리 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 "AXL"은 인간 AXL을 지칭한다. 인간 AXL 폴리펩티드 서열은 아래와 같이 UniProt 수탁번호 P30530(UFO_HUMAN)(SEQ ID NO: 63)으로 이용 가능하다:

10	20	30	40	50
MAWRCPRMGR	VPLAWCLALC	GWACMAPRGT	QAEESPFGVN	PGNITGARGL
60	70	80	90	100
TGTLRCQLQV	QGEPPEVHWL	RDGQILELAD	STQTQVPLGE	DEQDDWIVVS
110	120	130	140	150
QLRITSLQLS	DTGQYQCLVF	LGHQTFVSQP	GYVGLGLPY	FLEEPEDRTV
160	170	180	190	200
AANTPFNLSC	QAQGPPEPVD	LLWLQDAVPL	ATAPGHGPQR	SLHVPGLNKT
210	220	230	240	250
SSFSCAEHNA	KGVTTSRTAT	ITVLPQQPRN	LHLVSRQPT	LEVAWTPGLS
260	270	280	290	300

[0083]

GIYPLTHCTL QAVLSDDGMG IQAGEPDPPE EPLTSQASVP PHQLRLGSLH
 310 320 330 340 350
 PHTPYHIRVA CTSSQGPPSSW THWLPVETPE GVPLGPPENI SATRNGSQAF
 360 370 380 390 400
 VHWQEPRAPL QGTLGRLA YQGQDTPEVL MDIGLRQEVV LELQGDGSVS
 410 420 430 440 450
 NLTVCVAAYT AAGDGPWSLP VPLEAWRPGQ AQPVHQLVKE PSTPAFSWPW
 460 470 480 490 500
 WYVLLGAVVA AACVLILALF LVHRRKKETR YGEVFEPTVE RGELVVRYRV
 510 520 530 540 550
 RKSYSRRTE ATLNSLIGISE ELKEKLRDVM VDRHKVALGK TLGEGEFGAV
 560 570 580 590 600
 MEGQLNQDDS ILKVAVKTMK IAICTRSELE DFLSEAVCMK EFDHPNVMRL
 610 620 630 640 650
 IGVCFQGSER ESFPAPVVIL PFMKHGDLHS FLLYSRLGDQ PVYLPQMLV
 660 670 680 690 700
 KFMADIASGM EYLSTKRFIH RDLAARNCML NENMSVCVAD FGLSKKIYNG
 710 720 730 740 750
 DYYRQGRIAK MPVKWIAIES LADRVYTSKS DVWSFGVTMW EIATRQTPY
 760 770 780 790 800
 PGVENSEIYD YLRQGNRLKQ PADCLDGLYA LMSRCWELNP QDRPSFTELR
 810 820 830 840 850
 EDLENTLKAL PPAQEPDEIL YVNMDEGGGY PEPPGAAGGA DPPTQPDPKD
 860 870 880 890
 SCSCLTAAEV HPAGRYVLCF STTPSPAQPA DRGSPAAPGQ EDGA

[0084]

[0085]

[0024] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체"(Ab) 또는 "면역글로불린"(Ig)은 이항화 결합에 의해 상호 연결된 2개의 중쇄(H)(약 50-70 kDa) 및 2개의 경쇄(L)(약 25 kDa)를 포함하는 테트라머를 나타낸다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 도메인(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 포함한다. 각 경쇄는 경쇄 가변 도메인(VL)과 경쇄 불변 영역(CL)으로 구성된다. VH 및 VL 도메인은 "프레임워크 영역"(FR)이라고 하는 더욱 보존된 영역이 산재되어 있는 "상보성 결정 영역"(CDR)이라고 하는 초가변성 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 CDR(본원에서 H-CDR은 중쇄로부터의 CDR을 지정하고; 본원에서 L-CDR은 경쇄로부터의 CDR을 지정함) 및 4개의 FR로 구성되며, 이는 다음 순서 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4로 아미노-말단에서 카르복실-말단으로 배열된다. 중쇄 또는 경쇄에서 아미노산 번호, 및 FR 및 CDR 영역의 할당은 IMGT® 정의 (Eu numbering; Lefranc et al., *Dev Comp Immunol* **27(1)**:55-77 (2003)); 또는 Kabat의 정의(*Sequences of Proteins of Immunological Interest*(National Institutes of Health, Bethesda, MD (1987 and 1991)); Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* **196**:901-917 (1987); Chothia et al., *Nature* **342**:878-883 (1989); MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* **262**:732-745 (1996); or Honegger and Plückthun, *J. Mol. Biol.* **309(3)**:657-70 (2001))에 따를 수 있다.

[0086]

[0025] 용어 "제조항체"는 항체를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열(들)을 포함하는 세포 또는 세포주로부터 발현되는 항체를 지칭하며, 여기서 상기 뉴클레오티드 서열(들)은 세포와 자연적으로 회합되지 않는다.

[0087]

[0026] 용어 "단리된 단백질", "단리된 폴리펩티드" 또는 "단리된 항체"는 이의 기원 또는 유도 공급원으로 인해 (1) 천연 상태로 수반되는 자연적으로 회합된 구성요소와 회합되지 않으며/거나, (2) 동일한 종으로부터의 다른 단백질을 함유하지 않으며/거나, (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해 발현되고/거나 (4) 자연에서 발생하지 않는 단백질, 폴리펩티드 또는 항체를 나타낸다. 따라서, 화학적으로 합성되거나 자연적으로 유래된 세포와 상이한 세포 시스템에서 합성된 폴리펩티드는 자연적으로 회합된 구성요소로부터 "단리"될 것이다. 단백질은 또한 당업계에 잘 알려진 단백질 정제 기술을 사용하여 단리에 의해 자연적으로 회합된 구성요소를 실질적으로

함유하지 않게 할 수 있다.

[0088] [0027] 용어 "친화성"은 항원과 항체 사이의 인력의 척도를 나타낸다. 항원에 대한 항체의 고유한 매력은 전형적으로 특정 항체-항원 상호작용의 결합 친화도 평형 상수(K_D)로 표현된다. 항체는 K_D 가 $\leq 1\text{mM}$, 예를 들어, $\leq 1\ \mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$ 또는 $\leq 10\text{nM}$ 일 때 항원에 특이적으로 결합한다고 한다. K_D 결합 친화도 상수는 예를 들어, IBIS Technologies의 IBIS MX96 SPR 시스템 또는 Carterra LSA SPR 플랫폼을 사용하는 표면 플라즈몬 공명(예를 들어, BIACore™)에 의해, 또는 예를 들어 ForteBio의 Octet™ 시스템을 사용하는 생물층 간섭계에 의해 측정될 수 있다.

[0089] [0028] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "에피토프"는 항체 또는 이중-특이적 결합 분자와 같은 관련 분자에 특이적으로 결합하는 항원의 일부(결정인자)를 나타낸다. 에피토프 결정인자는 일반적으로 아미노산 또는 탄수화물 또는 당 측쇄와 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹으로 구성되며, 일반적으로 특정 3차원 구조적 특징과 특정 전하 특성을 가지고 있다. 에피토프는 "선형" 또는 "입체형태적"일 수 있다. 선형 에피토프에서 단백질(예를 들어, 항원)과 상호작용 분자(예컨대, 항체) 사이의 모든 상호작용 지점은 단백질의 일차 아미노산 서열을 따라 선형으로 발생한다. 입체형태적 에피토프에서 상호작용 지점은 일차 아미노산 서열에서 서로 분리된 단백질의 아미노산 잔기에 걸쳐 발생한다. 항원 상의 에피토프가 결정되면, 당업계에 잘 알려진 기술을 사용하여 해당 에피토프에 대한 항체를 생성하는 것이 가능하다. 예를 들어, 선형 에피토프에 대한 항체는 예를 들어, 동물을 선형 에피토프의 아미노산 잔기를 갖는 펩티드로 면역화함으로써 생성될 수 있다. 입체형태적 에피토프에 대한 항체는 예를 들어, 입체형태적 에피토프의 관련 아미노산 잔기를 함유하는 미니-도메인으로 동물을 면역화함으로써 생성될 수 있다. 특정 에피토프에 대한 항체는 또한, 예를 들어 동물을 관심 표적 분자(예를 들어, AXL) 또는 이의 관련 부분으로 면역화한 다음, 에피토프에 대한 결합을 스크리닝함으로써 생성될 수 있다.

[0090] [0029] 비제한적으로, 경쟁 검정, 에피토프 결합 및 알라닌 스캐닝을 포함하는 당업계에 공지된 방법을 이용함으로써 항체가 본 개시내용의 항-AXL 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 또는 결합에 대해 경쟁하는지의 여부를 결정할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체가 포화 조건 하에 AXL에 결합하도록 한 다음, AXL에 결합하는 시험 항체의 능력을 측정한다. 시험 항체가 참조 항-AXL 항체와 동시에 AXL에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체는 참조 항-AXL 항체와 다른 에피토프에 결합한다. 그러나, 시험 항체가 AXL에 동시에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체는 동일한 에피토프, 중첩 에피토프 또는 본 개시내용의 항-AXL 항체에 의해 결합된 에피토프에 매우 근접한 에피토프에 결합한다. 이 실험은 예를 들어, ELISA, RIA, BIACORE™, SPR, 생물층 간섭계 또는 유세포 분석을 사용하여 수행될 수 있다. 항-AXL 항체가 또 다른 항-AXL 항체와 교차 경쟁하는지의 여부를 테스트하기 위해 두 가지 방향, 즉 알려진 항체가 테스트 항체를 차단하는지 또는 그 반대의 경우를 결정하는데 상기에서 설명한 경쟁 방법을 사용할 수 있다. 이러한 교차 경쟁 실험은 예를 들어 IBIS MX96 또는 Carterra LSA SPR 기기 또는 Octet™ 시스템을 사용하여 수행될 수 있다.

[0091] [0030] 용어 "인간 항체"는 가변 도메인 및 불변 영역 서열이 인간 서열로부터 유래된 항체를 나타낸다. 용어는 인간 유전자로부터 유래하지만, 예를 들어 면역원성을 감소시키고/거나 친화성을 증가시키고/거나 안정성을 증가시키도록 변형된 서열을 갖는 항체를 포함한다. 또한, 용어는 인간 세포에서 전형이 아닌 글리코실화를 부여할 수 있는 비인간 세포에서 재조합적으로 생성된 항체를 포함한다. 이 용어는 또한 인간 항체 유전자를 갖는 전이유전자 비인간 유기체(예를 들어, OmniRat® 래트)에서 생산된 항체를 포함한다.

[0092] [0031] 본원에 사용된 바와 같은 용어 항체의 "항원-결합부"(또는 간단히 "항체부")는 항원(예를 들어, 인간 AXL 또는 이의 일부)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 부분 또는 단편을 나타낸다. 전장 항체의 특정 단편이 항체의 항원 결합 기능을 수행할 수 있는 것으로 나타났다. 용어 "항원-결합부"에 포함되는 결합 단편의 예는 (i) Fab 단편: VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 일가 단편; (ii) F(ab')₂ 단편: 힌지 영역에서 이황화 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 이가 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 암의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편, (v) VH 도메인으로 구성된 dAb 단편; 및 (vi) 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 또한, Fv 단편의 두 도메인인 VL 및 VH가 별도의 유전자에 의해 인코딩되지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여 단일 단백질 사슬로 만들 수 있도록 하는 합성 링커에 의해 결합될 수 있으며, 여기서 VL 및 VH 도메인은 쌍을 이루어 일가 분자(단쇄 Fv(scFv)로 알려짐)를 형성한다. 또한 본 개시내용에는 VH 및/또는 VL을 포함하는 항원-결합 분자가 있다. VH의 경우, 분자는 또한 CH1, 힌지, CH2 또는 CH3 영역 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 이러한 단일쇄 항체는 또한 항체의 "항원-결합부"라는 용어 내에 포함되는 것으로 의도된다. 디아바디와 같은 다른 형태의 단

일 사슬 항체도 포함된다. 디아바디는 VH 및 VL 도메인이 단일 폴리펩티드 사슬에서 발견되지만 너무 짧아 동일한 사슬의 두 도메인 사이에 쌍을 이루지 못하게 하는 링커를 사용하여, 도메인이 또 다른 사슬의 상보적 도메인과 쌍을 이루어 2개의 항원-결합 부위를 생성하는 이가의 이중-특이적 항체이다.

- [0093] [0032] Fab 및 F(ab')₂ 단편과 같은 항체 부분은 전체 항체의 파파인 또는 펩신 분해와 같은 통상적인 기술을 사용하여 전체 항체로부터 제조될 수 있다. 더욱이, 항체, 항체 부분 및 면역접착소 분자는 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 수득될 수 있다.
- [0094] [0033] 항-AXL 항체의 부류(아이소형) 및 하위부류는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 결정될 수 있다. 일반적으로, 항체의 부류 및 하위부류는 항체의 특정 부류 및 하위부류에 대해 특이적인 항체를 사용하여 결정될 수 있다. 이러한 항체는 시중에서 입수가 가능하다. 부류 및 하위부류는 ELISA 또는 웨스턴 블롯 및 기타 기술에 의해 결정될 수 있다. 대안적으로, 부류 및 하위부류는 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 불변 영역의 전부 또는 일부를 시퀀싱하고, 이들의 아미노산 서열을 면역글로불린의 다양한 부류 및 하위부류의 공지된 아미노산 서열과 비교하고, 항체의 부류 및 하위부류를 결정함으로써 결정될 수 있다.
- [0095] [0034] 달리 표시되지 않는 한, 본 개시내용에서 언급된 모든 항체 아미노산 잔기 번호는 IMGT[®] 넘버링 방식(EU 넘버링) 하에 있는 것들이다.
- [0096] 항-AXL 항체
- [0097] [0035] 본 개시내용은 AXL에 대해 지시된 항체 및 이의 항원-결합부를 제공한다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 항체는 재배열된 인간 항체 유전자에 의해 인코딩되는 항체를 생성할 수 있는 유전자전이 동물(예를 들어, 래트)로부터 생성되는 인간 항체이다. 특정 구현예에서, 인간 항체는 예를 들어, 프라이머-유래된 돌연변이를 생식계열 서열로 다시 변경시키기 위해 특정 돌연변이를 함유할 수 있다(예를 들어, 표 1의 "심플렉스-수정된" 변이체 서열 참조).
- [0098] [0036] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체는 Fc 영역에 "LALA" 돌연변이(L234A/L235A)를 갖는다. 이러한 돌연변이는 항체가 인간 Fc γR(Fc 감마 수용체)에 결합하는 것을 방해한다. 이러한 항체는 낮은 수준의 이차 이펙터 기능을 갖고 따라서 이펙터 T 세포를 고갈시키거나 다른 비악성 세포를 표적화하지 않기 때문에 유리하다.
- [0099] [0037] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 인간 AXL에 결합하는데
- [0100] a) SEQ ID NO: 3 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC) 및 SEQ ID NO: 4 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄(LC);
- [0101] b) SEQ ID NO: 13 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 14 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- [0102] c) SEQ ID NO: 23 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 24 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- [0103] d) SEQ ID NO: 33 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 34 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- [0104] e) SEQ ID NO: 43 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 44 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC; 또는
- [0105] f) SEQ ID NO: 53 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함하는 항체와 경쟁 또는 교차-경쟁하거나, 항체와 동일한 인간 AXL 에피토프에 결합한다.
- [0106] [0038] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 SEQ ID NO: 7, 17, 27, 37, 47 또는 57의 중쇄 CDR3(H-CDR3) 아미노산 서열을 갖는다.
- [0107] [0039] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 각각 SEQ ID NO: 5-7, 15-17, 25-27, 35-37, 45-47 또는 55-57의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1-3(H-CDR1-3)을 갖는다.
- [0108] [0040] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43 또는 53의 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 중쇄 가변 도메인

(VH) 아미노산 서열을 갖는다.

- [0109] [0041] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43 또는 53의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 갖는다.
- [0110] [0042] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체는 SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43 또는 53의 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 아미노산 서열; 및 SEQ ID NO: 61의 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 중쇄 불변 영역 아미노산 서열을 갖는다.
- [0111] [0043] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체는 SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43 또는 53의 VH 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 61의 중쇄 불변 영역 아미노산 서열을 포함한다.
- [0112] [0044] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 SEQ ID NO: 10, 20, 30, 40, 50 또는 60의 경쇄 CDR3(L-CDR3) 아미노산 서열을 갖는다.
- [0113] [0045] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 각각 SEQ ID NO: 8-10, 18-20, 28-30, 38-40, 48-50 또는 58-60의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1-3(L-CDR1-3)을 갖는다.
- [0114] [0046] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 SEQ ID NO: 4, 14, 24, 44 또는 54의 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 경쇄 가변 도메인(VL) 아미노산 서열을 갖는다.
- [0115] [0047] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44 또는 54의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 갖는다.
- [0116] [0048] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체는 SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44 또는 54의 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL 아미노산 서열; 및 SEQ ID NO: 62의 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 경쇄 불변 영역 아미노산 서열을 갖는다.
- [0117] [0049] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체는 SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44 또는 54의 VL 아미노산 서열 및 SEQ ID NO: 62의 경쇄 불변 영역 아미노산 서열을 포함한다.
- [0118] [0050] 특정 구현예에서, 항-AXL 항체는 상기 기재된 중쇄 중 어느 하나 및 상기 기재된 경쇄 중 어느 하나를 포함한다.
- [0119] [0051] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는
 - [0120] a) 각각 SEQ ID NO: 5-10;
 - [0121] b) 각각 SEQ ID NO: 15-20;
 - [0122] c) 각각 SEQ ID NO: 25-30;
 - [0123] d) 각각 SEQ ID NO: 35-40;
 - [0124] e) 각각 SEQ ID NO: 45-50; 또는
 - [0125] f) 각각 SEQ ID NO: 55-60의 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0126] [0052] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는
 - [0127] a) 각각 SEQ ID NO: 3 및 4;
 - [0128] b) 각각 SEQ ID NO: 13 및 14;
 - [0129] c) 각각 SEQ ID NO: 23 및 24;
 - [0130] d) 각각 SEQ ID NO: 33 및 34;
 - [0131] e) 각각 SEQ ID NO: 43 및 44; 또는
 - [0132] f) 각각 SEQ ID NO: 53 및 54의 아미노산과 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%

동일한(예를 들어, 90% 동일한) VH 및 VL을 포함한다.

- [0133] [0053] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는
- [0134] a) 각각 SEQ ID NO: 3 및 4;
- [0135] b) 각각 SEQ ID NO: 13 및 14;
- [0136] c) 각각 SEQ ID NO: 23 및 24;
- [0137] d) 각각 SEQ ID NO: 33 및 34;
- [0138] e) 각각 SEQ ID NO: 43 및 44; 또는
- [0139] f) 각각 SEQ ID NO: 53 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 VL을 포함한다.
- [0140] [0054] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체는
- [0141] a) SEQ ID NO: 3 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 4 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- [0142] b) SEQ ID NO: 13 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 14 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- [0143] c) SEQ ID NO: 23 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 24 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- [0144] d) SEQ ID NO: 33 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 34 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- [0145] e) SEQ ID NO: 43 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 44 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC; 또는
- [0146] f) SEQ ID NO: 53 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 SEQ ID NO: 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 LC를 포함한다.
- [0147] [0055] 본 개시내용은 또한 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 또는 22883와 결합에 경쟁 또는 교차-경쟁하거나, 상기 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 제공한다.
- [0148] [0056] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 또는 22883의 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0149] [0057] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 또는 22883의 VH 및 VL 각각에 대해 아미노산 서열이 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 및 VL을 포함한다.
- [0150] [0058] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 또는 22883의 각각 VH 및 VL인 VH 및 VL을 포함한다.
- [0151] [0059] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체는 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 또는 22883, 또는 상기 항체와 동일한 아미노산 서열을 갖는 항체이다.
- [0152] [0060] 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3 또는 23203_4의 H-CDR3을 포함하는 서열을 언급하는 본원에 기재된 임의의 구현예에서, 상기 H-CDR3은 서열 CSSREYSSRWTFDYW (SEQ ID NO: 7)의 2번 위치에서 세린(S) 잔기가 알라닌(A)에 의해 대체되어, H-CDR3 서열이 CASREYSSRWTFDYW (SEQ ID NO: 65)인 변이체 H-CDR3에 의해 대체될 수 있다. 변이체 잔기는 굵게/밑줄로 표시된다.
- [0153] [0061] 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3 또는 23203_4의 H-FR3을 포함하는 서열을 언급하는 본원에 기재된 임의의 구현예에서, 상기 H-FR3은 서열 NYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYY (SEQ ID NO: 66)의 32번 위치에서 아스파르트레이트(D) 잔기가 글리신(G)에 의해 대체되어, H-FR3 서열이 NYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAAGTAVYY (SEQ ID NO: 67)인 변이체 H-FR3에 의해 대체될 수 있다. 변이체 잔기는 굵게/밑줄로 표시된다.
- [0154] [0062] 22995의 VL(SEQ ID NO: 44)을 언급하는 본원에 기재된 임의의 구현예에서, 상기 서열은 임의의 인간

IGKV/IGKJ 생식계열 서열에 의해 대체될 수 있다. 특정 구현예에서, 대체 서열은 임의의 인간 IGKV/IGKJ 서열에 이식되어 원래의 생식계 서열을 대체하는 SEQ ID NO: 48, 49 및 50의 L-CDR1, L-CDR2 및 L-CDR3을 각각 가질 수 있다.

- [0155] [0063] 본원에 기재된 방법에 의해 수득된 항-AXL 항체의 부류는 또 다른 부류 또는 하위부류로 변경되거나 전환될 수 있다. 본 개시내용의 일부 구현예에서, VL 또는 VH를 인코딩하는 핵산 분자는 각각 CL 또는 CH를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하지 않도록 당업계에서 널리 공지된 방법을 사용하여 단리된다. 이어서, VL 또는 VH를 인코딩하는 핵산 분자는 상이한 부류의 면역글로불린 분자로부터 각각 CL 또는 CH를 인코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된다. 이는 상기 기재된 바와 같이 CL 또는 CH 서열을 포함하는 벡터 또는 핵산 분자를 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 원래 IgM이었던 항-AXL 항체는 IgG로 부류가 전환될 수 있다. 또한, 부류 스위칭은 하나의 IgG 서브클래스를 또 다른 것으로 전환하는데, 예를 들어, IgG₁을 IgG₂로 전환하는 데 사용될 수 있다. κ 경쇄 불변 영역은 예를 들어 λ 경쇄 불변 영역으로 또는 그 반대로 변경될 수 있다. 원하는 Ig 아이소형을 갖는 본 개시내용의 항체를 생성하기 위한 예시적인 방법은 항-AXL 항체의 중쇄를 인코딩하는 핵산 분자 및 항-AXL 항체의 경쇄를 인코딩하는 핵산 분자를 단리하는 단계, 중쇄의 가변 도메인을 수득하는 단계, 중쇄의 가변 도메인에 대한 코딩 서열을 요망되는 아이소형의 중쇄의 불변 영역에 대한 코딩 서열과 결합시키는 단계, 세포에서 결합된 서열에 의해 인코딩된 경쇄 및 중쇄를 발현시키는 단계, 및 요망되는 아이소형을 갖는 항-AXL 항체를 수집하는 단계를 포함한다.
- [0156] [0064] 본 개시내용의 항-AXL 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA 또는 IgD 분자일 수 있지만, 전형적으로 IgG 아이소형, 예를 들어, IgG 하위부류 IgG₁, IgG_{2a} 또는 IgG_{2b}, IgG₃ 또는 IgG₄일 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 아이소형 하위부류 IgG₁의 항체이다.
- [0157] [0065] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체는 Fc 영역에 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 다수의 상이한 Fc 돌연변이가 알려져 있으며, 여기서 이러한 돌연변이는 항체의 이펙터 기능을 변경시킨다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항-AXL 항체는 이펙터 기능을 감소시키는 Fc 영역 내의 적어도 하나의 돌연변이, 예를 들어 228, 233, 234 및 235번 위치 중 하나 이상에서의 돌연변이를 포함하며, 여기서 아미노산 위치는 IMGT[®] 넘버링 방식에 따라 넘버링된다.
- [0158] [0066] 일부 구현예에서, 예를 들어, 항체가 IgG₁ 하위부류인 경우, 234 및 235번 위치의 아미노산 잔기 중 하나 또는 둘 모두가 예를 들어, Leu에서 Ala로 돌연변이될 수 있다(L234A/L235A). 이러한 돌연변이는 IgG₁ 항체의 Fc 영역의 이펙터 기능을 감소시킨다. 아미노산 위치는 IMGT[®] 넘버링 방식에 따라 넘버링된다.
- [0159] [0067] 일부 구현예에서, 예를 들어 항체가 IgG₄ 하위부류인 경우, 이는 돌연변이 S228P를 포함할 수 있고, 여기서 아미노산 위치는 IMGT[®] 넘버링 방식에 따라 넘버링된다. 이 돌연변이는 원하지 않는 Fab 암 교환을 감소시키는 것으로 알려져 있다.
- [0160] [0068] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 약 5×10^{-8} , 4×10^{-8} , 3×10^{-8} , 2×10^{-8} , 1×10^{-8} , 9×10^{-9} , 8×10^{-9} , 7×10^{-9} , 6×10^{-9} , 5×10^{-9} , 4×10^{-9} , 3×10^{-9} , 2×10^{-9} , 1×10^{-9} , 9×10^{-10} , 8×10^{-10} , 7×10^{-10} , 6×10^{-10} 또는 5×10^{-10} M 이하의 K_D를 갖는 인간 AXL에 결합한다.
- [0161] [0069] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 약 9×10^{-8} , 8×10^{-8} , 7×10^{-8} , 6×10^{-8} , 5×10^{-8} , 4×10^{-8} , 3×10^{-8} , 2×10^{-8} , 1×10^{-8} , 9×10^{-9} , 8×10^{-9} , 7×10^{-9} , 6×10^{-9} 또는 5×10^{-9} 이하의 K_D를 갖는 시노물구스 AXL에 결합한다.
- [0162] [0070] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 GAS6의 존재하에 약 1, 5, 10, 15, 20 또는 25 μg/mL 이하의 농도(예를 들어, 여기서 GAS6은 약 1 μg/mL의 농도임)로 시험관 내에서 H1299의 증식을 억제한다.
- [0163] [0071] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 GAS6의 부재하에 예를 들어, 최대 약 1, 5, 10, 15, 20 또는 25 μg/mL의 농도에서 효능 활성을 나타내지 않는다.
- [0164] [0072] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 외인성 AXL을 안정적으로 발현하는 MDA-MB-468-AXL 세포에서 예를 들어, 약 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 4 또는 6 μg/mL 이하의 농도에서 포스포티달세

린-함유 리포솜의 GAS6-유도된 흡수를 억제한다.

- [0165] [0073] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 예를 들어, 약 10 mg/kg 또는 50 mg/kg의 농도에서 생체내 종양 성장을 억제한다.
- [0166] [0074] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 인간 AXL에 대한 GAS6의 결합을 억제한다.
- [0167] [0075] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 10G5 및/또는 YW327.6S2와 상이한 인간 AXL 에피토프를 인식한다.
- [0168] [0076] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 마우스 AXL에 결합하지 않는다.
- [0169] [0077] 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 인간 AXL의 Ig1 도메인에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 인간 AXL의 Ig2 도메인에 결합한다.
- [0170] [0078] 본 개시내용은 또한 상기 특성의 임의의 조합을 갖는 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부를 고려한다.
- [0171] [0079] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 하기 특성 중 적어도 하나(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9개 모두)를 갖는다:
 - [0172] a) 3×10^{-8} M 이하의 K_D 로 인간 AXL에 결합하는 특성;
 - [0173] b) 8×10^{-8} M 이하의 K_D 로 시노몰구스 AXL에 결합하는 특성;
 - [0174] c) 마우스 AXL에는 결합하지 않는 특성;
 - [0175] d) 인간 AXL의 Ig1 또는 Ig2 도메인에 결합하는 특성;
 - [0176] e) 인간 AXL에 대한 GAS6의 결합을 억제하는 특성;
 - [0177] f) GAS6의 존재 하에 시험관 내에서 H1299 세포의 증식을 억제하는 특성(예를 들어, 여기서 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 25 μ g/mL 이하의 농도이고 GAS6은 1 μ g/mL의 농도이다);
 - [0178] g) GAS6의 부재 하에 효능 활성을 나타내지 않는 특성(예를 들어, 25 μ g/mL 이하의 농도에서);
 - [0179] h) 외인성 AXL을 안정적으로 발현하는 MDA-MB-468-AXL 세포에서 포스파티딜세린-함유 리포솜의 GAS6-유도된 흡수를 억제하는 특성(예를 들어, 6 μ g/mL 이하의 농도에서); 및
 - [0180] i) 생체 내에서 종양 성장을 억제하는 특성(예를 들어, 10 mg/kg 또는 50 mg/kg의 농도에서).
- [0181] 특정 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 적어도 특성 a)-i)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 적어도 특성 a)-e) 및 g)-i)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 적어도 특성 a), b), e), g) 및 h)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 적어도 특성 a)-e), g) 및 h)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 적어도 특성 a)-e), g) 및 i)를 갖는다.
- [0182] [0080] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 생체내에서 종양 성장을 억제하고/하거나 종양 성장 퇴행을 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 암 환자에서 전이를 늦추거나 역전시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 암 환자의 생존을 연장시킬 수 있다. 상기 특성의 임의의 조합도 고려된다.
- [0183] [0081] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 항체 또는 이의 항원-결합부는 항체 또는 항체 부분과 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩티드와의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성된 더 큰 면역부착소 분자의 일부일 수 있다. 이러한 면역접착소 분자의 예는 사랑체 scFv 분자를 만들기 위한 스트랩타비딘 코어 영역의 용도(Kipriyanov et al., Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101 (1995)) 및 이가의 바이오티닐화된 scFv 분자를 만들기 위한 시스테인 잔기, 마커 펩티드 및 C-말단 폴리히스티딘 태그의 용도를 포함한다(Kipriyanov et al., Mol. Immunol. 31:1047-1058 (1994)). 다른 예는 항체로부터의 하나 이상의 CDR이 공유적으로 또는 비공유적으로 분자에 혼입되어 이를 관심 항원에 특이적으로 결합하는 면역접착소로 만드는 경우를 포함한다. 이러한 구현예에서, CDR(들)은 더 큰 폴리펩티드 사슬의 일부로서 혼입될 수 있거나, 또 다른 폴리펩티드 사슬에 공유적으로 연

결될 수 있거나, 비공유적으로 혼입될 수 있다.

- [0184] [0082] 또 다른 양태에서, 또 다른 폴리펩티드에 연결된 본 개시내용의 항-AXL 항체의 전부 또는 일부를 포함하는 융합 항체 또는면역접착소가 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, 항-AXL 항체의 가변 도메인만이 폴리펩티드에 연결된다. 특정 구현예에서, 항-AXL 항체의 VH 도메인이 제1 폴리펩티드에 연결되는 반면, 항-AXL 항체의 VL 도메인은 VH 및 VL 도메인은 서로 상호작용하여 항원-결합부를 형성할 수 있는 방식으로 제1 폴리펩티드와 회합되는 제2 폴리펩티드에 연결된다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 VH 및 VL 도메인이 서로 상호작용할 수 있도록 링커에 의해 VL 도메인으로부터 분리된다(예를 들어, 단일쇄 항체). 그런 다음 VH-링커-VL 항체는 관심 폴리펩티드에 연결된다. 또한, 2개(또는 그 초과)의 단일쇄 항체가 서로 연결된 융합 항체를 생성할 수 있다. 이것은 단일 폴리펩티드 사슬에 이가 또는 다가 항체를 생성하려는 경우 또는 이중-특이적 항체를 생성하려는 경우에 유용하다.
- [0185] [0083] 단일 사슬 항체(scFv)를 생성하기 위해, VH- 및 VL-인코딩 DNA 단편은 가요성 링커를 인코딩하는, 예를 들어 아미노산 서열(Gly₄ Ser)₃ (SEQ ID NO: 64)을 인코딩하는 또 다른 단편에 작동적으로 연결되어, VH 및 VL 서열은 유연한 링커에 의해 연결된 VL 및 VH 도메인과 함께 연속 단일쇄 단백질로서 발현될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Bird et al., *Science* 242:423-426(1988); Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883(1988); 및 McCafferty et al., *Nature* 348:552-554(1990)] 참조. 단일쇄 항체는 단일 VH 및 VL만 사용되는 경우 일가; 2개의 VH 및 VL이 사용되는 경우 이가; 또는 2개 초과의 VH 및 VL이 사용되는 경우 다가일 수 있다. 예를 들어, 인간 AXL 및 또 다른 분자에 특이적으로 결합하는 이중-특이적 또는 다가 항체가 생성될 수 있다.
- [0186] [0084] 다른 구현예에서, 다른 변형된 항체는 항-AXL 항체-인코딩 핵산 분자를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, "카과 바디"(Ill et al., *Protein Eng.* 10:949-57 (1997)), "미니바디"(Martin et al., *EMBO J.* 13:5303-9(1994)), "디아바디"(Holliger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448(1993)) 또는 "자누신(Janusin)"(Traunecker et al., *EMBO J.* 10:3655-3659(1991) and Traunecker et al. al., *Int. J. Cancer (Suppl.)* 7:51-52 (1992))은 명세서의 교시에 따라 표준 분자 생물학적 기술을 사용하여 제조할 수 있다.
- [0187] [0085] 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 유도체화되거나 또 다른 분자(예를 들어, 또 다른 펩티드 또는 단백질)에 연결될 수 있다. 일반적으로, 항체 또는 이의 부분은 AXL 결합이 유도체화 또는 표지화에 의해 불리하게 영향을 받지 않도록 유도체화된다. 따라서, 본 개시내용의 항체 및 항체 부분은 본원에 기재된 인간 항-AXL 항체의 온전한 형태 및 변형된 형태 둘 모두를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 본 개시내용의 항체 또는 항체 부분은 (화학적 커플링, 유전자 융합, 비공유 회합 등에 의해) 하나 이상의 다른 분자 실체, 예컨대 또 다른 항체(예를 들어, 이중-특이적 항체 또는 디아바디), 검출제, 약학적 제제, 및/또는 항체 또는 항체 부분과 또 다른 분자(예컨대, 스트렙타비딘 코어 영역 또는 폴리히스티딘 태그)의 회합을 매개할 수 있는 단백질 또는 펩티드에 기능적으로 연결될 수 있다.
- [0188] [0086] 유도체화된 항체의 한 유형은 2개 이상의 항체(예를 들어, 이중-특이적 항체를 생성하기 위해 동일한 유형 또는 상이한 유형)를 가교시켜 생성된다. 적합한 가교제는 적절한 스페이서에 의해 분리된 2개의 별개의 반응성 기를 갖는 이중작용성(예를 들어, m 말레이미도벤조일-N-하이드록시석신이미드 에스테르) 또는 동중작용성(예를 들어, 디석신이미드 수베레이트) 가교제를 포함한다. 이러한 링커는 예를 들어, Pierce Chemical Company, Rockford, IL로부터 입수가 가능하다.
- [0189] [0087] 항-AXL 항체 또는 항원-결합부는 또한 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 메틸 또는 에틸 기 또는 탄수화물 기와 같은 화학기로 유도체화될 수 있다. 이들 기는 항체의 생물학적 특성을 개선하는 데 유용할 수 있으며, 예를 들어 혈청 반감기를 증가시키는데 유용할 수 있다.
- [0190] [0088] 본 개시내용에 따른 항체 또는 항원-결합부가 또한 표지될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "표지" 또는 "표지된"은 항체 내 또 다른 분자의 혼입을 지칭한다. 일부 구현예에서, 표지는 검출가능한 마커, 예를 들어 방사성 표지된 아미노산의 혼입 또는 마킹된 아비딘에 의해 검출될 수 있는 비오틴닐 모이어티의 폴리펩티드에 대한 부착(예를 들어, 광학 또는 비색 방법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소 활성을 함유하는 스트렙타비딘)이다. 일부 구현예에서, 표지 또는 마커는 치료제, 예를 들어 약물 컨쥬게이트 또는 독소일 수 있다. 폴리펩티드 및 당단백질을 표지하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있고 사용될 수 있다. 폴리펩티드에 대한 표지의 예는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다: 방사성동위원소 또는 방사성핵종(예를 들어, ³H, ¹⁴C, ¹⁵N, ³⁵S, ⁹⁰Y, ⁹⁹Tc, ¹¹¹In, ¹²⁵I, ¹³¹I), 형광 표지(예를 들어, FITC, 로다민, 란탄족 인광체), 효소 표지(예를 들어, 호스래디쉬 퍼옥시다제, β-갈락토시다제, 루시페라제, 알칼리성 포스파타제), 화학발광 마커, 비

오터닐기, 2차 리포터에 의해 인식되는 소정의 폴리펩티드 에피토프(예를 들어, 류신 지퍼 쌍 서열, 2차 항체에 대한 결합 부위, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그), 가돌리늄 킬레이트와 같은 자성체, 백일해 독소와 같은 독소, 탁술, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티뎀 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 퓨로마이신 및 이들의 유사체 또는 동족체. 일부 구현예에서, 표지는 잠재적인 입체 장애를 감소시키기 위해 다양한 길이의 스페이서 암에 의해 부착된다.

[0191] [0089] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 항체는 중성 형태(양성 이온 형태 포함) 또는 양전하 또는 음전하 종으로서 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 반대이온과 복합되어 약학적으로 허용되는 염을 형성할 수 있다.

[0192] 항-AXL 항체 조성물

[0193] [0090] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부 중 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 초과를 포함하는 조합 요법(예를 들어, 조성물)을 제공한다. 특정 구현예에서, 조합 요법(예를 들어, 조성물)은 2개의 항-AXL 항체 또는 항원-결합부를 포함한다. 조합 요법은 예를 들어, 상기 항체 또는 항원-결합부를 사용하는 치료 방법 또는 상기 항체 또는 항원-결합부를 포함하는 약학적 조성물의 형태를 취할 수 있다.

[0194] [0091] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 제1 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부 및 제2 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 제1 및 제2 항체는:

[0195] - 각각 항체 23203_1 및 23203_2;

[0196] - 각각 항체 23203_1 및 23203_3;

[0197] - 각각 항체 23203_1 및 23203_4;

[0198] - 각각 항체 23203_1 및 22995;

[0199] - 각각 항체 23203_1 및 22883;

[0200] - 각각 항체 23203_2 및 23203_3;

[0201] - 각각 항체 23203_2 및 23203_4;

[0202] - 각각 항체 23203_2 및 22995;

[0203] - 각각 항체 23203_2 및 22883;

[0204] - 각각 항체 23203_3 및 23203_4;

[0205] - 각각 항체 23203_3 및 22995;

[0206] - 각각 항체 23203_3 및 22883;

[0207] - 각각 항체 23203_4 및 22995;

[0208] - 각각 항체 23203_4 및 22883; 또는

[0209] - 각각 항체 22995 및 22883이다.

[0210] [0092] 일부 구현예에서, 조성물은 상기 제1 및 제2 항체와 동일한 에피토프에 결합하거나 제1 및 제2 항체와 결합에 대해 경쟁하는 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다.

[0211] [0093] 일부 구현예에서, 조성물은 상기 제1 항체의 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부, 및 상기 제2 항체의 H-CDR1-3 및 L-CDR1-3 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다.

[0212] [0094] 일부 구현예에서, 조성물은 상기 제1 항체의 각각의 VH 및 VL 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 VH 및 VL을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부, 및 상기 제2 항체의 각각의 VH 및 VL 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 VH 및 VL을 포함하는 항체 또는 이의 항

원-결합부를 포함한다.

- [0213] [0095] 일부 구현예에서, 조성물은 상기 제1 항체의 VH 및 VL 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부, 및 상기 제2 항체의 VH 및 VL 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다.
- [0214] [0096] 일부 구현예에서, 조성물은 상기 제1 항체의 HC 및 LC 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부, 및 상기 제2 항체의 HC 및 LC 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다.
- [0215] [0097] 특정 구현예에서, 상기 조성물은
- [0216] a) 각각 SEQ ID NO: 5-7, 15-17, 25-27, 35-37, 45-47 또는 55-57의 아미노산 서열을 포함하는 H-CDR1-3을 포함하는 항체;
- [0217] b) VH가 SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43 또는 53의 아미노산 서열과 서열이 적어도 90% 동일한 항체;
- [0218] c) VH가 SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43 또는 53의 아미노산 서열을 포함하는 항체;
- [0219] d) HC가 SEQ ID NO: 3 및 61, 13 및 61, 23 및 61, 33 및 61, 43 및 61 또는 53 및 61의 아미노산 서열을 포함하는 항체;
- [0220] e) 각각 SEQ ID NO: 8-10, 18-20, 28-30, 38-40, 48-50 또는 58-60의 아미노산 서열을 포함하는 L-CDR1-3을 포함하는 항체;
- [0221] f) VL이 SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44 또는 54의 아미노산 서열과 서열이 적어도 90% 동일한 항체;
- [0222] g) VL이 SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44 또는 54의 아미노산 서열을 포함하는 항체;
- [0223] h) LC가 SEQ ID NO: 4 및 62, 14 및 62, 24 및 62, 34 및 62, 44 및 62 또는 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 항체;
- [0224] i) H-CDR1-3 및 L-CDR1-3이 각각 SEQ ID NO: 5-10, 15-20, 25-30, 35-40, 45-50 또는 55-60의 아미노산 서열을 포함하는 항체;
- [0225] j) 각각 SEQ ID NO: 3 및 4, 13 및 14, 23 및 24, 33 및 34, 43 및 44, 또는 53 및 54의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 VL을 포함하는 항체;
- [0226] k) 각각 SEQ ID NO: 3 및 4, 13 및 14, 23 및 24, 33 및 34, 43 및 44, 또는 53 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 VL을 포함하는 항체; 및
- [0227] l) 각각 3 및 61, 및 4 및 62; 및 13 및 61, 및 14 및 62; 23 및 61, 및 24 및 62; 33 및 61, 및 34 및 62; 43 및 61, 및 44 및 62; 또는 53 및 61, 및 54 및 62의 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 LC를 포함하는 항체로 구성된 군으로부터 선택되는 1개, 2개 또는 그 초과 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함할 수 있다.
- [0228] [0098] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 조성물은 생체내에서 종양 성장을 억제하고/하거나 종양 성장 퇴행을 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 조성물은 암 환자의 생존을 연장할 수 있다.
- [0229] [0099] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 항-AXL 항체 조성물을 생성하기 위한 방법으로서, 제1 항-AXL 항체 또는 항원-결합부 및 제2 항-AXL 항체 또는 항원-결합부를 제공하는 단계, 및 2개의 항체 또는 결합부를 혼합하는 단계를 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0230] *이중-특이적 결합 분자*
- [0231] [0100] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 항-AXL 항체의 결합 특이성 (예를 들어, 항원-결합부, 예컨대 6개의 CDR 또는 VH 및 VL을 포함함)을 갖는 이중-특이적 결합 분자를 제공한다. 일부 구현예에서, 이중-특이적 결합 분자는 추가로 또 다른 별개의 항-AXL 항체(예를 들어, 본원에 기재된 또 다른 항-AXL 항체) 또는 상이한 단백질, 예컨대 암 항원, 또는 활성이 암과 같은 질병 병태를 매개하는 또 다른 세포 표면 분자를 표적으로 하는 항체의 결합 특이성을 갖는다. 이러한 이중-특이적 결합 분자는 당업계에 공지되어 있고, 상이한 유형의 이중-특이적 결합 분자의 예가 본원의 다른 곳에서 제공된다.
- [0232] *핵산 분자 및 벡터*
- [0233] [0101] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 핵산 분자 및 서열

을 제공한다. 일부 구현예에서, 상이한 핵산 분자는 항-AXL 항체 또는 항원-결합부의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 인코딩한다. 다른 구현예에서, 동일한 핵산 분자는 항-AXL 항체 또는 항원-결합부의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 인코딩한다.

- [0234] [0102] 뉴클레오티드 서열에 대한 언급은 달리 명시되지 않는 한 그의 상보체를 포함한다. 따라서, 특정 서열을 갖는 핵산에 대한 언급은 이의 상보적 서열과 함께 이의 상보적 가닥을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서 언급된 용어 "폴리뉴클레오티드"는 길이가 적어도 10개 염기의 뉴클레오티드의 중합체 형태, 리보뉴클레오티드 또는 데옥시뉴클레오티드 또는 어느 유형의 뉴클레오티드의 변형된 형태를 의미한다. 이 용어에는 단일- 및 이중-가닥 형태가 포함된다.
- [0235] [0103] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부의, 중쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 경쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 이 둘 모두를 포함하는 핵산 분자를 제공한다.
- [0236] [0104] 본 개시내용은 또한 본원에 인용된 하나 이상의 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 SEQ ID NO: 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41, 42, 51 및 52로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열, 또는 SEQ ID NO: 3, 4, 13, 14, 23, 24, 33, 34, 43, 44, 53 및 54로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 뉴클레오티드 서열을 제공한다. 핵산 서열의 맥락에서 용어 "서열 동일성 퍼센트"는 최대 상응성을 위해 정렬될 때 동일한 2개의 서열 내의 잔기를 지칭한다. 서열 동일성 비교의 길이는 적어도 약 9개의 뉴클레오티드, 일반적으로 적어도 약 18개의 뉴클레오티드, 더욱 일반적으로 적어도 약 24개의 뉴클레오티드, 일반적으로 적어도 약 28개의 뉴클레오티드, 더욱 일반적으로 적어도 약 32개의 뉴클레오티드, 및 바람직하게는 적어도 약 36, 48 또는 그 초과 뉴클레오티드의 스트레치에 걸쳐 있을 수 있다. 뉴클레오티드 서열 동일성을 측정하기 위해 사용될 수 있는 당업계에서 공지된 다수의 상이한 알고리즘이 있다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드 서열은 Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group(GCG), Madison, Wisconsin의 프로그램인 FASTA, Gap 또는 Bestfit을 사용하여 비교할 수 있다. 예를 들어, 프로그램 FASTA2 및 FASTA3을 포함하는 FASTA는 쿼리 및 검색 서열 사이에서 가장 잘 중첩되는 영역의 정렬 및 퍼센트 서열 동일성을 제공한다(예를 들어, 본원에 참조로 통합된 문헌 [Pearson, *Methods Enzymol.* **183**:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* **132**:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.* **266**:227-258 (1996); and Pearson, *J. Mol. Biol.* 276:71-84 (1998)] 참조). 달리 지정하지 않는 한, 특정 프로그램 또는 알고리즘에 대한 기본 매개변수가 사용된다. 예를 들어, 핵산 서열 간의 서열 동일성 퍼센트는 본원에 참고로 포함된 기본 매개변수(6의 단어 크기 및 스코어링 매트릭스에 대한 NOPAM 인자)가 있는 FASTA를 사용하거나 GCG 버전 6.1에 제공된 바와 같은 기본 매개변수와 함께 Gap을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0237] [0105] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 SEQ ID NO: 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41, 42, 51 및 52로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 SEQ ID NO: 1 및 2, 11 및 12, 21 및 22, 31 및 32, 41 및 42, 또는 51 및 52의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0238] [0106] 임의의 상기 구현예에서, 핵산 분자가 단리될 수 있다. 본원에서 "단리된" 또는 "정제된"으로 지칭되는 핵산 분자는 (1) 공급 기원의 게놈 DNA 또는 세포 RNA의 핵산으로부터 분리되고/거나; (2) 자연에서 발생하지 않는 핵산이다.
- [0239] [0107] 추가 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 항원-결합부의 사슬 중 하나 또는 둘 모두를 발현하는데 적합한 벡터를 제공한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "벡터"는 연결된 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 의미한다. 일부 구현예에서, 벡터는 플라스미드, 즉 추가의 DNA 분절이 결합될 수 있는 DNA의 원형 이중 가닥 조각이다. 게다가, 특정 벡터는 작동가능하게 연결되는 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡터"(또는 간단히 "발현 벡터")로 지칭된다.
- [0240] [0108] 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부의 중쇄, 경쇄, 또는 중쇄와 경쇄 둘 모두를 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 구현예에서, 본 개시내용의 벡터는 본원에 기재된 핵산 분자를 포함한다. 본 개시내용은 융합 단백질, 변형된 항체, 항체 단편, 및 이의 프로브를 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 추가로 제공한다. 벡터는 발현 조절 서열을 추가로 포함할 수 있다.
- [0241] [0109] 본원에 사용된 용어 "발현 조절 서열"은 이들이 결합되는 코딩 서열의 발현 및 프로세싱을 수행하는데

필요한 폴리뉴클레오티드 서열을 의미한다. 발현 조절 서열은 적절한 전사 개시, 종결, 프로모터 및 인핸서 서열; 스플라이싱 및 폴리아데닐화 신호와 같은 효율적인 RNA 프로세싱 신호; 세포질 mRNA를 안정화시키는 서열; 번역 효율을 향상시키는 서열(즉, Kozak 컨센서스 서열); 단백질 안정성을 향상시키는 서열; 및 원하는 경우 단백질 분비를 향상시키는 서열을 포함한다. 이러한 조절 서열의 특성은 숙주 유기체에 따라 다르며; 원핵생물에서 이러한 조절 서열은 일반적으로 프로모터, 리보솜 결합 부위 및 전사 종결 서열을 포함하고; 진핵생물에서 일반적으로 이러한 조절 서열은 프로모터 및 전사 종결 서열을 포함한다. 용어 "조절 서열"은 최소한 발현 및 프로세싱에 필수적으로 존재해야 하는 모든 구성요소를 포함하도록 의도되며, 또한 존재하면 유리한 추가 구성요소, 예를 들어 리더 서열 및 융합 파트너 서열을 포함할 수 있다.

[0242] [0110] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 핵산 분자는 임의의 공급원으로부터의 중쇄 불변 영역을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열에 인-프레임 결합된 본원에 기재된 바와 같은 항-AXL 항체 또는 항원-결합부로부터의 VH 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 유사하게는, 본원에 기재된 바와 같은 핵산 분자는 임의의 공급원으로부터의 경쇄 불변 영역을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열에 인-프레임 결합된 본원에 기재된 바와 같은 항-AXL 항체 또는 항원-결합부로부터의 VL 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0243] [0111] 본 개시내용의 추가 양태에서, VH 및/또는 VL을 인코딩하는 핵산 분자는 전장 항체 유전자로 "전환"될 수 있다. 일부 구현예에서, VH 또는 VL 도메인을 인코딩하는 핵산 분자는 각각 중쇄 불변(CH) 또는 경쇄 불변(CL) 영역을 이미 인코딩하는 발현 벡터 내로 삽입됨으로써 전장 항체 유전자로 전환되어, VH 분절은 벡터 내의 CH 분절(들)에 작동 가능하게 연결되고/되거나 VL 분절은 벡터 내의 CL 분절에 작동 가능하게 연결된다. 또 다른 양태에서, VH 및/또는 VL 도메인을 인코딩하는 핵산 분자는 표준 분자 생물학적 기술을 사용하여 VH 및/또는 VL 도메인을 인코딩하는 핵산 분자를 CH 및/또는 CL 영역을 인코딩하는 핵산 분자에 연결, 예를 들어 결합시킴으로써 전장 항체 유전자로 전환된다. 그 다음 전장 중쇄 및/또는 경쇄를 인코딩하는 핵산 분자는 이들이 도입되고 항-AXL 항체가 단리되는 세포로부터 발현될 수 있다.

[0244] [0112] 일부 구현예에서, 프레임워크 영역(들)은 생성된 프레임워크 영역(들)이 상응하는 생식계 유전자의 아미노산 서열을 갖도록 변이된다. 돌연변이는 예를 들어, 항-AXL 항체의 반감기를 증가시키기 위해 프레임워크 영역 또는 불변 영역에서 만들어질 수 있다. 예를 들어, PCT 공개 WO 00/09560 참조. 프레임워크 영역 또는 불변 영역의 돌연변이는 또한 항체의 면역원성을 변경하고/하거나 또 다른 분자에 대한 공유 또는 비공유 결합을 위한 부위를 제공하기 위해 만들어질 수 있다. 본 개시내용에 따르면, 항체는 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역 중 임의의 하나 이상에서 또는 불변 영역에서 돌연변이를 가질 수 있다.

[0245] *숙주 세포 및 항체 및 항체 조성물 생성 방법*

[0246] [0113] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 항체 조성물 및 항체 및 이의 항원-결합부를 생성하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 항-AXL 항체 또는 항원-결합부를 생성하기 위한 방법으로서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부의, 중쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 경쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 숙주 세포(예를 들어, 재조합 숙주 세포)를 제공하는 단계; 항체 또는 항원-결합부의 발현에 적합한 조건 하에 상기 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 생성된 항체 또는 항원-결합부를 단리시키는 단계를 포함하는, 방법에 관한 것이다. 이러한 재조합 숙주 세포에서 이러한 발현에 의해 생성된 항체 또는 항원-결합부는 본원에서 "재조합" 항체 또는 항원-결합부로 언급된다. 본 개시내용은 또한 이러한 숙주 세포의 자손 세포, 및 이에 의해 생산된 항체 또는 항원-결합부를 제공한다.

[0247] [0114] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "재조합 숙주 세포"(또는 간단히 "숙주 세포")는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포를 의미한다. 정의에 따르면, 재조합 숙주 세포는 자연에서 발생하지 않는다. 본 개시내용은 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 벡터를 포함할 수 있는 숙주 세포를 제공한다. 본 개시내용은 또한, 예를 들어, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부의, 중쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열, 경쇄 또는 이의 항원-결합부를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 이 둘 모두를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. "재조합 숙주 세포" 및 "숙주 세포"는 특정 대상 세포 뿐만 아니라 그러한 세포의 자손을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 후속 세대에서 특정 변형이 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 실제로 모세포와 동일하지 않을 수 있지만, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "숙주 세포"의 범위 내에 여전히 포함된다.

[0248] [0115] 항-AXL 항체 및 이의 항원-결합부를 인코딩하는 핵산 분자 및 이러한 핵산 분자를 포함하는 벡터는 적

합한 포유동물, 식물, 박테리아 또는 효모 숙주 세포의 형질감염에 사용될 수 있다. 형질전환은 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 임의의 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 포유동물 세포에 이중 폴리뉴클레오티드를 도입하기 위한 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며, 텍스트란-매개된 형질감염, 인산칼슘 침전, 폴리브렌-매개 형질감염, 원형질체 융합, 전기천공, 리포솜에 폴리뉴클레오티드(들)의 캡슐화, 및 DNA의 핵으로의 직접 미세주사를 포함한다. 또한, 핵산 분자는 바이러스 벡터에 의해 포유동물 세포 내로 도입될 수 있다.

[0249] [0116] 상이한 세포주에 의해 또는 형질전환 동물에서 발현된 항체는 서로 상이한 글리코실화 패턴을 가질 가능성이 있다. 그러나, 본원에 제공된 핵산 분자에 의해 인코딩되거나 본원에 제공된 아미노산 서열을 포함하는 모든 항체는, 항체의 글리코실화 상태에 관계없이 및 더욱 일반적으로는, 번역후 변형(들)의 존재 또는 부재와 관계없이 본 개시내용의 일부이다.

[0250] *약학적 조성물*

[0251] [0117] 본 개시내용의 또 다른 양태는 활성 성분으로서 (또는 유일한 활성 성분으로서) 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자를 포함하는 약학적 조성물이다. 약학적 조성물은 약학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 암, 예를 들어 본원에 기재된 암의 개선, 예방 및/또는 치료를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 암은 피부, 폐, 장, 결장, 난소, 뇌, 전립선, 신장, 연조직, 조혈계, 두경부, 간, 뼈, 방광, 유방, 위, 자궁, 자궁 경부 및 췌장과 같은 조직에 있다. 특정 구현예에서, 암은 흑색종, 두경부암, 교모세포종, 갑상선암, 비소세포폐암, 유방암(예를 들어, 삼중음성 유방암), 췌장암, 난소암, 자궁경부암, 난관암종, 원발성 복막암종, 자궁내막암, 요로상피암종, 신장세포암종, 결장직장암, 직장암, 전립선암, 중피종, 편평세포암종, 육종, 만성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 소림프구성 백혈병, 골수이형성 증후군 또는 호지킨 림프종이다.

[0252] [0118] 본 개시내용의 약학적 조성물은 본 개시내용의 하나 이상의 항-AXL 항체, 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자, 예를 들어, 하나 또는 2개의 항-AXL 항체, 항원-결합부 또는 이중-특이적 결합 분자를 포함할 것이다. 일부 구현예에서, 조성물은 본 개시내용의 단일 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다. 또 다른 양태에서, 조성물은 본 개시내용의 2개의 별개의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다.

[0253] [0119] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 본 개시내용의 적어도 하나의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 예를 들어, 하나의 항-AXL 항체 또는 부분, 및 하나 이상의 관련 세포 표면 수용체, 예를 들어 하나 이상의 암-관련 수용체를 표적으로 하는 하나 이상의 추가적인 항체를 포함할 수 있다.

[0254] [0120] 일반적으로, 본 개시내용의 항체, 항원-결합부 및 이중-특이적 결합 분자는 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같이 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제(들)와 함께 제형으로서 투여되기에 적합하다.

[0255] [0121] 용어 "부형제"는 본 개시내용의 화합물(들) 이외의 임의의 성분을 설명하기 위해 본원에서 사용된다. 부형제(들)의 선택은 특정 투여 방식, 용해도 및 안정성에 대한 부형제의 효과 및 투여 형태의 특성과 같은 요인에 크게 좌우될 것이다. 본원에 사용된 바와 같은 "약학적으로 허용되는 부형제"는 생리학적으로 양립가능한 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균제, 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 약학적으로 허용되는 부형제의 일부 예는 물, 식염수, 인산염 완충 식염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등, 뿐만 아니라 이들의 조합물이다. 많은 경우에, 조성물 중의 등장성 제제, 예를 들어 당, 다가 알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 약학적으로 허용되는 물질의 추가 예로는 항체의 저장 수면 또는 효과를 향상시키는, 습윤제 또는 소량의 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, 보존제 또는 완충제가 있다.

[0256] [0122] 본 개시내용의 약학적 조성물 및 이의 제조 방법은 당업자에게 용이하게 명백할 것이다. 이러한 조성물 및 이의 제조 방법은 예를 들어, 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 19th Edition(Mack Publishing Company, 1995)]에서 찾을 수 있다. 약학적 조성물은 바람직하게는 GMP(우수 제조 관행) 조건 하에 제조된다.

[0257] [0123] 본 개시내용의 약학적 조성물은 단일 단위 투여량으로서 또는 복수의 단위 투여량으로서 대량으로 제조, 포장 또는 판매될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 "단위 용량"은 소정량의 활성 성분을 포함하는 약학적 조성물의 별개의 양이다. 활성 성분의 양은 일반적으로 대상체에게 투여될 활성 성분의 투여량 또는 이러한 투여량의 편리한 분획, 예를 들어 이러한 투여량의 1/2 또는 1/3과 동일하다.

[0258] [0124] 비경구 투여에 적합한 약학적 조성물의 제형은 일반적으로 멸균수 또는 멸균 등장 식염수와 같은 약학적으로 허용되는 담체와 조합된 활성 성분을 포함한다. 이러한 제형은 일시 투여 또는 연속 투여에 적합한 형태

로 제조, 포장 또는 판매될 수 있다. 주사 가능한 제형은 앰플 또는 보존제를 함유하는 다중 용량 용기와 같은 단위 투여 형태로 제조, 포장 또는 판매될 수 있다. 비경구 투여용 제형은 현탁액, 용액, 오일 또는 수성 비히클 중의 에멀전, 페이스트 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이러한 제형은 현탁제, 안정화제 또는 분산제를 포함하나 이에 제한되지 않는 하나 이상의 추가 성분을 추가로 포함할 수 있다. 비경구 투여용 제형의 일부 구현예에서, 활성 성분은 재구성된 조성물의 비경구 투여 전에 적합한 비히클(예를 들어, 멸균의 발열원 비함유 물)로 재구성하기 위한 건조(즉, 분말 또는 과립) 형태로 제공된다. 비경구 제형은 또한 부형제, 예컨대 염, 탄수화물 및 완충제(바람직하게는 pH 3 내지 9)를 함유할 수 있는 수용액을 포함하지만, 일부 적용의 경우 멸균 비수성 용액으로서 또는 무균의 발열원 비함유 물과 같은 적절한 비히클과 함께 사용되는 건조된 형태로서 더욱 적합하게 제형화될 수 있다. 예시적인 비경구 투여 형태는 멸균 수용액 중의 용액 또는 현탁액, 예를 들어 수성 프로필렌 글리콜 또는 텍스트로스 용액을 포함한다. 이러한 투여 형태는 원하는 경우 적절하게 완충될 수 있다. 유용한 기타 비경구 투여 가능한 제형은 미세겔질 형태 또는 리포솜 제조물 중의 활성 성분을 포함하는 제형을 포함한다.

[0259] 본 개시내용의 항체 및 조성물의 치료적 용도

[0260] [0125] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체 및 이의 항원-결합부, 항-AXL 항체 조성물 및 이중-특이적 결합 분자는 암, 예를 들어 AXL-양성 암의 치료에 사용하기 위한 것이다. 암은 피부, 폐, 장, 결장, 난소, 뇌, 전립선, 신장, 연조직, 조혈계, 두경부, 간, 뼈, 방광, 유방, 위, 자궁, 자궁 경부 및 췌장과 같은 하나 이상의 조직에 있을 수 있다.

[0261] [0126] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체, 항원-결합부, 조성물 및 이중-특이적 결합 분자에 의해 치료되는 암은 예를 들어, 흑색종(예를 들어, 진행성 또는 전이성 흑색종), 피부 기저 세포암, 교모세포종, 신경아교종, 교육종, 성상세포종, 수막종, 신경모세포종, 부신피질암, 두경부 편평세포암, 구강암, 침샘암, 비인두암, 유방암, 폐암(예를 들어, 비소세포폐암(NSCLC), 비소세포폐암 및 평편세포폐암), 식도암, 위식도접합암, 위암, 위장관암, 원발성 복막암, 간암, 간세포암종, 담도암, 결장암, 직장암, 결장직장암종, 난소암, 나팔관암, 방광암, 상부요로암, 요로상피암, 신세포암종, 신장암, 비뇨생식기암, 자궁경부암, 전립선암, 섬유육종, 지방육종, 횡문근육종, 골육종, 조직구종, 췌장암, 자궁내막암, 맹장암, 진행성 메르켈세포암, 다발성 골수종, 육종, 용모막암종, 적혈구백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 급성 단핵구 백혈병, 급성 전골수세포 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프모구 백혈병, 비만 세포 백혈병, 소림프구 림프종, 버킷 림프종, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 광범위 B형 대세포 림프종, 여포 림프종, 단핵구 림프종, HTLV-관련 T 세포 백혈병/림프종, 중피종 및 고형 종양을 포함할 수 있다. 암은 예를 들어, 초기, 중기, 말기, 국소 진행성 또는 전이성 단계에 있을 수 있고, 다른 치료제(예를 들어, 다른 항-AXL 치료제)에 대해 재발되거나 불응성일 수 있거나 이용가능한 표준 요법이 없을 수 있다.

[0262] [0127] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 항-AXL 항체, 항원-결합부, 조성물 및/또는 이중-특이적 결합 분자에 의해 치료되는 암은 예를 들어, 흑색종, 두경부암, 교모세포종, 갑상선암, 비소세포폐암, 유방암(예를 들어, 삼중음성 유방암), 췌장암, 난소암, 자궁경부암, 나팔관암종, 원발성 복막암종, 자궁내막암, 요로상피암종, 신세포암종, 결장직장암, 전립선암, 중피종, 편평 세포 암종, 육종, 만성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 소림프구성 백혈병, 골수이형성 증후군 및/또는 호지킨 림프종을 포함할 수 있다.

[0263] [0128] "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 생물학적 장애 및/또는 이의 수반되는 증상 중 적어도 하나를 완화 또는 폐지하는 방법을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 질병, 장애 또는 질환을 "경감"시키는 것은 질병, 장애 또는 질환의 증상의 증정도 및/또는 발생 빈도를 감소시키는 것을 의미한다. 또한, 본원에서 "치료"에 대한 언급은 치유적, 완화적 및 예방적 치료에 대한 언급을 포함한다.

[0264] [0129] "치료학적 유효량"은 치료되는 장애의 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화시킬 투여되는 치료제의 양을 나타낸다. 항암 치료제의 치료학적 유효량은 예를 들어, 종양 성장 지연, 종양 수축, 생존 증가, 암세포 제거, 질병 진행 지연 또는 감소, 전이 역전 또는 의료 전문가가 원하는 기타 임상 종점을 발생시킬 수 있다.

[0265] [0130] 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 단독으로 또는 하나 이상의 다른 약물 또는 항체와 조합하여 (또는 이들의 임의의 조합으로서) 투여될 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 약학적 조성물, 방법 및 용도는 또한 하기에 상세히 기술된 바와 같이 다른 활성제와의 조합(공동 투여)의 구현예를 포함한다.

[0266] [0131] 본원에 사용된 바와 같은 하나 이상의 다른 치료제와의 본 개시내용의 항-AXL 항체 및 이의 항원-결합

부, 항체 조성물 및 이중-특이적 결합 분자에 대한 용어 "공동-투여", "공동-투여된" 및 "와 조합하여"는 하기를 의미하는 것으로 의도되고, 하기를 언급하고, 하기를 포함한다:

- [0267] a) 치료를 필요로 하는 환자에게 구성요소를 실질적으로 동시에 방출시키는 단일 투여 형태로 상기 구성요소가 함께 제형화되는 경우, 본 개시내용의 항체/항원-결합부/항체 조성물/이중-특이적 결합 분자 및 치료제(들)의 이러한 조합물의 상기 환자에서의 동시 투여,
- [0268] b) 치료를 필요로 하는 환자에게 구성요소가 실질적으로 동시에 방출될 때 상기 구성요소가 상기 환자에 의해 실질적으로 동시에 취해지는 별도의 투여 형태로 서로 분리되어 제형화되는 경우, 본 개시내용의 항체/항원-결합부/항체 조성물/이중-특이적 결합 분자 및 치료제(들)의 이러한 조합물의 상기 환자에서의 실질적으로 동시 투여,
- [0269] c) 치료를 필요로 하는 환자에게 구성요소가 실질적으로 상이한 시간에 방출될 때 상기 구성요소가 각 투여 사이에 충분한 간격을 두고 상기 환자에 의해 연속된 시간에 취해지는 별도의 투여 형태로 서로 분리되어 제형화되는 경우, 본 개시내용의 항체/항원-결합부/항체 조성물/이중-특이적 결합 분자 및 치료제(들)의 이러한 조합물의 상기 환자에서의 순차적 투여; 및
- [0270] d) 치료를 필요로 하는 환자에게 구성요소가 동시에 및/또는 상이한 시간에 동시에, 연속적으로 및/또는 중복되어 방출될 때 제어된 방식으로 상기 구성요소를 방출하는 단일 투여 형태로 함께 제형화되는 경우, 본 개시내용의 항체/항원-결합부/항체 조성물/이중-특이적 결합 분자 및 치료제(들)의 이러한 조합물의 상기 환자에서의 순차적 투여로서, 여기서 각 부분은 동일하거나 상이한 경로에 의해 투여될 수 있는, 투여.
- [0271] [0132] 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 추가의 치료학적 치료 없이, 즉, 단독 요법(단일요법)으로서 투여될 수 있다. 대안적으로, 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자를 사용한 치료는 적어도 하나의 추가의 치료학적 치료(조합 요법), 예를 들어 면역자극제, 항암제(예를 들어, 화학요법제, 항신생물제, 항혈관신생제 또는 티로신 키나제 억제제) 또는 백신(예를 들어, 종양 백신)을 포함할 수 있다.
- [0272] [0133] 일부 양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 암 치료를 위한 또 다른 의약/약물과 공동-투여되거나 제형화될 수 있다. 추가적인 치료학적 치료는 예를 들어, 면역자극제, 백신, 화학요법제, 항신생물제, 항혈관신생제, 티로신 키나제 억제제 및/또는 방사선 요법을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 추가의 치료학적 치료는 상이한 항암 항체를 포함할 수 있다.
- [0273] [0134] 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자 및 적어도 하나의 다른 제제(예를 들어, 화학요법제, 항신생물제 또는 항혈관신생제)를 포함하는 약학적 물품은 암 치료에서 동시, 개별 또는 연속 투여를 위한 조합 치료로 사용될 수 있다. 다른 제제는 문제의 특정 암의 치료에 적합한 임의의 제제, 예를 들어 알킬화제, 예를 들어 시스플라틴, 카르보플라틴 및/또는 옥살리플라틴과 같은 백금 유도제; 식물 알코이드, 예를 들어 파클리탁셀, 도세탁셀 및/또는 이리노테칸; 항종양 항생제, 예를 들어 독소루비신(아드리아마이신), 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신 미톡산트론, 닥티노마이신, 블레오마이신, 약티노마이신, 루테오마이신 및/또는 미토마이신; 토포테칸과 같은 토포아이소머라제 억제제; 항대사물질, 예를 들어 플루오로우라실 및/또는 기타 플루오로피리미딘; FOLFOX; 오시머티닙; 사이클로포스파미드; 안트라사이클린; 다카르바진; 젠시타빈; 또는 이들의 임의의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 제제일 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 다른 제제에 대한 반응성을 재설정한다.
- [0274] [0135] 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 또한 백신, 사이토킨, 효소 억제제, 면역자극제 화합물 및 T 세포 요법과 같은 다른 항암 요법과 조합하여 사용될 수 있다. 백신의 경우, 예를 들어 치료되는 암에 관련된 하나 이상의 항원을 함유하는 단백질, 펩티드 또는 DNA 백신, 또는 항원과 함께 수지상 세포를 포함하는 백신일 수 있다. 적합한 사이토킨은 예를 들어, IL-2, IFN-감마 및 GM-CSF를 포함한다. 항암 활성을 갖는 효소 억제제 유형의 예는 인돌아민-2,3-디옥시게나제(IDO) 억제제, 예를 들어 1-메틸-D-트립토판(1-D-MT)이다. 또한 환자 자신의 T 세포를 확장하거나 조작하여 종양을 인식하고 공격하는 것을 포함하는 다양한 면역요법 기술을 지칭하는 임양 T 세포 요법이 고려된다.
- [0275] [0136] 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 티로신 키나제 억제제와 관련된 부가 요법에 사용될 수 있는 것으로 또한 고려된다. 이들은 수용체의 세포내 티로신 키나제 도메인과 상호작용하고, 예를 들어 세포내 Mg-ATP 결합 부위에 대해 경쟁함으로써 리간드-유도된 수용체

인산화를 억제하는 합성의 주로 키나졸린 유래된 저분자량 분자이다. 일부 구현예에서, 티로신 키나제 억제제는 AXL 억제제이다.

[0276] [0137] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 비제한적으로, A2AR, A1AR, A2BR, A3AR, ADA, ALP, BTLA, B7-H3, B7-H4, CTLA-4, CD27, CD28, CD39, CD40, CD47, CD55, CD73, CD122, CD137, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, CTLA-3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1 및/또는 CEACAM-5), EGFR, FLT3, FLT3L, GAL9, GTR, HVEM, LAG-3, LILRB1, LY108, LAIR1, ICOS, IDO, KIR, LAIR1, MET, NKG2A, PAP, PD-1/PD-L1/PD-L2, OX40, STING, TIGIT, TIM-3, TGF β , TLR, TNFR2, VEGF, VEGFR, VISTA, LILRB2, CMTM6 및/또는 2B4의 발현 또는 활성을 조절하는 제제를 포함하는 면역 시스템 활성화를 매개하는 의약/약물과 조합되어 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 제제는 소분자 억제제이다. 특정 구현예에서, 제제는 상기 분자 중 하나에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 본 개시내용의 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 사이토킨(예를 들어, IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 또는 IL-21), EGFR 억제제, VEGF 억제제 등과 조합되어 사용될 수 있음이 또한 고려된다.

[0277] [0138] 본 개시내용은 또한 키메라 항원 수용체의 제조에서 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 항원-결합부의 서열(예를 들어, 6개의 CDR 또는 VH 및 VL 서열)의 용도를 고려하며, 이는 CAR-T 기술에 사용하기 위한 것일 수 있다.

[0278] [0139] 본 개시내용의 항체 및 이의 항원-결합부, 항체 조성물 및 이중-특이적 결합 분자는 본원에 기재된 바와 같은 치료 방법에 사용될 수 있고/거나 본원에 기재된 바와 같은 치료에 사용하기 위한 것일 수 있으며/거나 본원에 기재된 바와 같은 치료를 위한 의약의 제조에 사용하기 위한 것일 수 있는 것으로 이해된다.

[0279] 투여량 및 투여 경로

[0280] [0140] 본 개시내용의 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 문제의 질환의 치료를 위해 유효량으로 투여될 수 있으며, 즉 요망되는 결과를 달성하는데 필요한 투여량 및 기간 동안 투여될 수 있다. 치료적 유효량은 치료되는 특정 질병, 환자의 연령, 성별 및 체중, 및 항체가 단독 치료로 투여되는지 또는 하나 이상의 추가적인 항암 치료제와 함께 투여되는지의 여부와 같은 요인에 따라 달라질 수 있다.

[0281] [0141] 투여 요법은 최적의 원하는 반응을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 단일 일시 투여가 투여될 수 있거나, 시간 경과에 따라 여러 분할 용량이 투여될 수 있거나, 치료 상황의 긴급성에 따라 지시된 바와 같이 용량이 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다. 투여의 용이성과 투여량의 균일성을 위해 비경구 조성물을 투여 단위 형태로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여량 단위 형태는 치료될 환자/대상체에 대한 단일 투여량으로 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하고; 각 단위는 필요한 약학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 소정량의 활성 화합물을 함유한다. 본 개시내용의 투여 단위 형태에 대한 명세서는 일반적으로 (a) 치료제의 고유한 특성 및 달성될 특정 치료 또는 예방 효과, 및 (b) 개체에서 민감성의 치료를 위한 활성 화합물을 화합하는 당업계의 고유한 제한에 의해 지시되고 이에 직접적으로 의존한다.

[0282] [0142] 따라서, 당업자는 본원에 제공된 개시내용에 기초하여 용량 및 투여 요법이 치료 분야에 널리 공지된 방법에 따라 조정된다는 것을 인식할 것이다. 즉, 최대 허용 용량이 쉽게 설정될 수 있고, 환자에게 검출 가능한 치료 이점을 제공하기 위해 각 제제를 투여하기 위한 시간적 요구 사항과 같이, 환자에게 검출 가능한 치료 이점을 제공하는 유효량도 결정될 수 있다. 따라서, 특정 용량 및 투여 요법이 본원에 예시되어 있지만, 이들 예는 본 개시내용을 실시함에 있어서 환자에게 제공될 수 있는 용량 및 투여 요법을 결코 제한하지 않는다.

[0283] [0143] 투여량 값은 경감될 질환의 유형 및 중증도에 따라 변할 수 있고, 단일 또는 다중 투여량을 포함할 수 있음을 주목해야 한다. 임의의 특정 대상체에 있어서, 특정 투여 요법은 개체의 필요 및 조성물을 투여하거나 조성물의 투여를 감독하는 사람의 전문적인 판단에 따라 시간 경과에 따라 조정되어야 하며, 본원에 제시된 투여량 범위는 단지 예시적인 것이며, 구현된 구성의 범위 또는 실행을 제한하기 위한 것은 아님을 추가로 이해해야 한다. 또한, 본 개시내용의 조성물을 사용한 투여 요법은 질병의 유형, 환자의 연령, 체중, 성별, 의학적 상태, 상태의 중증도, 투여 경로 및 사용된 특정 항체를 비롯한 다양한 인자에 기초할 수 있다. 따라서 투여 요법은 매우 다양할 수 있지만 표준 방법을 사용하여 관례적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 용량은 독성 효과 및/또는 실험실 값과 같은 임상 효과를 포함할 수 있는 약동학적 또는 약력학적 매개변수를 기반으로 조정될 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 당업자에 의해 결정된 바와 같은 환자내 용량-증가를 포함한다. 적절한 투여량 및 요법을 결정하는 것은 관련 기술분야에 잘 알려져 있고 일단 본원에 개시된 교시가 제공되면 당업자에 의해 포

함되는 것으로 이해될 것이다.

[0284] [0144] 종양 요법에 대한 유효량은 환자의 질병 진행을 안정화시키고/거나 증상을 개선하고, 바람직하게는 예를 들어, 종양 크기 감소에 의해 질병 진행을 역전시키는 능력에 의해 측정될 수 있다. 암을 억제하는 본 개시내용의 항체, 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자의 능력은 예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같이 시험관내 검정에서 및 인간 종양에서의 효능을 예측하는 적합한 동물 모델에 의해 평가될 수 있다. 적절한 투여 요법은 각각의 특정 상황에서 최적의 치료 반응을 제공하기 위해 선택될 것이며, 예를 들어, 단일의 일시 투여 또는 연속 주입으로 투여되고, 각 경우의 긴급성에 의해 지시된 대로 투여량의 조정이 가능하다.

[0285] [0145] 본 개시내용의 항체 또는 이의 항원-결합부, 항체 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자는 당업계에서 허용되는 펩티드, 단백질 또는 항체를 투여하기 위한 임의의 방법에 의해 투여될 수 있고, 전형적으로 비경구 투여에 적합하다. 본원에 사용된 바와 같이 "비경구 투여"는 대상체의 조직의 물리적 파열 및 조직의 파열을 통한 투여를 특징으로 하는 임의의 투여 경로를 포함하며, 이에 따라 일반적으로 혈류, 근육 또는 내부 장기 내로의 직접 투여를 발생시킨다. 따라서, 비경구 투여는 주사에 의한 투여, 외과적 절개를 통한 적용, 조직-관통 비외과적 상처를 통한 적용, 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특히, 비경구 투여는 피하, 복강내, 근육내, 흉골내, 수조내, 정맥내, 동맥내, 척추강내, 요도내, 두개내, 종양내 및 활막내 주사 또는 주입을 포함하지만 이에 제한되지 않는 것으로 고려된다. 특정 구현예는 정맥내 및 피하 경로를 포함한다.

[0286] 진단 용도 및 조성물

[0287] [0146] 본 개시내용의 항체 및 항원-결합부는 또한 진단 과정(예를 들어, 시험관내, 생체외)에서 유용하다. 예를 들어, 항체 및 항원-결합부는 환자로부터의 샘플(예를 들어, 조직 샘플, 또는 체액 샘플, 예컨대 염증성 삼출물, 혈액, 혈청, 장액, 타액 또는 소변)에서 AXL의 수준을 검출 및/또는 측정하는 데 사용될 수 있다. 적합한 검출 및 측정 방법은 유동 세포측정법, 효소-결합 면역흡착 검정법(ELISA), 화학발광 검정법, 방사선면역검정법 및 면역조직화학 같은 면역학적 방법을 포함한다. 본 개시내용은 본원에 기재된 항체 및 항원-결합부를 포함하는 키트(예를 들어, 진단 키트)를 추가로 포함한다.

[0288] 제조 물품 및 키트

[0289] [0147] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 항-AXL 항체 또는 이의 항원-결합부, 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자, 임의적으로 추가의 생물학적 활성 분자(예를 들어, 또 다른 치료제)를 포함하는 약학적 조성물을 포함하는 하나 이상의 용기(예를 들어, 일회용 또는 다회용 용기) 및 사용 설명서를 포함하는 제조품, 예를 들어 키트를 제공한다. 항체 또는 항원-결합부, 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자, 및 선택적인 추가의 생물학적 활성 분자는 비반응성 유리 또는 플라스틱으로 제조된 바이알 또는 앰플과 같은 적절한 포장에 별도로 포장될 수 있다. 특정 구현예에서, 바이알 또는 앰플은 항체 또는 항원-결합부, 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자 및 임의로 생물학적 활성 분자의 농축된 스톱(예를 들어, 2x, 5x, 10x 이상)을 보유한다. 특정 구현예에서, 키트와 같은 제조 물품은 항체 또는 항원-결합부, 조성물 또는 이중-특이적 결합 분자 및/또는 생물학적 활성 분자(예를 들어, 주사기 및 바늘); 및/또는 적절한 희석제(예를 들어, 멸균수 및 생리 식염수)를 투여하기 위한 의료 장치를 포함한다. 본 개시내용은 또한 상기 물품을 제조하는 방법을 포함한다.

[0290] [0148] 본원에서 달리 정의되지 않는 한, 본 개시내용과 관련하여 사용되는 과학 및 기술 용어는 당해업자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 개시내용의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 예시적인 방법 및 재료가 아래에 기재된다. 상충되는 경우, 정의를 포함한 본 명세서가 기준이 될 것이다.

[0291] [0149] 일반적으로, 본원에 기재된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전학, 분석 화학, 합성 유기 화학, 의약 및 제약 화학, 및 단백질 및 핵산 화학 및 혼성화와 관련하여 사용되는 명명법 및 기술은 당업계에 잘 알려져 있고 당업계에 일반적으로 사용되는 것들이 있다. 효소 반응 및 정제 기술은 당업계에서 일반적으로 달성되거나 본원에 기재된 바와 같이 제조자의 사양에 따라 수행된다.

[0292] [0150] 또한, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함하고 복수 용어는 단수를 포함해야 한다. 본 명세서 및 구현예 전반에 걸쳐, "갖는다" 및 "포함하다"라는 단어, 또는 "갖는다", "갖는", "포함하다" 또는 "포함하는"과 같은 변형은 언급된 정수 또는 정수의 그룹의 포함을 의미하는 것으로 이해될 것이며, 임의의 다른 정수나 정수 그룹이 제외되지 않는다.

[0293] [0151] 본원에 언급된 모든 간행물 및 기타 참고문헌은 그 전체가 참고로 포함된다. 많은 문헌이 본원에 인용되었지만, 이 인용은 이러한 문헌 중 어느 것도 해당 기술 분야의 일반적인 일반 지식의 일부를 형성한다는 인

정을 구성하지 않는다.

[0294] [0152] 본 개시내용을 보다 잘 이해할 수 있도록, 하기 실시예가 제시된다. 이들 예는 단지 예시를 위한 것이며, 어떠한 방식으로든 본 개시내용의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0295] 실시예

[0296] 실시예 1: 래트 B 세포로부터 항-AXL 항체의 클로닝

[0297] 재료 및 방법

[0298] [0153] 인간 AXL에 대한 항체는 전체 인간 아이디오타입을 갖는 항체를 생성하는 Ligand Pharmaceuticals Inc.의 유전자원이 래트 계통인 OmniRat[®] 래트(Osborn et al., *J Immunol.* **190(4)**:1481-90 (2013))로부터 유래된 항체 레퍼토리로부터 단리되었다. 단일 세포 분류된 항체-분비 B 세포(ASC)로부터의 래트-유래된 항체 유전자의 클로닝은 Symplex[™] 항체 발견 기술에 의해 수행되었다(Meijer et al., *J Mol Biol* **358(3)**:764-72 (2006)).

[0299] [0154] IgG₁-LALA 포맷(하기 참조)의 전체 인간 면역글로불린을 인코딩하는 항체 레퍼토리 작제물을 HEK293 세포에 형질감염시켰다. 세포 상청액은 고처리량 포맷의 유세포 분석을 사용하여 CHO 세포의 표면에 발현된 AXL에 대한 결합에 대해 스크리닝하였다. AXL 반응성 클론을 DNA 시퀀싱으로 분석하고 항체-인코딩 DNA 서열을 추출하였다. 선택된 항체 클론을 하기에 기술된 바와 같이 발현시키고 기능적으로 시험하였다.

[0300] [0155] 항체-인코딩 cDNA 단편의 Symplex[™] 클로닝에서 축퇴 프라이머의 사용에 의해 도입된 중쇄 및 경쇄의 아미노 말단의 미스센스 돌연변이는 생식계열 서열로 다시 수정되었다. 표 1은 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 및 22883으로 명명된 생식계열 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 뉴클레오티드 서열을 보여준다. 수정 과정에는 생식선에 대한 아미노 말단 서열 수정과 코돈 사용 최적화가 포함되었다. 인간 생식계열 서열에 매칭하기 위한 표적은 중쇄 및 경쇄 가변 영역에 대한 블라스트 상동성 검색에 의해 확인되었다.

[0301] [0156] 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3 및 23203_4는 생식계열IGHV4-34 서열과 관련된 잠재적 위험을 완화하도록 조작된 단일 모 중쇄 가변 도메인의 4가지 변이체(즉, HFR1의 AVY 모티프 및 HCDR2의 Nglyc 부위)를 나타낸다.

[0302] [0157] 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 및 22883의 가변 도메인, 불변 영역 및 상보성 결정 영역(CDR)의 단백질 서열을 각각 표 2, 표 3 및 표 4에 나타내었다.

[0303] 결과

[0304] [0158] 표 1은 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 및 22883의 가변 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0305] 표 1: 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 및 22883의 가변 도메인 뉴클레오티드 서열

Ab	서열 (5'에서 3')
23203_1 VH SEQ ID NO: 1	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAAGCGAGACACTGTCTCTGACCTGTACCGTGTCTGGCGGCTCTTTTCTGGATATTAAGTGGAGCTGGATCAGACAGCCACCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGCGGAGATCAACCACGCTGGCTCCACCAATTACAACCCCTCTCTGAAGAGCAGAGTGACCATCTCTGTGGATACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTAGCGTGACAGCCGCTGATACAGCCGTGTACTATTGCTCTTCCCGGAGTACTCCTCTCGTTGGCACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTCTCGAGT
23203_1 VL SEQ ID NO: 2	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCCTAGCTTCCTGTCTGCTTCCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGTAGAGCCTCTCAGGGCATCTCCTTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCTAAGCTGTGATCTATGCTGCCTCTACACTGCAGTCTGGCGTGCCATCCCGGTTCCAGCGGCTCTGGCAGCGGCACCGAGTTCACTGACCCATCTCCTCTCTGCAGCCAGAGGATTTCCGCTACCTACTATTGCCAGCAGCTGAA CAGCTACCCCTCTGACATTTGGCGGCGGCACAAAGGTGGAGATCAAG
23203_2 VH SEQ ID NO: 11	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGCGCTGGCCTGTGTAAGCCCTCTGAGACACTGTCTCTGACCTGTGCCGTGTATGGCGGCTCTTTTTCGGGCTATTACTGGACCTGGATCAGACAGCCTCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGCGGAGATCAATCACTCCGGC

[0306]

	TCTACCAACTACAATCCATCCCTGAAGAGCAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCT CCAAGAATCAGTTTTCTCTGAAGCTGTCCCTCTGTGACAGCTGCTGATACCGCGT GTACTATTGCTCTAGCAGAGAGTACTCCTCTAGATGGCACATTCGATTACTGGGGC CAGGGCACACTGGTGACCGTCTCGAGT
23203_2 VL SEQ ID NO: 12	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCTTAGCTTCCTGTCTGCTTCCGTGGGGGATAGAG TGACCATCACATGTAGAGCCTCTCAGGGCATCTCCCTTTACCTGGCTTGGTATCA GCAGAAGCTGGCAAGGCTCCTAAGCTGCTGATCTATGCTGCCTCTACACTGCAG TCTGGCGTGCCATCCCGGTTTCAGCGGCTCTGGCAGCGGCACCGAGTTCAACTGA CCATCTCCCTCTGTCAGCCAGAGGATTTGCTACCTACTATTGCCAGCAGCTGAA CAGCTACCTCTGACATTTGGCGGCGGCACAAAGGTGGAGATCAAG
23203_3 VH SEQ ID NO: 21	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGCGCTGGCTGCTGAAGCCTTCTGAGACACTGT CTCTGACCTGTACCCTGTCTGGCGGCTCTTTTCCGGCTATTACTGGACCTGGAT CAGGCAGCCACCTGGCAAGGGCTGGAGTGGATCGGCGAGATCAACCACGCTGGC TCCACCAACTACAATCCTTCCCTGAAGTCTAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCT CCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCCTCTGTGACCGCGCTGATACAGCCGT GTACTATTGCTCCAGCAGAGAGTACTCCTCTAGATGGCACATTCGACTACTGGGGC CAGGGCACACTGGTGACAGTCTCGAGT
23203_3 VL SEQ ID NO: 22	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCTTAGCTTCCTGTCTGCTTCCGTGGGGGATAGAG TGACCATCACATGTAGAGCCTCTCAGGGCATCTCCCTTTACCTGGCTTGGTATCA GCAGAAGCTGGCAAGGCTCCTAAGCTGCTGATCTATGCTGCCTCTACACTGCAG TCTGGCGTGCCATCCCGGTTTCAGCGGCTCTGGCAGCGGCACCGAGTTCAACTGA CCATCTCCCTCTGTCAGCCAGAGGATTTGCTACCTACTATTGCCAGCAGCTGAA CAGCTACCTCTGACATTTGGCGGCGGCACAAAGGTGGAGATCAAG
23203_4 VH SEQ ID NO: 31	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGCGCTGGCTGCTGAAGCCTTCTGAGACACTGT CTCTGACCTGTACCCTGTATGCGCGCTCTTTTCCGGCTATTACTGGACCTGGAT CAGGCAGCCACCTGGCAAGGGCTGGAGTGGATCGGCGAGATCAACCACGCTGGC TCCACCAACTACAATCCTTCCCTGAAGTCTAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCT CCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCCTCTGTGACCGCGCTGATACAGCCGT GTACTATTGCTCCAGCAGAGAGTACTCCTCTAGATGGCACATTCGACTACTGGGGC CAGGGCACACTGGTGACAGTCTCGAGT
23203_4 VL SEQ ID NO: 32	GATATCCAGCTGACCCAGTCCCTTAGCTTCCTGTCTGCTTCCGTGGGGGATAGAG TGACCATCACATGTAGAGCCTCTCAGGGCATCTCCCTTTACCTGGCTTGGTATCA GCAGAAGCTGGCAAGGCTCCTAAGCTGCTGATCTATGCTGCCTCTACACTGCAG TCTGGCGTGCCATCCCGGTTTCAGCGGCTCTGGCAGCGGCACCGAGTTCAACTGA CCATCTCCCTCTGTCAGCCAGAGGATTTGCTACCTACTATTGCCAGCAGCTGAA CAGCTACCTCTGACATTTGGCGGCGGCACAAAGGTGGAGATCAAG
22995 VH SEQ ID NO: 41	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCAGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCTCTCTGA GACTGTCTTGTGCGCCTTCTGGCTTTACCTTCTCCTTTCATCCGCTATGCTTGGGT GCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGGTGTCTACCATCTCCGGCAGCGAT TCTTCCACTACGACGCTGATTCCGTGAAGGGCAGAAACACAATCTCCAGGGACA ATTCCAAGAACACCTGTATCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGATGACACCGC CGTGTATTACTGCGCTAAGAAGGGCGCTTATTGTTCCGGCACAAATCTGCTACGAT CCCTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGCACCGTCTCGAGT
22995 VL SEQ ID NO: 42	GATATCGTGTGACCCAGTCTCCAGTGTGGCGGTGTCCCTGGGCGCAGAGGCTA CCATCTCTGTCAGAGCTTCTCAGTCCGTGTCTATCAGCTCCATCAACCTGATGCA TTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGCAGCCAAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAGC AACCTGGCTTCTGGCATCCAGCTAGATTTCTCCGGCTCTGGCAGCGGCACAGATT TCACCTGACAATCGATCCTGTGCAGGCTGACGATATCGCCGCTTATTACTGCCA GCAGTCCAGAGAGTCTCCTCTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGGTGGAGATCAAG
22883 VH SEQ ID NO: 51	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGCTGGTGCAGCCAGGCGGCTCTCTGA GACTGTCTTGTGCGCCTTCTGGCTTTACCTTCTCCTCTTACGCCATGCTTGGGT GCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGGTGTCTGCTATCTCCGGCGGCGGC GACTATACCTACTATGCCGACAGCCTGAAGGGCAGATTACCATCAGCAGGGACA ATTCCAAGAACACCTGTACTTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGATACAGC CGTGTACTATTGCCCAAGGAGGAGTGGGAGCTGAGAGGCCAATTTCCGGTATTGG

[0307]

	GGCCAGGGCACACTGGTGACAGTCTCGAGT
22883 VL SEQ ID NO: 52	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCACCCTGAGCGCCAGCGTCGGAGATAGAG TGACAATTACTTGGCGTGCAGCCAGTCCATTTCTCTTGGCTGGCCTGGTACCA GCAGAAGCTGGCAAGGCCCTAAAGTTCCCTGATCTATAAAGCTTCTTCCCTGGAG TCTGGAGTCCCATCCAGTTCTCCGGCTTGGATCCGGAACCGAGTTTACCCTGA CAATCAGCTCTCTGTCAGCCGACGATTTGCCACATACTATTGTCAGCAGTATAA CGGGTTTASTTGGACCTTCGGGCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAA

[0308]

[0309]

[0159] 표 2는 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995, 22883의 추론된 아미노산 서열을 보여준다. CDR은 굵게 표시되고 밑줄을 그었다.

[0310] 표 2: 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 및 22883의 가변 도메인 아미노산 서열

Ab	서열(N-말단에서 C-말단)
23203_1 VH SEQ ID NO: 3	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGFSGGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHAG STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSSREYSSRWHF FDYWG QGTLVTVSS
23203_1 VL SEQ ID NO: 4	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPKGKAPKLLIYAAS TLQ SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGG TKVEIK
23203_2 VH SEQ ID NO: 13	QVQLQWAGLLKPSSETLSLTCAVYGGFSGGYYWTWIRQPPGKGLEWIGEINHSG STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSSREYSSRWHF FDYWG QGTLVTVSS
23203_2 VL SEQ ID NO: 14	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPKGKAPKLLIYAAS TLQ SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGG TKVEIK
23203_3 VH SEQ ID NO: 23	QVQLQWAGLLKPSSETLSLTCTVSGGFSGGYYWTWIRQPPGKGLEWIGEINHAG STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSSREYSSRWHF FDYWG QGTLVTVSS
23203_3 VL SEQ ID NO: 24	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPKGKAPKLLIYAAS TLQ SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGG TKVEIK
23203_4 VH SEQ ID NO: 33	QVQLQWAGLLKPSSETLSLTCAVYGGFSGGYYWTWIRQPPGKGLEWIGEINHAG STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSSREYSSRWHF FDYWG QGTLVTVSS
23203_4 VL SEQ ID NO: 34	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPKGKAPKLLIYAAS TLQ SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGG TKVEIK
22995 VH SEQ ID NO: 43	EVQLVESGGSLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSAMS WVRQAPGKLEWVSTISGSD SSTYDADSVKGRSTISRDNKNTLYLQMN SLRADDTAVYYCAKKGAYCSGTICYD PFDYWGQ GT LVTVSS
22995 VL SEQ ID NO: 44	DIVLTQSPVLAVALGQRATISCRASQSVSIS INLMHWYQQKPGQPKLLIYRAS NLASGIPARFSGSGSGTDFTLTIDP VQADDIAAAYCQQSRESPLTFGGG TKVEIK
22883 VH SEQ ID NO: 53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKLEWVSAISGGG DYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKEEWELRGPFRY WQ GT LVTVSS
22883 VL SEQ ID NO: 54	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSIS SWLAWYQQKPKGKAPKFLIYKASSLE SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSSLQ PDDFATYYCQQYNGFSWTFGGG TKVEIK

[0311]

[0312] [0160] 표 3은 중쇄 및 경쇄 불변 영역 아미노산 서열(각각 CH 및 CL)을 나타낸다. "IgG₁-LALA"는 IgG₁ 항체의 Fc 영역의 이펙터 기능을 감소시키는 것으로 알려진 중쇄(L234A/L235A, Kabat 넘버링 방식에 따라 넘버링됨)의 "LALA" 돌연변이의 존재를 나타낸다(Hezareh et al., *J Virol.* **75**(24):12161-68 (2001); Hessel et al., *Nature* **449**(7158):101-04 (2007)).

[0313] 표 3: 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995, 및 22883의 불변 영역 아미노산 서열

단편	서열(N-말단에서 C-말단)
VH 에 추가된 IgG ₁ -LALA CH SEQ ID NO: 61	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK
VL 에 추가된 Kappa CL SEQ ID NO: 62	RTVAAPS VFI FPSPDEQLKSGTASVVCLLN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDS TYLSLSTL TL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C

[0314]

[0315] [0161] 표 4는 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 및 22883의 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열을 나타내며, 여기서 CDR은 IMGT[®] 시스템에 따라 정의된다. 서열의 SEQ ID NO는 괄호 안에 표시된다.

[0316] 표 4: 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995, 22883의 CDR 아미노산 서열

Ab	서열(N-말단에서 C-말단)					
	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
23203_1	GGSFSGYY (5)	INHAGST (6)	CSSREYSSRWHFYD (7)	QGISSY (8)	AAS (9)	CQQLNSYPLTF (10)
23203_2	GGSFSGYY (15)	INHSGST (16)	CSSREYSSRWHFYD (17)	QGISSY (18)	AAS (19)	CQQLNSYPLTF (20)
23203_3	GGSFSGYY (25)	INHAGST (26)	CSSREYSSRWHFYD (27)	QGISSY (28)	AAS (29)	CQQLNSYPLTF (30)
23203_4	GGSFSGYY (35)	INHAGST (36)	CSSREYSSRWHFYD (37)	QGISSY (38)	AAS (39)	CQQLNSYPLTF (40)
22995	GFTFSSSA (45)	ISGSDSST (46)	CAKKGAYCSGTCYDPFDYD (47)	QSVSISSIN (48)	RAS (49)	CQQSRESPLTF (50)
22883	GFTFSSYA (55)	ISGGGDYT (56)	CAKEEWELRGPFRYW (57)	QSISSW (58)	KAS (59)	CQQYNGFSWTF (60)

[0317]

[0318] [0162] 표 5는 항체 23203_1, 23203_2, 23203_3, 23203_4, 22995 및 22883에 대한 SEQ ID NO 정보를 보여준다. 달리 언급되지 않는 한, 서열은 아미노산 서열이다.

[0319] 표 5: 항체 17303, 16040, 15833, 16154, 15888 및 15948에 대한 SEQ ID NO

명칭	VH nt	VL nt	VH aa	VL aa	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
23203_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
23203_2	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
23203_3	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
23203_4	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
22995	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
22883	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60

[0320]

[0321] nt: 뉴클레오티드

[0322] aa: 아미노산

[0323] 실시예 2: 인간 및 시노몰구스 AXL에 대한 항체 친화도 측정

[0324] [0163] 이 실시예는 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 측정된 바와 같이 재조합 인간 및 시노몰구스 AXL 세포의 도메인(ECD)에 대한 항-AXL 항체의 결합을 입증한다.

[0325] 재료 및 방법

[0326] [0164] IBIS MX96 SPR 기기(IBIS Technologies, The Netherlands)와 조합된 Continuous Flow Microspotter(CFM, Wasatch Microfluidics, Salt Lake City, US)를 사용하여 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 동역학적 결합 분석을 수행하였다.

[0327] [0165] His-태깅된 인간 및 시노몰구스 AXL ECD를 Expi293F 세포에서 발현시키고 Ni-NTA 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 항-AXL 항체를 고정화하고 일가 AXL 항원을 용액에 유지함으로써 일가 항원 조건 하에서 결합 동역학을 측정하였다. 항체는 Continuous Flow Microspotter(CFM, Wasatch Microfluidics, Salt Lake City, US)를 사용하여 15분 동안 G-a-hu-IgG Fc SensEye®(Ssens BV, The Netherlands)에 포획시켰다. 스포팅 후 SensEye®를 IBIS MX96 바이오센서에 배치하고 FixIT 키트(Ssens BV, The Netherlands)를 사용하여 포획된 단백질 표면에 고정하였다. 0.14 nM에서 100 nM으로 농도를 증가시키면서 항원을 주입하면서 역학 적정 시리즈(Karlsson et al., *Anal Biochem.* **349**(1):136-47 (2006))를 적용하여 운동 분석을 수행하였다. 항원 결합 및 해리를 15분 동안 수행하였다. 각 항원 주입 시리즈 후, 표면은 100 mM H₃PO₄, pH 3 재생 완충액에 의해 재생되었다. 기록된 결합 반응은 온-레이트(on-rate)(k_{on} 또는 ka), 오프-레이트(off-rate)(k_{off} 또는 kd) 및 친화도(K_D) 상수의 계산을 위한 Scrubber 2 소프트웨어를 사용하여 간단한 Langmuir 1:1 결합 모델에 맞추었다.

[0328] 결과

[0329] [0166] 친화도 측정의 결과는 항체 22995, 22883 및 23203 및 이의 버전이 모두 상이한 친화도로 인간 및 시노물구스 AXL ECD에 결합함을 입증한다. 상세한 결합 동역학은 하기 표 6에 정리되어 있다.

[0330] **표 6:** SPR에 의해 측정된 인간 및 시노물구스 AXL ECD에 대한 항-AXL mAb의 결합 동역학

항체	AXL ECD	k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{off} (s^{-1})	K_D (M)
22995	인간	8.2E+05	5.7E-04	6.9E-10
22995	시노물구스	1.4E+04	1.1E-03	8.0E-08
22883	인간	3.2E+04	3.1E-04	9.6E-09
22883	시노물구스	2.8E+04	2.0E-04	7.2E-09
23203_1	인간	1.4E+05	2.1E-03	1.5E-08
23203_1	시노물구스	1.8E+05	2.4E-03	1.3E-08
23203_2	인간	1.4E+05	1.6E-03	1.1E-08
23203_2	시노물구스	1.1E+05	1.6E-03	1.5E-08
23203_3	인간	1.1E+05	1.6E-03	1.5E-08
23203_3	시노물구스	1.4E+05	1.8E-03	1.3E-08
23203_4	인간	9.0E+04	2.3E-03	2.5E-08
23203_4	시노물구스	1.5E+05	2.1E-03	1.5E-08

[0331]

[0332] **실시예 3: 항-AXL 참조 항체 유사체의 클로닝**

[0333] [0167] 표 7은 실시예에서 참조로 사용된 3개의 항-AXL 항체에 대한 정보를 보여준다. 10G5 유사체(BerGenBio)는 IgG₁과 IgG₁-LALA 둘 모두에서 생산되었으므로 표의 두 행에 나열된다.

[0334] **재료 및 방법**

[0335] [0168] 표 6의 항체 유사체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 인코딩하는 아미노산 서열은 열거된 특허 또는 특허 출원으로부터 입수하였다. 단백질 서열은 인간 코돈 사용으로 DNA 서열로 역번역되었다. 상응하는 DNA 서열을 유전자 합성하고, 인간 중쇄 또는 경쇄 불변 영역을 함유하는 발현 벡터로 클로닝하여 전장 항체쇄의 발현을 발생시켰다. 발현을 위해 선택된 인간 항체 아이소형은 항체 포맷 열에 나열된다. 표준 단백질 발현 시스템을 사용하여 생성된 발현 플라스미드로 CHO 세포를 형질감염시켰다. 상응하는 항체 상청액을 표준 단백질 A 정제 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다.

[0336] **표 7:** 유전자-합성된 항체 유사체 및 해당 항체 포맷의 목록

항체(개발업체)	항체 포맷	공급원
Ax225 IgG ₁ -LALA 유사체 (Chugai)	IgG ₁ -LALA	미국 특허 공개 2015/9175091B2 (SEQ ID NO : 3 및 7)
YW327.6S2 IgG ₁ -LALA 유사체 (Genentech)	IgG ₁ -LALA	미국 특허 공개 2014/8853369B2 (SEQ ID NO : 103 및 104)
10G5 유사체 (BerGenBio)	IgG ₁	미국 특허 공개 2017/0349658A1(SEQ ID NO : 22 및 45)
10G5 유사체 (BerGenBio)	IgG ₁ -LALA	미국 특허 공개 2017/0349658A1(SEQ ID NO : 22 및 45)

[0337]

[0338] **실시예 4: 인간 또는 시노물구스 AXL로 일시적으로 형질감염된 CHO-S 세포에 대한 항-인간 AXL 항체의 시험관내 결합**

[0339] 재료 및 방법

[0340] [0169] 6개의 항-인간 AXL 항체 및 참조 항체 유사체를 CHO-S 세포 상에서 일시적으로 발현되는 인간 또는 시노물구스 AXL 세포의 도메인에 대한 시험관내 결합에 대해 유세포 분석에 의해 평가하였다. 비교를 위해 참조 항체 유사체가 평가에 포함되었다. 모든 항체를 4℃에서 30분 동안 일시적으로 형질감염된 CHO-S 세포와 함께 연속 희석액으로 인큐베이션하였다. 2회의 세척 단계 후, 세포를 4℃에서 30분 동안 AF647-컨주게이션된 2차 항-인간 IgG(H+L) 항체와 함께 인큐베이션하였다. IQue Plus 스크리너에서 세포를 획득하기 전에 최종 세척 단계를 수행하였다. 결과는 GrafPad Prism 소프트웨어에 의해 계산하였다.

[0341] 결과

[0342] [0170] 일시적으로 형질감염된 CHO-S 세포 상에서 발현된 인간 또는 시노물구스 AXL ECD에 대한 항체 결합의 용량-반응 곡선이 도 1a-1c에 도시되어 있다. 모든 6개의 항-인간 AXL 항체는 인간(도 1a) 및 시노물구스(도 1b) AXL 둘 모두에 다양한 역가 및 효능으로 결합한다. 비교를 위해 2개의 참조 항체가 제시된다. 항체 중 어느 것도 모의 형질감염된 세포에 결합하지 않는다(도 1c).

[0343] **실시예 5: H1299 증식 검정에서 항-AXL 항체의 시험관내 기능적 활성 스크린**

[0344] [0171] 이 실시예는 항-AXL 모노클로날 항체 패널의 시험관내 기능 스크리닝을 설명하며, GAS6 리간드의 부재 또는 존재 하에 이들의 기능을 특성화할 목적이었다. 항체는 H1299 암 세포주를 발현하는 AXL에서 GAS6의 부재 하의 GAS6 유도 증식을 억제하는 능력뿐만 아니라 효능 활성에 대해 평가되었다. 비교를 위해 참조 항체 유사체가 포함되었다.

[0345] 재료 및 방법

[0346] [0172] 선택된 항-AXL 항체를 AXL 발현 암 세포주 H1299의 증식을 억제하는 능력에 대해 시험관내에서 평가하였다. H1299 세포를 2% FBS 및 1% P/S가 보충된 RPMI 1640 Glutamax 배지의 384웰 플레이트에 2500개 세포/웰로 시딩하고, 37℃의 가습 인큐베이터에서 최대 25 µg/mL 농도의 항체와 GAS6 부재하에 또는 1 µg/mL의 GAS6(RnD Systems) 존재 하에 6일 동안 인큐베이션하였다. 제조자의 지시에 따라 WST-1 세포 증식 시약(Roche)을 사용하여 세포 증식을 정량화하였다. 여러 경쟁자 유사체(Ax225 IgG₁-LALA 유사체(Chugai), YW327.6S2 IgG₁-LALA 유사체(Genentech) 및 10G5 IgG₁-LALA 유사체(BerGenBio))가 비교를 위해 포함되었다.

[0347] 결과

[0348] [0173] 증식 스크린의 결과는 도 2에 도시되어 있다. 항체는 기능적 관독에 기초하여 분리될 수 있음이 명백하다. 조사된 경쟁자 유사체 중 10G5 IgG₁-LALA(BerGenBio) 및 YW327.6S2 IgG₁-LALA(Genentech)는 명확한 효능 활성을 나타내는 반면, Ax225 IgG₁-LALA(Chugai)는 GAS6의 부재 또는 존재 하에서 활성을 나타내지 않았다.

[0349] [0174] GAS6의 부재하에서 효능작용을 나타내지 않는 항체는 GAS6-유도된 증식의 현저한 반대작용 또는 증대를 갖는 희귀 항체(도면에서 점선 박스로 표시됨)에 중점을 두어 추가 기능적 특성규명을 위해 선택하였다.

[0350] **실시예 6: H1299 증식 검정에서 항-AXL 항체의 시험관내 기능적 활성**

[0351] [0175] 이 실시예는 용량 의존적 길항 활성을 입증할 목적으로 6개의 항-AXL 모노클로날 항체의 시험관내 기능 평가를 설명한다. 항체는 AXL-발현 H1299 암 세포주에서 GAS6의 부재하에 GAS6 유도된 증식을 억제하는 능력뿐만 아니라 효능 활성에 대해 평가되었다. 비교를 위해 참조 항체 유사체가 포함되었다.

[0352] 재료 및 방법

[0353] [0176] 선택된 항-AXL 항체를 AXL-발현 암 세포주 H1299의 증식을 유도하는 능력에 대해 시험관내에서 추가로 상세히 평가하였다. H1299 세포를 2% FBS 및 1% P/S가 보충된 RPMI 1640 Glutamax 배지에 시딩하고, GAS6 부재하에 또는 1 µg/mL의 GAS6(RnD Systems)의 존재하에서 25 µg/mL에서 시작하여 표시된 항체의 2배 적정으로 6일 동안 인큐베이션하였다. 제조자의 지시에 따라 WST-1 세포 증식 시약(Roche)을 사용하여 세포 증식을 정량화하였다.

[0354] 결과

[0355] [0177] 6개의 항-AXL 항체가 H1299 세포주를 발현하는 AXL의 GAS6 유도 증식을 억제하는 능력뿐만 아니라 GAS6의 부재하에서의 효능 활성에 대해 평가되었다(도 3). 항체 중 4개(23203_1, 23203_2, 23203_3 및 23203_4)는

H1299 세포의 GAS6 유도된 증식을 효율적으로 차단하는 능력(상단 패널)과 GAS6 부재 하에 효능 활성의 부재(하단 패널)에 의해 나타나는 바와 같이 용량 의존적 길항 활성을 나타내었다. 테스트된 다른 항체 중 어느 것도 GAS6 유도된 증식을 차단할 수 없었다(상단 패널). YW327.6S2 IgG₁-LALA 유사체 및 Ax225 IgG₁-LALA 유사체는 강력한 증식 유도(하단 패널)에 의해 나타난 바와 같이 GAS6의 부재 하에 효능적이었다.

[0356] **실시예 7: 리포솜 흡수 검정에서 항-AXL 항체의 시험관내 기능적 활성**

[0178] 이 실시예는 용량 의존적 길항 활성을 입증할 목적으로 6개의 항-AXL 모노클로날 항체의 시험관내 기능 평가를 설명한다.

[0358] **재료 및 방법**

[0179] 선택된 항-AXL 항체 및 참조 항체 유사체는 외인성 AXL을 안정적으로 발현하는 MDA-MB-468-AXL 세포에서 GAS6 유도된 포스파티딜세린-함유 리포솜의 흡수를 억제하는 능력에 대해 시험관내에서 추가로 상세하게 평가되었다. 지질 POPC(1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 43%), DOPS(1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포-L-세틴(나트륨염); 11%), DOPE(1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 5%), 콜레스테롤(40%), DOPE-NBD(1,2-디올레오일-{12-[(7-니트로-2-1,3-벤즈옥사디아졸-4-일)아미노]도데카노일}-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1%)(Avanti Polar Lipids)의 물 비를 혼합하고 수화시킨 후 동결/해동 주기로 처리하고 본질적으로 기술된 바와 같이 핵공 필터(400 nm, Millipore)를 통한 압출에 의해 리포솜을 제조하였다[Ishimoto, *Biochem.* **127(3)**:411-7 (2000)]. MDA-MB-468-AXL 세포를 검정 하루 전에 2% FBS 및 1% P/S를 지닌 DMEM에 시딩하였다. 다음날, GAS6(R&D 시스템, 1 µg/mL), 리포솜(25 µM), 항-AXL 항체 및 참조 항체는 물론 대조군 항체를 세포에 추가하였다. 항체를 6 µg/mL에서 4배 적정하였다. IncuCyte 자동화된 현미경 플랫폼을 사용하여 흡수를 측정하고 분석하였다.

[0360] **결과**

[0180] 리포솜 흡수 검정의 결과는 도 4에 도시되어 있다. 항-AXL 항체의 억제 기능은 농도 의존적이며, 모든 항체가 비록 다양한 역가와 효능이 있지만 리포솜을 함유하는 포스파티딜세린의 GAS6-유도된 흡수를 억제한다는 것이 분명하다. YW327.6S2 IgG₁-LALA(Genentech) 유사체는 길항 활성을 나타내는 반면, Ax225 IgG₁-LALA(Chugai) 및 10G5 IgG₁-LALA(BerGenBio) 유사체는 기능을 나타내지 않는다.

[0362] **실시예 8: 이중 종양 모델에서 항-AXL 항체의 생체내 효능**

[0181] 이 실시예는 이중 종양 모델에서 항체 22995 및 23203_2의 생체내 효능을 입증한다.

[0364] **재료 및 방법**

[0182] 1×10^7 MDA-MB-231 인간 유방암 세포를 6-8주령 암컷 NOD.Scid 마우스의 옆구리에 Matrigel과 함께 피하 접종하였다. 종양은 2차원에서 캘리퍼에 의해 주 3회 측정하였고 mm³ 단위의 종양 부피는 하기 식에 따라 계산하였다: (폭)² x 길이 x 0.5. 40 mm³의 평균 종양 크기에서, 마우스를 무작위 배정하고 치료를 시작하였다. 마우스를 비히클 완충제 또는 2개의 모노클로날 항체 22995 또는 23203_2 중 하나의 복강내 주사에 의해 총 6회 치료로 주 3회 처리한 후 관찰 기간을 가졌다. 항체 처리는 10 mg/kg 또는 50 mg/kg으로 투여되었다. Bonferroni의 다중 비교 테스트를 사용한 양방향 ANOVA를 적용하여 처리 그룹 간의 각 시점에서 종양 부피를 비교하였다. GraphPad Prism 버전 5.0(GraphPad Software, Inc.)을 사용하여 통계 분석을 수행하였다.

[0366] **결과**

[0183] 접종 후 20일째에, 평균 종양 크기 40 mm³에서, 마우스를 10마리 동물의 5개 그룹으로 무작위 배정하고, 치료를 시작하였다. 결과는 시험된 종양 모델에서 AXL(22995 및 23203_2)에 대한 두 모노클로날 항체의 심각한 종양 억제 효과를 보여주었다(**** P<0.0001)(도 5a 및 5b).

[0368] **실시예 9: 항-AXL 항체의 에피토프 비닝(binning)**

[0184] 이 실시예는 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 측정된 바와 같이, 항-AXL 항체 23203-1, 22995, 및 22883 및 10G5, 및 YW327.6S2 IgG₁-LALA 유사체의 교차-경쟁 분석을 설명한다. 항체 간의 비차단 관계는 항체가 AXL의 서로 다른 에피토프를 인식함을 나타낸다.

[0370] 재료 및 방법

[0371] [0185] 쌍을 이루는 항체 경쟁의 조사는 IBIS-MX96 기기(IBIS, 네덜란드)를 사용하여 SPR에 의해 수행되었다. 항-AXL 항체는 Continuous Flow Microspotter를 사용하여 15분 동안 포획한 후 허셉틴(Herceptin)(트라스투주맵(trastuzumab))에 의해 잔류 결합 부위를 차단하고 SensEye FixIt 키트(IBIS, 네덜란드)에 의해 화학적 교차-결합시킴으로서 G-a-hu-IgG Fc SensEye[®] 상에 스폿팅(spot)하였다. 센서 준비 후, 고전적인 샌드위치 검정을 사용하는 항체 경쟁 분석을 수행하였다. 재조합 AXL-His ECD 항원을 100 nM 농도로 주입하고 항-AXL 항체의 컨유게이션된 어레이에 의해 포획하였다. 다음으로, 러닝 완충액에 100 nM으로 희석된 각 AXL 항체를 개별적으로 주사하여 항체 경쟁 패턴을 확립하였다. 재조합 AXL 리간드, GAS6(100 nM)은 리간드 차단 항체를 특성화하기 위한 분석물로서 포함되었다. 데이터는 Epitope Binning 2.0(Wasatch, USA)에 의해 분석되었다.

[0372] 결과

[0373] [0186] 도 6은 바이오센서 표면 상의 고정된 항-AXL 항체 어레이에 미리 결합된 AXL ECD에 대한 표시된 항체 또는 AXL 리간드, GAS6의 결합에 대한 정규화된 값을 보여준다. 고정화된 항체는 행으로 표시되고, 용액의 항체는 열로 표시된다. 비차단(샌드위치) 항체는 흰색으로 표시되고 차단 항체는 회색으로 표시된다.

[0374] [0187] 양방향에서 테스트된 10G5 및 YW327.6S2 유사체는 자체 차단되었다. 리간드를 차단하지 않는 것으로 알려진 대조군 항체를 제외하고 테스트된 모든 항체는 GAS6을 차단하였다. 시험된 항체 22995, 23203-1 및 22883 중 어느 것도 YW327.6S2 IgG1-LALA 유사체와 경쟁하지 않았으며, 단 하나의 항체 22883만이 10G5 유사체와 경쟁하였다.

[0375] [0188] 결론적으로, 데이터는 항체 22995 및 23203-1이 10G5 및 YW327.6S2 IgG1-LALA 유사체와 상이한 AXL ECD 상의 에피토프를 인식함을 보여준다.

[0376] **실시예 10: 키메라 AXL 도메인 돌연변이체에 대한 항-AXL 항체 결합**

[0377] [0189] 이 실시예는 마우스 AXL 서열의 도메인이 인간 AXL 서열로 교환된 재조합 키메라 AXL ECD에 대한 항-AXL 항체의 결합을 설명한다. 키메라 단백질에 대한 항-AXL 항체의 결합은 항체 23203-1, 22995, 10G5 유사체, 및 YW327.6S2 IgG1-LALA 유사체에 의해 결합된 AXL 도메인을 결정하기 위해 생물층 간섭계(BLI)에 의해 측정되었다.

[0378] 재료 및 방법

[0379] [0190] 인간 및 마우스 AXL의 단백질 서열은 UniProt(각각 수탁 번호 P30530 및 Q80YQ3)에서 다운로드하였다. 키메라 단백질은 마우스 AXL ECD에서 Ig1-2 및 Fn-1-2를 도 7에 나타난 바와 같이 인간 대응물로 대체하여 생성하였다. His-태깅된 야생형 및 돌연변이된 인간 AXL 작제물은 표준 유전자 합성 기술에 의해 생성되었고, 단백질은 ExpiCHO[™] 발현 시스템을 사용하여 일시적으로 발현되었다. 포획된 키메라 단백질에 대한 항체 결합은 Octet QK384 기기를 사용하여 BLI에 의해 측정되었다. His-태깅된 키메라 단백질은 10분 동안 미리 평형화된 Anti-Penta-HIS(HIS1K) Biosensor(Sartorius)에 의해 상층액으로부터 포획되었다. 항-AXL 항체의 회합은 포화 조건에서 10분 동안 측정되었다. 센서는 5s x 3 동안 10 mM 글리신 pH 1.5에서 재생되었다. ForteBio Data Analysis 8.2에서 참조 표면 수준을 차감하여 데이터를 분석하고 항체 회합이 끝날 때 반응을 정량화하였다.

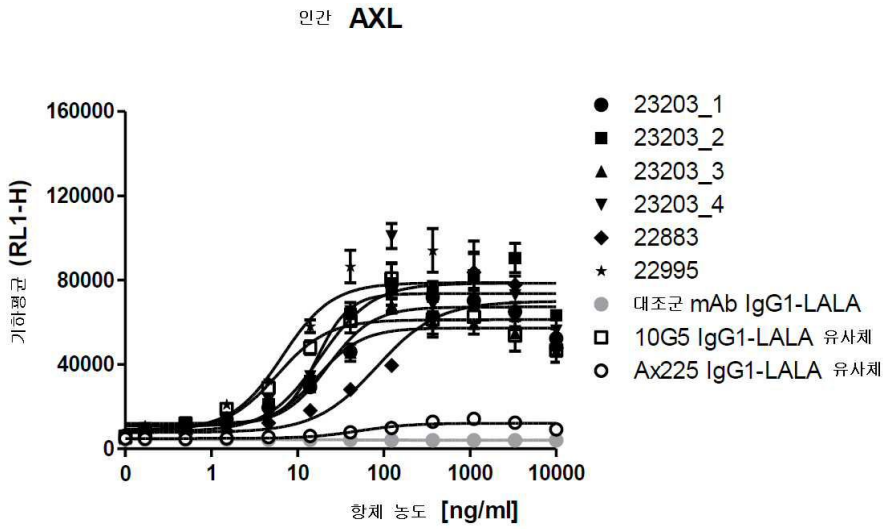
[0380] 결과

[0381] [0191] 도 7은 포획된 키메라 인간/마우스 AXL ECD 단백질에 대한 지시된 항체의 결합의 정규화된 반응(nm)을 나타낸다.

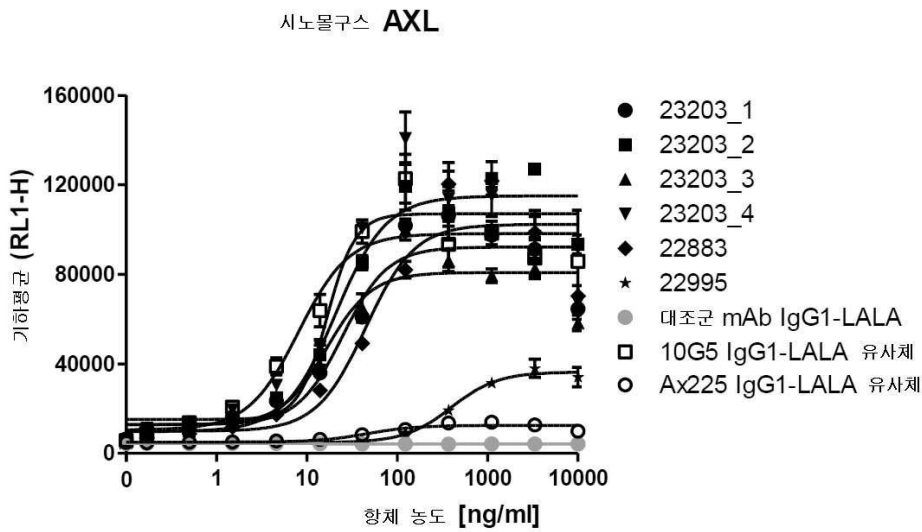
[0382] [0192] 모든 항체는 2개의 면역글로불린-유사(Ig1 및 Ig2) 도메인에 이어 2개의 피브로넥틴 유형 3-유사 도메인(Fn1 및 Fn2)으로 구성된 전장 인간 AXL ECD(HuAx1_ECD)에 결합하였다. YW327.6S2 유사체는 무린 AXL과 교차 반응성이고 모든 키메라 단백질에 결합하였으며, 단백질 작제물이 일반적으로 기능적임을 입증하였다(Ye et al., *Oncogene* 29:5254-5264 (2010)). 항체 22995와 10G5 유사체 둘 모두는 AXL의 Ig1 도메인에 결합한 반면, 항체 23203-1은 Ig2 도메인에 결합하였다.

도면

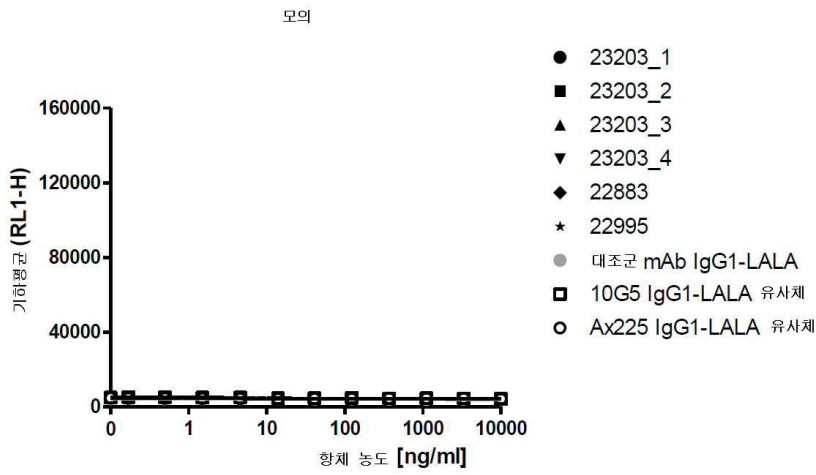
도면1a



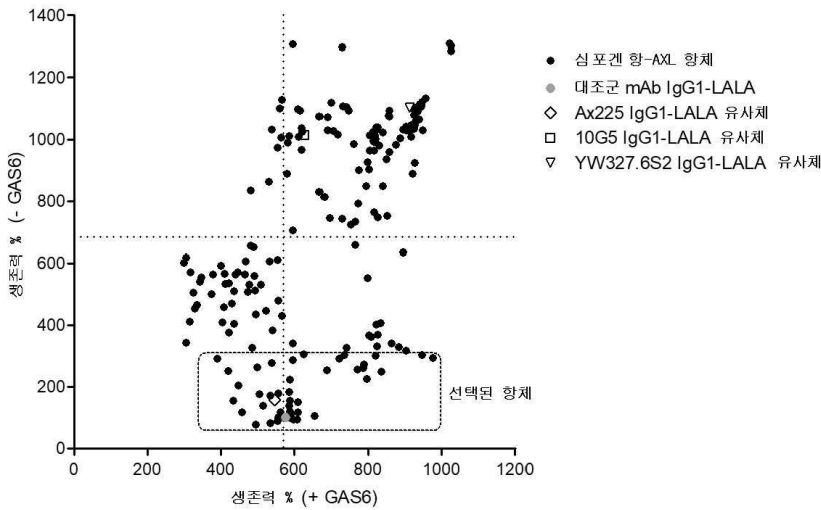
도면1b



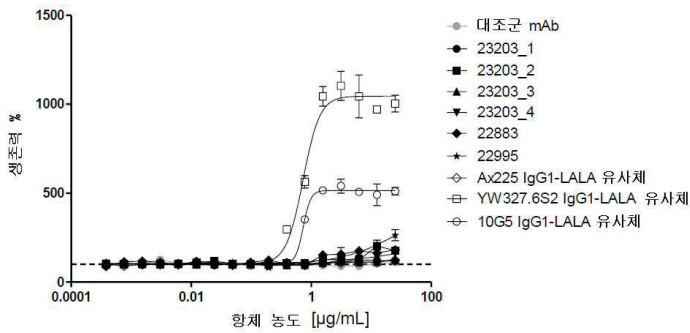
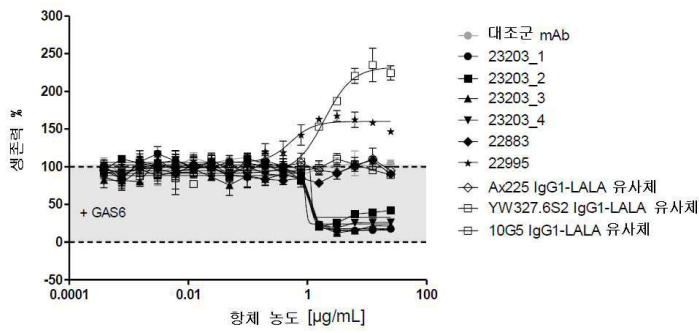
도면1c



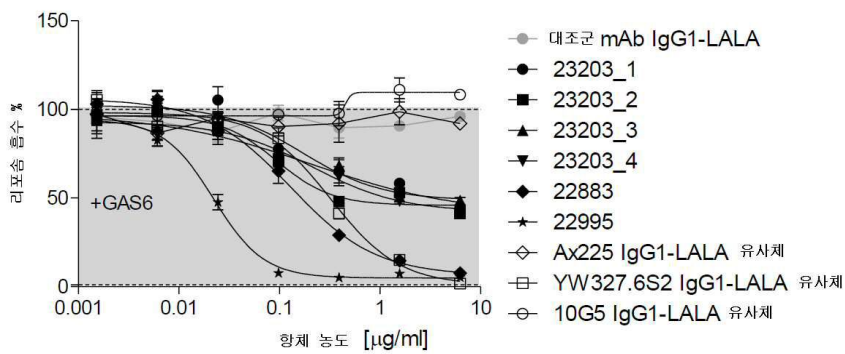
도면2



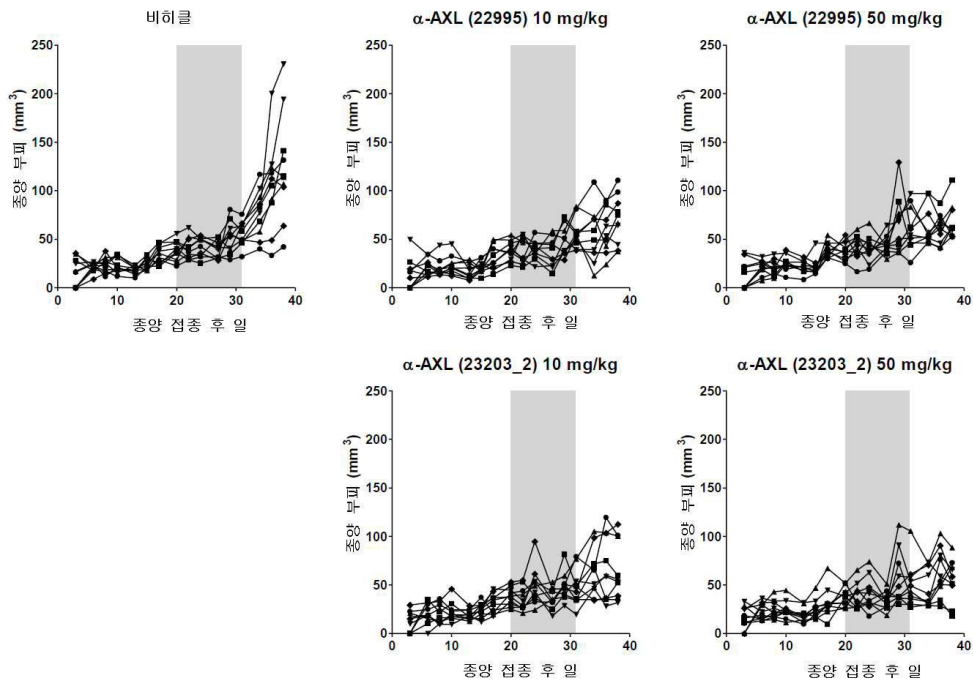
도면3



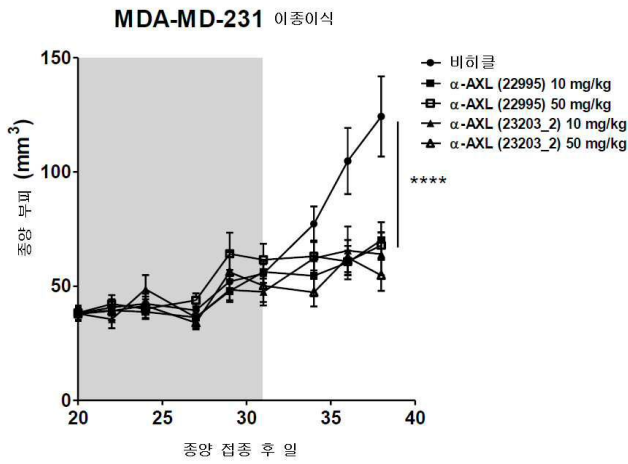
도면4



도면5a



도면5b



도면6

용액 중 함체

ID	YW327.6S2 IgG1-LALA 유사체	10G5 유사체	Gas-6
22995	1.1	1.3	0.0
23203-1	1.1	1.2	0.1
YW327.6S2 IgG1-LALA 유사체	0.0	1.6	-0.2
10G5 유사체	1.2	-0.2	-0.2
22883	3.9	-0.1	-2.7
대조군 항체	1.3	1.2	0.8

표면 포획된 항체

도면7

단백질	23203-1	22995	10G5 유사체	YW327.6S2 IgG1-LALA 유사체
MoAxl ECD HuIg1	-0.3	0.6	0.9	1.0
MoAxl ECD HuIg2	1.0	-0.1	-0.3	0.9
MoAxl ECD HuFn1	-0.2	-0.1	-0.2	0.5
MoAxl ECD HuFn2	-0.2	-0.2	-0.3	0.8
HuAxl_ECD	1.0	1.0	1.0	1.0

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> SYMPHOGEN A/S

<120> ANTI-AXL ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

<130> 022675.W0062

<140><141><150> 62/982,852

<151> 2020-02-28

<160> 67

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 1

caggtgcagc tgcaggagtc tggccctggc ctggtgaagc caagcgagac actgtctctg 60

acctgtaccg tgctggcgg ctcttttctt ggatattact ggagctggat cagacagcca 120

cccggcaagg gcctggagtg gatcggcgag atcaaccacg ctggctccac caattacaac 180

ccctctctga agagcagagt gaccatctct gtggatacct ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgtcta gcgtgacagc cgctgataca gccgtgtact attgctcttc ccgcgagtac 300

tcctctcgtt ggcacttcga ctactggggc cagggcacac tggtgaccgt ctcgagt 357

<210> 2

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 2

gatatccagc tgaccagtc ccctagcttc ctgtctgctt ccgtgggcga tagagtgacc 60

atcacatgta gaccctctca gggcatctcc tcttacctgg cttggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ctaagctgct gatctatgct gcctctacac tgcagtctgg cgtgccatcc 180

cggttcagcg gctctggcag cggcaccgag ttcacactga ccatctctc tctgcagcca 240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag ctgaacagct accctctgac atttggcggc 300

ggcacaaagg tggagatcaa g 321

<210> 3

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 3

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 4

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 4

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 5

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 6

Ile Asn His Ala Gly Ser Thr

1 5

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 7

Cys Ser Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 8

Gln Gly Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 9

<211> 3

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 9
 Ala Ala Ser

1
 <210> 10
 <211> 11
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 10
 Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe

1 5 10
 <210> 11
 <211> 357
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 11
 caggtgcagc tgcagcagtg gggcgctggc ctgctgaagc cttctgagac actgtctctg 60
 acctgtgccg tgtatggcgg ctctttttcg ggctattact ggacctggat cagacagcct 120

 ccaggcaagg gcctggagtg gatcggcgag atcaatcact cgggctctac caactacaat 180
 ccatccctga agagcagagt gaccatctcc gtggatacct ccaagaatca gttttctctg 240
 aagctgtcct ctgtgacagc tgctgatacc gccgtgtact attgtcttag cagagagtac 300
 tcctctagat ggcacttcga ttactggggc cagggcacac tggtgaccgt ctcgagt 357

<210> 12

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 12

gatatccagc tgaccagtc ccctagcttc ctgtctgctt ccgtgggcga tagagtgacc 60

atcacatgta gagectctca gggcatctcc tcttacctgg cttggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ctaagctgct gatctatgct gcctctacac tgcagtctgg cgtgccatcc 180

cggttcagcg gctctggcag cggcaccgag ttcacactga ccatctctc tctgcagcca 240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag ctgaacagct accctctgac atttggcggc 300

ggcacaaagg tggagatcaa g 321

<210> 13

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
 Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 14

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

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

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

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

50 55 60

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

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

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

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 15

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 16

Ile Asn His Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 17

Cys Ser Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 18

Gln Gly Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 19

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 19

Ala Ala Ser

1

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 20

Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 21

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 21

caggtgcagc tgcagcagtg gggcgctggc ctgctgaagc cttctgagac actgtctctg 60

acctgtaccg tgctggcgg ctctttttcc ggctattact ggacctggat caggcagcca 120

cctggcaagg gcctggagtg gatcggcgag atcaaccacg ctggctccac caactacaat 180

ccttcctga agictagagt gaccatctcc gtggatacct ccaagaacca gttctcctg 240
 aagctgtcct ctgtgaccgc cgctgataca gccgtgtact attgtccag cagagagtac 300
 tcctctagat ggcacttcga ctactggggc cagggcacac tggtgacagt ctcgagt 357

<210> 22

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"

<400> 22

gatatccage tgacceagtc ccctagcttc ctgtctgctt ccgtgggcca tagagtgacc 60

atcacatgta gagcctctca gggcatctcc tcttacctgg cttggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ctaagctgct gatctatgct gcctctacac tgcagtctgg cgtgccatcc 180

cggttcagcg gccttgagcag cggcaccgag ttcacactga ccatctctc tctgcagcca 240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag ctgaacagct accctctgac atttgccggc 300

ggcacaaagg tggagatcaa g 321

<210> 23

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 23

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 25
 Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr
 1 5

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 26

Ile Asn His Ala Gly Ser Thr
 1 5

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 27

Cys Ser Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp
 1 5 10 15

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 28
 Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
 1 5
 <210> 29
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 29
 Ala Ala Ser
 1
 <210> 30
 <211> 11
 <212> PRT

 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 30
 Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe
 1 5 10
 <210> 31
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"
 <400> 31

caggtgcagc tgcagcagtg gggcgctggc ctgctgaagc cttctgagac actgtctctg 60
 acctgtgccg tgtatggcgg ctctttttcc ggctattact ggacctggat caggcagcca 120

cctggcaagg gcctggagtg gatcggcgag atcaaccacg ctggctccac caactacaat 180
 ctttccctga agtctagagt gaccatctcc gtggatacct ccaagaacca gttctcctg 240
 aagctgtcct ctgtgaccgc cgctgataca gccgtgtact attgtccag cagagagtac 300
 tcctctagat ggcacttcca ctactggggc cagggcacac tggtgacagt ctcgagt 357

<210> 32

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"

<400> 32

gatataccagc tgaccacgct ccctagcttc ctgtctgctt ccgtggcgga tagagtgacc 60

atcacatgta gagcctctca gggcatctcc tcttacctgg cttggtatca gcagaagcct 120
 ggcaaggctc ctaagctgct gatctatgct gcctctacac tgcagtctgg cgtgccatec 180
 cggttcagcg gctctggcag cggcaccgag ttcacactga ccatctctc tctgcagcca 240
 gaggatttgc ctacctacta ttgccagcag ctgaacagct accctctgac atttggcggc 300
 ggcacaaaagg tggagatcaa g 321

<210> 33

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 33

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

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
 85 90 95

Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 34

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 34

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 35

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 35

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr

1

5

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 36

Ile Asn His Ala Gly Ser Thr

1

5

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 37

Cys Ser Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp

1

5

10

15

<210> 38

<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 38
Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
1 5
<210> 39
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 39
Ala Ala Ser
1
<210> 40
<211> 11
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 40
Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe
1 5 10
<210> 41
<211> 375
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 41

gaggtgcagc tggaggagtc tggcggcagc ctggtgcagc cggcggctc tctgagactg	60
tcttggtccc ctctggctt taccttctct tcatccgcta tgtcttgggt gcgccaagcc	120
ccaggcaagg gcttgagtg ggtgtctacc atctccggca gcgattcttc cacctacgac	180
gctgattccg tgaagggcag aagcacaatc tccagggaca attccaagaa caccctgtat	240
ctgcagatga actccctgag agctgatgac accgccgtgt attactgcgc taagaagggc	300
gcttattgtt ccggcacaat ctgctacgat cccttcgact attggggcca gggcacactg	360
gtgaccgtct cgagt	375

<210> 42

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 42

gatatcgtgc tgaccagtc tccagtgtg gccgtgtccc tgggccagag agctaccatc	60
tcttgagag ctctcagtc cgtgtctatc agctccatca acctgatgca ttggtaccag	120
cagaagccag gccagcagcc aaagctgtg atctacagag ccagcaacct ggcttctggc	180
atcccagcta gattctccgg ctctggcagc ggcacagatt tcacctgac aatcgatcct	240
gtgcaggctg acgatatcgc cgcttattac tgccagcagt ccagagagtc tcctctgacc	300
tttggcggcg gcacaaaggt ggagatcaag	330

<210> 43

<211>

125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 43

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

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

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

<210> 44

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 44

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Leu Ala Val Ser Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ile Ser Ser
 20 25 30

Ile Asn Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro Lys
 35 40 45
 Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg
 50 55 60

<400> 47

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

1 5 10 15

Phe Asp Tyr Trp

20

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 48

Gln Ser Val Ser Ile Ser Ser Ile Asn

1 5

<210> 49

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 49

Arg Ala Ser

1

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 50

Cys Gln Gln Ser Arg Glu Ser Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 51

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"

<400> 51

gaggtgcagc tggtaggagc tggcggcggc ctggtgcagc caggcggctc tctgagactg 60

tcttgtagccg ctcttggett taccttctcc tcttacgcca tgtcttgggt gcggcaagcc 120

cccggcaagg gcctggagtg ggtgtctgct atctccggcg gcggcgacta tacctactat 180

gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagggaca attccaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga actccctgag agctgaggat acagccgtgt actattgcbc caaggaggag 300

tgggagctga gaggccatt tcggtattgg ggccagggca cactggtgac agtctcgagt 360

<210> 52

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"

<400> 52

gacatccaga tgaccagag cccttccacc ctgagcgcca gcgtcggaga tagagtgaca 60

attacttgcc gtgccagcca gtccatttcc tcttggctgg cctggtacca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagttcct gatctataaa gcttcttccc tggagtctgg agtcccatcc 180

aggttctccg gccttgatc cggaaccgag ttaccctga caatcagctc tctgcagccc 240

gacgattttg ccacatacta ttgtcagcag tataacgggt ttagttggac cttcgggcag 300

ggcacaaaag tggagatcaa a 321

<210> 53

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 53

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

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

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

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

Ala Lys Glu Glu Trp Glu Leu Arg Gly Pro Phe Arg Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 54

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 54

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

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

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

<210> 55
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 55
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

<210> 56
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 56
 Ile Ser Gly Gly Gly Asp Tyr Thr
 1 5

<210> 57

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 57
 Cys Ala Lys Glu Glu Trp Glu Leu Arg Gly Pro Phe Arg Tyr Trp
 1 5 10 15

<210> 58
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 58
 Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

<210> 59
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 59
 Lys Ala Ser
 1

<210> 60
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 60

Cys Gln Gln Tyr Asn Gly Phe Ser Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 61

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

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

 195 200 205

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

 210 215 220

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

225 230 235 240

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

 245 250 255

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

 260 265 270

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

 275 280 285

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

 290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

 325 330

<210> 62

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 62

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

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

<210> 63

<211> 894

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Met Ala Trp Arg Cys Pro Arg Met Gly Arg Val Pro Leu Ala Trp Cys
 1 5 10 15

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

Ser Thr Gln Thr Gln Val Pro Leu Gly Glu Asp Glu Gln Asp Asp Trp
 85 90 95
 Ile Val Val Ser Gln Leu Arg Ile Thr Ser Leu Gln Leu Ser Asp Thr

Trp Gln Glu Pro Arg Ala Pro Leu Gln Gly Thr Leu Leu Gly Tyr Arg
 355 360 365
 Leu Ala Tyr Gln Gly Gln Asp Thr Pro Glu Val Leu Met Asp Ile Gly
 370 375 380
 Leu Arg Gln Glu Val Thr Leu Glu Leu Gln Gly Asp Gly Ser Val Ser
 385 390 395 400

 Asn Leu Thr Val Cys Val Ala Ala Tyr Thr Ala Ala Gly Asp Gly Pro
 405 410 415
 Trp Ser Leu Pro Val Pro Leu Glu Ala Trp Arg Pro Gly Gln Ala Gln
 420 425 430
 Pro Val His Gln Leu Val Lys Glu Pro Ser Thr Pro Ala Phe Ser Trp
 435 440 445
 Pro Trp Trp Tyr Val Leu Leu Gly Ala Val Val Ala Ala Ala Cys Val
 450 455 460

 Leu Ile Leu Ala Leu Phe Leu Val His Arg Arg Lys Lys Glu Thr Arg
 465 470 475 480
 Tyr Gly Glu Val Phe Glu Pro Thr Val Glu Arg Gly Glu Leu Val Val
 485 490 495
 Arg Tyr Arg Val Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Glu Ala Thr
 500 505 510
 Leu Asn Ser Leu Gly Ile Ser Glu Glu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Asp
 515 520 525

 Val Met Val Asp Arg His Lys Val Ala Leu Gly Lys Thr Leu Gly Glu
 530 535 540
 Gly Glu Phe Gly Ala Val Met Glu Gly Gln Leu Asn Gln Asp Asp Ser
 545 550 555 560
 Ile Leu Lys Val Ala Val Lys Thr Met Lys Ile Ala Ile Cys Thr Arg
 565 570 575
 Ser Glu Leu Glu Asp Phe Leu Ser Glu Ala Val Cys Met Lys Glu Phe
 580 585 590

 Asp His Pro Asn Val Met Arg Leu Ile Gly Val Cys Phe Gln Gly Ser

Lys Asp Ser Cys Ser Cys Leu Thr Ala Ala Glu Val His Pro Ala Gly
 850 855 860
 Arg Tyr Val Leu Cys Pro Ser Thr Thr Pro Ser Pro Ala Gln Pro Ala
 865 870 875 880
 Asp Arg Gly Ser Pro Ala Ala Pro Gly Gln Glu Asp Gly Ala
 885 890

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 64
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 65
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 65
 Cys Ala Ser Arg Glu Tyr Ser Ser Arg Trp His Phe Asp Tyr Trp
 1 5 10 15

<210> 66
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 ><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 66

Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr
1 5 10 15
Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 20 25 30
Thr Ala Val Tyr Tyr
 35

<210> 67

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 67

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