



등록특허 10-2716931



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월15일
(11) 등록번호 10-2716931
(24) 등록일자 2024년10월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/24 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/244 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7027761(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년12월18일
심사청구일자 2023년09월13일
- (85) 번역문제출일자 2023년08월16일
- (65) 공개번호 10-2023-0125099
- (43) 공개일자 2023년08월28일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7021098
원출원일자(국제) 2017년12월18일
심사청구일자 2020년12월16일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2017/001677
- (87) 국제공개번호 WO 2018/115960
국제공개일자 2018년06월28일
- (30) 우선권주장
16382617.5 2016년12월19일
유럽특허청(EPO)(EP)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020130121679 A*
Journal of Immunological Methods, vol.156(1),
pp9-17(1992.11.25.) 1부.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
펜다시오 프리바다 인스티튜시오 카탈라나 드 르
세르카 아이 에스투디스 아반카츠
스페인 이-08010 바르셀로나, 23, 파세이그 루이
스 캄페니즈
펜다시오 프리바다 인스티튜트 드인베스티가시오
온콜로지카 데 발 헤브론
스페인 이-08035 바르셀로나 115-117 나자렛 에디
피시 셀렉스
메디뮨 리미티드
영국 씨비2 0에이에이 케임브리지 케임브리지 바
이오메디컬 캠퍼스 프랜시스 크릭 애비뉴 1
- (72) 발명자
세오아네 수아레즈 조안
스페인 08035 바르셀로나 에디피시 셀렉스
115-117 카레어낫자렛
아니도 폴게이라 주딧
스페인 08035 바르셀로나 에디피시 셀렉스
115-117 카레어낫자렛
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 13 항

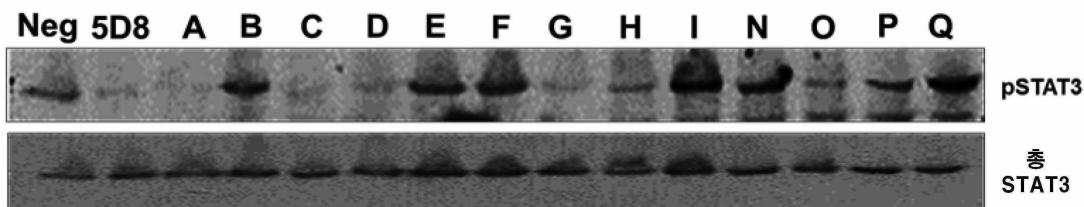
심사관 : 한정선

(54) 발명의 명칭 LIF에 대한 항체 및 이의 용도

(57) 요약

백혈병 억제 인자(LIF)를 표적화하는 항체가 본원에 기재된다. 또한 암의 치료를 위한 이들 항체의 용도가 본원에 기재된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/34 (2013.01)

C07K 2317/567 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

프란슨 조

캐나다 엠5쥐 1엘7 온타리오 토론토 텁트 11-301

컬리지 스트리트101

줄리엔 진-필리프

캐나다 엠4이 2엘1 온타리오 토론 퍼스트브루크 로

드 30

라만 스웨타

캐나다 엠5비 2에이치5 온타리오 토론토 칼튼 스트

리트 20아파트먼트 1028

(30) 우선권주장

62/467,017 2017년03월03일 미국(US)

17382683.5 2017년10월13일

유럽특허청(EPO)(EP)

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1);
 - b) 서열번호: 9에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2);
 - c) 서열번호: 15에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3);
 - d) 서열번호: 21에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1);
 - e) 서열번호: 25에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및
 - f) 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)
- 을 포함하는 재조합 항체를 코딩하는 핵산으로서,
- 재조합 항체는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 것인 핵산.

청구항 2

제1항에 있어서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합하는 것인 핵산.

청구항 3

제1항에 있어서, 재조합 항체는 인간 항체 프레임워크 영역으로부터 유래된 적어도 하나의 프레임워크 영역을 포함하는 것인 핵산.

청구항 4

제1항에 있어서, 재조합 항체는 인간화된 것인 핵산.

청구항 5

제1항에 있어서, 재조합 항체는 탈면역화된 것인 핵산.

청구항 6

제1항에 있어서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함하는 것인 핵산.

청구항 7

제1항에 있어서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 나노바디를 포함하는 것인 핵산.

청구항 8

제1항에 있어서, 재조합 항체는 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_d)로 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 핵산.

청구항 9

제1항에 있어서, 재조합 항체는 100 피코몰 미만의 해리 상수(K_d)로 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 핵산.

청구항 10

제1항에 있어서, VH 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일하고, VL 서열은 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 것인 핵산.

청구항 11

제10항에 있어서, VH 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 동일하고, VL 서열은 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 동일한 것인 핵산.

청구항 12

제1항에 있어서, 재조합 항체가

- a) 서열번호: 92에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및
- b) 서열번호: 88에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하고, 재조합 항체가 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 핵산.

청구항 13

제12항에 있어서, 경쇄가 서열번호: 92에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄가 서열번호: 88에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 핵산.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

청구항 168

삭제

청구항 169

삭제

청구항 170

삭제

청구항 171

삭제

청구항 172

삭제

청구항 173

삭제

청구항 174

삭제

청구항 175

삭제

청구항 176

삭제

청구항 177

삭제

청구항 178

삭제

청구항 179

삭제

청구항 180

삭제

청구항 181

삭제

청구항 182

삭제

청구항 183

삭제

청구항 184

삭제

청구항 185

삭제

청구항 186

삭제

청구항 187

삭제

청구항 188

삭제

청구항 189

삭제

청구항 190

삭제

청구항 191

삭제

청구항 192

삭제

청구항 193

삭제

청구항 194

삭제

청구항 195

삭제

청구항 196

삭제

청구항 197

삭제

청구항 198

삭제

청구항 199

삭제

청구항 200

삭제

청구항 201

삭제

청구항 202

삭제

청구항 203

삭제

청구항 204

삭제

청구항 205

삭제

청구항 206

삭제

청구항 207

삭제

청구항 208

삭제

청구항 209

삭제

청구항 210

삭제

청구항 211

삭제

청구항 212

삭제

청구항 213

삭제

청구항 214

삭제

청구항 215

삭제

청구항 216

삭제

청구항 217

삭제

청구항 218

삭제

청구항 219

삭제

청구항 220

삭제

청구항 221

삭제

청구항 222

삭제

청구항 223

삭제

청구항 224

삭제

청구항 225

삭제

청구항 226

삭제

청구항 227

삭제

청구항 228

삭제

청구항 229

삭제

청구항 230

삭제

청구항 231

삭제

청구항 232

삭제

청구항 233

삭제

청구항 234

삭제

청구항 235

삭제

청구항 236

삭제

청구항 237

삭제

청구항 238

삭제

청구항 239

삭제

청구항 240

삭제

청구항 241

삭제

청구항 242

삭제

청구항 243

삭제

청구항 244

삭제

청구항 245

삭제

청구항 246

삭제

청구항 247

삭제

청구항 248

삭제

청구항 249

삭제

청구항 250

삭제

청구항 251

삭제

청구항 252

삭제

청구항 253

삭제

청구항 254

삭제

청구항 255

삭제

청구항 256

삭제

청구항 257

삭제

청구항 258

삭제

청구항 259

삭제

청구항 260

삭제

청구항 261

삭제

청구항 262

삭제

청구항 263

삭제

청구항 264

삭제

청구항 265

삭제

청구항 266

삭제

청구항 267

삭제

청구항 268

삭제

청구항 269

삭제

청구항 270

삭제

청구항 271

삭제

청구항 272

삭제

청구항 273

삭제

청구항 274

삭제

청구항 275

삭제

청구항 276

삭제

청구항 277

삭제

청구항 278

삭제

청구항 279

삭제

청구항 280

삭제

청구항 281

삭제

청구항 282

삭제

청구항 283

삭제

청구항 284

삭제

청구항 285

삭제

청구항 286

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호참조

[0002] 본 출원은 2016년 12월 19일에 출원된 유럽 특허 출원 제EP16382617.5호, 2017년 3월 3일에 출원된 미국 가출원 제62/467,017호, 및 2017년 10월 13일에 출원된 유럽 특허 출원 제EP17382683.5호의 이익을 주장하며, 이들 모두는 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있다.

배경 기술

[0003] 백혈병 억제 인자(Leukemia inhibitory factor, LIF)는 세포 분화의 억제를 포함하는 다양한 생물학적 활성에 관여하는 인터루킨 6(IL-6) 유형 사이토카인이다. 인간 LIF는 gp130과 이종이합체화하는 세포 표면 LIF 수용체 (LIFR 또는 CD118)와의 결합을 통해 생물학적 효과를 발휘하는 202개 아미노산의 폴리펩타이드이다. 이것은 미토겐 활성화된 단백질 키나제(MAPK) 및 야누스(Janus) 활성화된 키나제(JAK/STAT) 경로와 같은 성장 촉진 신호 전달 경로의 활성화로 이어진다. LIF의 높은 발현 수준 및 높은 혈청 수준은 많은 유형의 암의 나쁜 예후와 관련이 있는 것으로 입증되었다.

발명의 내용

[0004] LIF 활성을 길항하거나 차단하는 신규한 항-LIF 항체가 본원에 기재된다. 이들 항체는 암의 치료에 유용하다. 이들 항체는 높은 수준의 LIF, LIF 수용체를 발현하거나, LIF 의존적 성장을 나타내는 암에 대한 임상 요법을 개발하기 위해 인간화될 수 있다. 본원에 기재된 이러한 한 가지 항체는 인간화 과정 후에 결합 친화성 및 생물학적 효과의 예기치 않은 개선을 나타낸다.

[0005] 일 양태에서, a) 서열번호: 1-7 또는 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); b) 서열번호: 9-13 또는 35 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); c) 서열번호: 15-19 또는 37 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); d) 서열번호: 21-23 또는 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); e) 서열번호: 25-27 또는 41 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 f) 서열번호: 29, 30, 또는 43 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 재조합 항체는 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재되며, 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간 항체 프레임워크 영역으로부

터 유래된 적어도 하나의 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현 예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역 글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편 (scFv), 또는 나노바디를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_p)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 100 피코몰 미만의 해리 상수(K_p)로 LIF에 특 이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 4(GFTFSNAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 11(QIKDKSDNYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 17(TCWEWYLDLDF)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 아미 노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열 번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 7(SKFMY)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 13(WIYPGDGDTEYNQKFSE)에 제시된 아미노산 서열을 포함 하며, VH-CDR3은 서열번호: 19(RDYHSSHFAF)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 23(RSSQSLLHNNGNTYLS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 27(QVSNRFS)에 제시된 아미노 산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 30(GQGTQYPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 33(TAGMQ)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 35(WINTQSGEPQYVDDFRG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 37(WALYSEYDVMFY)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 39(KASENVDSYVS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 41(GASNRYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 43(GQSYRYPPT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번 호: 15(TCWEWDLDF)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 44- 47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 1(VH-FR1) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 2(VH-FR2) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아 미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 3(VH-FR3) 영역 아미노산 서열, 및 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프 레임워크 4(VH-FR4) 영역 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 1(VL-FR1) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 2(VL-FR2) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제 시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 3(VL-FR3) 영역 아미노산 서열, 및 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 4(VL-FR4) 영역 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서 열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열 번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번 호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열 번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함 한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다.

도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 암 치료에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 퀘장암, 난소암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 재조합 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물의 구성성분이다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 정맥내 투여를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 대뇌내 투여를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 암 치료에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 퀘장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다.

또 다른 양태에서, a) 서열번호: 71, 72, 또는 74 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH) 서열; 및 b) 서열번호: 75-78 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL) 서열을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, VH 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하고; VL 서열은 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하다.

워크 2(VH-FR2) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 3(VH-FR3) 영역 아미노산 서열, 및 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 4(VH-FR4) 영역 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 1(VL-FR1) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 2(VL-FR2) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 3(VL-FR3) 영역 아미노산 서열, 및 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 4(VL-FR4) 영역 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 혀장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 정맥내로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 대뇌내로 투여된다.

[0008]

또 다른 양태에서, a) 서열번호: 71, 72, 또는 74 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH) 서열; 및 b) 서열번호: 75-78 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL) 서열을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 암을 가진 개체를 치료하는 방법이 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, VH 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하고; VL 서열은 서열 번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하다.

[0009]

또 다른 양태에서, a) 서열번호: 1-7 또는 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); b) 서열번호: 9-13 또는 35 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); c) 서열번호: 15-19 또는 37 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); d) 서열번호: 21-23 또는 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); e) 서열번호: 25-27 또는 41 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 f) 서열번호: 29, 30, 또는 43 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 혼합하는 단계를 포함하는 암을 가진 대상을 치료하기 위한 암 치료제를 제조하는 방법으로서, 재조합 항체는 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 방법이 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간 항체 프레임워크 영역으로부터 유래된 적어도 하나의 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가

변 단편(scFv), 또는 나노바디이다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_d)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 100 피코몰 미만의 해리 상수(K_d)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 4(GFTFSNAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 11(QIKDKSDNYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 17(TCWEWYLDL)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLDSDGHTYLN)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 7(SKFMY)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 13(WIYPGDGDEYNQKFSE)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 19(RDYHSSHFA)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 23(RSSQSLHNNGNTYLS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 27(QVSNRFS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 30(GQGTQYPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 33(TAGMQ)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 35(WINTQSGEPQYVDDFRG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며 VH-CDR3은 서열번호: 37(WALYSEYDVMY)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 39(KASENVDSYVS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 41(GASNRYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 43(GQSYRYPPT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 15(TCWEWDLDF)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLDSDGHTYLN)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 1(VH-FR1) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 2(VH-FR2) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 3(VH-FR3) 영역 아미노산 서열, 및 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 프레임워크 4(VH-FR4) 영역 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 1(VL-FR1) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 2(VL-FR2) 영역 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 3(VL-FR3) 영역 아미노산 서열, 및 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 프레임워크 4(VL-FR4) 영역 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포 종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다.

[0010]

또 다른 양태에서, a) 서열번호: 71, 72, 또는 74 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(VH) 서열; b) 및 서열번호: 75-78 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 경쇄 가변 영역(VL) 서열을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 혼합하는 단계를 포함하는 암을 가진 대상을 치료하기 위한 암 치료제를 제조하는 방법이 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, VH 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하고; VL 서열은 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하다.

[0011]

또 다른 양태에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR) 및 인간 기원의 적어도 하나의 면역글로불린 프레임워크 영역(FR)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간 항체 프레임워크 영역으로부터 유래된 적어도 하나의 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 나노바디이다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 100 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 서열번호: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26, 또는 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 인간 기원의 적어도 하나의 면역글로불린 프레임워크 영역은 서열번호: 44-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 정맥내 투여를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 대뇌내 투여를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 암 치료제에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다.

[0012]

또 다른 양태에서, 서열번호: 71, 72, 또는 74 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 중쇄 서열; 및 서열번호: 75-78 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 경쇄 서열을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 면역글로불린 중쇄 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하고; 면역글로불린 경쇄 서열은 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하다.

[0013]

또 다른 양태에서, 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암을 가진 대상을 치료하는 방법으로서, (LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 랫트 기원의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR) 및 인간 기원의 적어도 하나의 면역글로불린 프레임워크 영역(FR)을 포함하고, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 방법이 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간 항체 프레임워크 영역으로부터 유래된 적어도 하나의 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 나노바디이다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 100 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 서열번호: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26, 또는 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 서열번호: 1, 7, 11, 15, 17, 및 19 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 인간 기원의 적어도 하나의 면역글로불린 프레임워크 영역은 서열번호: 44-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 정맥내로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 대뇌내로 투여된다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌

장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다.

[0014] 또 다른 양태에서, 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암을 가진 대상을 치료하는 방법으로서, (LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 71, 72, 또는 74 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 중쇄 서열; 및 서열번호: 75-78 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 경쇄 서열을 포함하는 것인 방법이 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 면역글로불린 중쇄 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하고; 면역글로불린 경쇄 서열은 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하다.

[0015] 또 다른 양태에서, 약학적으로 허용가능한 담체 및 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체를 혼합하는 단계를 포함하는 암을 가진 대상을 치료하기 위한 암 치료제를 제조하는 방법으로서, (LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 랫트 기원의 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR) 및 인간 기원의 적어도 하나의 면역글로불린 프레임워크 영역(FR)을 포함하고, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 방법이 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간 항체 프레임워크 영역으로부터 유래된 적어도 하나의 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 나노바디이다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 100 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 서열번호: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26, 또는 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 랫트 기원의 적어도 하나의 CDR은 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 인간 기원의 적어도 하나의 면역글로불린 프레임워크 영역은 서열번호: 44-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 중쇄 FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예

에서, 약학적으로 허용가능한 담체는 정맥내 투여에 적합하다. 특정 구현예에서, 약학적으로 허용가능한 담체는 대뇌내 투여에 적합하다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다.

[0016] 또 다른 양태에서, 약학적으로 허용가능한 담체 및 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체를 혼합하는 단계를 포함하는 암을 가진 대상을 치료하기 위한 암 치료제를 제조하는 방법으로서, (LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체는 서열번호: 71, 72, 또는 74 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 중쇄 서열; 및 서열번호: 75-78 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 경쇄 서열을 포함하는 것인 방법이 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 면역글로불린 중쇄 서열은 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하고; 면역글로불린 경쇄 서열은 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일하다.

[0017] 또 다른 양태에서 LIF에 결합하는 재조합 항체로서, 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 FR4 아미노산 서열, 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 경쇄 FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 경쇄 FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 경쇄 FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 경쇄 FR4 아미노산 서열을 포함하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다.

[0018] 또 다른 양태에서 LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 항체는 서열번호: 72에 제시된 아미노산과 적어도 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 인간화된 중쇄 가변 영역, 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산과 적어도 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 인간화된 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0019] 또 다른 양태에서 a) 서열번호: 1-7 또는 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1; b) 서열번호: 9-13 또는 35 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2; 및 c) 서열번호: 15-19 또는 37 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 재조합 항체는 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0020] 또 다른 양태에서 a) 서열번호: 21-23 또는 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); b) 서열번호: 25-27 또는 41 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 c) 서열번호: 29, 30, 또는 43 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 재조합 항체는 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0021] 또 다른 양태에서 LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재되며, 항체는 서열번호: 1에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 15에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인, 및 서열번호: 21에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0022] 또 다른 양태에서 a) 서열번호: 91-94 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90%, 95%, 97%, 98%, 또

는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 b) 서열번호: 87-90 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 재조합 항체는 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 경쇄는 서열번호: 91-94 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 가지며; 중쇄는 서열번호: 87-90 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 특정 구현예에서, 경쇄는 서열번호: 92에 제시된 아미노산 서열을 가지며; 중쇄는 서열번호: 88에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0023] 또 다른 양태에서 LIF에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 항체는 서열번호: 1에 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열번호: 9에 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 서열번호: 15에 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3, 서열번호: 21에 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열번호: 25에 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열번호: 29에 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 포함하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0024] 본원의 또 다른 양태에서 LIF에 결합하는 재조합 항체로서, 항체는 서열번호: 1과 비교하여 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 함유하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열번호: 9와 비교하여 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 함유하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 서열번호: 15와 비교하여 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 함유하는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3, 서열번호: 21과 비교하여 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 함유하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열번호: 25와 비교하여 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 함유하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열번호: 29와 비교하여 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 함유하는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3을 포함하는 것인 재조합 항체가 있다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0025] 또 다른 양태에서 LIF에 결합하고, 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR1, 서열번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR2, 서열번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3, 서열번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR1, 서열번호: 25에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR2, 및 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 CDR3에 의해 정의된 항체와 경쟁하는 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 항체는 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제와 함께 제제화되어 약학 조성물을 형성한다.

[0026] 또 다른 양태에서 단리된 단클론 항체로서, 인간 LIF에 결합할 때, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98 중 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 하나에 결합하는 것인 단리된 단클론 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 A13에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 I14에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 R15에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 H16에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 P17에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 C18에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 H19에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 N20에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 Q25에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 Q29에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 Q32에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 D120에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 R123에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 S127에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 N128에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 L130에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 C131에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 C134에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 S135에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 H138에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 LIF의 2개의 구별되는 알파 나선에 결합하며, 2개의 구별되는 알파 나선은 복수의 아미노산에 의해 분리된다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 gp130에 대한 인간 LIF의 결합을 차단한다. 특정 구현예에서, 항체는 세포 배양 모델에서 인간 LIF의 생물학적 활성을 차단한다. 특정 구현예에서, 생물학적 활성을 LIF 유도된 STAT3 인산화이다. 특정 구현예에서, 항체는 키메라, 인간화, 또는 인간이다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 단리된 단클론 항체 및 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 정맥내 주사를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 단리된 단클론 항체 또는 약학 조성물은 암을 치료하는 방법에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현

예에서, 단클론 항체 또는 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암으로 진단받거나 암을 가질 것으로 의심되는 개체를 치료하는 방법이 본원에 기재된다.

[0027]

또 다른 양태에서 단리된 단클론 항체로서, 인간 LIF에 결합할 때, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 하나에 결합하는 것인 단리된 단클론 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 2개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 5개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 10개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 모두에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 LIF의 2개의 구별되는 알파 나선에 결합하며, 2개의 구별되는 알파 나선은 복수의 아미노산에 의해 분리된다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 gp130에 대한 인간 LIF의 결합을 차단한다. 특정 구현예에서, 항체는 세포 배양 모델에서 인간 LIF의 생물학적 활성을 차단한다. 특정 구현예에서, 생물학적 활성은 LIF 유도된 STAT3 인산화이다. 특정 구현예에서, 항체는 키메라, 인간화, 또는 인간이다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 단리된 단클론 항체 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 정맥내 주사를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 단리된 단클론 항체 또는 약학 조성물은 암을 치료하는 방법에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 단클론 항체 또는 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암으로 진단받거나 암을 가질 것으로 의심되는 개체를 치료하는 방법이 본원에 기재된다.

[0028]

또 다른 양태에서 단리된 단클론 항체로서, VH-CDR1은 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 15(TCWEWDLDF)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하며, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 하나에 결합하는 것인 단리된 단클론 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 2개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 5개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 적어도 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 10개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 모두에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 LIF의 2개의 구별되는 알파 나선에 결합하며, 2개의 구별되는 알파 나선은 복수의 아미노산에 의해 분리된다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 gp130에 대한 인간 LIF의 결합을 차단한다. 특정 구현예에서, 항체는 세포 배양 모델에서 인간 LIF의 생물학적 활성을 차단한다. 특정 구현예에서, 생물학적 활성은 LIF 유도된 STAT3 인산화이다. 특정 구현예에서, 항체는 키메라, 인간화, 또는 인간이다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 단리된 단클론 항체 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 정맥내 주사를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 단리된 단클론 항체 또는 약학 조성물은 암을 치료하는 방법에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 단클론 항체 또는 약학 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 암으로 진단받거나 암을 가질 것으로 의심되는 개체를 치료하는 방법이 본원에 기재된다.

[0029]

또 다른 양태에서 단리된 단클론 항체로서, VH-CDR1은 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호:

95(TSWEWDLDF)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 것과 0, 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산 잔기가 상이한 아미노산 서열을 포함하며, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 하나에 결합하는 것인 단리된 단클론 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 2개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 5개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 10개에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 모두에 결합한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 gp130에 대한 인간 LIF의 결합을 차단한다. 특정 구현예에서, 항체는 세포 배양 모델에서 인간 LIF의 생물학적 활성을 차단한다. 특정 구현예에서, 생물학적 활성은 LIF 유도된 STAT3 인산화이다. 특정 구현예에서, 항체는 키메라, 인간화, 또는 인간이다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 단리된 단클론 항체 및 약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체, 또는 부형제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 정맥내 주사를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 대뇌내 주사를 위해 제제화된다. 특정 구현예에서, 단리된 단클론 항체 또는 약학 조성물을 암을 치료하는 방법에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 단클론 항체 또는 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암으로 진단받거나 암을 가질 것으로 의심되는 개체를 치료하는 방법이 본원에 기재된다.

[0030] 특정 양태에서, 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); 서열번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); 서열번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); 및 서열번호: 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다.

[0031] 특정 양태에서, 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); 서열번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); 서열번호: 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); 서열번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); 및 서열번호: 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다.

[0032] 특정 양태에서, 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); 서열번호: 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); 서열번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); 및 서열번호: 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다.

[0033] 특정 양태에서 a) 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); b) 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); c) 서열번호: 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); d) 서열번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); e) 서열번호: 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 f) 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항

체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 나노바디를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 100 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 15(TCWEWDLDF)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLDSDGHTYLN)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 95에 제시된 아미노산 서열(TSWEWDLDF)을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 21(RSSQSLLDSDGHTYLN)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80% 동일한 VH 서열; 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80% 동일한 VL 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 90% 동일한 VH 서열; 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 90% 동일한 VL 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간 gp130에 대한 인간 LIF의 결합을 차단한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 LIF에 결합할 때 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 적어도 하나에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 LIF에 결합할 때 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 중 모두에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 재조합 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 포함된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체 또는 약학 조성물은 암을 치료하는 방법에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 개체에서 암을 치료하는 방법은 재조합 항체 또는 약학 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 암을 가진 대상을 치료하기 위한 암 치료제를 제조하는 방법은 약학적으로 허용가능한 담체 및 재조합 항체를 혼합하는 단계를 포함한다.

[0034]

특정 양태에서 a) 서열번호: 4-7 또는 33 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); b) 서열번호: 11-13 또는 35 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); c) 서열번호: 17-19 또는 37 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); d) 서열번호: 21-23 또는 39 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); e) 서열번호: 25-27 또는 41 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 f) 서열번호: 29, 30, 또는 43 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서; 재조합 항체는 LIF에 특이적으로 결합하는 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 나노바디이다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, -CDR1은 서열번호: 6(NAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 12(IKDKSDNYAT)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 18(WEWYLD)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 22(QSLLSDGHTY)에 제시된 아미노산 서열에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 26(SVS)에 제시된 아미노산 서열에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 7(SKFM)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 13(WIYPGDGTTEYNQKFSE)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 19(RDYHSSHFA)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 23(RSSQSLHNNGNTYLS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 27(QVSNRFS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 30(GQGTQYPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH-CDR1은 서열번호: 33(TAGMQ)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VH-CDR2는 서열번호: 35(WINTQSGEPQYVDDFRG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VH-CDR3은 서열번호: 37(WALYSEYDVMD

Y)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR1은 서열번호: 39(KASENVDSYVS)에 제시된 아미노산 서열을 포함하며, VL-CDR2는 서열번호: 41(GASNRYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, VL-CDR3은 서열번호: 43(GQSYRYPPT)에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 인간 gp130에 대한 인간 LIF의 결합을 차단한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 재조합 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 포함된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체 또는 약학 조성물은 암을 치료하는 방법에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 개체에서 암을 치료하는 방법은 재조합 항체 또는 약학 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 암을 가진 대상을 치료하기 위한 암 치료제를 제조하는 방법은 약학적으로 허용가능한 담체 및 재조합 항체를 혼합하는 단계를 포함한다.

[0035] 특정 양태에서 a) 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1; b) 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2; c) 서열번호: 15(TCWEWDLDF)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3, d) 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 아미노산 서열에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, e) 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2; 및 f) 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체로서; 서열번호: 15의 시스테인 잔기는 티로신, 트립토판, 히스티딘, 리신 또는 아르기닌을 제외한 임의의 아미노산인 것인 재조합 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 글리코실화된 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 탈면역화된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 Fab, F(ab)₂, 단일-도메인 항체, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 나노바디이다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 약 200 피코몰 미만의 해리 상수(K_D)로 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 인간 gp130에 대한 인간 LIF의 결합을 차단한다. 특정 구현예에서, 재조합 항체는 재조합 항체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 포함된다. 특정 구현예에서, 재조합 항체 또는 약학 조성물은 암을 치료하는 방법에서의 용도를 위한 것이다. 특정 구현예에서, 개체에서 암을 치료하는 방법은 재조합 항체 또는 약학 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 암을 가진 대상을 치료하기 위한 암 치료제를 제조하는 방법은 약학적으로 허용가능한 담체 및 재조합 항체를 혼합하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 상이한 항-LIF 인간화된 항체의 LIF 유도된 STAT3 인산화의 억제를 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다.

도 2A 및 2B는 인간화된 및 모 5D8 항체의 LIF 유도된 STAT3 인산화의 억제를 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다.

도 3A는 h5D8 항체를 사용한 U-251 세포에서 LIF 억제에 대한 IC₅₀을 나타낸다.

도 3B는 내인성 LIF 자극 조건 하에 pSTAT3의 r5D8 및 h5D8-1 억제의 대표적인 IC₅₀ 용량 반응 곡선을 나타낸다. 대표적인 곡선이 나타나 있다(n=1 h5D8, n=2 r5D8). 모든 IC₅₀ 용량-곡선 및 대조군에 대해서는 부록 도 2, 3, 4를 참조한다.

도 4는 본 발명에 기재된 상이한 단클론 항체의 LIF 유도된 STAT3 인산화의 억제를 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다.

도 5는 인간 환자로부터의 다형성 교모세포종(GBM), NSCLC(비소 세포 폐암종), 난소암, 및 결장암 종양에서 LIF 발현의 면역조직화학 염색 및 정량을 도시한다. 막대는 평균 +/- SEM을 나타낸다.

도 6은 인간화된 5D8 항체를 사용한 비소 세포 폐암의 마우스 모델에서 수행된 실험을 나타내는 그래프이다.

도 7A는 26일에 나타낸 GBM 정량의 동소(orthotopic) 마우스 모델에서 U251 세포의 억제에 대한 r5D8의 영향을 나타낸다.

도 7B는 루시퍼라아제 발현 인간 U251 GBM 세포를 접종한 다음 100, 200 또는 300 μ g의 h5D8 또는 비히클로 매주 2회 처리한 마우스로부터의 데이터를 나타낸다. 종양 크기를 7일에 생물발광(Xenogen IVIS Spectrum)에 의해

결정하였다. 그래프는 개별 종양 측정치를 나타내며, 수평 막대는 평균 ± SEM을 나타낸다. 통계적 유의성을 비 쌍 비모수 만-휘트니 U-검정(unpaired non-parametric Mann-Whitney U-test)을 사용하여 계산하였다.

도 8A는 동계(syngeneic) 마우스 모델에서 난소암 세포의 성장의 억제에 대한 r5D8의 영향을 나타낸다.

도 8B는 25일에 종양의 개별 측정치를 나타낸다.

도 8C는 h5D8이 200 µg/마우스로 매주 2회 투여되었을 때 종양 성장의 유의한 감소를 나타낸다는 것을 예시한다($p<0.05$). 기호는 비히클과 비교한 통계적 유의성인 평균 + SEM이다(비 쌍 비모수 만-휘트니 U-검정).

도 9A는 동계 마우스 모델에서 결장암 세포의 성장 억제에 대한 r5D8의 영향을 나타낸다.

도 9B는 17일에 종양의 개별 측정치를 나타낸다.

도 10A는 CCL22+ 세포의 대표적인 이미지 및 정량과 함께 GBM의 동소 마우스 모델에서 종양 부위로의 대식세포 침윤의 감소를 나타낸다.

도 10B는 인간 기관형(organotypic) 조직 슬라이스 배양 모델에서 대식세포 침윤의 감소를 나타낸다.

도 10C는 CCL22+ 세포의 대표적인 이미지 및 정량과 함께 난소암의 동계 마우스 모델에서 종양 부위로의 대식세포 침윤의 감소를 나타낸다.

도 10D는 CCL22+ 세포의 대표적인 이미지 및 정량과 함께 결장암의 동계 마우스 모델에서 종양 부위로의 대식세포 침윤의 감소를 나타낸다.

도 11A는 r5D8로 처리 후 난소암의 동계 마우스 모델에서 비콜수성 효과기 세포의 증가를 나타낸다.

도 11B는 r5D8로 처리 후 결장암의 동계 마우스 모델에서 비콜수성 효과기 세포의 증가를 나타낸다.

도 11C는 r5D8로 처리 후 NSCLC 암의 마우스 모델에서 CD4+ T_{REG} 세포의 백분율 감소를 나타낸다.

도 12는 항-CD4 및 항-CD8 감소 항체의 존재 또는 부재하에 복강내로 투여된 PBS(대조군) 또는 r5D8로 매주 2회 처리된 CT26 종양을 갖는 마우스로부터의 데이터를 나타낸다. 그래프는 평균 종양 부피 + SEM으로 표시되는 13일에 개별 종양 측정치를 나타낸다. 그룹 간의 통계학적 차이를 비 쌍 비모수 만-휘트니 U-검정에 의해 결정하였다. R5D8은 CT26 종양의 성장을 억제하였다(* $p<0.05$). r5D8에 의한 종양 성장 억제는 항-CD4 및 항-CD8 감소 항체의 존재하에 유의하게 감소하였다(**** $p<0.0001$).

도 13A는 LIF와 복합체화된 h5D8 Fab의 공결정(co-crystal) 구조의 개요를 예시한다. gp130 상호작용 부위가 LIF의 표면에 맵핑되어 있다(어두운 음영).

도 13B는 LIF 및 h5D8 사이의 상세한 상호작용을 예시하며, 이는 염 다리를 형성하는 잔기 및 100 Å² 초과의 매설된(buried) 표면적을 갖는 h5D8 잔기를 보여준다.

도 14A는 5개의 h5D8 Fab 결정 구조의 중첩(superposition)을 예시하며 상이한 화학 조건에서 결정화됨에도 불구하고 고도의 유사성을 나타낸다.

도 14B는 쌍을 형성하지 않은 Cys100에 의해 매개된 반 테르 밸스 상호작용의 광범위한 네트워크를 예시한다. 이 잔기는 잘 배열되어 있으며, HCDR1 및 HCDR3의 형태를 형성하는데 참여하고, 원하지 않는 디설파이드 스크램블링(disulfide scrambling)에 관여하지 않는다. 잔기 사이의 거리는 점선으로 표시되고 라벨링되어 있다.

도 15A는 ELISA에 의한 인간 LIF에 대한 h5D8 C100 돌연변이체의 결합을 예시한다.

도 15B는 ELISA에 의한 마우스 LIF에 대한 h5D8 C100 돌연변이체의 결합을 예시한다.

도 16A는 옥텟(Octet)에 의해 h5D8이 LIF 및 LIFR 사이의 결합을 차단하지 않는다는 것을 예시한다.

도 16B 및 16C는 고정화된 LIFR 또는 gp130에 결합하는 LIF/mAb 복합체의 ELISA 분석을 예시한다. 고정화된 LIFR(도 16B) 또는 gp130(도 16C) 코팅된 플레이트에 결합하는 mAb/LIF 복합체의 항체 부분을 검출하는 종 특이적 페옥시다아제 접합된 항-IgG 항체((-) 및 h5D8에 대한 항-인간, r5d8 및 B09에 대한 항-랫트)의 신호.

도 17A 및 17B는 72개의 상이한 인간 조직에서 LIF(도 16A) 또는 LIFR(도 16B)의 mRNA 발현을 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

특정 정의

- [0037] **특정 정의**
- [0038] 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 기술을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 바와 같이, 단수형 "a," "an," 및 "the"는 문맥이 달리 명확히 지시하지 않는 한 복수 언급을 포함한다. 본원에서 "또는"에 대한 임의의 언급은 달리 명시하지 않는 한 "및/또는"을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0039] 본원에 사용된 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한, 용어 "약"은 명시된 양에 가까운 양, 예를 들어 10%, 5%, 또는 1%를 지칭한다.
- [0040] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "개체," "대상," 및 "환자"는 상호교환적으로 사용되며, 종양, 암 또는 다른 신생물로 진단받거나 걸릴 것으로 의심되는 인간을 포함한다.
- [0041] 본원에 사용된 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한, 용어 "항체"는 항체의 항원 결합 단편, 즉 전장 항체에 의해 결합된 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체 단편, 예컨대 하나 이상의 CDR 영역을 보유하는 단편을 포함한다. 항체 단편의 예는, 비제한적으로, Fab, Fab', F(ab')2, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 중쇄 항체, 단쇄 항체 분자, 예컨대 단쇄 가변 영역 단편(scFv), 나노바디 및 별도의 특이성을 갖는 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체, 예컨대 이중특이적 항체를 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체에 대한 개체의 면역 반응을 감소시키는 방식으로 인간화된다. 예를 들어 항체는 키메라, 예컨대 인간 불변 영역을 갖는 비인간 가변 영역일 수 있거나, 또는 CDR 접목, 예컨대 인간 불변 영역 및 가변 영역 프레임워크 서열을 갖는 비인간 CDR 영역일 수 있다. 특정 구현예에서, 항체는 인간화 후에 탈면역화된다. 탈면역화는 항체의 불변 영역에서 하나 이상의 T-세포 에피토프를 제거하거나 돌연변이시키는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 단클론성이다. 본원에 사용된 바와 같이, "재조합 항체"는 2개의 상이한 종 또는, 2개의 상이한 공급원으로부터 유래된 아미노산 서열을 포함하는 항체이며, 합성 분자, 예를 들어, 비인간 CDR 및 인간 프레임워크 또는 불변 영역을 포함하는 항체를 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 재조합 항체는 재조합 DNA 분자로부터 생산되거나 합성된다.
- [0042] 용어 "암" 및 "종양"은 탈조절된 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 병태에 관한 것이다. 암은 세포의 군이 제어되지 않은 성장 또는 원치 않는 성장을 나타내는 질환의 부류이다. 암세포는 또한 다른 위치로 확산될 수 있고, 이는 전이의 형성으로 이어질 수 있다. 체내에서 암세포의 확산은, 예를 들어, 림프 또는 혈액을 통해 발생할 수 있다. 제어되지 않은 성장, 침입, 및 전이 형성은 암의 악성 특성으로도 불린다. 이러한 악성 특성은 전형적으로 침입 또는 전이하지 않는 양성 종양과 암과 구별한다.
- [0043] 참조 폴리펩타이드 또는 항체 서열에 대한 퍼센트(%) 서열 동일성은 서열을 정렬하고 필요한 경우 캡을 도입하여 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하고 임의의 보존적 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않은 후, 참조 폴리펩타이드 또는 항체 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율이다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN, 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공중이 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 알려진 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 비교되는 서열의 전체 길이에 대해 최대 정렬을 달성하는데 필요한 알고리즘을 포함하여, 서열을 정렬하기 위한 적절한 매개변수가 결정될 수 있다. 그러나, 본원의 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨테크(Genentech) 사에 의해 만들어졌고, 소스 코드는 미국 저작권청(워싱턴 D.C., 20559)에 사용자 문서로 제출되었으며, 미국 저작권 등록번호 TXU510087 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨테크사(South San Francisco, Calif.)로부터 공중이 이용가능하거나, 또는 소스 코드로부터 컴파일될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함하는 UNIX 운영 체제에서 사용하도록 컴파일되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되며 다양하지 않다.
- [0044] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 사용되는 경우, 주어진 아미노산 서열 B에 대한 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성(이는 대안적으로 주어진 아미노산 서열 B에 대한 특정 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로서 표현될 수 있음)은 하기와 같이 계산된다: $100 \times \frac{\text{분율 X}}{\text{Y}}$, 여기서 X는 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 상기 프로그램의 A 및 B의 정렬에서 동일한 매치로서 스코어된 아미노산 잔기의 수이며, Y는 B에서 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않는 경우, B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성은 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임이 이해될 것이다. 달리 명시적으로 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은

ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 바로 앞 단락에 기재된 바와 같이 수득된다.

[0045] 용어 "에피토프"는 항체와 같은 항원 결합 단백질에 의해 결합될 수 있는 임의의 결정기(determinant)를 포함한다. 에피토프는 상기 항원을 표적으로 하는 항원 결합 단백질이 결합하는 항원의 영역이며, 항원이 단백질인 경우 항원 결합 단백질과 직접 접촉하는 특정 아미노산을 포함한다. 일반적으로, 에피토프는 단백질 상에 존재하지만, 일부 경우 당류 또는 지질과 같은 다른 종류의 분자 상에 존재할 수 있다. 에피토프 결정기는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 또는 설포닐기와 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹을 포함할 수 있고, 특정 3차원 구조적 특징, 및/또는 특정 전하 특징을 가질 수 있다. 일반적으로, 특정 표적 항원에 특이적인 항체는 단백질 및/또는 거대분자의 복합 혼합물에서 표적 항원 상의 에피토프를 우선적으로 인식할 것이다.

본원에 기재된 항체의 구조적 특성

[0047] 상보성 결정 영역("CDR")은 항체의 항원 결합 특이성을 주로 담당하는 면역글로불린(항체) 가변 영역의 부분이다. CDR 영역은 항체가 동일한 표적 또는 에피토프에 특이적으로 결합하는 경우에도 항체마다 매우 가변적이다. 중쇄 가변 영역은 VH-CDR1, VH-CDR2, 및 VH-CDR3으로 약칭되는 3개의 CDR 영역을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 VL-CDR1, VL-CDR2, 및 VL-CDR3으로 약칭되는 3개의 CDR 영역을 포함한다. 이들 CDR 영역은 가변 영역에서 연속적으로 정렬되며, CDR1이 가장 N-말단이고 CDR3이 가장 C-말단이다. CDR 사이에는 프레임워크 영역이 배치되며, 이는 구조에 기여하고 CDR 영역보다 훨씬 적은 가변성을 나타낸다. 중쇄 가변 영역은 VH-FR1, VH-FR2, VH-FR3, 및 VH-FR4로 약칭되는 4개의 프레임워크 영역을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 VL-FR1, VL-FR2, VL-FR3, 및 VL-FR4로 약칭되는 4개의 프레임워크 영역을 포함한다. 2개의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 완전한 전장 2가 항체는 3개의 독특한 중쇄 CDR 및 3개의 독특한 경쇄 CDR을 갖는 12개의 CDR; 4개의 독특한 중쇄 FR 영역 및 4개의 독특한 경쇄 FR 영역을 갖는 16개의 FR 영역을 포함할 것이다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 최소한 3개의 중쇄 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 최소한 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 최소한 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR을 포함한다. 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌[Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD ("카밧" 넘버링 체계); Al-Lazikani et al., (1997) *JMB* 273:927-948 ("초티아" 넘버링 체계); MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography," ("컨택트(Contact)" 넘버링 체계); Lefranc MP et al., "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," *Dev Comp Immunol*, 2003 Jan;27(1):55-77 ("IMGT" 넘버링 체계); 및 Honegger A and Pluckthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool," *J Mol Biol*, 2001 Jun 8;309(3):657-70, ("아호(Aho)" 넘버링 체계)]에 기재된 것을 포함하는 임의의 많은 널리 공지된 체계를 사용하여 쉽게 결정될 수 있다. CDR은 본원에서 카밧, IMGT, 초티아 넘버링 시스템, 또는 3개의 임의의 조합과 함께, 상이한 넘버링 시스템을 사용하여 제공된 가변 서열로부터 본원에서 확인된다. 주어진 CDR 또는 FR의 경계는 확인을 위해 사용된 체계에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 카밧 체계는 구조적 정렬을 기반으로 하는 반면, 초티아 체계는 구조적 정보를 기반으로 한다. 카밧 및 초티아 체계 모두에 대한 넘버링은 가장 일반적인 항체 영역 서열 길이를 기반으로 하며, 삽입은 삽입 문자, 예를 들어, "30a"에 의해 수용되고, 결실은 일부 항체에 나타난다. 상기 2개의 체계는 상이한 위치에 특정 삽입 및 결실("indel")을 배치하여 상이한 넘버링을 초래한다. 컨택트 체계는 복잡한 결정 구조의 분석을 기반으로 하며 많은 면에서 초티아 넘버링 체계와 유사하다.

[0048] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체를 항원에 결합시키는데 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인(각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 가지며, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR) 및 3개의 CDR을 포함한다(예컨대, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91(2007) 참고). 단일 VH 또는 VL 도메인이 항원 결합 특이성을 부여하는데 충분할 수 있다. 또한, 특정 항원에 결합하는 항체는 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리되어 각각 상보적 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝할 수 있다(예컨대, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887(1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628(1991) 참고). 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 랫트 기원의 가변 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 랫트 기원의 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 마우스 기원의 가변 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 마우스 기원의 CDR을 포함한다.

[0049] 예컨대, 항체 친화성을 개선하기 위해 CDR에서 변경(예컨대, 치환)이 이뤄질 수 있다. 이러한 변경은 체세포 성

숙 동안 높은 돌연변이 비율을 갖는 코돈을 코딩하는 CDR에서 이뤄질 수 있고(예컨대, Chowdhury, *Methods Mol Biol.* 207:179-196(2008) 참고), 생성된 변이체는 결합 친화성에 대해 시험될 수 있다. 친화성 성숙(예컨대, 오류 유발 PCR, 사슬 셔플링(chain shuffling), CDR의 무작위화, 또는 올리고뉴클레오타이드 유발 돌연변이 생성을 사용하여)이 항체 친화성을 개선하는데 사용될 수 있다(예컨대, Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (2001) 참고). 항원 결합에 관여하는 CDR 잔기는, 예컨대, 알라닌 스캐닝 돌연변이 생성 또는 모델링을 사용하여 구체적으로 확인될 수 있다(예컨대, Cunningham and Wells *Science*, 244:1081-1085(1989) 참고). 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 항원-항체 복합체의 결정 구조를 분석하여 항체 및 항원 사이의 접촉점을 확인한다. 이러한 접촉 잔기 및 인접 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체를 스크리닝하여 이들이 원하는 특성을 함유하는지 여부를 결정할 수 있다.

[0050] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 가변 영역 외에 불변 영역(C_{H})은, 가변 영역의 C-말단인 전체 중쇄 폴리펩타이드의 C-말단에 위치한 $C_{H}1$, $C_{H}2$, $C_{H}3$, 및 $C_{H}4$ 로 약칭되는 4개의 도메인을 포함한다. 경쇄 불변 영역(C_{L})은 C_{H} 보다 훨씬 작으며, 가변 영역의 C-말단인 전체 경쇄 폴리펩타이드의 C-말단에 위치한다. 불변 영역은 고도로 보존되며 약간 상이한 기능 및 특성과 관련된 상이한 아이소타입을 포함한다. 특정 구현예에서, 불변 영역은 표적 항원에 대한 항체 결합에 불필요하다. 특정 구현예에서, 항체, 즉 중쇄 및 경쇄 모두의 불변 영역은 항체 결합에 불필요하다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 경쇄 불변 영역, 중쇄 불변 영역 중 하나 이상, 또는 둘 모두가 결여된다. 대부분의 단클론 항체는 IgG 아이소타입이며; 이는 4개의 하위부류 IgG₁, IgG₂, IgG₃, 및 IgG₄로 더 나뉜다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 임의의 IgG 하위부류를 포함한다. 특정 구현예에서, IgG 하위부류는 IgG₁을 포함한다. 특정 구현예에서, IgG 하위부류는 IgG₂를 포함한다. 특정 구현예에서, IgG 하위부류는 IgG₃을 포함한다. 특정 구현예에서, IgG 하위부류는 IgG₄를 포함한다.

[0051] 항체는 보체 및 Fc 수용체에 결합하는 것을 담당하는 단편 결정화가능한 영역(fragment crystallizable region, Fc 영역)을 포함한다. Fc 영역은 항체 분자의 $C_{H}2$, $C_{H}3$, 및 $C_{H}4$ 영역을 포함한다. 항체의 Fc 영역은 보체 및 항체 의존적 세포 세포독성(ADCC)을 활성화시키는 것을 담당한다. Fc 영역은 또한 항체의 혈청 반감기에 기여한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 보체 매개 세포 용해를 촉진하는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 ADCC를 촉진하는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 보체 매개 세포 용해를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 Fc 수용체에 대한 항체의 결합을 증가시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 구현예에서, Fc 수용체는 Fc γ RI(CD64), Fc γ RIIA(CD32), Fc γ RIIIA(CD16a), Fc γ RIIIB(CD16b), 또는 이의 임의의 조합을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체의 Fc 영역은 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 치환은 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 항체의 친화성을 증가시킨다.

[0052] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체는 모든 효과기 기능은 아니지만 일부 효과기 기능을 갖는 변이체이며, 이는 상기 항체를 항체의 생체내 반감기가 중요하지만 특정 효과기 기능(예컨대 보체 및 ADCC)이 불필요하거나 유해한 적용에 바람직한 후보로 만든다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/감손을 확인하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 분석이 수행될 수 있다. 예를 들어, Fc 수용체(FcR) 결합 분석을 수행하여 항체가 Fc γ R 결합이 결여되어 있으나(따라서 ADCC 활성이 결여될 가능성이 높음) FcRn 결합 능력을 보유한다는 것을 보장할 수 있다. 관심있는 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 분석의 비제한적인 예는 미국 특허 제5,500,362호 및 제5,821,337호에 기재되어 있다. 대안적으로, 비방사성 분석 방법이 사용될 수 있다(예컨대, ACTI™ 및 CytoTox 96® 비방사성 세포독성 분석). 이러한 분석을 위한 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 단핵구, 대식세포, 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다.

[0053] 항체는 증가된 반감기 및 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 개선된 결합을 가질 수 있다(예컨대, US 제2005/0014934호 참고). 이러한 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 하나 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함할 수 있고, EU 넘버링 시스템에 따른 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 하나 이상에서 치환을 갖는 것을 포함할 수 있다(예컨대, 미국 특허 제7,371,826호 참고). Fc 영역 변이체의 다른 예가 또한 고려된다(예컨대, Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40(1988); 미국 특허 제5,648,260호 및 제5,624,821호; 및 WO 제94/29351

호 참고).

[0054] 임상에서 유용한 항체는 인간 개체에서 면역원성을 감소시키기 위해 종종 "인간화"된다. 인간화된 항체는 단클론 항체 요법의 안전성 및 효능을 개선한다. 한 가지 일반적인 인간화 방법은 단클론 항체를 임의의 적합한 동물(예컨대, 마우스, 랙트, 햄스터)에서 생산하고 불변 영역을 인간 불변 영역으로 대체하는 것이며, 이 방식으로 조작된 항체는 "키메라성"으로 불린다. 또 다른 일반적인 방법은 비인간 V-FR을 인간 V-FR로 대체하는 "CDR 접목(grafting)"이다. CDR 접목 방법에서, CDR 영역을 제외한 모든 잔기는 인간 기원이다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 인간화된다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 키메라성이다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 CDR 접목된다.

[0055] 인간화는 일반적으로 항체의 전체 친화성을 감소시키거나 거의 영향을 미치지 않는다. 인간화 후에 예기치 않게 이들의 표적에 대해 더 큰 친화성을 갖는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 인간화는 항체에 대한 친화성을 10% 증가시킨다. 특정 구현예에서, 인간화는 항체에 대한 친화성을 25% 증가시킨다. 특정 구현예에서, 인간화는 항체에 대한 친화성을 35% 증가시킨다. 특정 구현예에서, 인간화는 항체에 대한 친화성을 50% 증가시킨다. 특정 구현예에서, 인간화는 항체에 대한 친화성을 60% 증가시킨다. 특정 구현예에서, 인간화는 항체에 대한 친화성을 75% 증가시킨다. 특정 구현예에서, 인간화는 항체에 대한 친화성을 100% 증가시킨다. 친화성은 적합하게는 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 사용하여 측정된다. 특정 구현예에서, 친화성은 글리코실화된 인간 LIF를 사용하여 측정된다. 특정 구현예에서, 글리코실화된 인간 LIF는 SPR 칩의 표면 상에 고정화된다. 특정 구현예에서, 항체는 약 300 나노몰, 200 나노몰, 150 나노몰, 125 나노몰, 100 나노몰, 90 나노몰, 80 나노몰, 70 나노몰, 60 나노몰, 50 나노몰, 40 나노몰 이하, 또는 그 미만의 K_d 로 결합한다.

본 발명의 신규 항체

[0056] 본원에 기재된 항체는 인간 LIF를 코딩하는 DNA로 면역화된 랙트 및 마우스로부터 생성되었다.

[0057] 특정 구현예에서, 서열번호: 1-7 또는 33 중 어느 하나에 제시된 VH-CDR1, 서열번호: 9-13 또는 35 중 어느 하나에 제시된 VH-CDR2, 및 서열번호: 15-19 또는 37 중 어느 하나에 제시된 VH-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 21-23 또는 39 중 어느 하나에 제시된 VL-CDR1, 서열번호: 25-27 또는 41 중 어느 하나에 제시된 VL-CDR2, 및 서열번호: 29, 30, 43 중 어느 하나에 제시된 VL-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 1-7 또는 33 중 어느 하나에 제시된 VH-CDR1, 서열번호: 9-13 또는 35 중 어느 하나에 제시된 VH-CDR2, 및 서열번호: 15-19 또는 37 중 어느 하나에 제시된 VH-CDR3, 서열번호: 21-23 또는 39 중 어느 하나에 제시된 VL-CDR1, 서열번호: 25-27 또는 41 중 어느 하나에 제시된 VL-CDR2, 및 서열번호: 29, 30, 43 중 어느 하나에 제시된 VL-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다.

[0058] 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약

80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 90%, 또는 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 80%, 90%, 또는 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 80%, 90%, 또는 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다.

[0060] 5D8

[0061] 본원에 기재된 항체는 인간 LIF를 코딩하는 DNA로 면역화된 랙트 및 마우스로부터 생성되었다. 상기 하나의 항체(5D8)를 클로닝 및 시퀀싱하였고, 하기 아미노산 서열을 갖는 CDR(카밧 및 IMGT CDR 넘버링 방법의 조합을 사용하여)을 포함한다: 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 상응하는 VH-CDR1, 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 상응하는 VH-CDR2, 서열번호: 15(TCWEWDLDF)에 상응하는 VH-CDR3, 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 상응하는 VL-CDR1, 서열번호: 25(SVSNLES)에 상응하는 VL-CDR2, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 상응하는 VL-CDR3.

특정 구현예에서, 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR1, 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR2, 및 서열번호: 15(TCWEWDLDF)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR1, 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR2, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 VH-CDR1, 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 VH-CDR2, 서열번호: 15(TCWEWDLDF)에 제시된 VH-CDR3, 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 VL-CDR1, 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 VL-CDR2, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 VL-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 보존적 아미노산 치환이 본 발명의 CDR의 아미노산 서열에서 구상된다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서

열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이한 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이하며 10%, 20%, 또는 30% 초과로 결합 친화성에 영향을 미치지 않는 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열 모두를 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다.

서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다.

[0063] 특정 구현예에서, 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 95(TSWEWDLDF)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 21(RSSQSLLDSDGHTYLN)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 1(GFTFSHAWMH)에 제시된 VH-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)에 제시된 VH-CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 95(TSWEWDLDF)에 제시된 VH-CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 21(RSSQSLLDSDGHTYLN)에 제시된 VL-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 VL-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 VL-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 보존적 아미노산 치환이 본 발명의 CDR의 아미노산 서열에서 구상된다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 1, 9, 95, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이한 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 1, 9, 95, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이하고 10%, 20%, 또는 30% 초과로 결합 친화성에 영향을 미치지 않는 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열 모두를 포함한다. 특정 구현예에서, 항체 인간 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산

80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 91-94 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 87-90 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 91-94 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다.

[0068] 특정 구현예에서, 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 84에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 84에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 88에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 92에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 88에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 92에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 88에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 97에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 88에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 중쇄; 및 서열번호: 97에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 인간화된 경쇄를 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다.

[0069] 특정 구현예에서, 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); 서열번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); 서열번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); 및 서열번호: 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다.

[0070] 특정 구현예에서, 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); 서열번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); 서열번호: 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); 서열번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); 및 서열번호: 25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다.

[0071] 특정 구현예에서, 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(VH-CDR1); 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 2(VH-CDR2); 서열번호: 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 3(VH-CDR3); 서열번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(VL-CDR1); 및 서열번호: 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 2(VL-CDR2); 및 서열번호: 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 3(VL-CDR3)을 포함하는 백혈병 억제 인자(LIF)에 특이적으로 결합하는 재조합 항체가 본원에 기재된다.

10G7

[0073] 랫트 면역화로부터 클로닝되고 시퀀싱된 또 다른 항체(10G7)는 하기 아미노산 서열을 갖는 CDR(카밧 및 IMGT CDR 넘버링 방법의 조합을 사용하여)을 포함한다: 서열번호: 4(GFTFSNAWMH)에 상응하는 VH-CDR1, 서열번호: 11(QIKDKSDNYATYYAESVKG)에 상응하는 VH-CDR2, 서열번호: 17(TCWEWYLD)에 상응하는 VH-CDR3, 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 상응하는 VL-CDR1, 서열번호: 25(SVSNLES)에 상응하는 VL-CDR2, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 상응하는 VL-CDR3.

[0074] 특정 구현예에서, 서열번호: 4(GFTFSNAWMH)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하

는 VH-CDR1, 서열번호: 11(QIKDKSDNYATYYAESVKG)에 제시된 것과 적어도 80%, 90%, 또는 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 및 서열번호: 17(TCWEWYLDL)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 21(RSSQSLLSDGHTYLN)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 것과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 4(GFTFSNAWMH)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR1, 서열번호: 11(QIKDKSDNYATYYAESVKG)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH-CDR2, 서열번호: 17(TCWEWYLDL)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR1, 서열번호: 25(SVSNLES)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR2, 및 서열번호: 29(MQATHAPPYT)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL-CDR3을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 보존적 아미노산 치환이 본 발명의 CDR의 아미노산 서열에서 구상된다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 4, 11, 17, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이한 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 4, 11, 17, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이하고 10%, 20%, 또는 30% 초과로 결합 친화성에 영향을 미치지 않는 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 모두 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서

열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다.

[0075] 6B5

[0076] 랫트 면역화로부터 클로닝되고 시퀀싱된 또 다른 항체(6B5)는 하기 아미노산 서열을 갖는 CDR(카밧 네버링 방법을 사용하여)을 포함한다: 서열번호: 7(SKFMY)에 상응하는 VH-CDR1, 서열번호: 13(WIYPGDGDTEYNQKFSE)에 상응하는 VH-CDR2, 서열번호: 19(RDYHSSHFAY)에 상응하는 VH-CDR3, 서열번호: 23(RSSQSLLHNNGNTYLS)에 상응하는 VL-CDR1, 서열번호: 27(QVSNRFS)에 상응하는 VL-CDR2, 및 서열번호: 30(GQGTQYPYT)에 상응하는 VL-CDR3.

특정 구현예에서, 서열번호: 7(SKFMY)에 제시된 것과 적어도 80% 동일한 VH-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 13(WIYPGDGDTEYNQKFSE)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 19(RDYHSSHFAY)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 23(RSSQSLLHNNGNTYLS)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 27(QVSNRFS)에 제시된 것과 적어도 80% 동일한 VL-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 30(GQGTQYPYT)에 제시된 것과 적어도 80% 동일한 VL-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 7(SKFMY)에 제시된 VH-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 13(WIYPGDGDTEYNQKFSE)에 제시된 VH-CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 19(RDYHSSHFAY)에 제시된 VH-CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 23(RSSQSLLHNNGNTYLS)에 제시된 VL-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 27(QVSNRFS)에 제시된 VL-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 30(GQGTQYPYT)에 제시된 VL-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 보존적 아미노산 치환이 본 발명의 CDR의 아미노산 서열에서 구상된다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 7, 13, 19, 23, 27, 및 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이한 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 7, 13, 19, 23, 27, 및 30 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이하고 10%, 20%, 또는 30% 초과로 결합 친화성에 영향을 미치지 않는 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-

FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열 모두를 포함한다. 특정 구현예에서, 항체 인간 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체 인간 LIF에 특이적으로 결합한다.

[0078] 9G7

마우스 면역화로부터 클로닝되고 시퀀싱된 또 다른 항체(9G7)는 하기 아미노산 서열을 갖는 CDR(카밧 넘버링 방법을 사용하여)을 포함한다: 서열번호: 33(TAGMQ)에 상응하는 VH-CDR1, 서열번호: 35(WINTQSGEPQYVDDFRG)에 상응하는 VH-CDR2, 서열번호: 37(WALYSEYDVMY)에 상응하는 VH-CDR3, 서열번호: 39(KASENVDSYVS)에 상응하는 VL-CDR1, 서열번호: 41(GASNRYT)에 상응하는 VL-CDR2, 및 서열번호: 43(GQSYPPT)에 상응하는 VL-CDR3을 포함한다.

특정 구현예에서, 서열번호: 33(TAGMQ)에 제시된 것과 적어도 80% 동일한 VH-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 35(WINTQSGEPQYVDDFRG)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 37(WALYSEYDVMY)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VH-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 39(KASENVDSYVS)에 제시된 것과 적어도

80% 또는 90% 동일한 VL-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 41(GASNRYT)에 제시된 것과 적어도 80% 동일한 VL-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 43(GQSYRYPPT)에 제시된 것과 적어도 80% 또는 90% 동일한 VL-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 33(TAGMQ)에 제시된 VH-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 35(WINTQSGEPQYVDDFRG)에 제시된 VH-CDR2 아미노산 서열, 서열번호: 37(WALYSEYDVMDY)에 제시된 VH-CDR3 아미노산 서열, 서열번호: 39(KASENVDSYVS)에 제시된 VL-CDR1 아미노산 서열, 서열번호: 41(GASNRYT)에 제시된 VL-CDR2 아미노산 서열, 및 서열번호: 43(GQSYRYPPT)에 제시된 VL-CDR3 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 보존적 아미노산 치환이 본 발명의 CDR의 아미노산 서열에서 구상된다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 39, 41, 43, 33, 35, 및 37 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이한 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 서열번호: 39, 41, 43, 33, 35, 및 37 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 또는 4개 아미노산이 상이하며 10%, 20%, 또는 30% 초과로 결합 친화성에 영향을 미치지 않는 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 또는 약 95% 동일한 VL-FR4 아미노산 서열 모두를 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 44-47 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 48-49 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50-52 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 53-55 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 영역 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, LIF에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호: 56-59 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 60-63 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열,

서열번호: 64-67 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 또는 서열번호: 68-70 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 경쇄 프레임워크 영역은 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 인간 중쇄 프레임워크 영역 및 하나 이상의 인간 경쇄 영역은 서열번호: 45에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 49에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 50에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR3 아미노산 서열, 서열번호: 54에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VH-FR4 아미노산 서열, 서열번호: 57에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR1 아미노산 서열, 서열번호: 61에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR2 아미노산 서열, 서열번호: 65에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR3 아미노산 서열, 및 서열번호: 68에 제시된 아미노산 서열과 동일한 VL-FR4 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 인간 LIF에 특이적으로 결합한다.

[0081]

본원에 기재된 항체는 인간 LIF에 직접 결합한다. 인간 LIF의 표준(canonical) 아미노산 서열은 서열번호: 98에 의해 제공된다. 당업자는 인간 접단 중에서 서열번호: 98 및 임의의 주어진 인간 개체에 의해 발현된 LIF 사이에 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산의 차이를 야기할 수 있는 서열번호: 98의 천연 변이체가 가능하다는 것을 이해할 것이다. 자연적 변경으로 인해 발생하는 작은 변화는 본원에 기재된 임의의 항체의 처리시 상이한 결합 동역학 또는 효능을 일으킬 것으로 예상되지 않는다.

[0082]

치료적으로 유용한 LIF 항체에 의해 결합된 에피토프

[0083]

결합할 때 LIF 생물학적 활성(예컨대, STAT3 인산화)을 억제하고 생체내에서 종양 성장을 억제하는 인간 LIF의 독특한 에피토프가 본원에 기재된다. 본원에 기재된 에피토프는, 인간 LIF 단백질의 2개의 구별되는 위상 도메인(알파 나선 A 및 C)에 존재하는 2개의 불연속적인 아미노산 구간(인간 LIF의 잔기 13 내지 잔기 32 및 잔기 120 내지 138)으로 구성된다. 이 결합은 약한(반 데르 발스 인력), 중간(수소 결합), 및 강한(염 다리) 상호작용의 조합이다. 특정 구현예에서, 접촉 잔기는 항-LIF 항체 상의 잔기와 수소 결합을 형성하는 LIF 상의 잔기이다. 특정 구현예에서, 접촉 잔기는 항-LIF 항체 상의 잔기와 염 다리를 형성하는 LIF 상의 잔기이다. 특정 구현예에서, 접촉 잔기는 항-LIF 항체 상의 잔기와 반 데르 발스 인력을 초래하고 항-LIF 항체 상의 잔기의 적어도 5, 4, 또는 3 옹스트롬 이내이다.

[0084]

특정 구현예에서, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 또는 H138 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개에 결합하는 단리된 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 단리된 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 단리된 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강하거나 중간 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강한 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 LIF의 나선 A 및 C와 상호작용한다. 특정 구현예에서, 항체는 gp130과의 LIF 상호작용을 차단한다.

[0085]

특정 구현예에서, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 또는 H138 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개에 결합하는 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강하거나 중간 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강한 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다.

[0086]

특정 구현예에서, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 또는 H138 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,

13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개에 결합하는 서열번호: 1, 9, 95, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 서열번호: 1, 9, 95, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 갖는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강하거나 중간 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강한 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다.

[0087] 특정 구현예에서, 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산이 상이하고 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 또는 H138 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개에 결합하는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 1, 9, 15, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산이 상이하고 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강하거나 중간 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강한 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다.

[0088] 특정 구현예에서, 서열번호: 1, 9, 95, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산이 상이하고 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 또는 H138 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개에 결합하는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 1, 9, 95, 21, 25, 및 29 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열과 1, 2, 3, 4, 또는 5개 아미노산이 상이하고 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 CDR을 포함하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강하거나 중간 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강한 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다.

[0089] 특정 구현예에서, 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 인간화된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열; 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일하고 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 또는 H138 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개에 결합하는 인간화된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 72에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 인간화된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열; 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일하고 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 인간화된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강하거나 중간 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강한 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다.

[0090] 특정 구현예에서, 서열번호: 96에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 인간화된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열; 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 인간화된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하고, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 또는 H138 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개에 결합하는 항체가 본원에 기재된다. 특정 구현예에서, 서열번호: 96에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 인간화된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열; 및 서열번호: 76에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 인간화된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 LIF에 특이적으로 결합하고, 하기 잔기: 서열번호: 98의 A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, 및 H138 중 모두에 결합하는 항체가 본원에 기재된다.

특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강하거나 중간 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다. 특정 구현예에서, 항체는 항체와 함께 강한 상호작용에 참여하는 잔기에만 결합한다.

[0091] 치료적 표시

특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 세포 내 LIF 신호전달을 억제한다. 특정 구현예에서, U-251 세포에서 혈청 고갈 조건 하에 항체의 생물학적 억제를 위한 IC₅₀은 약 100, 75, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 또는 1 나노몰 이하이다. 특정 구현예에서, U-251 세포에서 혈청 고갈 조건 하에 항체의 생물학적 억제를 위한 IC₅₀은 약 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 또는 100 나노몰 이하이다.

특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 LIF를 발현하는 종양 및 암을 치료하는데 유용하다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체로 치료된 개체는 LIF 양성 종양/암을 갖는 것으로서 치료를 위해 선택되었다. 특정 구현예에서, 종양은 LIF 양성이나 상승된 수준의 LIF를 생산한다. 특정 구현예에서, LIF 양성은 참조값 또는 설정된 병리학적 기준과 비교하여 결정된다. 특정 구현예에서, LIF 양성 종양은 종양이 유래된 비형질전환 세포보다 2배, 3배, 5배, 10배, 100배 이상을 초과하는 LIF를 발현한다. 특정 구현예에서, 종양은 LIF의 획득된 이소성(ectopic) 발현을 갖는다. LIF 양성 종양은, 예를 들어, 항-LIF 항체를 이용한 면역조직화학을 사용하여 조직학적으로; 예를 들어, 실시간 PCR 또는 RNA-seq에 의한 mRNA 정량과 같은 일반적으로 사용되는 분자 생물학 방법에 의해; 또는 단백질 정량, 예를 들어, 웨스턴 블롯, 유세포 분석법, ELISA, 또는 균질 단백질 정량 분석(예컨대, alphaLISA)에 의한 단백질 정량을 사용하여 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 항체는 암으로 진단받은 환자를 치료하는데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 암은 하나 이상의 암 줄기 세포를 포함하거나 하나 이상의 암 줄기 세포이다.

특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 LIF 수용체(CD118)를 발현하는 암에서 종양을 치료하는데 유용하다. LIF 수용체 양성 종양은 조직병리학 또는 유세포 분석법에 의해 결정될 수 있고, 특정 구현예에서, 아이소타입 대조군보다 2x, 3x, 3x, 4x, 5x, 10x 이상을 초과로 LIF 수용체 항체에 결합하는 세포를 포함한다. 특정 구현예에서, 종양은 LIF 수용체의 획득된 이소성 발현을 갖는다. 특정 구현예에서, 암은 암 줄기 세포이다. 특정 구현예에서, LIF 양성 종양 또는 암은 항-LIF 항-LIF 항체를 사용한 면역조직화학에 의해 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, LIF 양성 종양은 HC 분석에 의해 종양의 상위 10%, 20%, 30%, 40%, 또는 상위 50% 내의 LIF 수준으로 결정된다.

본원에 기재된 항체는 많은 결과에 영향을 미친다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 대조군 항체(예컨대, 아이소타입 대조군)와 비교하여 종양 모델에서 종양 내의 M2 대식세포의 존재를 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상 감소시킬 수 있다. M2 대식세포는 IHC 절편에서 CCL22 및 CD206 염색에 의해 또는 종양 침윤성 면역 또는 골수 세포의 유세포 분석법에 의해 확인될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 대조군 항체(예컨대, 아이소타입 대조군)와 비교하여 gp130 종양에 대한 LIF의 결합을 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상 감소시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 대조군 항체(예컨대, 아이소타입 대조군)와 비교하여 LIF 반응성 세포주에서 LIF 신호전달을 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상 감소시킬 수 있다. LIF 신호전달은, 예를 들어, 인산화된 STAT3(LIF 신호전달의 하류 표적)에 대한 웨스턴 블롯에 의해 측정될 수 있다. 본원의 항체는 또한 다른 IL-6 패밀리 구성원 사이토카인과 비교하여 LIF에 매우 특이적이다. 특정 구현예에서, 항체는 임의의 다른 IL-6 패밀리 구성원 사이토카인의 친화성보다 약 10x, 약 50x, 또는 약 100x 큰 친화성으로 인간 LIF에 결합한다. 특정 구현예에서, LIF 항체는 포유동물 시스템에서 생산되는 다른 IL-6 패밀리 구성원 사이토카인에 결합하지 않는다. 특정 구현예에서, 항체는 포유동물 시스템에서 생산된 온코스타틴 M에 결합하지 않는다.

특정 구현예에서, 암 또는 종양의 치료에 유용한 항체가 본원에 개시된다. 특정 구현예에서, 암은 유방, 심장, 폐, 소장, 결장, 비장, 신장, 방광, 머리, 목, 난소, 전립선, 뇌, 췌장, 피부, 뼈, 골수, 혈액, 흉선, 자궁, 고환, 및 간 종양을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체로 치료될 수 있는 종양은 선종(adenoma), 선암(adenocarcinoma), 혈관육종(angiosarcoma), 성상세포종(astrocytoma), 상피 암종(epithelial carcinoma), 배세포종(germinoma), 교모세포종(glioblastoma), 신경교종(glioma), 혈관내피종(hemangioendothelioma), 혈관육종(hemangiosarcoma), 혈종(hematoma), 간모세포종(hepatoblastoma), 백혈병(leukemia), 림프종(lymphoma), 수모세포종(medulloblastoma), 흑색종(melanoma), 신경모세포종(neuroblastoma), 골육종(osteosarcoma), 망막아세포종(retinoblastoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 육종(sarcoma) 및/또는 기형종(teratoma)을 포함한다. 특정 구현예에서, 종양/암은 말단 흑자 흑색종(acral lentiginous melanoma), 광선 각화증(actinic keratosis), 선암, 선낭암종(adenoid cystic carcinoma), 선종, 선육종(adenosarcoma), 선편평세포 암종

(adenosquamous carcinoma), 성상세포 종양(astrocytic tumors), 바르톨린 샘 암종(BARTHOLIN gland carcinoma), 기저 세포 암종(basal cell carcinoma), 기관지샘 암종(bronchial gland carcinoma), 모세혈관 암양종(capillary carcinoid), 암종, 암육종, 담관암종(cholangiocarcinoma), 연골육종(chondrosarcoma), 낭선종(cystadenoma), 내배엽동 종양(endodermal sinus tumor), 자궁내막 증식증(endometrial hyperplasia), 자궁내막 간질 육종(endometrial stromal sarcoma), 자궁내막양 선암(endometrioid adenocarcinoma), 상의 육종(ependymal sarcoma), 스윙 육종(Swing's sarcoma), 국소 결절 증식증(focal nodular hyperplasia), 가스트린 종(gastronoma), 생식계열 종양(germ line tumors), 교모세포종, 글루카콘종(glucagonoma), 혈관모세포종(hemangioblastoma), 혈관내피종(hemangioendothelioma), 혈관종(hemangioma), 간 선종(hepatic adenoma), 간 선종증(hepatic adenomatosis), 간세포 암종(hepatocellular carcinoma), 인슐린종(insulinite), 상피내 종양증(intraepithelial neoplasia), 상피내 편평세포 종양증(intraepithelial squamous cell neoplasia), 침윤성 편평 세포 암종(invasive squamous cell carcinoma), 거대 세포 암종(large cell carcinoma), 지방육종(liposarcoma), 폐암종(lung carcinoma), 림프모구 백혈병(lymphoblastic leukemia), 림프성 백혈병(lymphocytic leukemia), 평활근육종(leiomyosarcoma), 흑색종, 악성 흑색종, 악성 중피 종양(malignant mesothelial tumor), 신경초 종양(nerve sheath tumor), 수모세포종(medulloblastoma), 수질상피종(medulloepithelioma), 중피종(mesothelioma), 점막표피양 암종(mucoepidermoid carcinoma), 골수성 백혈병(myeloid leukemia), 신경모세포종(neuroblastoma), 신경상피 선암(neuroepithelial adenocarcinoma), 결절성 흑색종(nodular melanoma), 골육종, 난소암종(osteosarcoma), 유두상 장액성 선암(papillary serous adenocarcinoma), 뇌하수체 종양(pituitary tumors), 형질세포종(plasmacytoma), 가육종(pseudosarcoma), 전립선 암종, 폐 모세포종(pulmonary blastoma), 신장 세포 암종, 망막아세포종, 횡문근육종, 육종, 장액성 암종(serous carcinoma), 편평 세포 암종, 소세포 암종(small cell carcinoma), 연조직 암종(soft tissue carcinoma), 소마스타틴 분비 종양(somatostatin secreting tumor), 편평 암종, 편평 세포 암종, 미분화 암종(undifferentiated carcinoma), 포도막 흑색종(uveal melanoma), 사마귀모양 암종(verrucous carcinoma), 질/외음부 암종(vagina/vulva carcinoma), 비포마(VIPoma), 및 월름 종양(Wilm's tumor)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체로 치료될 종양/암은 뇌암, 두경부암, 결장직장암종, 급성 골수성 백혈병, 전-B-세포 급성 림프모구 백혈병(pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia), 방광암, 성상세포종, 바람직하게는 II, III 또는 IV급 성상세포종, 교모세포종, 다형성 교모세포종(glioblastoma multiforme), 소 세포 암, 및 비소 세포 암, 바람직하게는 비소 세포 폐암, 폐 선암, 전이성 흑색종, 안드로겐 비의존적 전이성 전립선 암, 안드로겐 의존적 전이성 전립선 암, 전립선 선암, 및 유방암, 바람직하게는 유방 선관 암, 및/또는 유방 암종을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체로 치료되는 암은 교모세포종을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 췌장암을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 난소암을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체로 치료되는 암은 결장암을 포함한다. 특정 구현예에서, 치료되는 암은 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암을 포함한다. 특정 구현예에서, 암은 다른 치료에 난치성이다. 특정 구현예에서, 치료되는 암은 재발성이다. 특정 구현예에서, 암은 재발성/난치성 교모세포종, 췌장암, 난소암, 결장암, 전립선암, 또는 폐암이다.

[0097] 치료적 방법

[0098]

특정 구현예에서, 항체는 예를 들어, 피하, 복강내, 정맥내, 근육내, 종양내, 또는 대뇌내 등과 같은 항체 함유약학 조성물의 투여에 적합한 임의의 경로에 의해 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 항체는 정맥내로 투여된다. 특정 구현예에서, 항체는 적합한 투여 스케줄, 예를 들어, 매주, 매주 2회, 매월, 매월 2회 등으로 투여된다. 특정 구현예에서, 항체는 3주마다 1회씩 투여된다. 항체는 임의의 치료적 유효량으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 치료적으로 허용가능한 양은 약 0.1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg이다. 특정 구현예에서, 치료적으로 허용가능한 양은 약 5 mg/kg 내지 약 30 mg/kg이다.

[0099] 추가 치료제

[0100]

특정 구현예에서, 항체는 추가의 치료제와 함께 또는 추가의 치료제를 이용한 치료 동안 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 치료제는 재조합 단백질 또는 단클론 항체를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 단백질 또는 단클론 항체는 에타라시주맙(Abegrin), 타카투주맙 테트락세탄, 베바시주맙(Avastin), 라베투주맙, 세툭시맙(Erbxitux), 오비누투주맙(Gazyva), 트라스투주맙(Herceptin), 클리바투주맙, 트라스투주맙 엠탄신(Kadcyla),

라무시루맙, 리툭시맙(MabThera, 리툭산), 챔투주맙 오조가미신(Mylotarg), 페르투주맙(Omnitarg), 지렌툭시맙(Rencarex), 또는 니모투주맙(Theracim, Theraloc)을 포함한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 체크포인트 억제제, 예를 들어 PD-1 또는 CTLA-4를 표적화하는 면역조절제를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역조절제는 니볼루맙, 이필리무맙, 아테졸리주맙, 또는 펜브롤리주맙을 포함한다. 특정 구현예에서, 추가의 치료제는 화학치료제이다. 특정 구현예에서, 화학치료제는 알킬화제(예컨대, 사이클로포스파미드, 이포스파미드, 클로람부실, 부설판, 멜팔란, 메클로레타민, 우라무스틴, 티오텐파, 니트로소우레아, 또는 테모졸로미드), 안트라사이클린(예컨대, 독소루비신, 아드리아마이신, 다우노루비신, 에피루비신, 또는 미톡산트론), 세포골격 파괴제(예컨대, 파클리탁셀 또는 도세탁셀), 히스톤 데아세틸라아제 억제제(예컨대, 보리노스타트 또는 로미펩신), 토포이소마라아제의 억제제(예컨대, 이리노테칸, 토포테칸, 암사크린, 에토포시드, 또는 테니포시드), 키나제 억제제(예컨대, 보르테조닙, 엘로티닙, 제피티닙, 이마티닙, 베무라페닙, 또는 비스모데닙), 뉴클레오시드 유사체 또는 전구체 유사체(예컨대, 아자시티딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 시타라빈, 플루오우라실, 쟈시타빈, 하이드록시우레아, 머캅토퓨린, 메토트렉세이트, 또는 티오구아닌), 웨타이드 항생제(예컨대, 악티노마이신 또는 블레오마이신), 백금계 계제(예컨대, 시스플라틴, 옥살로플라틴, 또는 카르보플라틴), 또는 식물 알칼로이드(예컨대, 빙크리스틴, 빙블라스틴, 비노렐빈, 빙데신, 포도필로톡신, 파클리탁셀, 또는 도세탁셀)이다. 일부 구현예에서, 화학치료제는 뉴클레오사이드 유사체이다. 일부 구현예에서, 화학치료제는 쟈시타빈이다. 특정 구현예에서, 추가의 치료제는 방사선 요법이다.

[0101] 약학적으로 허용가능한 담체

특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 멸균 용액에 혼탁되어 투여된다. 특정 구현예에서, 용액은 생리학적으로 적절한 염 농도(예컨대, NaCl)를 포함한다. 특정 구현예에서, 용액은 약 0.6% 내지 1.2% NaCl을 포함한다. 특정 구현예에서, 용액은 약 0.7% 내지 1.1% NaCl을 포함한다. 특정 구현예에서, 용액은 약 0.8% 내지 1.0% NaCl을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체의 고농축 스톡 용액은 약 0.9% NaCl에 희석될 수 있다. 특정 구현예에서, 용액은 약 0.9% NaCl을 포함한다. 특정 구현예에서, 용액은 하나 이상의 완충제, 예를 들어, 아세테이트, 시트레이트, 히스티딘, 석시네이트, 포스페이트, 바이카보네이트 및 하이드록시메틸아미노메탄(Tris); 계면활성제, 예를 들어, 폴리소르베이트 80(트윈 80), 폴리소르베이트 20(트윈 20), 폴리소르베이트 및 폴록사며 188; 폴리올/이당류/다당류, 예를 들어, 글루코스, 텍스트로스, 만노스, 만니톨, 소르비톨, 수크로스, 트레할로스, 및 텍스트란 40; 아미노산, 예를 들어, 히스티딘, 글리신 또는 아르기닌; 항산화제, 예를 들어, 아스코브산, 메티오닌; 및 킬레이트화제, 예를 들어, EGTA 또는 EGTA를 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 투여 전에 동결건조되어 선적/저장되고 재구성된다. 특정 구현예에서, 동결건조된 항체 제제는 만니톨, 소르비톨, 수크로스, 트레할로스, 및 텍스트란 40과 같은 중량제를 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항-LIF 항체는 사용 치료 부위에서 희석될 농축된 스톡 용액으로서 선적 및 저장될 수 있다. 특정 구현예에서, 스톡 용액은 약 25mM 히스티딘, 약 6% 수크로스, 약 0.01% 폴리소르베이트, 및 약 20mg/mL의 항-LIF 항체를 포함한다.

[0103] 실시예

하기의 예시적인 실시예는 본원에 기재된 소프트웨어 적용, 시스템, 및 방법의 구현예를 대표하며, 어떤 방식으로든 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0105] 실시예 1- LIF에 특이적인 랫트 항체의 생성

인간 LIF의 아미노산 23-202를 코딩하는 cDNA를 발현 플라스미드(Aldevron GmbH, Freiburg, Germany)에 클로닝하였다. 실험실 랫트(Wistar)의 그룹을 입자-충격("유전자 총")을 위한 휴대용 장치를 사용하여 DNA 코팅된 금-입자의 피내 적용에 의해 면역화시켰다. 일시적으로 형질감염된 HEK 세포 상의 세포 표면 발현을 LIF 단백질의 N-말단에 부가된 태그를 인식하는 항-태그 항체로 확인하였다. 일련의 면역화 후 혈청 샘플을 수집하고, 전술한 발현 플라스미드로 일시적으로 형질감염된 HEK 세포에서 유세포 분석법에서 시험하였다. 항체를 생산하는 세포를 단리하고, 표준 절차에 따라 마우스 골수종 세포(Ag8)와 융합시켰다. LIF에 특이적인 항체를 생산하는 하이브리도마를 전술한 바와 같이 유세포 분석에서의 스크리닝에 의해 확인하였다. 양성 하이브리도마 세포의 세포 펠렛을 RNA 보호제(ThermoFisher Scientific사에 의한 RNAlater, cat. #AM7020)를 사용하여 제조하였고, 항체의 가변 도메인의 시퀀싱을 위해 추가로 처리하였다.

[0107] 실시예 2- LIF에 특이적인 마우스 항체의 생성

인간 LIF의 아미노산 23-202를 코딩하는 cDNA를 발현 플라스미드(Aldevron GmbH, Freiburg, Germany)에 클로닝하였다. 실험실 마우스(NMRI)의 그룹을 입자-충격("유전자 총")을 위한 휴대용 장치를 사용하여 DNA 코팅된 금-

입자의 피내 적용에 의해 면역화시켰다. 일시적으로 형질감염된 HEK 세포 상의 세포 표면 발현을 LIF 단백질의 N-말단에 부가된 태그를 인식하는 항-태그 항체로 확인하였다. 일련의 면역화 후 혈청 샘플을 수집하고, 전술한 발현 플라스미드로 일시적으로 형질감염된 HEK 세포에서 유세포 분석법에서 시험하였다. 항체를 생산하는 세포를 단리하고, 표준 절차에 따라 마우스 골수종 세포(Ag8)와 융합시켰다. LIF에 특이적인 항체를 생산하는 하이브리도마를 전술한 바와 같이 유세포 분석에서의 스크리닝에 의해 확인하였다. 양성 하이브리도마 세포의 세포 펠렛을 RNA 보호제(ThermoFisher Scientific사에 의한 RNAlater, cat. #AM7020)를 사용하여 제조하였고, 항체의 가변 도메인의 시퀀싱을 위해 추가로 처리하였다.

[0109] 실시예 3- LIF에 특이적인 랫트 항체의 인간화

랫트 면역화로부터 하나의 클론(5D8)을 후속 인간화를 위해 선택하였다. 인간화를 표준 CDR 접목 방법을 사용하여 수행하였다. 중쇄 및 경쇄 영역을 표준 분자 클로닝 기술을 사용하여 5D8 하이브리도마로부터 클로닝하였고, 생거 방법에 의해 시퀀싱하였다. 그리고 나서, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 서열에 대해 BLAST 검색을 수행하였고, 각각으로부터 4개의 서열을 인간화를 위한 수여자 프레임워크로서 선택하였다. 이들 수여자 프레임워크를 탈면역화시켜 T 세포 반응 에피토프를 제거하였다. 5D8의 중쇄 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 4개의 상이한 중쇄 수여자 프레임워크(H1 내지 H4), 및 4개의 상이한 경쇄 프레임워크(L1 내지 L4) 내로 클로닝하였다. 그리고 나서, 16개의 모든 상이한 항체를 CHO-S 세포(Selexis)에서의 발현; LIF 유도된 STAT3 인산화의 억제; 및 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의한 결합 친화성에 대해 시험하였다. 이들 실험이 표 1에 요약되어 있다.

표 1. 5D8 인간화의 요약

중쇄 경쇄 조합	도 1로부터 LIF 유도된 pSTAT3의 억제	SPR K _D 에 의한 친화성 (pM)	발현 (ug/mL)
HOLO	+++	133±46	393
H1L1	-	N/A	627
H1L2	+++	55±23	260
H1L3	+++	54±31	70
H1L4	-	N/A	560
H2L1	-	N/A	369
H2L2	+++	52±22	392
H2L3	++	136±19	185
H2L4	-	N/A	78
H3L1	N/A	N/A	발현 없음
H3L2	N/A	N/A	발현 없음
H3L3	N/A	N/A	발현 없음
H3L4	N/A	N/A	발현 없음
H4L1	-	N/A	259
H4L2	++	913±308	308
H4L3	+		252
H4L4	-	N/A	186

N/A= 시도하지 않음; HOLO=전체 랫트 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 키메라 항체

[0111] [0112] 형질감염된 세포의 발현 성능을 10일의 세포 배양 후 유가 배양 내에서 엘렌마이어 플라스크(3×10^5 세포/mL 시딩, 200 mL 배양 부피)에서 비교하였다. 이 시점에, 세포를 채취하고 분비된 항체를 단백질 A 컬럼을 사용하여 정제한 다음, 정량화하였다. H3 중쇄를 사용하는 것을 제외한 모든 인간화된 항체가 발현되었다.

- [0113] 티로신 705에서의 LIF 유도된 STAT3 인산화의 억제를 웨스턴 블롯에 의해 결정하였다. U251 신경교종 세포를 6-웰 플레이트에 100.000 세포/웰의 밀도로 도말하였다. 세포를 임의의 처리 전 24시간 동안 완전 배지에서 배양하고, 이후 세포를 8시간 동안 고갈시켰다. 이후, 세포를 표시된 항체로 10 µg/ml의 농도로 밤새 처리하였다. 처리 후, 단백질을 포스파타아제 및 프로테아제 억제제를 함유하는 방사성 면역침전 분석(RIPA) 용해 완충제에서 수득하고, 정량화하고(BCA-단백질 분석, Thermo Fisher Scientific), 웨스턴 블롯에 사용하였다. 웨스턴 블롯을 위해, 막을 5% 탈지 분유 - TBST에서 1시간 동안 차단시키고, 일차 항체와 함께 밤새(p-STAT3, 카탈로그 #9145, Cell Signaling 또는 STAT3, 카탈로그 #9132, Cell Signaling) 또는 30분(β -액틴-파옥시다아제, 카탈로그 #A3854, Sigma-Aldrich) 배양하였다. 그리고 나서, 막을 TBST로 세척하고, 이차와 함께 배양하고, 다시 세척하였다. 단백질을 화학발광(SuperSignal Substrate, 카탈로그 #34076, Thermo Fisher Scientific)에 의해 검출하였다. 이들 결과가 **도 1**에 나타나 있다. pSTAT3 밴드가 더 어두울수록, 더 적은 억제가 존재한다. 억제는 5D8(비인간화된 랫트), A(HOLO), C(H1L2), D(H1L3), 및 G(H2L2)로 표시된 레인에서 높았고; 억제는 H(H2L3), O(H4L2), 및 P(H4L3)에서 중간이었으며; 억제는 B(H1L1), E(H1L4), F(H2L1), I(H2L4), N(H4L1) 및 Q(H4L4)에서 없었다.
- [0114] 이후, LIF 유도된 STAT3 인산화의 억제를 나타낸 항체를 SPR에 의해 분석하여 결합 친화성을 결정하였다. 간략하게, 아민 커플링된 hLIF에 대한 A(HOLO), C(H1L2), D(H1L3), 및 G(H2L2), H(H2L3) 및 O(H4L2) 인간화된 항체의 결합을 Biacore™ 2002 기기를 사용하여 관찰하였다. 동역학 상수 및 친화성을 6개의 리간드 농도에서 모든 센서 칩 표면에서 생성된 모든 센서그램의 수학적 센서그램 피팅(랑무어(Langmuir) 상호작용 모델 [A + B = AB])에 의해 결정하였다. 각각의 농도의 최적 피팅 곡선(최소 Chi²)을 동역학 상수 및 친화성의 계산에 사용하였다. **표 1**을 참고한다.
- [0115] 실험 설정이 2가 항체를 분석물로 사용하였으므로, 인간화된 항체의 표적 결합 메커니즘에 보다 상세한 통찰력을 얻기 위해 2가 분석물 피팅 모델 [A+B = AB; AB+B = AB₂]에 기초하여 최적 피팅 센서그램을 또한 분석하였다. 2가 피팅 모델 [A+B = AB; AB+B = AB₂]을 사용한 동역학 센서그램 분석은 mAb 샘플의 상대적 친화성 순위를 확인시켜 주었다.
- [0116] H2 및 L2를 포함하는 인간화된 5D8을 높은 결합 친화성 및 회분 배양으로부터의 높은 수율 때문에 보다 심층적인 분석을 위해 선택하였다.
- [0117] 실시예 4- 클론 5D8의 인간화는 LIF에의 결합을 개선한다
- [0118] 본 발명자들은 추가 분석을 위해 H2L2 클론(h5D8)을 선택하였고, 모 랫트 5D8(r5D8) 및 마우스 클론 1B2에 대한 결합을 SPR에 의해 비교하였다. 1B2 항체는 이전에 독일 생물자원센터(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen and Zellkulturen GmbH(DSM ACC3054))에 기탁된 이전에 개시된 마우스 항-LIF 항체이며, 비교 목적을 위해 포함되었다. *E.coli* 및 HEK-293 세포로부터 각각 정제된 재조합 인간 LIF를 리간드로서 사용하였다. 인간 또는 *E.coli* 공급원으로부터의 LIF를 아민 커플링 화학을 사용하여 비아코어(Biacore) 광학 센서 칩의 표면에 공유적으로 커플링시키고, 결합 친화성을 동역학 상수로부터 계산하였다.
- [0119] 물질 및 방법
- [0120] *E.coli*로부터의 인간 LIF를 Millipore, 참조 LIF 1010으로부터 수득하였고; HEK-293 세포로부터의 인간 LIF를 ACRO Biosystems, 참조 LIF-H521b로부터 수득하였다. LIF를 비아코어 아민 커플링 키트(BR-1000-50; GE-Healthcare, Uppsala)를 사용하여 센서 칩에 커플링시켰다. 샘플을 CM5 광학 센서 칩(BR-1000-12; GE-Healthcare, Uppsala)을 사용하여 비아코어™ 2002 상에서 실행시켰다. 비아코어 HBS-EP 완충제를 기계 실행 동안 사용하였다(BR-1001-88; GE-Healthcare, Uppsala). 결합 센서그램의 동역학 분석을 BIAevaluation 4.1 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 증가하는 분석물 농도에서 모든 센서 칩 표면 상에서 생성된 모든 센서그램의 수학적 센서그램 피팅(랭무어 상호작용 모델 [A + B = AB])에 의해 동역학 상수 및 친화성을 결정하였다. 결정된 랭무어 항체 - 표적 친화성에 대한 2가 기여의 추정치(예컨대, 결합력 기여)를 생성하기 위해, 성분 분석을 포함하여 2가 분석물 센서그램 피팅 모델[A+B = AB; AB+B = AB₂]에 기초하여 센서그램을 또한 분석하였다. 각각의 농도의 최적 피팅된 곡선(최소 Chi²)을 동역학 상수 및 친화성의 계산에 사용하였다. 이들 친화성 실험의 요약이 **표 2**(*E.coli*에서 제조된 인간 LIF) 및 **표 3**(HEK 293 세포에서 제조된 인간 LIF)에 나타나 있다.

표 2. 인간화 후 5D8의 개선된 결합	K_D [pM]	
hLIF(<i>E. coli</i>)	랭듀어 1:1 센서그램 피팅	2가 분석물 피팅
마우스 1B2	400±210	1500±200
r5D8(랫트)	130±30	780±130
h5D8(인간화됨)	26±14	82±25

[0121]

표 3. 인간화 후 5D8의 개선된 결합	K_D [pM]	
hLIF(HEK 293)	랭듀어 1:1 센서그램 피팅	2가 분석물 피팅
마우스 1B2	320±150	3900±900
r5D8(랫트)	135±100	410±360
h5D8(인간화됨)	13±6	63±30

[0122]

[0123] 이 실험 세트로부터의 랭듀어 1:1 센서그램 피팅 모델은 인간화된 5D8(h5D8) 항체가 마우스 1B2 및 r5D8보다 인간 LIF에 ~10 - 25배 더 높은 친화성으로 결합하였음을 나타낸다.

[0124]

다음으로, h5D8 항체를 SPR에 의해 다수의 종의 LIF에 대해 시험하였다. h5D8 SPR 결합 동역학을 상이한 종 및 발현 시스템으로부터 유래된 재조합 LIF 분석물에 대해 수행하였다: 인간 LIF(*E.coli*, HEK293 세포); 마우스 LIF(*E.coli*, CHO 세포); 뱃트 LIF(*E.coli*); 시노몰구스 원숭이 LIF(효모, HEK293 세포).

[0125]

물질 및 방법

[0126]

h5D8 항체를 비공유, Fc 특이적 캡처링에 의해 센서 칩 표면에 고정화시켰다. 재조합, Ig(Fc) 특이적 *S. aureus* 단백질 A/G를 캡처제로 사용하여, 항-LIF 항체를 LIF 분석물에 입체적으로 균일하고 유연하게 제공하였다. LIF 분석물의 공급원은 다음과 같다: 인간 LIF(*E.coli*; Millipore 참조 LIF 1050); 인간 LIF(HEK 세포 ACRO Biosystems LIF-H521); 마우스 LIF(*E. coli*; Millipore Cat. No NF-LIF2010); 마우스 LIF(CHO 세포; Reprokin 카탈로그 # RCP09056); 원숭이 LIF(yeast Kingfisher Biotech 카탈로그 # RP1074Y); HEK-293 세포에서 생산된 원숭이 LIF. 전반적인 h5D8은 몇 가지 종으로부터의 LIF에 대해 결합을 나타내었다. 이 친화성 실험의 요약이 표 4에 나타나 있다.

표 4. 인간화된 5D8의 광범위한 종 반응성	랭듀어 1:1 센서그램 피팅		
분석물	평균 $K_a(1/Ms)[10^5]$	평균 $K_d(1/S)$ [10^{-5}]	평균 K_D [pM]
인간 LIF(<i>E.coli</i>)	8.5 ± 0.7	7.2 ± 0.7	86 ± 9
인간 LIF(HEK-293)	5.5 ± 0.02	3.1 ± 0.7	56 ± 13
마우스 LIF(<i>E.coli</i>)	21.4 ± 3.7	5.7 ± 1.0	27 ± 6
마우스 LIF(CHO 세포)	6.5 ± 0.7	1.1 ± 0.3	17 ± 4
Cyno 원숭이 LIF(효모)	6.3 ± 0.8	5.4± 0.7	89 ± 10
Cyno 원숭이 LIF(HEK-293)	2.4 ± 0.2	3.3± 0.3	134 ± 6

[0127]

[0128] 실시예 5-인간화된 클론 5D8은 시험관내에서 STAT3의 LIF 유도된 인산화를 억제한다

[0129]

h5D8의 생물학적 활성을 결정하기 위해, 인간화된 형태 및 모 형태를 LIF 활성화의 세포 배양 모델에서 시험하였다. 도 2A는 신경교종 세포주가 인간 LIF와 함께 배양되었을 때 인간화된 클론이 STAT3 인산화(Tyr 705)의 증가된 억제를 나타내었음을 보여준다. 도 2B는 h5D8 항체의 상이한 희석으로 반복된 도 2A의 동일한 설정을 갖는 실험을 나타낸다.

[0130]

방법

[0131]

U251 신경교종 세포를 150,000 세포/웰의 밀도로 6-웰 플레이트에 도말하였다. 세포를 임의의 처리 전에 24시간 동안 완전 배지에서 배양하였다. 이후, 세포를 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도의 r5D8 항-LIF 항체 또는 h5D8 항-LIF 항체로 밤새 처리하거나 처리하지 않았다(대조군 세포).

[0132]

처리 후, 단백질을 포스파타아제 및 프로테아제 억제제를 함유하는 방사성-면역침전 분석(RIPA) 용해 완충제에서 수득하고, 정량하고(BCA-단백질 분석, Thermo Fisher Scientific), 웨스턴 블로트에서 사용하였다. 웨스턴 블로트를 위해, 막을 5% 탈지 분유 - TBST에서 1시간 동안 차단하고, 일차 항체와 밤새(p-STAT3, 카탈로그 #9145, Cell Signaling 또는 STAT3, 카탈로그 #9132, Cell Signaling) 또는 30분(β -액틴-페옥시다아제, 카탈로그 #A3854, Sigma-Aldrich) 배양하였다. 그리고 나서, 막을 TBST로 세척하고, 필요한 경우 이차 항체와 함께 배양하고, 다시 세척하였다. 단백질을 화학발광(SuperSignal Substrate, 카탈로그 #34076, Thermo Fisher Scientific)에 의해 검출하였다.

[0133]

실시예 6-U-251 세포에서 LIF의 내인성 수준에 대한 h5D8 항체 처리의 IC_{50} 값.

[0134]

본 발명자들은 또한 U-251 세포에서 혈청 고갈 조건하에 h5D8의 생물학적 억제에 대해 490 피코몰 정도의 낮은 IC_{50} 을 결정하였다. 대표적인 결과는 3A 및 3B 및 표 5를 참고한다.

표 5							
세포주 조직	세포주 이름	처리	IC ₅₀ (nM)			IC ₉₀ (nM)	JAK 억제 (%)
			n=1	n=2	평균		
GBM	U251	h5D8	0.78	0.54	0.66	0.12	4.1
		r5D8	1.6	1.5	1.4	0.15	8.5
			1.2	1.4			86%

[0135]

방법

[0136]

U-251 세포를 6cm 플레이트당(조건당) 600,000 세포로 시팅하였다. 세포를 혈청 고갈(0.1% FBS) 하에서 37°C에서 밤새 상응하는 농도(적정)의 h5D8로 처리하였다. pSTAT3에 대한 양성 대조군으로서, 재조합 LIF(R&D #7734-LF/CF)를 사용하여 37°C에서 10분 동안 1.79 nM에서 세포를 자극하였다. pSTAT3의 음성 대조군으로서, JAK I 억제제(Calbiochem #420099)를 37°C에서 30분 동안 1uM에서 사용하였다. 그리고 나서, 세포를 Meso Scale Discovery Multi-Spot Assay System 총 STAT3(Cat# K150SND-2) 및 Phospho-STAT3(Tyr705)(Cat# K150SVD-2) 키트의 프로토콜에 따라 용해물에 대해 열음 위에서 채취하여, MSD Meso Sector S600에 의해 검출가능한 단백질 수준을 측정하였다.

[0137]

실시예 7- 인간 LIF에 특이적으로 결합하는 추가의 항체

[0138]

인간 LIF에 특이적으로 결합하는 다른 렛트 항체 클론(10G7 및 6B5)을 확인하였고, 이들의 결합 특징의 요약이 하기에 표 6에 나타나 있으며, 클론 1B2는 비교로서 제공하였다.

[0139]

방법

[0140]

동역학 실시간 결합 분석을 CM5 광학 센서 칩의 표면 상에 고정화된 항-LIF mAb 1B2, 10G7 및 6B5에 대해 수행하여, 재조합 LIF 표적 단백질[인간 LIF(*E.coli*); Millipore Cat. No. LIF 1010 및 인간 LIF(HEK293 세포); ACRO Biosystems Cat. No. LIF-H521b]을 분석물로서 적용하였다.

[0141]

동역학 상수 및 친화성을 전체(센서그램 세트의 동시 피팅)뿐만 아니라 단일 곡선 피팅 알고리즘을 적용하는 랭 뮤어 1:1 결합 모델을 사용한 수학적 센서그램 피팅에 의해 수득하였다. 전체 피팅의 타당성을 k_{obs} 분석에 의해 평가하였다.

표 6. 추가의 항-LIF 항체의 친화성 측정		랭류어 1:1 센서그램 피팅		
분석물	클론	평균 K_a (1/Ms)	평균 K_d (1/S)	평균 K_D [nM]
인간 LIF(<i>E. coli</i>)	1B2	1.1 ± 0.4E5	1.1 ± 0.3E-3	9.7 ± 1.4
인간 LIF(HEK-293)	1B2	2.0 ± 0.04E6	1.4 ± 0.2E-3	0.7 ± 0.03
인간 LIF(<i>E. coli</i>)	10G7	7.9 ± 5.8E4	6.0 ± 2.3E-4	12.6 ± 9.5
인간 LIF(HEK-293)	10G7	3.6 ± 1.75E5	3.1 ± 0.5E-4	1.1 ± 0.6
인간 LIF(<i>E. coli</i>)	6B5	N/A	N/A	N/A
인간 LIF(HEK-293)	6B5	3.6 ± 1.7E5	3.1 ± 0.5E-4	62 ± 6

[0143]

[0144] 실시예 8-추가의 항 LIF 항체는 시험관내에서 STAT3의 LIF 유도된 인산화를 억제한다

[0145]

추가의 클론을 세포 배양에서 STAT3의 LIF 유도된 인산화를 억제하는 능력에 대해 시험하였다. 도 4에서 나타낸 바와 같이, 클론 10G7 및 이전에 상세히 설명된 r5D8은 1B2 클론과 비교하여 LIF 유도된 STAT3 인산화의 높은 억제를 나타내었다. 항-LIF 다중클론 항혈청(양성)을 양성 대조군으로서 포함시켰다. 6B5는 억제를 나타내지 않았지만, 이것은 본 실험에 사용된 비글리코실화된 LIF에 대한 6B5 결합의 가능한 결여에 의해 설명될 수 있다.

[0146]

방법

[0147]

환자 유래의 신경교종 세포를 150,000 세포/웰의 밀도로 6-웰 플레이트에 도말하였다. 세포를 임의의 처리 전에 24시간 동안 B27(Life Technologies), 페니실린/스트렙토마이신 및 성장 인자(20 ng/ml EGF 및 20 ng/ml FGF-2 [PeproTech])가 보충된 신경세포배양용 배지(Life Technologies)로 구성된 GBM 배지에서 배양하였다. 다음날, 세포를 15분 동안 *E. coli*에서 생산된 재조합 LIF 또는 재조합 LIF 및 표시된 항체의 혼합물(10 μg/ml의 항체 및 20 ng/ml의 재조합 LIF의 최종 농도)로 처리하거나 처리하지 않았다. 처리 후, 단백질을 포스파타아제 및 프로테아제 억제제를 함유하는 방사성-면역침전 분석(RIPA) 용해 완충제에서 수득하고, 정량화하고(BCA-단백질 분석, Thermo Fisher Scientific), 웨스턴 블롯에서 사용하였다. 웨스턴 블롯을 위해, 막을 5% 탈지 분유 - TBST에서 1시간 동안 차단시키고, 일차 항체와 함께 밤새(p-STAT3, 카탈로그 #9145, Cell Signaling) 또는 30분(β-액틴-페옥시다아제, 카탈로그 #A3854, Sigma-Aldrich) 배양하였다. 그리고 나서, 막을 TBST로 세척하고, 필요한 경우 이차 항체와 함께 배양하고, 다시 세척하였다. 단백질을 화학발광(SuperSignal Substrate, 카탈로그 #34076, Thermo Fisher Scientific)에 의해 검출하였다.

[0148]

실시예 9- LIF는 다수의 종양 유형에서 고도로 과발현된다

[0149]

면역조직화학을 다수의 인간 종양 유형에서 수행하여 LIF 발현 정도를 결정하였다. 도 5에 나타낸 바와 같이, LIF는 다형성 교모세포종(GBM), 비소 세포 폐암(NSCLC), 난소암, 및 결장암(CRC)에서 고도로 발현된다.

[0150]

실시예 10-인간화된 클론 h5D8은 비소 세포 폐암종의 마우스 모델에서 종양 성장을 억제한다

[0151]

생체내에서 LIF 양성 암을 억제하는 인간화된 5D8 클론의 능력을 결정하기 위해, 이 항체를 비소 세포 폐암종(NSCLC)의 마우스 모델에서 시험하였다. 도 6은 비히클 음성 대조군과 비교하여 이 항체로 처리된 마우스에서 감소된 종양 성장을 나타낸다.

[0152]

방법

[0153]

높은 LIF 수준을 갖는 죽과 비소 세포 폐암(NSCLC) 세포주 KLN205는 생체내 생물발광 모니터링을 위해 반딧불루시퍼라아제 유전자를 발현하는 렌티바이러스로 안정적으로 감염되었다. 마우스 모델을 개발하기 위해, 5×10^5

KLN205 비소 세포 폐암(NSCLC) 세포를 늑간 천자에 의해 8주령 면역적격 동계 DBA/2 마우스의 좌측 폐에 동소이식하였다. 마우스를 매주 2회 복강내로 대조군 비히를 또는 15 mg/kg 또는 30 mg/kg의 h5D8 항체로 처리하고, 종양 성장을 생물발광에 의해 모니터링하였다. 생물발광 이미징을 위해, 마우스는 1-2% 흡입된 이소플루란 마취 하에 0.2 mL의 15 mg/mL D-루시페린의 복강내 주사를 받았다. 생물발광 신호를 고감도 냉각 CCD 카메라로 구성된 IVIS 시스템 2000 시리즈(Xenogen Corp., Alameda, CA, USA)를 사용하여 모니터링하였다. 생체 이미지 소프트웨어(Xenogen Corp.)를 사용하여 이미징 데이터를 그리드(grid)하고 각각의 박스 영역에서 총 생물발광 신호를 통합하였다. 데이터를 관심 영역(ROI)에서 총 광자 흐름 방출(광자/초)을 사용하여 분석하였다. 결과는 h5D8 항체 처리가 종양 퇴행을 촉진한다는 것을 입증한다. 데이터가 평균 ± SEM로 제시되어 있다.

[0154] **실시예 11- h5D8은 다형성 교모세포종의 마우스 모델에서 종양 성장을 억제한다**

[0155] 루시페라아제 발현 인간 세포주 U251을 사용하는 동소 GBM 종양 모델에서, r5D8은 매주 2회 복강내(IP) 주사에 의해 300 µg r5D8 및 h5D8을 투여한 마우스에서 종양 부피를 유의하게 감소시켰다. 이 연구 결과가 도 7A에 나타나 있다(처리 후 26일에 정량). 이 실험은 또한 200 µg 또는 300 µg으로 처리된 인간화된 h5D8 마우스를 사용하여 수행하였고, 처리 7일 후 종양의 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다.

방법

[0156] 루시페라아제를 안정적으로 발현하는 U251 세포를 채취하고, PBS에서 세척하고, 400g에서 5분 동안 원심분리하고, PBS에서 재현탁시키고, 자동화 세포 계수기(Countess, Invitrogen)로 계수하였다. 세포를 얼음 위에 보관하여 최적 생존력을 유지시켰다. 마우스를 케타민(Ketolar50®)/Xylacine(Rompun®)(각각 75 mg/kg 및 10 mg/kg)의 복강내 투여로 마취시켰다. 각각의 마우스를 조심스럽게 정위(stereotactic) 장치에 넣고 고정화시켰다. 탈모 크림으로 머리에서 머리카락을 제거하고, 머리 피부를 메스로 잘라 두개골을 노출시켰다. 람다(lambda)에 대해 좌표 1.8 mm 측면 및 1mm 전측에서 드릴로 조심스럽게 작은 절개를 만들었다. 5 µL의 세포를 해밀톤(Hamilton) 30G 주사기를 사용하여 2.5 mm 깊이에서 우측 선조체(corpus striatum)에 접종하였다. 머리 절개를 Hystoacryl 조직 접착제(Braun)로 닫고, 마우스에 피하 진통제 멜록시캄(Meloxicam, Metacam®)(1 mg/kg)을 주사하였다. 각각의 마우스에게 이식된 최종 세포 수는 3×10^5 였다.

[0157] 마우스를 매주 2회 복강내 투여한 h5D8로 처리하였다. 처리는 종양 세포 접종 직후 0일에 시작하였다. 마우스에게 h5D8 또는 비히를 대조군의 총 2개의 용량을 투여하였다.

[0158] 체중 및 종양 부피: 체중을 주당 2회 측정하고, 종양 성장을 7일에 생물발광(Xenogen IVIS Spectrum)에 의해 정량화하였다. 생체내 생물발광 활성을 정량화하기 위해, 마우스를 이소플루오란으로 마취시키고, 루시페린 기질(PerkinElmer)(167 µg/kg)을 복강내로 주사하였다.

[0159] 생물발광(Xenogen IVIS Spectrum)에 의해 결정된 종양 크기를 7일에 평가하였다. 각각의 처리군에 대한 개별 종양 측정 및 평균 ± SEM을 계산하였다. 통계적 유의성을 비쌍 비모수 만-휘트니 U-검정에 의해 결정하였다.

[0160] **실시예 12- h5D8은 난소암의 마우스 모델에서 종양 성장을 억제한다**

[0161] r5D8의 효능을 2개의 다른 동계 종양 모델에서 평가하였다. 난소 동소 종양 모델 ID8에서, 300 µg r5D8의 매주 2회 IP 투여는 복강 부피에 의해 측정된 바와 같이 종양 성장을 유의하게 억제하였다(도 8A 및 8B). 도 8C의 결과는 h5D8이 또한 200 µg 이상의 용량으로 종양 부피를 감소시켰다는 것을 보여준다.

방법

[0162] ID8 세포를 10% 우테아 혈청(FBS)(Gibco, Invitrogen), 40 U/mL 페니실린 및 40 µg/mL 스트렙토마이신(PenStrep)(Gibco, Invitrogen) 및 0.25 µg/mL 플라스모신(Plasmocin, Invivogen)이 보충된 둘베코 변형 이글 배지(DMEM)(Gibco, Invitrogen)에서 배양하였다.

[0163] ID8 세포를 채취하고, PBS에서 세척하고, 400 g에서 5분 동안 원심분리하고, PBS에 재현탁시켰다. 세포를 최적의 생존력을 유지하기 위해 얼음 위에 보관하고, 200 µL의 세포 혼탁액을 27G 바늘로 복강내로 주사하였다. 마우스에 이식된 최종 세포 수는 5×10^6 이었다.

[0164] 마우스를 표시된 상이한 용량으로 복강내로 투여된 h5D8로 매주 2회 처리하였다. 체중을 주당 2회 측정하고, 캘리퍼스(Fisher Scientific)를 사용하여 복부 둘레를 측정하여 종양 진행을 모니터링하였다.

[0165] **실시예 13- r5D8은 결장암의 마우스 모델에서 종양 성장을 억제한다**

[0168] 피하 결장 CT26 종양을 갖는 마우스에서, r5D8(매주 2회 복강내로 300 μg)을 투여됨은 종양 성장을 유의하게 억제하였다(**도 9A 및 9B**).

방법

[0169] CT26 세포를 10% 우태아 혈청(FBS), 40 U/mL 페니실린 및 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스트렙토마이신(PenStrep) 및 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 플라스모신이 보충된 Roswell Park Memorial Institute 배지(RPMI [Gibco, Invitrogen])에서 배양하였다.

[0170] CT26 세포(8×10^5)에 트립신을 처리하고, PBS로 헹구고, 400 g에서 5분 동안 원심분리하고, 100 μL PBS에 재현탁시켰다. 세포를 세포 사멸을 피하기 위해 얼음에 보관하였다. CT26 세포를 27G 바늘을 사용하여 피하 주사로 통해 마우스에 투여하였다.

[0171] 300 μg r5D8, 또는 비히클 대조군을 CT26 세포 이식 후 3일부터 매주 2회 복강내 주사(IP)를 통해 마우스에 투여하였다.

[0172] 체중 및 종양 부피를 주당 3회 측정하였다. 종양 부피를 캘리퍼스(Fisher Scientific)를 사용하여 측정하였다.

[0173] **실시예 14-** r5D8은 종양 모델에서 염증성 침윤을 감소시킨다

[0174] U251 GBM 동소 모델에서, M2 극성 대식세포의 마커인 CCL22의 발현은 **도 10A**에 나타낸 바와 같이 r5D8로 처리된 종양에서 유의하게 감소하였다. 이 발견은 또한 3개의 환자 샘플이 **도 10B**에 나타낸 바와 같이 처리 후 CCL22 및 CD206(MRC1) 발현(또한 M2 대식세포의 마커)의 유의한 감소를 나타낸 h5D8을 사용하여 생리학적으로 관련된 기관형(organotypic) 조직 슬라이스 배양 모델에서 확인되었다(MRC1 및 CCL22 모두에 대해 처리된 상부 좌측 대조군을 하부 우측과 비교). 또한, r5D8은 또한 면역적격 마우스에서 동계 ID8(**도 10C**) 및 CT26(**도 10D**) 종양에서 CCL22⁺M2 대식세포를 감소시켰다.

[0175] **실시예 15-** r5D8은 비콜수성 효과기 세포를 증가시킨다

[0176] 추가적인 면역 메커니즘을 조사하기 위해, 종양 미세환경 내에서 T 세포 및 다른 비콜수성 면역 효과기 세포에 대한 r5D8의 영향을 평가하였다. 난소 동소 ID8 동계 모델에서, r5D8 처리는 **도 11A**에 나타낸 바와 같이 종양내 NK 세포의 증가 및 총 및 활성화된 CD4⁺ 및 CD8⁺T 세포의 증가를 초래하였다. 유사하게도, 결장 동계 CT26 종양 모델에서, r5D8은 **도 11B**에 나타낸 바와 같이 종양내 NK 세포를 증가시켰고, CD4+ 및 CD8+T 세포를 증가시켰으며, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T-reg 세포를 감소시키는 경향을 보였다. CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T-reg 세포의 감소 경향은 또한 **도 11C**에 나타낸 바와 같이 r5D8 처리 후 동계 동소 KLN205 종양 모델에서 관찰되었다. 효능을 매개하는 T 세포의 필요성과 일치하게도, CT26 모델에서 CD4⁺ 및 CD8⁺T 세포의 감소는 **도 12**에 나타낸 바와 같이 r5D8의 항종양 효능을 억제하였다.

T 세포 감소 방법

[0177] CT26 세포를 10% 우태아 혈청(FBS [Gibco, Invitrogen]), 40 U/mL 페니실린 및 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스트렙토마이신(PenStrep [Gibco, Invitrogen]) 및 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 플라스모신(Invivogen)이 보충된 RPMI 배양 배지(Gibco, Invitrogen)에서 배양하였다. CT26 세포(5×10^5)를 수집하고, PBS로 헹구고, 400 g에서 5분 동안 원심분리하고, 100 μL PBS에 재현탁시켰다. 세포를 세포 사멸을 피하기 위해 얼음 위에 보관하였다. CT26 세포를 27G 주사기를 사용하여 피하 주사를 통해 마우스에 양 측면에 투여하였다. 마우스를 연구 설계에 표시된 대로 복강내로 투여한 r5D8로 매주 2회 처리하였다. 비히클 대조군(PBS), 랫트 r5D8, 및/또는 항-CD4 및 항-CD8을 연구 설계에 명시된 바와 같이 매주 2회 복강내 주사(IP)를 통해 마우스에 투여하였다. 모든 항체 치료를 동시에 투여하였다.

[0178] **실시예 16-** 인간 LIF와 복합체화된 h5D8의 결정 구조

[0179] h5D8이 결합된 LIF에서 에피토프를 결정하고 결합에 참여하는 h5D8의 잔기를 결정하기 위해 h5D8의 결정 구조를 3.1 옹스트롬의 해상도로 해석하였다. 공결정 구조는 LIF의 N-말단 류프가 h5D8의 경쇄 및 중쇄 가변 영역 사이에 중앙에 위치한다는 것을 밝혀내었다(**도 13A**). 또한, h5D8은 LIF의 나선 A 및 C 상의 잔기와 상호작용하여, 불연속적이고 형태적인 에피토프를 형성한다. 결합은 몇 개의 염-다리, H-결합 및 반 데르 발스 상호작용에 의해 유도된다(**표 7, 도 13B**). LIF의 h5D8 에피토프는 gp130과의 상호작용 영역에 걸쳐있다. 문현[Boulanger, M.J., Bankovich, A.J., Kortemme, T., Baker, D. & Garcia, K.C. Convergent mechanisms for recognition of

divergent cytokines by the shared signaling receptor gp130. *Molecular cell* 12, 577-589 (2003)]을 참고 한다. 결과는 하기 표 7에 요약되어 있으며, 도 13에 도시되어 있다.

표 7. 인간 LIF 와 복합체화된 h5D8의 X 선 결정 구조의 요약		
LIF 잔기(에피토프)	상호작용 유형	h5D8 잔기(파라토프, 카밧 넘버링)
Ala13	VDW	L-Tyr49, L-Asn53
Ile14-0	HB	L-Ser50-OG
Ile	VDW	L-His30, L-Tyr32, L-Tyr49, L-Ser50 H-Trp97
Arg15-NE	SB	L-Glu55-0E1, L-Glu55-0E2
Arg15-NH1	SB	L-Glu55-0E1, L-Glu55-0E2
Arg15-NH2	SB	L-Glu55-0E1, L-Glu55-0E2
Arg15-0	HB	L-Asn34-ND2
Arg15	VDW	L-Asn34, L-Leu46, L-Tyr49, L-Glu55, L-Ser56 H-Glu96, H-Trp97, H-Asp98, H-Leu99, H-Asp101
His16-NE2	SB	H-Asp101-OD2
His16	VDW	L-Tyr32, L-Asn34, L-Met89 H-Trp95, H-Glu96, H-Trp97, H-Asp101
Prol7	VDW	L-Tyr32, L-Ala91 H-Trp97
Cys18	VDW	L-Tyr32 H-Trp83, H-Trp97
His19-NE2	SB	H-Glu96-0E1, H-Glu96-0E2
His19	VDW	H-His31, H-Trp83, H-Glu96
Asn20-OD1	HB	H-Lys52-NZ
Asn20-ND2	HB	H-Asp53-OD1
Asn20	VDW	H-Trp83, H-Lys52, H-Asp53
Gln25-NE2	HB	H-Asp53-OD2
Gln25	VDW	H-His31, H-Ser52C, H-Asp53
Gln29	VDW	H-His31
Gln32	VDW	H-Lys52B
Asp120-OD2	HB	H-Ser30-OG
Asp120	VDW	H-Thr28, H-Ser30
Arg123-NE	HB	H-Thr28-OG
Arg123	VDW	H-Thr28
Gly124	VDW	H-His31
Leu125	VDW	H-His31
Ser127-OG	HB	H-Asp98-OD2
Ser127-0	HB	H-Trp97-NE1
Ser127	VDW	H-His31, H-Trp97, H-Asp98

[0182]

Asn128-OD1	HB	H-His31-NE2
Asn128	VDW	H-His31
Leu130	VDW	H-Trp97
Cys131	VDW	H-Trp97
Cys134	VDW	H-Trp97
Ser135-0	HB	L-His30-NE2
Ser135	VDW	L-His30
His138	VDW	L-His30

VDW, 반 대로 밸스 저 에너지 결합; HB, 수소 결합(중간 에너지 결합); SB, 엽 다리(고 에너지 결합)

[0183]

방법

[0184]

LIF를 HEK 293S(Gnt I^{-/-}) 세포에서 일시적으로 발현시키고, Ni-NTA 친화성 크로마토그래피 후, 20 mM Tris pH 8.0 및 150 mM NaCl에서 젤-여과 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 재조합 h5D8 Fab를 HEK 293F 세포에서 일시적으로 발현시키고, KappaSelect 친화성 크로마토그래피 후 양이온 교환 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 정제된 h5D8 Fab 및 LIF를 1:2.5 몰비로 혼합하고, EndoH를 사용하여 탈글리코실화하기 전에 30분 동안 실온에서 배양하였다. 이후, 젤-여과 크로마토그래피를 사용하여 복합체를 정제하였다. 복합체를 20 mg/mL로 농축하고, 희소 행렬 스크린을 사용하여 결정화 시험을 준비하였다. 결정을 19%(v/v) 이소프로판올, 19%(w/v) PEG 4000, 5%(v/v) 글리세롤, 0.095 M 구연산 나트륨 pH 5.6을 함유하는 조건에서 4°C에서 형성시켰다. 결정은 캐나다 광원(CLS)에서 08ID-1 범라인에서 3.1 Å의 해상도로 회절되었다. 데이터를 문헌[Kabsch et al. Xds. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 125-132 (2010)]에 따라 XDS를 사용하여 수집, 처리 및 규모 확장시켰다. 구조를 문헌[McCoy et al. Phaser crystallographic software. *J Appl Crystallogr* 40, 658-674 (2007)]에 따라 페이저(Phaser)를 사용하여 분자 치환에 의해 결정하였다. 구조가 허용 가능한 R_{work} 및 R_{free}에 수렴될 때까지 모델 구축 및 개량의 여러 반복을 Coot 및 phenix.refine를 사용하여 수

행하였다. 문헌[Emsley et al. Features and development of Coot. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 486–501 (2010); 및 Adams, et al. PHENIX: a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 213–221 (2010)]을 각각 참고한다. 도면을 PyMOL(The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrodinger, LLC)에서 생성하였다.

[0186] *실시예 17- h5D8은 LIF에 대해 높은 특이성을 갖는다*

[0187] 본 발명자들은 결합 특이성을 결정하기 위해 다른 LIF 패밀리 구성원에 대한 h5D8의 결합을 시험하고자 하였다. Octet96 분석을 사용하여, 두 단백질이 *E. coli*에서 생산될 때 인간 LIF에 대한 h5D8 결합은 LIF의 가장 높은 상동성 IL-6 패밀리 구성원 온코스타틴 M(OSM)에 대한 결합보다 약 100배 더 크다. 두 단백질이 포유동물 시스템에서 생산될 때, h5D8은 OSM에 대한 결합을 나타내지 않는다. 데이터가 표 8에 요약되어 있다.

표 8: Octet에 의해 측정된 바와 같은 사이토카인에 대한 h5D8 친화성 측정의 요약			
	K _D [M]	k _{on} [1/Ms]	k _{dis} [1/s]
h5D8 + huLIF (<i>E. coli</i>)	4.3E-10 +/-2.0E-11	3.1E+05 +/-3.1E+03	1.3E-04 +/-5.8E-06
h5D8 + huLIF (포유동물)	1.3E-09 +/-7.2E-11	1.2E+05 +/-1.3E+03	1.5E-04 +/-8.5E-06
h5D8 + huOSM (<i>E. coli</i>)	3.6E-08 +/-1.4E-09	8.5E+04 +/-3.1E+03	3.1E-03 +/-4.1E-05
h5D8 + huOSM (포유동물)	ND	ND	ND
h5D8 + huIL-6 (<i>E. coli</i>)	ND	ND	ND

ND = 결합 없음

[0188] 방법

[0189] Octet 결합 실험: 시약을 제조사의 제공된 매뉴얼에 따라 사용하고 제조하였다. 기본 동역학 실험을 하기와 같이 Octet 데이터 획득 소프트웨어 ver. 9.0.0.26을 사용하여 수행하였다: 센서/프로그램의 설정: i) 평형(60초); ii) 로딩(15초); iii) 기준선(60초); iv) 결합(180초); 및 v) 해리(600초)

[0190] 사이토카인에 대한 h5D8의 Octet 친화성: 기본 동역학 실험을 하기와 같이 Octet 데이터 획득 소프트웨어 버전 9.0.0.26을 사용하여 수행하였다: 아민 반응성 2세대 바이오센서(AR2G)를 물에서 최소 15분 동안 수화시켰다. 바이오센서에 대한 h5D8의 아민 접합을 아민 커플링 2세대 키트를 사용하여 ForteBio 기술 노트 26(문헌 참고)에 따라 수행하였다. 딥(Dip) 단계를 하기와 같이 30°C, 1000rpm에서 수행하였다: i) 물에서 60초 평형; ii) 물 중의 20mM ECD, 10mM 살포-NHS에서 300초 활성화; iii) 10mM 아세트산 나트륨, pH 6.0에서 10 μg/ml h5D8의 600초 고정화; iv) 1M 에탄올아민, pH 8.5에서 300초 퀸칭; v) 물에서 120초 기준선. 그리고 나서, 동역학 실험을 30°C, 1000rpm에서 하기 딥 및 판독 단계로 수행하였다: vi) 1X 동역학 완충제에서 60초 기준선; vii) 1X 동역학 완충제에서 사이토카인의 적절한 연속 희석의 180초 해리; viii) 1X 동역학 완충제에서 300초 해리; ix) 각각 10mM 글리신 pH 2.0 및 1X 동역학 완충제를 번갈아 반복하는 3회 재생/중화 사이클(3 사이클 동안 각각 5초). 재생 후, 바이오센서를 이후 결합 분석을 위해 재사용하였다.

[0191] 포유동물 세포로부터 생산된 인간 재조합 LIF는 ACROBiosystems(LIF-H521b)로부터 얻었고; 포유동물 세포에서 생산된 인간 재조합 OSM은 R & D(8475-0M/CF)로부터 얻었으며; *E. coli* 세포에서 생산된 인간 재조합 OSM은 R & D(295-0M-050/CF)로부터 얻었다.

[0192] *실시예 18- h5D8 fab의 결정 구조*

[0193] 광범위한 화학적 조건 하에 h5D8 Fab의 5개의 결정 구조를 결정하였다. 이들 구조의 고해상도는 CDR 잔기의 형태가 작은 가요성과 관련되며, 상이한 화학 환경에서 매우 유사함을 나타낸다. 이 항체의 독특한 특징은 가변 중쇄 영역의 위치 100에 비표준 시스테인의 존재이다. 구조 분석은 시스테인이 짹을 형성하지 않고 용매에 거의 접근할 수 없다는 것을 보여준다.

[0194] H5D8 Fab를 그의 IgG의 파파인 소화 후, 표준 친화성, 이온 교환 및 크기 크로마토그래피 기술을 사용한 정제에 의해 수득하였다. 결정을 증기 확산 방법을 사용하여 수득하였고, 1.65 Å 내지 2.0 Å 해상도 범위의 5개의 결정 구조를 결정하였다. 5개의 상이한 pH 수준: 5.6, 6.0, 6.5, 7.5 및 8.5에 걸쳐있는 결정화 조건에도 불구하고, 모든 구조는 동일한 결정학적 공간 그룹에서 그리고 유사한 단위 세포 치수(P212121, a~53.8 Å, b~66.5

Å, c~143.3 Å)로 해석되었다. 이와 같이, 이들 결정 구조는 결정 충전 인공물에 의해 방해받지 않은 그리고 광범위한 화학적 조건에 걸쳐 h5D8 Fab의 3차원 배열의 비교를 허용한다.

[0196]

전자 밀도를 모든 상보성 결정 영역(CDR) 잔기에 대해 관찰하였고, 이를 이후에 모델링하였다. 현저하게, LCDR1 및 HCDR2는 얇은 LCDR3 및 HCDR3 영역과 함께 파라토프의 중앙에 결합 흄을 형성한 신장된 형태를 채택하였다 (도 14A). 5개의 구조는 모든 잔기에 걸쳐 매우 유사하였고, 모든 원자 평균 제곱근 편자는 0.197 Å 내지 0.327 Å 범위였다(도 14A). 이들 결과는 CDR 잔기의 형태가 5.6 내지 8.5 범위의 pH 수준 및 150 mM 내지 1 M 범위의 이온 강도를 포함하는 다양한 화학적 환경에서 유지되었음을 나타내었다. h5D8 파라토프의 정전 표면의 분석은 양전하 및 음전하를 띤 영역이 친수성 특성에 동등하게 기여하였고, 널리 퍼진 소수성 패치가 없다는 것을 밝혀내었다. h5D8은 HCDR3의 기저에 있는 비표준 시스테인(Cys100)의 비일반적인 특징을 갖는다. 모든 5개 구조에서, 이 유리 시스테인은 정돈되고 임의의 디설파이드 스크램블을 형성하지 않는다. 또한, 그것은 Cys(cysteinylation) 또는 글루타チ온(glutathiolation)의 부가에 의해 변형되지 않으며, 중쇄의 Leu4, Phe27, Trp33, Met34, Glu102 및 Leu105의 주쇄 및 측쇄 원자와 반 데르 발스 상호작용(3.5-4.3 Å 거리)을 만든다(도 14B). 마지막으로, Cys100은 CDR1 및 HCDR3의 형태를 매개하는데 관여하는 것으로 보이는 주로 매설된 구조적 잔기이다. 따라서, 본 발명자들의 5개의 결정 구조 내의 이 영역의 균일한 배치에 의해 관찰된 바와 같이 다른 시스테인과 반응성을 가질 것 같지 않다.

[0197]

방법

[0198]

H5D8-1 IgG를 Catalent Biologics로부터 수득하였고, pH 6.0에서 25 mM 히스티딘, 6% 수크로스, 0.01% 폴리소르베이트 80에서 제제화하였다. 제제화된 IgG를 PBS, 1.25 mM EDTA, 10 mM 시스테인에서 37°C에서 1시간 동안 1:100 마이크로그램 파파인(Sigma)으로 소화시키기 전에 10K MWCO 농축기(Millipore)를 사용하여 PBS 내로 광범위하게 완충제 교환하였다. 파파인 소화된 IgG를 AKTA Start 크로마토그래피 시스템(GE Healthcare)를 사용하여 단백질 A 컬럼(GE Healthcare)을 통과시켰다. h5D8 Fab를 함유한 단백질 A 통과액을 회수하고, 10K MWCO 농축기(Millipore)를 사용하여 20 mM 아세트산 나트륨, pH 5.6으로 완충제 교환하였다. 생성된 샘플을 AKTA Pure 크로마토그래피 시스템(GE Healthcare)을 사용하여 Mono S 양이온 교환 컬럼(GE Healthcare)에 로딩하였다. 1 M 염화 칼륨의 구배를 이용한 용출은 주요한 h5D8 Fab 피크를 야기하였고, 이를 회수하고, 농축하고 pH 8.0에서 20 mM Tris-HCl, 150 mM 염화 나트륨에서 Superdex 200 Increase 겔 여과 컬럼(GE Healthcare)을 사용하여 크기 균일성까지 정제하였다. h5D8 Fab의 고순도를 환원 및 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의해 확인하였다.

[0199]

정제된 h5D8 Fab를 10K MWCO 농축기(Millipore)를 사용하여 25 mg/mL로 농축시켰다. Oryx 4 디스펜서(Douglas Instruments)를 사용하여 20°C에서 회소 행렬 96-조건 상업적 스크린 JCSG TOP96(Rigaku Reagents) 및 MCSG-1(Anatrace)로 증기 확산 결정화 실험을 설정하였다. 하기 5개의 결정화 조건에서 4일 후에 결정을 수득하고 채취하였다: 1) 0.085 M 구연산 나트륨, 25.5%(w/v) PEG 4000, 0.17 M 암모늄 아세테이트, 15%(v/v) 글리세롤, pH 5.6; 2) 0.1 M MES, 20%(w/v) PEG 6000, 1 M 염화 리튬, pH 6.0; 3) 0.1 M MES, 20%(w/v) PEG 4000, 0.6 M 염화 나트륨, pH 6.5; 4) 0.085 M 나트륨 HEPES, 17%(w/v) PEG 4000, 8.5%(v/v) 2-프로판올, 15%(v/v) 글리세롤, pH 7.5; 및 5) 0.08 M Tris, 24%(w/v) PEG 4000, 0.16 M 염화 마그네슘, 20%(v/v) 글리세롤, pH 8.5. 액체 질소에서 급속 동결하기 전에, 결정을 함유하는 모액에 필요에 따라 5-15%(v/v) 글리세롤 또는 10%(v/v) 에틸렌 글리콜을 보충하였다. 결정에 Advanced Photon Source, beamline 23-ID-D(Chicago, IL)에서 X선 싱크로트론 방사선을 처리하고, 회절 패턴을 Pilatus3 6M 검출기 상에 기록하였다. 데이터를 XDS를 사용하여 처리하고, 구조를 페이저를 사용하여 분자 치환에 의해 결정하였다. 개량을 Coot 내의 반복 모델 구축으로 PHENIX에서 수행하였다. 도면을 PyMOL에서 생성하였다. 모든 소프트웨어는 SBGrid를 통해 접근하였다.

[0200]

실시예 19- h5D8의 시스테인 100에서의 돌연변이는 결합을 보존한다

[0201]

h5D8의 분석은 중쇄의 가변 영역에서 위치 100에서 유리 시스테인 잔기(C100)를 밝혀내었다. 인간 및 마우스 LIF에 대한 결합 및 친화성을 규명하기 위해 C100을 각각의 자연발생 아미노산으로 치환하여 H5D8 변이체를 생성하였다. 결합을 ELISA 및 Octet 분석을 사용하여 규명하였다. 결과가 표 9에 요약되어 있다. ELISA EC50 곡선이 도 15(도15A 인간 LIF 및 도 15B 마우스 LIF)에 나타나 있다.

돌연변이	친화성/ $K_{D(M)}$		결합 EC50(nM)	
	인간 LIF		마우스 LIF	
	인간 LIF	마우스 LIF	인간 LIF	마우스 LIF
C100	<1.0E-12 ± 2.252E-11	9.946E-11 ± 8.272E-12	0.09878	0.1605
C100S	8.311E-10 ± 5.886E-11	2.793E-09 ± 5.925E-11	n.d.	n.d.
C100Q	3.87E-09 ± 1.55E-10	2.84E-09 ± 4.85E-11	10.18	26.33
C100N	5.59E-09 ± 1.01E-10	6.68E-09 ± 9.8E-11	13.18	45.87
C100E	2.67E-09 ± 4.64E-11	4.1E-09 ± 7.56E-11	7.179	25.3
C100D	2.02E-09 ± 8.08E-11	6.49E-09 ± 7.16E-11	11.89	22.88
C100T	4.36E-10 ± 2.1E-11	1.02E-09 ± 1.77E-11	5.575	8.753
C100G	2.49E-09 ± 4.2E-11	3.33E-09 ± 5.42E-11	21.94	40.17
C100P	2.74E-10 ± 2.97E-10	<1.0E-12 ± 7.64E-10	34.44	101.9
C100A	<1.0E-12 ± 2.713E-11	<1.0E-12 ± 1.512E-11	0.6705	0.9532
C100V	<1.0E-12 ± 1.805E-11	<1.0E-12 ± 8.086E-12	0.2785	0.3647
C100L	<1.0E-12 ± 1.963E-11	1.998E-10 ± 1.055E-11	0.454	0.547
C100I	<1.0E-12 ± 1.424E-11	3.361E-11 ± 7.545E-12	0.299	0.3916
C100M	1.155E-09 ± 3.400E-11	2.676E-09 ± 2.449E-11	0.7852	1.563
C100F	4.376E-09 ± 1.127E-10	1.147E-08 ± 9.090E-11	8.932	21.53
C100Y	1.444E-08 ± 1.159E-09	2.514E-08 ± 2.047E-09	n.d.	n.d.
C100W	2.508E-08 ± 7.036E-09	4.819E-08 ± 4.388E-09	n.d.	n.d.
C100H	1.304E-10 ± 1.416E-10	4.284E-09 ± 1.231E-10	8.254	n.d.
C100K	7.477E-08 ± 1.581E-09	6.053E-08 ± 2.589E-09	n.d.	n.d.
C100R	1.455E-07 ± 6.964E-09	5.142E-08 ± 3.247E-09	n.d.	n.d.

[0202]

방법

[0203]

ELISA: 인간 및 마우스 LIF에 대한 h5D8 C100 변이체의 결합을 ELISA에 의해 결정하였다. 재조합 인간 또는 마우스 LIF 단백질을 4°C에서 밤새 1 ug/mL로 Maxisorp 384-웰 플레이트 상에 코팅하였다. 플레이트를 실온에서 2시간 동안 1x 차단 완충제로 차단하였다. 각각의 h5D8 C100 변이체의 적정을 체가하고, 1시간 실온에서 1시간 동안 결합시켰다. 플레이트를 PBS+0.05% 트윈-20으로 3회 세척하였다. HRP 접합된 항-인간 IgG를 첨가하고 실온에서 30분 동안 결합시켰다. 플레이트를 PBS+0.05% 트윈-20으로 3회 세척하고, 1x TMB 기질을 사용하여 현상시켰다. 반응을 1M HCl로 중지시키고, 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 도면 생성 및 비선형 회귀 분석을 그래프패드 프리즘을 사용하여 수행하였다.

[0204]

옥텟 RED96: 인간 및 마우스 LIF에 대한 h5D8 C100 변이체의 친화성을 Octet RED96 시스템을 사용하여 BLI에 의해 결정하였다. h5D8 C100 변이체를 1x 동역학 완충제에서 30초 기준선 후 7.5 ug/mL로 항-인간 Fc 바이오센서에 로딩하였다. 인간 또는 마우스 LIF 단백질의 적정을 90초 동안 로딩된 바이오센서에 결합시키고 300초 동안 1x 동역학 완충제에서 해리시켰다. KD를 1:1 전체 피팅 모델을 사용하여 데이터 분석 소프트웨어에 의해 계산하였다.

[0205]

실시예 20- h5D8은 시험관내에서 gp130에 대한 LIF의 결합을 차단한다

[0206]

h5D8이 LIF가 LIFR에 결합하는 것을 방지하는지 결정하기 위해, Octet RED 96 플랫폼을 사용한 분자 결합 분석을 수행하였다. H5D8을 항-인간 Fc 캡처에 의해 AHC 바이오센서에 로딩하였다. 그리고 나서, 바이오센서를 LIF에 침지시켰고, 예상대로 결합이 관찰되었다(도 16A, 중간 세 번째). 이후, 바이오센서를 상이한 농도의 LIFR에 침지시켰다. 용량 의존적 결합이 관찰되었다(도 16A, 우측 세 번째). 대조군 실험은 이 결합이 LIF 특이적이며(나타내지 않음), h5D8 또는 바이오센서와 LIFR의 비특이적 상호작용 때문이 아닌 것임을 입증하였다.

[0207]

h5D8 및 LIF의 결합을 더 규명하기 위해, 일련의 ELISA 결합 실험을 수행하였다. H5D8 및 LIF를 미리 배양한 다음, 재조합 인간 LIFR(hLIFR) 또는 gp130이 코팅된 플레이트에 도입하였다. h5D8/LIF 복합체와 코팅된 기질 사이의 결합의 결여는 h5D8이 어떤 식으로든 수용체에 대한 LIF의 결합을 방해한다는 것을 나타낼 것이다. 또한, LIF에 결합하지 않은 대조군 항체(아이소타입 대조군, (-)에 의해 표시됨) 또는 알려진 결합 부위에서 LIF에 결합하는 대조군 항체(B09는 LIF 결합에 대해 gp130 또는 LIFR과 경쟁하지 않음; r5D8은 h5D8의 랙트 모 형태임)를 또한 사용하였다. ELISA 결과는 h5D8/LIF 복합체가 hLIFR에 결합할 수 있었음을 입증하였고(r5D8/LIF 복합체와 마찬가지임), 이는 이를 항체가 LIF/LIFR 결합을 방지하지 않았음을 나타낸다(도 16A). 대조적으로, h5D8/LIF 복합체(및 r5D8/LIF 복합체)는 재조합 인간 gp130에 결합할 수 없었다(도 16B). 이것은 LIF가 h5D8에 결합될 때 LIF의 gp130 결합 부위가 영향을 받았음을 나타낸다.

[0208]

실시예 21- 인간 조직에서의 LIF 및 LIFR 발현

[0209]

LIF 및 LIFR의 발현 수준을 결정하기 위해 많은 상이한 유형의 인간 조직에서 정량적 실시간 PCR을 수행하였다. 도 17A 및 17B에 나타낸 평균 발현 수준은 100ng의 총 RNA당 카피로서 주어진다. 대부분의 조직은 100ng의 총

RNA당 적어도 100 카페를 발현하였다. LIF mRNA 발현은 인간 지방 조직(장간막-회장 [1]), 혈관 조직(맥락막총 [6] 및 장간막 [8]) 및 텃줄 [68] 조직에서 가장 높았고, 뇌 조직(폐질 [20] 및 흑질 [28])에서 가장 낮았다. LIFR mRNA 발현은 인간 지방 조직(장간막-회장 [1]), 혈관 조직(폐 [9]), 뇌 조직 [11-28] 및 갑상선 [66] 조직에서 가장 높았고, PBMC [31]에서 가장 낮았다. 시노몰구스 조직에서 LIF 및 LIFR mRNA 발현 수준은 인간 조직에서 관찰된 것과 유사하였고, LIF 발현은 지방 조직에서 높았고, LIFR 발현은 지방 조직에서 높고 PBMC에서 낮았다(데이터는 나타내지 않음). **도 17A** 및 **도 17B**의 조직 넘버링은 1 - 지방(장간막-회장); 2 - 부신; 3 - 방광; 4 - 방광(삼각(trigone)); 5 - 혈관(대뇌: 중간-대뇌-동맥); 6 - 혈관(맥락막총); 7 - 혈관(관상 동맥); 8 - 혈관(장간막(결장)); 9 - 혈관(폐); 10 - 혈관(신장); 11 - 뇌 (편도체); 12 - 뇌(미상핵); 13 - 뇌(소뇌); 14 뇌 -(폐질: 전측 대상(cingulate-anterior)); 15 - 뇌(폐질: 후측 대상(cingulate-posterior)); 16 - 뇌(폐질: 전측-측면); 17 - 뇌(폐질: 전측-내측); 18 - 뇌(폐질: 후두); 19 - 뇌(폐질: 두정(parietal)); 20 - 뇌(폐질: 측두); 21 - 뇌(배측(dorsal)-솔기(raphe)-핵(nucleus)); 22 - 뇌(해마); 23 - 뇌(시상하부: 전(anterior)); 24 - 뇌(시상하부: 후(posterior)); 25 - 뇌(청반(locus coeruleus)); 26 - 뇌(연수(medulla oblongata)); 27 - 뇌 (측중격핵(nucleus accumbens)); 28 - 뇌(흑색질); 29 - 유방; 30 - 맹장; 31- 말초 혈액 단핵 세포(PBMC); 32 - 결장; 33 - 후근신경절(dorsal root ganlia(DRG)); 34 - 십이지장; 35 - 나팔관; 36 - 담낭; 37 - 심장(좌심방); 38 - 심장(좌심실); 39 - 회장; 40 - 공장; 41 - 신장(폐질); 42 - 신장(수질); 43 - 신장(골반); 44 - 간(실질(parenchyma)); 45 - 간(기관지(bronchus): 일차); 46 - 간(기관지: 3차); 47 - 폐(실질); 48 - 텁프샘(편도선); 49 - 근육(골격); 50 - 식도; 51 - 난소; 52 - 체장; 53 - 송파샘; 54 - 뇌하수체; 55 - 태반; 56 - 전립선; 57 - 직장; 58 - 피부(포피(foreskin)); 69 - 척수; 60 - 비장(실질); 61 - 위(전정(antrum)); 62 - 위(몸통(body)); 63 - 위(바닥(fundus)); 64 - 위(유문관(pyloric canal)); 65 - 고환; 66 - 갑상선; 67 - 기관(trachea); 68 - 텃줄; 69 - 요관; 70 - 자궁(자궁경부); 71 - 자궁(자궁근); 및 72 - 정관(vas deferens).

[0211]

본 발명의 바람직한 구현예가 본원에 나타나고 기재되었지만, 이러한 구현예는 단지 예로서 제공된다는 것이 당업자에게 자명할 것이다. 많은 변형, 변화, 및 치환이 본 발명을 벗어나지 않으면서 당업자에게 일어날 것이다. 본원에 기재된 본 발명의 구현예에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는데 사용될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0212]

본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특히 출원, 발행된 특허, 및 다른 문헌은 각각의 개별 간행물, 특히 출원, 발행된 특허 또는 기타 문헌이 그 전체가 참조에 의해 포함되는 것으로 특이적으로 및 개별적으로 지시된 것처럼 본원에 참고로 포함된다. 참조로 포함된 텍스트에 포함된 정의는 본 발명의 정의와 충돌되면 배제된다.

[0213]

서열

서열 번호	서열
1	GFTFSHAWMH
2	GFTFSHAW
3	HAWMH
4	GFTFSNAWMH
5	GFTFSNAW
6	NAWMH
7	SKEPMY
8	SNFIH
9	QIKAKSDDYATYYAESVKG
10	IAKASDDYAT
11	QIKDKSDNYATYYAESVKG
12	IKDKSINYAT
13	WIYPGDGDIENQKFSE
14	WIYPGDGDIENQKFIG
15	TCEWEVDLDF
16	VEWDLDF
17	TCEWEVYLDF
18	VEWYLDF
19	RDYHSSHAY
20	HYSSSMDA
21	ESSQSLLSDGHTYLN
22	QSLLSDGHTY
23	ESSQSLLHHNGNTVLS
24	ESSQSLLVHSNGNTPLS
25	SVSNLES
26	SVS
27	QVSNRFS
28	KVSNRFS
29	MQATHAPPIT
30	GGTQYPYT
31	GGTQYPF
32	SGYYWN
33	TAGMO
34	CISYDGRNNYNPSLKN
35	WINTQSGEPQVVDIFRG
36	EVEYNNYGSYYAVDY
37	WALYSEYDVMDY
38	RASENIDGYLE
39	KASENUVDSTWS
40	AATLLAD
41	GASNRYT
42	QHYYNTPLT
43	GQSYRYPPT

[0214]

44	EVQLVESGGGLVKPFGSLKLSCAAS
45	QVQLQESGGGLVKPFGSLRLSCAAS
46	EVQLVESGGGVOPGESLRLSCAAS
47	EVQLMESGGGLVKPFGSLRLSCATS
48	WVRQAPGKGLEWVA
49	WVRQAPGKGLEWVG
50	RFTIISERDKSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYTC
51	RFTIISRDNAKNSLYLQMNLSLKVEDTWWYTC
52	RFTIISERDKSKTFLQMNLSLKTEDTAVYTC
53	WGQGTIVTVSS
54	WGQGTIVTVSS
55	WGQGTIVTVSS
56	DIVMTQSPLSLPVTLQGPASISC
57	DIVMTOTPLSSPVTLQGPASISC
58	DIVMTOTPLSLSVTFQGPASISC
59	DIVMTQSPLSQFVLQGPASISC
60	WFQQRPGOSPRRLIY
61	WLQQRPGOPPRRLIY
62	WLQKPGOPPPQLIY
63	WLQQRPGQSPRRLIY
64	GVPDRFSGSGSGTDFTLK1SKVEAEWGVLYC
65	GVPDRFSGSGSGTDFTLK1SKVEAEWGVLYC
66	GVPNRFSGSGSGTDFTLK1SKVEAEWGVLYC
67	GVPDRFNGSGSGTDFTL1SKVEAEWGVLYC
68	FQQGKLEIK
69	FGGGTKVEIK
70	FGQQGKVEIK
71	EVQLVESGGGLVKPFGSLKLSCAASGFTFSHAWMHVWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGERTISR DDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYTCWEDLDFWQGQTIVTVSS
72	QVQLQESGGGLVKPFGSLRLSCAASGFTFSHAWMHVWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGERTISR DDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYTCWEDLDFWQGQTIVTVSS
73	EVQLVESGGGVOPGESLRLSCAASGFTFSHAWMHVWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGERTISR DDNAKNSLYLQMNLSLRVEDTWWYTCWEDLDFWQGQTIVTVSS
74	EVQLMESGGGLVKPFGSLRLSCATSQFSLQGPASISC DDSKSTFLQMNLSLKTEDTWWYTCWEDLDFWQGQTIVTVSS
75	DIVMTQSPLSLPVTLQGPASISC DDFTLKIISRVFAEIDWGLYCMQATHAPPITFQGQTKLEIK
76	DIVMTOTPLSSPVTLQGPASISC DDFTLKIISRVFAEIDWGLYCMQATHAPPITFQGQTKLEIK
77	DIVMTOTPLSLVTPQGPASISC DDFTLKIISRVFAEIDWGLYCMQATHAPPITFQGQTKLEIK
78	DIVMTQSPLSQFVLQGPASISC DDFTLKIISRVFAEIDWGLYCMQATHAPPITFQGQTKLEIK

[0215]

79	MGVTIVFLFLLSVTAGVHSERQLOESEGGGLVKPGGSILRLSCAASGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISRDIKSLKNTLYLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAAALGCLVKDTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQYNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTT LPFSRDELTKNQWSLTCLVGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
80	MGVTIVFLFLLSVTAGVHSERQLOESEGGGLVKPGGSILRLSCAASGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISRDIKSLKNTLYLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAAALGCLVKDTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQYNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTT LPFSRDELTKNQWSLTCLVGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
81	MGVTIVFLFLLSVTAGVHSERQLOESEGGGLVKPGGSILRLSCAASGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISRDIKSLKNTLYLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAAALGCLVKDTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQYNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTT LPFSRDELTKNQWSLTCLVGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
82	MGVTIVFLFLLSVTAGVHSERQLOESEGGGLVKPGGSILRLSCATSGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISRDIKSLKNTLYLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAAALGCLVKDTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQYNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTT LPFSRDELTKNQWSLTCLVGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
83	MVSSAQFLGLLLLCFGTTRCDIVMTQPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGQSFRKL Y SVSNLESGVPDRESGGGTDFTLKISRVEAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEOLKSGTASVCLLNPFYPREAKVQWVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	MVSSAQFLGLLLLCFGTTRCDIVMTQPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGQSFRKL Y SVSNLESGVPDRESGGGTDFTLKISRVEAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEOLKSGTASVCLLNPFYPREAKVQWVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
85	MVSSAQFLGLLLLCFGTTRCDIVMTQPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGQSFRKL Y SVSNLESGVPDRESGGGTDFTLKISRVEAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEOLKSGTASVCLLNPFYPREAKVQWVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

86	MVSSAQFLGLLLLCFGTTRCDIVMTQPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGQSFRKL Y SVSNLESGVPDRESGGGTDFTLKISRVEAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEOLKSGTASVCLLNPFYPREAKVQWVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
87	EVQLVESGGVVQPGPSLRLSCAASGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISR DDSKNTLYLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVPLAFSSKTS GTAALGCLVK DTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCD KHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQ YNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTTLP PSRDELTKNQWSLTCLV KGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
88	EVQLVESGGVVQPGPSLRLSCAASGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISR DDSKNTLYLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVPLAFSSKTS GTAALGCLVK DTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCD KHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQ YNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTTLP PSRDELTKNQWSLTCLV KGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
89	EVQLVESGGVVQPGPSLRLSCAASGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISR DDSKNTLYLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVPLAFSSKTS GTAALGCLVK DTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCD KHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQ YNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTTLP PSRDELTKNQWSLTCLV KGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
90	EVQLMESGGGLVKPGPSLRLSCATSGFTFSHAMHWRQAPKGLEWVQIKA KSDDYATYAEVSKGRFTISR DDSKSLFLQMSLKTEDTAVYYCTOWEWLDWFQGQTWTSSASTKGPSVPLAFSSKTS GTAALGCLVK DTPPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGQTQYI CNVNHKPSTKVKDKVKEPKSCD KHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKKKDLMISRTPEVTCWWVWSHDEPEVKFN WVVDGEVHNAKTKPREEQ YNTSYRVWSVTLVLHQDLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSAKGQPREPQVTTLP PSRDELTKNQWSLTCLV KGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVIDKS CSVMEHALHNHYTOKSLSLSPKG
91	DWMTGSPSLPLSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGQS PRELIYSVSNL ESGPDPDESGSGST DFTLKISRVEAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEQQLKS GTASVCLLNPFYPR EAKVQVKVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
92	DIVMTQPLSLSVTPLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGOPPRLLI YVSNSLESGWPDRFS GEGAGT DFTLKISRVEAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEQQLKS GTASVCLLNPFYPR EAKVQVKVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
93	DIVMTQPLSLSVTPLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGOPPRLLI YVSNSLESGWPDRFS GEGAGT DFTLKISRVEAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEQQLKS GTASVCLLNPFYPR EAKVQVKVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
94	DWMTGSPSLQPLSLSVTPLGQPASISCRSSQSLLSDIGHTYLNWQQRPGOS PRELIYSVSNL ESGPDPDESGSGST DFTLISI SEVAEDEVGVLGYCQATHAPPYTFQGQTKLEIKRTVAAPS FIFPSDEQQLKS GTASVCLLNPFYPR EAKVQVKVINALQSGNSQESVTEQISKDSTYLSSTLTLS KADYEHKKWACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	TSWEVLDLDF

[0216]

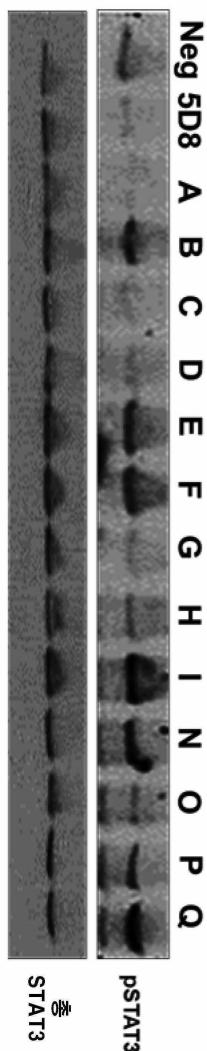
[0217]

96	QVQLQESGGGLVKPGSLLRLSCAASGFTFSHAMHIVWVRQAPGKGLEVVQGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYVCTSWEIDLDFWGQQTHIVSS
97	QVQLQESGGGLVKPGSLLRLSCAASGFTFSHAMHIVWVRQAPGKGLEVVQGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYVCTSWEIDLDFWGQQTHIVSS DYFPEPVTVWSNGALTSGVHTPPAVLQSGSLYSLSSVTPSSSLGQTYYIQNWNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGSVFLFFPKFDLMIKRTPEVTCVWDVSHEDPEVKHNWVYDGVEVHNAKTKPREFQ YNSTYBVWSVLTVLHQDWLNKEYTKVSNKALPAPIEKTSKAAGGPRPFQVTLPSREEMTNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWSNQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDGSRWQQRNVSCSVHMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
98	SPLPITPVNATCAIRHPCHNNLMNQIESOLAQLNGSANALFILYTAQGEPPNNLDKLCGPNVTDFFPHANG TEKAKLVELYRIVWYLGTSLQNITRDOKILMPSALSIHSKLNATADILRGLLSNWLRLCSKYHVGHVJTYGP DTSGKDWFQKKKLGCQQLGKYKQIIIAVLAQAF

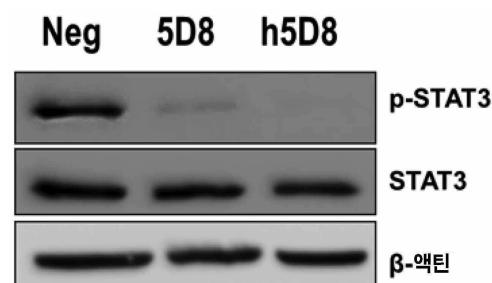
[0218]

도면

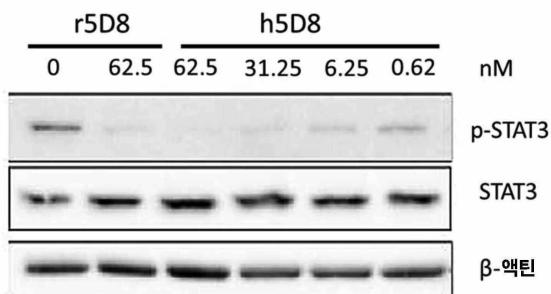
도면1



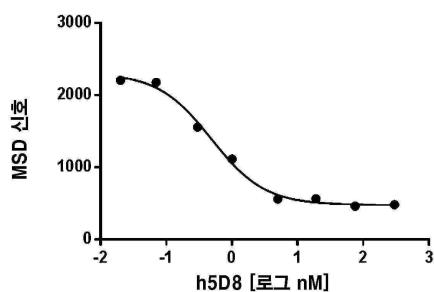
도면2a



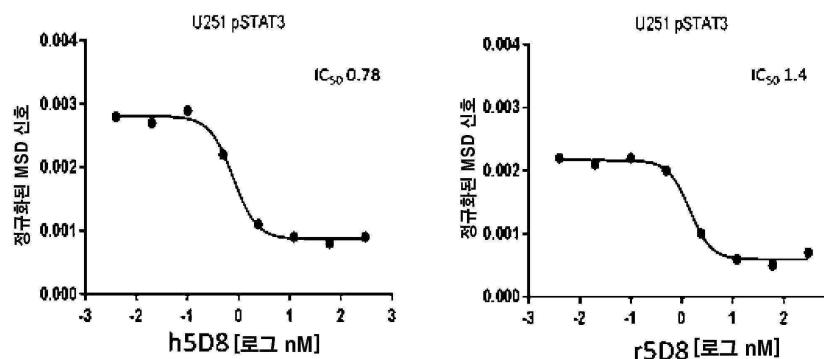
도면2b



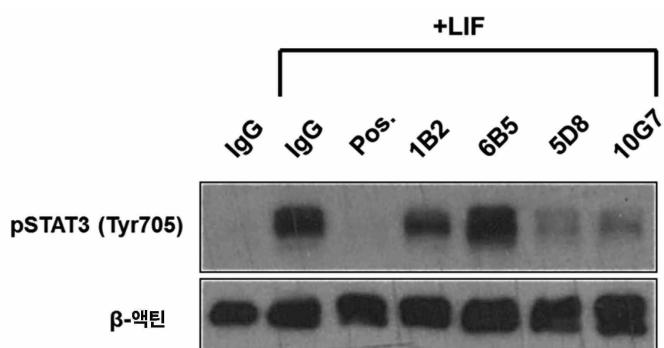
도면3a



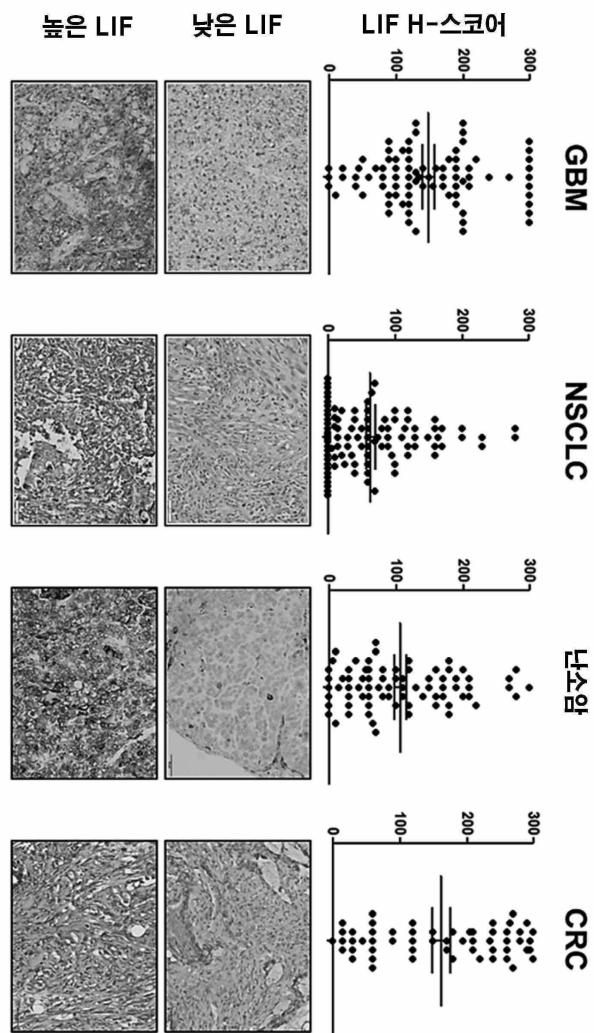
도면3b



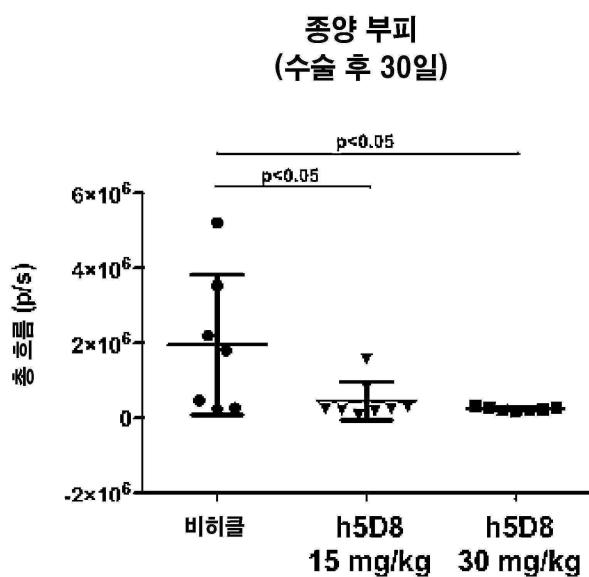
도면4



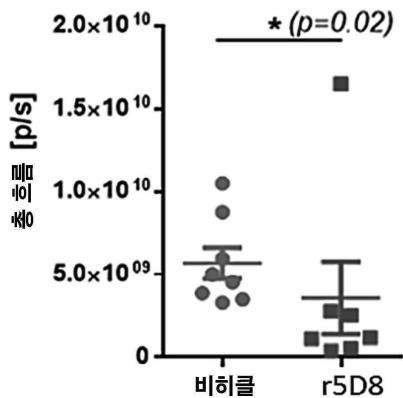
도면5



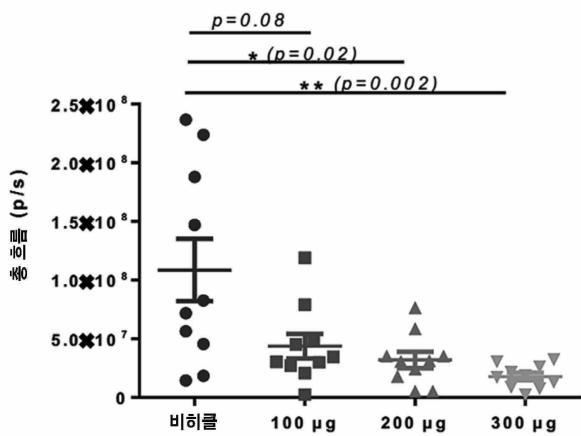
도면6



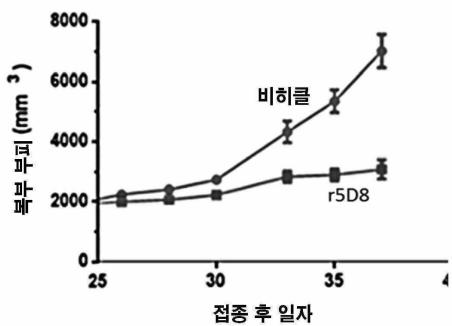
도면7a



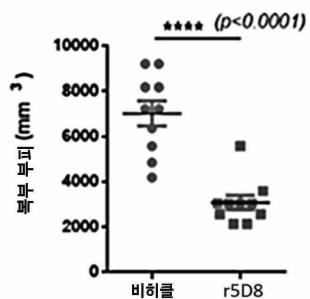
도면7b



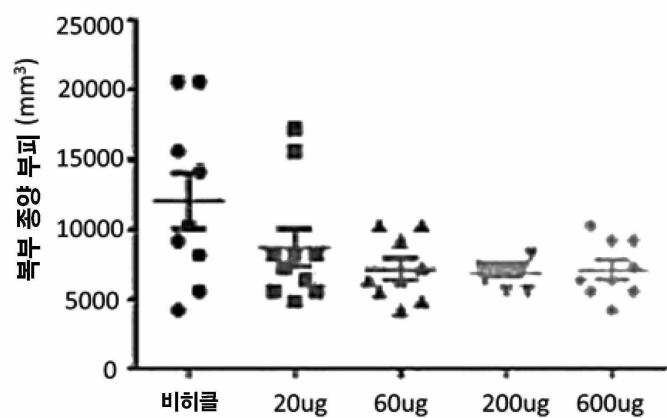
도면8a



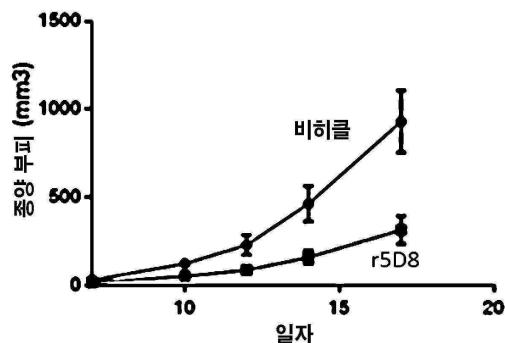
도면8b



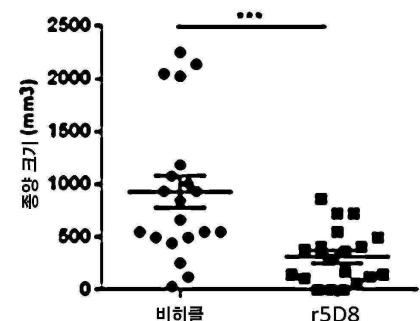
도면8c



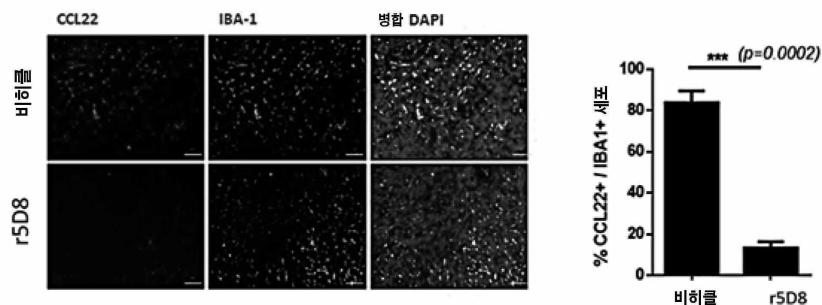
도면9a



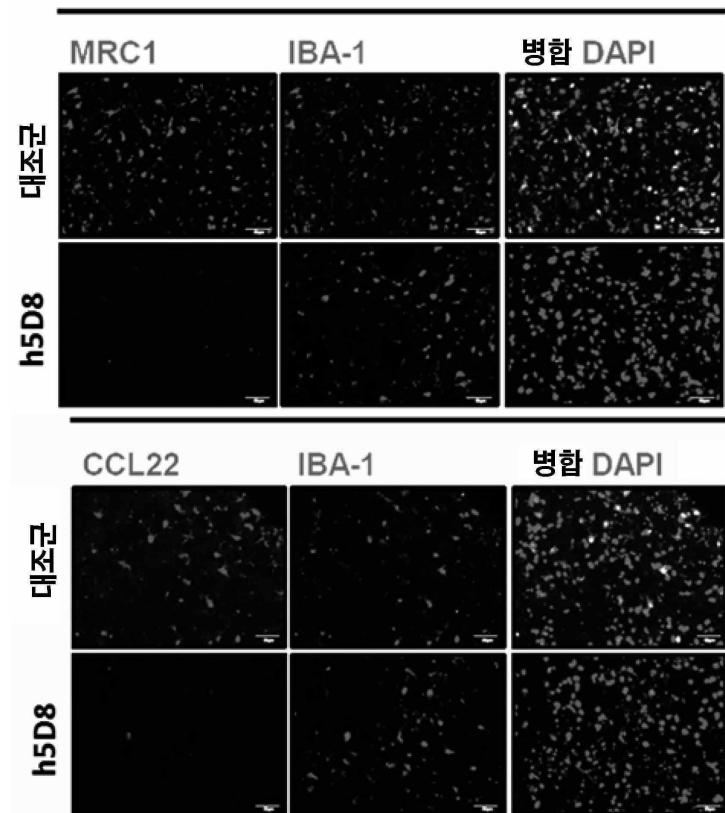
도면9b



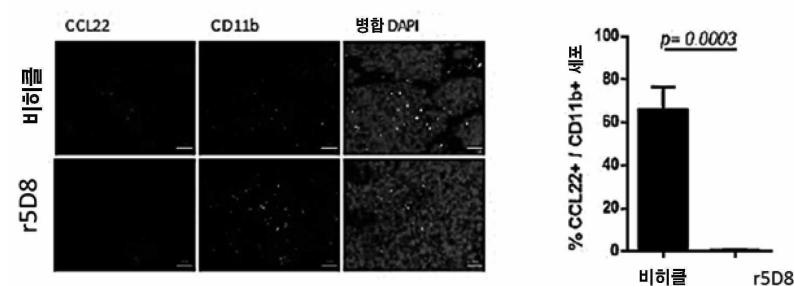
도면 10a



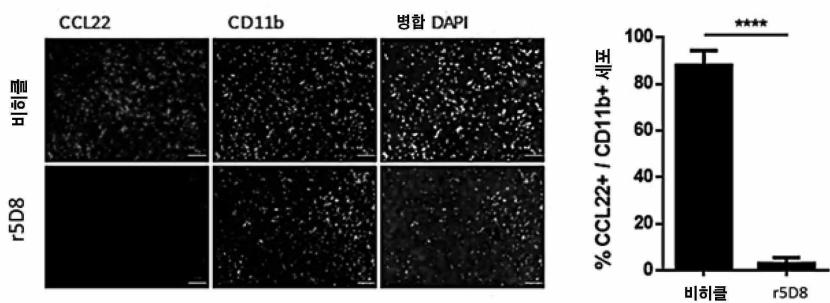
도면 10b



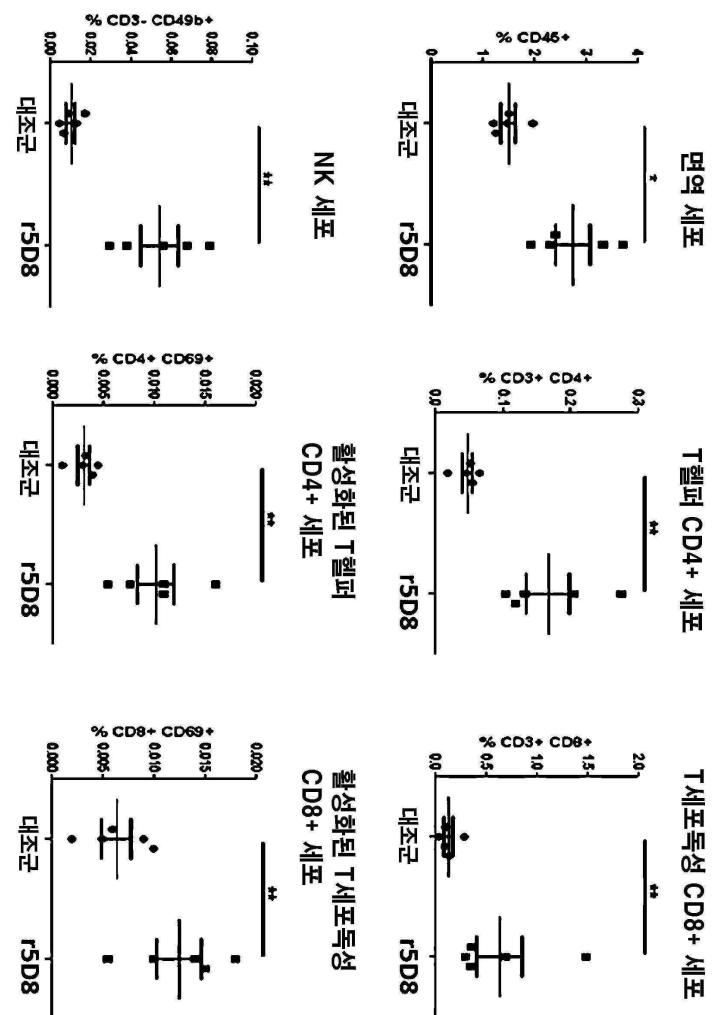
도면 10c



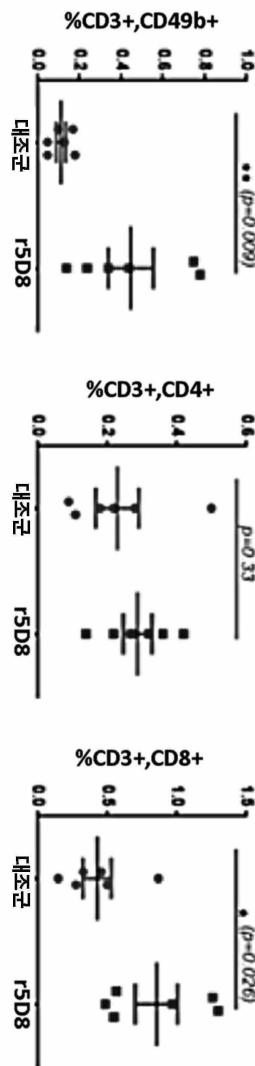
도면10d



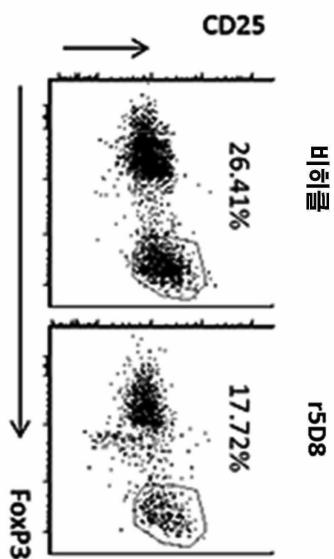
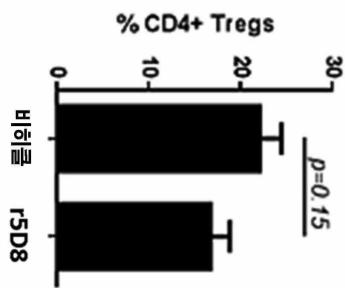
도면11a



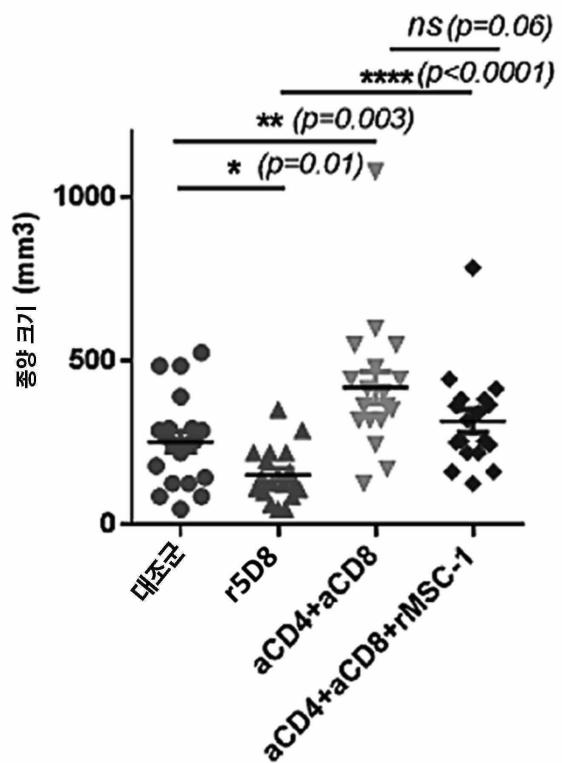
도면 11b



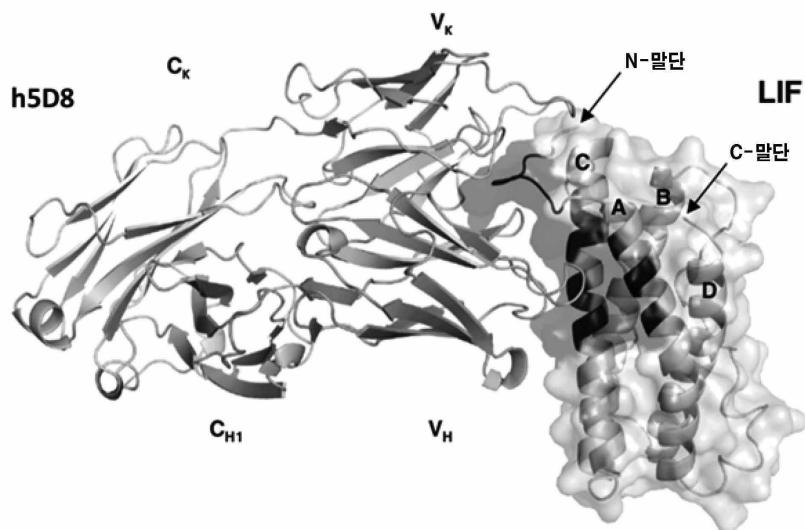
도면 11c



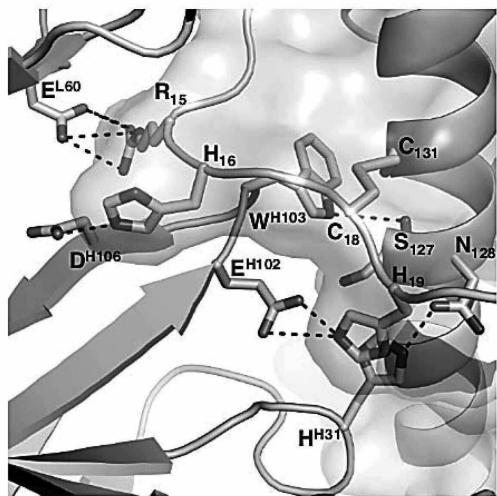
도면12



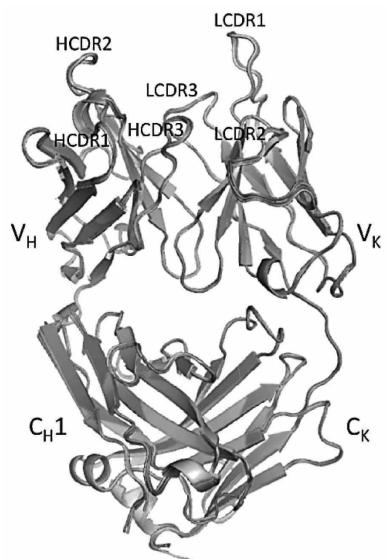
도면13a



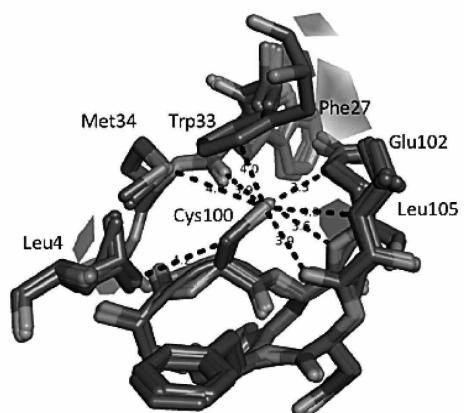
도면13b



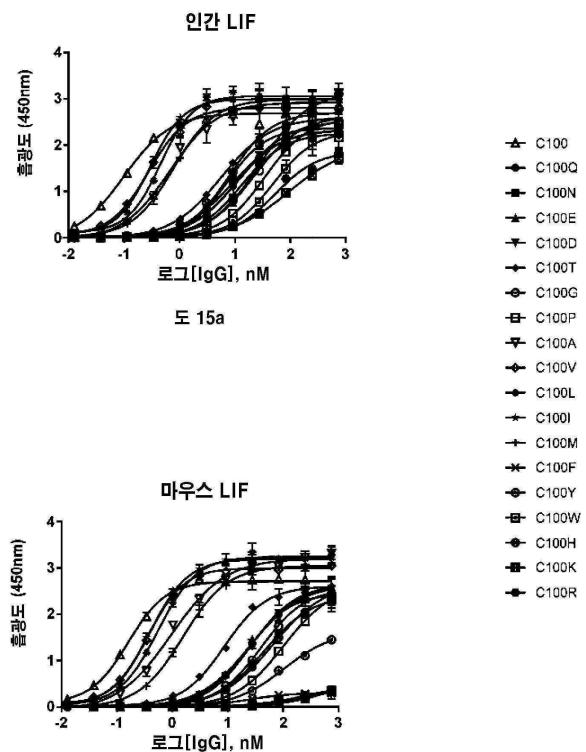
도면14a



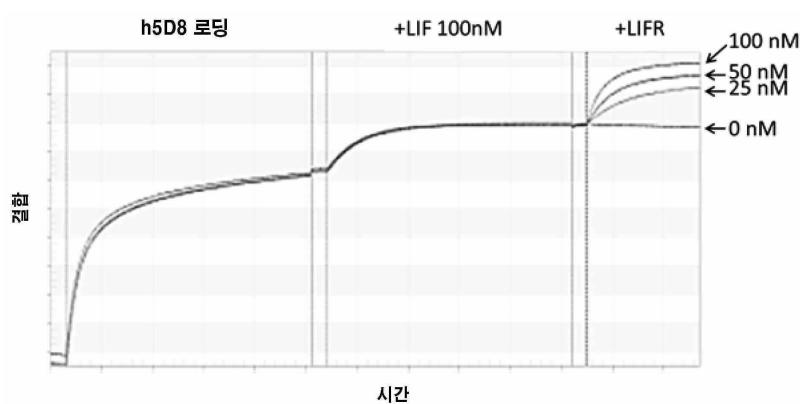
도면14b



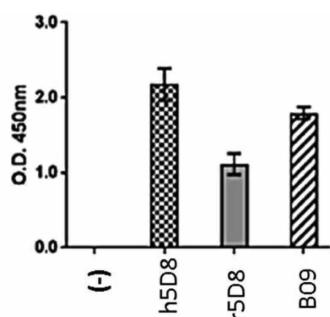
도면15



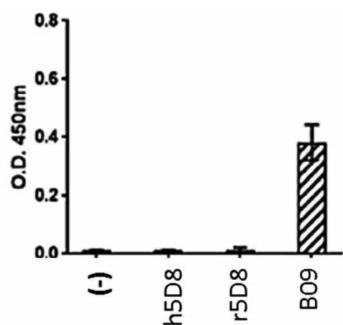
도면16a



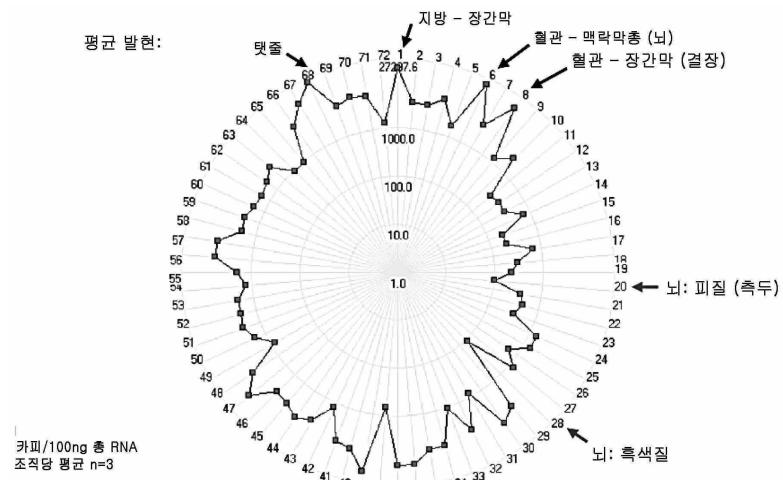
도면16b



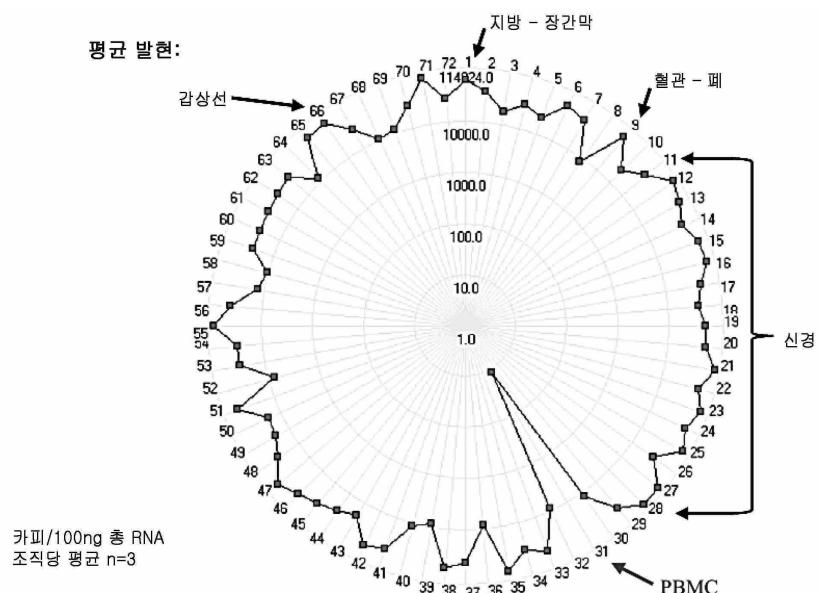
도면16c



도면17a



도면17b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MOSAIC BIOMEDICALS, S.L.

FUNDACIO PRIVADA INSTITUT D' INVESTIGACIO ONCOLOGICA DE VALL

HEBRON

FUNDACIO PRIVADA INSTITUCIO CATALANA DE RECERCA I ESTUDIS

AVANCATS

<120> ANTIBODIES AGAINST LIF AND USES THEREOF

<130> 48885-704.601

<140> PCT/IB2017/001677

<141> 2017-12-18

<150> ES EP17382683.5

<151> 2017-10-13

<150> 62/467,017

<151> 2017-03-03

<150> ES EP16382617.5

<151> 2016-12-19

<160> 98

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser His Ala Trp Met His

1 5 10

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Ser His Ala Trp

1 5

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

His Ala Trp Met His

1 5

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met His

1 5 10

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp

1 5

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

Asn Ala Trp Met His

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 7

Ser Lys Phe Met Tyr

1 5

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 8

Ser Asn Phe Ile His

1 5

<210> 9

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 9

Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 10

Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr

1 5 10

<210> 11

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 11

Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

Ile Lys Asp Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr

1 5 10

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<

400> 13

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

1 5 10 15

Glu

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Glu Tyr Asn Gln Lys Phe Ile

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe

1 5

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 17

Thr Cys Trp Glu Trp Tyr Leu Asp Phe

1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 18

Trp Glu Trp Tyr Leu Asp Phe

1 5

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 19

Arg Asp Tyr His Ser Ser His Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 20

His Tyr Ser Ser Ser Met Asp Ala

1 5

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 21

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

1 5 10 15

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr

1 5 10

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

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

1 5 10 15

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu Ser

1 5 10 15

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 25

Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 26

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 26

Ser Val Ser

1

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 27

Gln Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 28

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 29

Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr

1 5 10

<210> 30

<211> 9

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 30

Gly Gln Gly Thr Gln Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 31

Gly Gln Gly Thr Gln Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 32
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

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

<400> 32
Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn

1 5

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 33

Thr Ala Gly Met Gln

1 5

<210> 34

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 34

Cys Ile Ser Tyr Asp Gly Arg Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn

1 5 10 15

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

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

1 5 10 15

Gly

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

Arg Tyr Arg Tyr Tyr Asn Tyr Gly Ser Tyr Tyr Ala Val Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 37

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

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

1 5 10

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Gly Tyr Leu Glu

1 5 10

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

Lys Ala Ser Glu Asn Val Asp Ser Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

Ala Ala Thr Leu Leu Ala Asp

1 5

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

Gln His Tyr Tyr Asn Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

Gly Gln Ser Tyr Arg Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 44

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 45

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 46

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 47

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser

20 25

<210> 48

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 48

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

1 5 10

<210> 49

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 49

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

1 5 10

<210> 50

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 51

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 51

Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 52

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 52

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

1 5 10 15

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 53

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 54

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 55

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 55

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 56

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 56

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 57

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 57

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 58

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 58

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 59

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 59

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 60

Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 61

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 61

Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 62

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 62

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

1 5 10 15

<210> 63

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 63

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

1 5 10 15

<210> 64

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

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

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 65

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 65

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

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 66

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 66

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

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 67

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 67

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

1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210>

68

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 69

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 71

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50	55	60
----	----	----

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85	90	95
----	----	----

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100	105	110
-----	-----	-----

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 72

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50	55	60
----	----	----

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 73

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 73

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 74

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr

65 70 75 80

Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 75

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 76

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 76

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

<210> 77
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 77
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys

<210> 78

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro
50 55 60Asp Arg Phe Asn Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala85 90 95
Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 79

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

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

1	5	10	15
Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly	Gly Leu Val Lys		
20	25	30	
Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser	Gly Phe Thr Phe		
35	40	45	
Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro	Gly Lys Gly Leu		
50	55	60	
Glu Trp Val Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp	Tyr Ala Thr Tyr		
65	70	75	80
Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser	Arg Asp Asp Ser		
85	90	95	
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys	Thr Glu Asp Thr		
100	105	110	
Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu	Asp Phe Trp Gly		
115	120	125	
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr	Lys Gly Pro Ser		
130	135	140	
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser	Gly Thr Ala		
145	150	155	160
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu	Pro Val Thr Val		
165	170	175	
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His	Thr Phe Pro Ala		
180	185	190	
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser	Val Val Thr Val		
195	200	205	
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys	Asn Val Asn His		
210	215	220	
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu	Pro Lys Ser Cys		
225	230	235	240
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	Glu Leu Leu Gly		
245	250	255	

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

260 265 270

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

275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Thr Thr Pro Pro

405 410 415

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

420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

450 455 460

Pro Gly Lys

465

<210> 80

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

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

1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Glu Trp Val Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

165 170 175

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

180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

210	215	220
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
225	230	235
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
245	250	255
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
260	265	270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
275	280	285
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
290	295	300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
305	310	315
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
325	330	335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
340	345	350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
355	360	365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
370	375	380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
385	390	395
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
405	410	415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
420	425	430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
435	440	445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
450	455	460

Pro Gly Lys
 465
 <210> 81
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 81
 Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln
 20 25 30
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

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

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

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

180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

260 265 270

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

275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

405 410 415

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

420	425	430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
435	440	445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
450	455	460
Pro Gly Lys		
465		
<210> 82		
<211> 467		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><221> source		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400> 82		
Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly		
1	5	10
Val His Ser Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys		
20 25 30		
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe		
35	40	45
Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gly Leu		
50	55	60
Glu Trp Val Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr		
65	70	75
Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser		
85 90 95		
Lys Ser Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr		
100	105	110
Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly		
115	120	125
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		

130	135	140
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
145	150	155
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
165	170	175
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
180	185	190
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
195	200	205
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
210	215	220
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
225	230	235
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
245	250	255
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
260	265	270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
275	280	285
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
290	295	300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
305	310	315
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
325	330	335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
340	345	350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
355	360	365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
370	375	380

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

 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460
 Pro Gly Lys
 465
<210> 83
<211> 240

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 83
Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15
Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
20 25 30
Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg
50 55 60
Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu
65 70 75 80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

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

100 105 110

Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val

165 170 175

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

180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser

195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His

210 215 220

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

225 230 235 240

<210> 84

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 84

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro

20 25 30

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

35	40	45
----	----	----

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

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

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

<210> 85
<211> 240
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 85

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser

20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr

115 120 125

Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val

165 170 175

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

180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser

195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His

210 215 220

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

<210> 86

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 86

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln			
1	5	10	15

Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Gln Pro			
20	25	30	

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

Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg			
50	55	60	

Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu			
65	70	75	80

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

Thr Leu Ser Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr			
100	105	110	

Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr			
115	120	125	

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

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

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

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

<210> 87
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 87
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

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

 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365

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

370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
405	410	415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
420	425	430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435	440	445
-----	-----	-----

<210> 88

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 88

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50	55	60
----	----	----

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85	90	95
----	----	----

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100	105	110
-----	-----	-----

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

115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
355	360	365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 89

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

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

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 90

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 90

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr

65 70 75 80

Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 91

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 91

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

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

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

100	105	110
-----	-----	-----

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115	120	125
-----	-----	-----

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

130	135	140
-----	-----	-----

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

165	170	175
-----	-----	-----

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

<210> 92

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 92

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20	25	30
----	----	----

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35	40	45
----	----	----

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro

50	55	60	
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala			
85	90	95	
Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile			
100	105	110	
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp			
115	120	125	
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn			
130	135	140	
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu			
145	150	155	160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp			
165	170	175	
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr			
180	185	190	
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser			
195	200	205	
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215	220	
<210> 93			
<211> 220			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><221> source			
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"			
<400> 93			
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly			
1	5	10	15

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

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

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

 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220
 <210> 94
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic"

polypeptide"

<400> 94

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 95

<211

> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 95

Thr Ser Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe

1 5

<210> 96

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 97

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

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

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

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

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435

440

445

<210> 98

<211> 180

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 98

Ser Pro Leu Pro Ile Thr Pro Val Asn Ala Thr Cys Ala Ile Arg His

1 5 10 15

Pro Cys His Asn Asn Leu Met Asn Gln Ile Arg Ser Gln Leu Ala Gln

20 25 30

Leu Asn Gly Ser Ala Asn Ala Leu Phe Ile Leu Tyr Tyr Thr Ala Gln

35 40 45

Gly Glu Pro Phe Pro Asn Asn Leu Asp Lys Leu Cys Gly Pro Asn Val

50 55 60

Thr Asp Phe Pro Pro Phe His Ala Asn Gly Thr Glu Lys Ala Lys Leu

65 70 75 80

Val Glu Leu Tyr Arg Ile Val Val Tyr Leu Gly Thr Ser Leu Gly Asn

85 90 95

Ile Thr Arg Asp Gln Lys Ile Leu Asn Pro Ser Ala Leu Ser Leu His

100 105 110

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

115 120 125

Val Leu Cys Arg Leu Cys Ser Lys Tyr His Val Gly His Val Asp Val

130 135 140

Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Ser Gly Lys Asp Val Phe Gln Lys Lys

145 150 155 160

Leu Gly Cys Gln Leu Leu Gly Lys Tyr Lys Gln Ile Ile Ala Val Leu

165 170 175

Ala Gln Ala Phe

