



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0101204
(43) 공개일자 2022년07월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 31/357* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 47/6803 (2017.08)
A61K 31/357 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2022-7022691(분할)

(22) 출원일자(국제) 2017년03월02일
심사청구일자 2022년07월01일

(62) 원출원 특허 10-2018-7028407
원출원일자(국제) 2017년03월02일

심사청구일자 2020년02월26일

(85) 번역문제출일자 2022년07월01일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/020529

(87) 국제공개번호 WO 2017/151979
국제공개일자 2017년09월08일

(30) 우선권주장
62/302,562 2016년03월02일 미국(US)

(71) 출원인
에자이 알앤디 매니지먼트 가부시키가이샤
일본국 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4쵸메 6번 10고

(72) 발명자
알본, 얼, 에프.

미국 19422 펜실베니아주 블루 벨 위트페인 힐즈
2105

청, 신
미국 19086 펜실베니아주 월링포드 세이브룩 레인
373

(뒷면에 계속)

(74) 대리인
장수길, 이유리, 이석재

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 에리불린-기반 항체-약물 콘주게이트 및 사용 방법

(57) 요 약

인간 종양학 항원 표적 예컨대 폴레이트 수용체 알파에 결합하고/하거나 항-튜불린 약물 활성을 제공하는 링커
독소 및 항체-약물 콘주게이트가 개시된다. 링커 독소 및 항체-약물 콘주게이트는 에리불린 약물 모이어티를 포
함하고 및 표적 항원-발현 세포 속으로 내재화될 수 있다. 본 개시내용은 추가로 본 명세서에서 제공된 항체-약
물 콘주게이트 투여에 의해 암의 치료에서 사용하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)

A61K 47/6889 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/28 (2013.01)

C07K 16/30 (2013.01)

C07K 2317/14 (2013.01)

C07K 2317/40 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

커스타, 다니엘, 더블유.

미국 01845 매사추세츠주 노스 앤도버 퍼시트리 레
인 105

후루우치, 케이지

미국 19096 펜실베니아주 윈우드 유닛 101 웨스트
윈우드 로드 1219

리, 징

미국 01810 매사추세츠주 앤도버 링던 서클 이스트
40

메이줌더, 우트팔

미국 01810 매사추세츠주 앤도버 하이 플레인 로드
137

우에나카, 토시미쓰

미국 19382 펜실베니아주 웨스트 체스터 #333
에스. 매트랙 스트리트 890

명세서

청구범위

청구항 1

D가 에리불린이고; L이 D에 공유적으로 부착하는 절단가능한 링커인, -L-D를 포함하는, 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 시트룰린 (Cit)에 부착하는 발린 (Val)에 부착하는 PEG 스페이서 유닛을 포함하고,

여기서 PEG 스페이서 유닛은 -(PEG)_m-을 포함하고, m은 정수 1 내지 10이고,

Cit는 직접적으로 또는 임의의 추가 스페이서 유닛을 통해 에리불린에 공유적으로 부착되는, 조성물.

청구항 3

청구항 2에 있어서, m이 정수 2 내지 8인, 조성물.

청구항 4

청구항 2 또는 청구항 3에 있어서, m이 2인, 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 C-35 아민을 통해 에리불린에 공유적으로 부착되는, 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 시스테인 잔기와 반응성인, 조성물.

청구항 7

청구항 2에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 PEG 스페이서 유닛에 부착하는 말레이미드 (Mal)을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 Mal-(PEG)_m-Val-Cit를 포함하는, 조성물.

청구항 9

청구항 7 또는 청구항 8에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 Mal-(PEG)₂-Val-Cit를 포함하는, 조성물.

청구항 10

청구항 7에 있어서, 상기 Mal 내의 질소 원자가 PEG에 부착되는, 조성물.

청구항 11

청구항 7에 있어서, 상기 Mal이 시스테인 잔기와 반응성인, 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 시스테인 잔기가 항체 또는 이의 항원-결합 단편 상에 있는, 조성물.

청구항 13

청구항 2에 있어서, Cit가 추가 스페이서 유닛을 통해 에리불린에 공유적으로 부착되는, 조성물.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 상기 추가 스페이서 유닛이 자기-희생적인, 조성물.

청구항 15

청구항 13에 있어서, 상기 추가 스페이서 유닛이 p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)을 포함하는, 조성물.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 상기 pAB가 C-35 아민을 통해 에리불린에 공유적으로 부착되는, 조성물.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 Mal-(PEG)_m-Val-Cit-pAB를 포함하는, 조성물.

청구항 18

청구항 16에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는, 조성물.

청구항 19

청구항 17 또는 청구항 18에 있어서, 상기 Mal 내의 질소 원자가 PEG에 부착되고, pAB 내의 아미노 기가 Cit에 부착되는, 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서, 암을 치료하기 위한, 조성물.

발명의 설명**기술 분야**

[0001]

본원은 하기에 우선권의 이점을 주장한다: 미국특허 출원 번호 62/302,562 (2016년 3월 2일 출원, 그 전체 내용은 본 명세서에서 참고로 편입됨).

[0002]

본 개시내용은 인간 종양학 항원 표적 예컨대 폴레이트 수용체 알파를 결합시키고/시키거나 항-튜불린 약물 활성을 제공하는 항체 약물 콘주게이트 (ADCs)에 관한 것이다. 본 개시내용은 추가로 튜불린 방해에 의해 폴레이트 수용체 알파를 발현시키고/시키거나 치료를 잘 받아들이는 암의 치료 및 진단에서 유용한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003]

암은, 2012년에 대략 14 백만 신규한 사례 및 8.2 백만 암-관련된 사망으로, 전세계적인 이환율 및 사망률의 주된 원인 중에 있다. 암 사망의 가장 흔한 원인은 하기의 암이다: 폐 (1.59 백만 사망); 간 (745,000 사망); 위 (723,000 사망); 결장직장 (694,000 사망); 유방 (521,000 사망); 및 식도 (400,000 사망). 신규한 암 사례의 수는, 해마다 대략 22 백만 신규한 암 사례 (World Cancer Report 2014)로, 다음의 20여년 동안 약 70%만큼 오를 것으로 기대된다.

[0004]

미세소관은, 세포내 이동 및 수송, 세포 신호전달, 및 세포 형상의 유지를 포함하는, 다양한 세포 기능에서 관여되는 동적 섬유상 세포골격 단백질이다. 미세소관은 또한 2 땔 세포에 염색체를 격리시키도록 요구된 유사분열 스픈들을 형성함으로써 유사분열 세포 분할에서 중대한 역할을 한다. 모든 세포에서 미세소관의 생물학적 기능은, 미세소관의 양쪽 단부에서 α 및 β 튜불린 이량체의 가역적, 비-공유 첨가에 의해 발생하는, 그것의 종합 동력학에 의해 대부분 조절된다. 미세소관 길이에 대한 이러한 동적 행동 및 결과적 제어는 유사분열 스픈들의 적절한 기능화에 필수적이다. 심지어 미세소관 동력학의 소수의 변경이 스픈들 체크포인트를 관여시킬 수 있고, 유사분열에서 세포 사이를 진행을 정지시킬 수 있고, 후속적으로 세포 사망으로 이어질 수 있다 (Mukhtar 등. (2014) Mol. Cancer Ther. 13:275-84). 그것의 급속 세포 분할로 인해, 암 세포는 일반적으로, 정상 세포에 비교된 경우, 튜불린에 결합하고 그것의 정상 기능을 방해하는 화합물에 더욱 민감성이다. 이러한 이유로, 튜불린 억제제 및 다른 미세소관-표적화된 제제는 암의 치료에 대하여 유망한 부류의 약물이 되어 왔다

(Dumontet and Jordan (2010) Nat. Rev. Drug Discov. 9:790-803).

[0005] 폴레이트 수용체 알파 (FRA)는 폴레이트를 결합시키는 글리코포스파티딜이노시톨 (GPI)-연결된 막 단백질이다. 정상 및 암성 조직의 생물학에서 FRA의 역할이 완전하게 이해되지 않는 동안, 하기에서 고도로 과-발현된다: 상피성 기원의 난소 암의 높은 백분율에서 (O'Shannessy 등. (2013) Int. J. Gynecol. Pathol. 32(3):258-68), 뿐만 아니라 비-소 세포 폐 암종의 백분율에서 (Christoph 등. (2014) Clin. Lung Cancer 15(5):320-30). FRA는 또한 정상 조직에서 제한된 발현을 갖는다. 이들 특성은 FRA를 암 면역요법용 매력적인 표적으로 만든다.

[0006] 원종양유전자 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (HER2)는 인간 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 계열에 속하는 막관통 티로신 키나제 수용체를 인코딩한다 (King 등. (1985) Science 229:974-6). HER2의 과발현은 성장 인자 신호전달 경로, 예컨대 PI3K-AKT-mTOR 경로의 구성적 활성화를 가능하게 하고, 그렇게 함으로써, 침습성 유방 암 종의 대략 20%를 포함하는, 몇 개의 유형의 암에서 종양발생 드라이버로서 이용한다 (Slamon 등. (1989) Science 244:707-12; Gajria and Chandarlapaty (2011) Expert Rev. Anticancer Ther. 11:263-75). HER2 증폭이 전환된 표현형을 매개한다는 것을 감안하면, HER2는 암 치료를 위하여 또 다른 유망한 표적이다.

[0007] 본 개시내용은, 부분적으로, 종양 세포에 대한 생물학적 활성을 가진 신규한 화합물을 제공한다. 화합물은 포유동물에서 종양 성장을 억제시킬 수 있고, 인간 암 환자 치료에 유용할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0008] 본 개시내용은 더욱 구체적으로 종양 세포 (예를 들면, FRA-발현 종양 세포)를 결합, 내재화, 및 사멸시킬 수 있는 항체-약물 콘주케이트 화합물에 관한 것이다. 항체 모이어티에 약물 모이어티를 부착시키는 링커를 포함하는 항체-약물 콘주케이트 화합물은 개시된다. 항체-약물 콘주케이트 (ADC) 화합물은 식 I에 의해 표시될 수 있다:

[0009] $Ab-(L-D)_p$ (I)

[0010] 여기서 Ab는 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0011] D는 에리불린이고;

[0012] L은 Ab를 D에 공유적으로 부착시키는 절단가능한 링커이고;

[0013] p 는 정수 1 내지 20임.

[0014] 일부 구현예에서, 링커는 세포 외부에서 안정적이어서, 이로써 ADC가 세포외 조건에서 존재한 경우 온전하게 남아있지만 세포, 예를 들면, 암 세포에서 내재화시 절단될 수 있다. 일부 구현예에서, 에리불린 약물 모이어티는 ADC의 항체 모이어티에 대하여 특이적인 항원을 발현시키는 세포에 ADC가 진입하는 경우 항체 모이어티로부터 절단되고, 절단은 에리불린의 미변형된 형태를 방출시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 링커 또는 항체 모이어티의 일부가 절단시 에리불린 약물 모이어티에 결합된 채 남아있지 않도록 배치되는 절단가능한 모이어티를 포함한다.

[0015] 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 절단가능한 웨타이드 모이어티이다. 일부 구현예에서, 절단 가능한 웨타이드 모이어티를 포함하는 ADC는 대안적 절단가능한 모이어티를 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준, 개선된 항체:약물 비, 암 세포의 증가된 정확한 사멸, 비-암 세포의 감소된 부정확한 사멸, 및/또는 더 높은 약물 장입 (p)을 입증한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 모이어티의 첨가는 비-절단가능한 링커에 비해 세포독성 및/또는 효력을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 증가된 효력 및/또는 세포독성은 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원의 중간 정도 수준을 발현시키는 (예를 들면, 중간 정도 FRA 발현) 암에서이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 효소에 의해 절단가능하고, 링커는 효소-절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 효소는 카텝신이고, 링커는 카텝신-절단가능한 링커이다. 특정 구현예에서, 효소-절단가능한 링커 (예를 들면, 카텝신-절단가능한 링커)는, 대안적 절단 기전에 비교된 경우, 상기 언급된 하나 이상의 개선된 특성을 나타낸다.

- [0016] 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 펩타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 발린-시트룰린 (Val-Cit)를 포함한다. 일부 구현예에서, Val-Cit를 포함하는 ADC는 대안적 아미노산 유닛 또는 대안적 절단가능한 모이어티를 포함하는 ADC에 비해 증가된 안정성, 감소된 부정확한 세포 사멸, 증가된 정확한 세포 사멸, 더 낮은 응집 수준, 및/또는 더 높은 약물 장입을 입증한다.
- [0017] 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 모이어티에 항체 모이어티를 결합하는 적어도 하나의 스페이서 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티를 포함할 수 있다. PEG 모이어티는, 예를 들어, $-(PEG)_m-$ 를 포함할 수 있고, 여기서 m 은 정수 1 내지 10이다. 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 $(PEG)_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, 더 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_2$)를 포함하는 ADC는 더 짧은 링커 길이에도 불구하고 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_8$)을 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입을 입증한다.
- [0018] 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 말레이미드 모이어티 (Mal)을 통해 ADC의 항체 모이어티에 부착한다. 일부 구현예에서, Mal을 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC는 대안적 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC에 비해 더 높은 약물 장입을 입증한다. 일부 구현예에서, 링커에서 Mal은 항체 모이어티에서 시스테인 잔기와 반응성이다. 일부 구현예에서, 링커에서 Mal은 시스테인 잔기를 통해 항체 모이어티에 연결된다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_m$, 예를 들면, Mal-(PEG) $_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 링커에서 절단가능한 모이어티에 항체 모이어티를 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 절단가능한 펩타이드 모이어티, 예를 들면, 아미노산 유닛이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit를 포함한다.
- [0019] 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 ADC의 에리불린 약물 모이어티에 직접적으로 연결되고, 절단 가능한 모이어티는 항체 모이어티에 직접적으로 연결되거나 스페이서 유닛을 통해 연결된다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 또한 링커에서 절단가능한 모이어티를 에리불린 약물 모이어티에 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티를 에리불린 약물 모이어티에 부착시키는 스페이서 유닛은 자기-희생 적이다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서는 표적 세포에서 미변형된 에리불린을 방출시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질 알코올을 포함한다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)를 포함한다. 링커에서 pAB는, 일부 구현예에서, 절단가능한 모이어티를 에리불린 약물 모이어티에 부착시킨다. 일부 구현예에서, 절단가능한 모이어티는 절단가능한 펩타이드 모이어티, 예를 들면, 아미노산 유닛이다. 일부 구현예에서, 링커는 Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal을 통해 항체 모이어티에 링커를 결합시키는 Val-Cit-pAB 및 PEG 스페이서 유닛을 포함한다.
- [0020] 일부 구현예에서, p 는 정수 1 내지 6, 2 내지 5, 또는 바람직하게는, 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p 는 4이다. 일부 구현예에서, ADCs의 풀은 제공되고, 및 풀에서 평균 p 는 약 4 (예를 들면, 3.5-4.5, 예컨대 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit-pAB를 포함하고 p 는 4이다. 일부 구현예에서, ADCs의 풀은 제공되고, 여기서 각각의 ADC는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit-pAB 링커를 포함하고, 풀에서 평균 p 는 약 4 (예를 들면, 3.5-4.5, 예컨대 약 3.8)이다.
- [0021] 일부 구현예에서, ADC의 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편 (Ab 또는 Ab 모이어티)는 항-플레이트 수용체 알파 (FRA) 항체 또는 내재화 항체 단편이고, FRA-발현 종양 세포를 결합시킬 수 있다 (즉, ADC는 FRA-발현 세포를 표적한다). 일부 구현예에서, 항-FRA Ab 모이어티 및 절단가능한 펩타이드 모이어티를 포함하는 ADC는 비-절단가능한 링커 또는 대안적 절단 기전에 비해 더 낮은 응집 수준, 개선된 항체:약물 비, 암 세포의 증가된 정확한 사멸, 비-암 세포의 감소된 부정확한 사멸, 더 높은 약물 장입 (p), 증가된 세포독성, 및/또는 효력을 입증한다. 일부 구현예에서, 증가된 효력 및/또는 세포독성은 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원의 중간 정도 수준을 발현시키는 (예를 들면, 중간 정도 FRA 발현) 암에서이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 펩타이드 모이어티는 효소에 의해 절단가능하고, 링커는 효소-절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 효소는 카텝신이고, 링커는 카텝신-절단가능한 링커이다. 특정 구현예에서, 효소-절단가능한 링커 (예를 들면, 카텝신-절단가능한 링커)는, 대안적 절단 기전에 비교된 경우, 상기 언급된 하나 이상의 개선된 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_m$ -Val-Cit-pAB이다.
- [0022] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 플레이트 수용체 알파 (FRA)에 결합하고 FRA-발현

종양 세포를 표적한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:2로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:3으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:4로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:7로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:8로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:9로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:13으로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:14로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:15로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:16으로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:17로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:18로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 프레임워크 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 알라닌-히스타딘-리신-아스파르트산 (AHKD) (서열 식별 번호:365)를 포함하는 에피토프에 결합한다 (O' Shannessy 등, (2011) Oncotarget 2:1227-43). 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 NTSQEAHKDVSY (서열 식별 번호:366)을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0023]

일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 내재화 항-FRA 항체 또는 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:2로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:3으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:4로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:7로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:8로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:9로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:13으로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:14로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:15로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:16으로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:17로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:18로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하고; 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-Pab를 포함하고; p는 4이다. 일부 구현예에서, 그와 같은 ADCs의 풀은 제공되고 p는 약 4 (예를 들면, 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:365를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:366을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0024]

일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (her2)에 결합하고 her2-발현 종양 세포를 표적한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:71로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:72로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:73으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:74로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:75로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:76으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:191로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:192로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:193으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:194로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:195로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:196으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 프레임워크 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.

- [0025] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 내재화 항-her2 항체 또는 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:71로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:72로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:73으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:74로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:75로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:76으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:191로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:192로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:193으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:194로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:195로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:196으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하고; 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하고; p 는 4이다. 일부 구현예에서, 그와 같은 ADCs의 풀은 제공되고 p 는 약 4 (예를 들면, 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.
- [0026] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 메소텔린 (MSLN)에 결합하고 MSLN-발현 종양 세포를 표적한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:65로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:66으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:67로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:68로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:69로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:70으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:185로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:186으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:187로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:188로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:189로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:190으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.
- [0027] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 내재화 항-MSLN 항체 또는 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:65로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:66으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:67로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:68로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:69로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:70으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:185로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:186으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:187로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:188로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:189로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:190으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하고; 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하고; p 는 4이다. 일부 구현예에서, 그와 같은 ADCs의 풀은 제공되고 p 는 약 4 (예를 들면, 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.
- [0028] 임의의 기재된 ADCs의 다중 카페를 포함하는 조성물은 본 명세서에서 또한 제공되고, 여기서 조성물에서 ADCs의 평균 약물 장입 (평균 p)는 약 3 내지 4, 또는 약 3.5 내지 약 4.5, 또는 약 4이다. 일부 구현예에서, 평균 p 는 약 3.2 내지 3.8이다. 일부 구현예에서, 평균 p 는 약 3.6 내지 4.4이다.
- [0029] -L-D를 포함하는 조성물이 본 명세서에서 또한 제공되고, 여기서 D는 에리불린이고; L은 D에 공유적으로 부착하

는 절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 에리불린상의 C-35 아민에 공유적으로 부착한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 PEG 스페이서 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함한다.

[0030] ADC 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 캐리어, 및/또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물은 본 명세서에서 추가로 제공된다.

[0031] 본 개시내용의 또 다른 측면은, 예를 들면, 암 치료에서 기재된 ADC 화합물 및 조성물에 대하여 치료 및 진단 용도를 포함한다. 또 다른 측면은 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원, 예컨대 FRA를 발현시키는 암의 치료 방법을 포함한다. 다양한 구현예에서, 기재된 ADCs 중 어느 하나의 치료적 유효량 및/또는 레지멘을 투여함으로써 종양 세포 또는 암 세포의 증식 억제 또는 사멸 방법은 제공된다. 또 다른 측면은 개시된 ADCs를 사용하여 FRA를 발현시키는 종양 세포 또는 암 세포의 검출 방법, 및 기재된 ADCs로 치료에 반응성일 암 환자용 선별 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 암은 위암, 장액 난소 암, 투명 세포 난소 암, 비-소 세포 폐 암, 결장 직장 암, 삼중 음성 유방 암, 자궁내막 암, 장액 자궁내막 암종, 폐 카르시노이드, 또는 골육종이다. 기재된 ADCs의 생산 방법은 또한 개시된다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은, 특정 구현예에서 개시된 바와 같이, MORAb-003 ADCs를 제조하는데 사용된 방법론 중 하나를 도시한다. 이 접근법에서, 짹짓기되지 않은 시스테인은 비-티올 환원제 TCEP의 제한된 몰 당량으로 부분적 환원을 통해 생성된다. 이 접근법은 헌지 영역에서 2 중쇄 (인간 IgG1의 경우에서 2 쌍 / H-H 짹짓기) 그리고 경쇄 및 중쇄 (1 쌍 / H-L 짹짓기)를 연결하는 쇄간 디설파이드 결합을 우선적으로 환원시키면서, 쇄내 디설파이드 결합을 온전하게 남겨둔다.

도 2는, 특정 구현예에서 개시된 바와 같이, 말레이미드-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린 (mal-(PEG)₂-VCP-에리불린)의 합성 방법을 보여준다.

도 3은 MORAb-003용 환원 조건의 SDS-PAGE 분석을 보여준다. 레인은 도의 우측에 명시된다. 레인 M은 단백질 표준에 상응하고; 레인 1은 미처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 2는 70.6 μ M TCEP에서 환원된 5.3 mg/mL에 상응하고; 레인 3은 141.2 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 5.3 mg/mL에 상응하고; 레인 4는 20 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 1.5 mg/mL에 상응하고; 레인 5는 40 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 1.5 mg/mL에 상응한다. 각각의 밴드의 동일성은 우하측 결상에 명시된다. “H”는 중쇄를 명시한다. “L”은 경쇄를 명시한다.

도 4는 MORAb-003용 환원 조건의 SDS-PAGE 분석을 도시한다. 레인 1은 단백질 표준에 상응하고; 레인 2는 미처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 3은 1:1의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 4는 1:2의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 5는 1:3의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 6은 1:4의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다.

도 5는, M-MMAE (레인 2), M-DM1 (레인 3), M-0026 (레인 4), M-0260 (레인 5), M-0267 (레인 6), M-0272 (레인 7), M-0285 (레인 8), M-0292 (레인 9), M-027-0381 (레인 10), 및 M-0284 (레인 11)을 포함하는, 선택 MORAb-003 ADCs의 비-환원 SDS-PAGE 분석을 도시한다.

도 6A는 MORAb-003-말레이미도-PEG2-Val-Cit-pAB-에리불린 (M3-VCP-에리불린, 또는 “MORAb-202”)의 방관자 세포독성 검정의 결과를 도시한다. 도 6B는 MORAb-003-말레이미도-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB-ER-001150828 (M3-ER-61318)의 방관자 세포독성 검정의 결과를 도시한다. 도 6C는 MORAb-003-PEG-pAB-듀오스타틴 3 (M3-027-0285)의 방관자 세포독성 검정의 결과를 도시한다. 각각의 도 범례에서 도시된 정보는 시험된 세포주:제제 (배양된 세포주/세포주, 1^{번재} / 2^{번재} 세포주의 씨딩 밀도)를 제공한다.

도 7A 및 7B는, 특정 구현예에서 개시된 바와 같이, 미콘주케이션된 MORAb-003에 비해 ADCs MORAb-003-VCP-에리불린 (도 7A) 및 MORAb-003-0285 (도 7B)용 약물-대-항체 비 (DAR) 분포를 도시한다. 각각의 피크 위 수는 개별 종의 DAR을 명시한다.

도 8은 IGROV1 또는 SJS-1 세포에서 미콘주케이션된 MORAb-003 (2 μ M)과 MORAb-003-VCP-에리불린의 경쟁 - 세포독성 분석의 결과를 도시한다.

도 9는 10, 20, 40, 또는 80 mg/kg에서 비히클 (PBS), 또는 MORAb-202의 단일 정맥내 용량으로 처리된 CD-1 마

우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 동력학을 도시한다.

도 10은, q4dx3 투약 레지멘 (총 3 용량에 대하여 매 4 일 1회 투여된 용량)에 따라, 0.4, 0.8, 1.6, 또는 3.2 mg/kg에서 PBS로, 또는 에리불린으로 정맥내로 처리된 CD-1 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 동력학을 도시한다.

도 11은 PBS, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-0285의 단일 정맥내 용량으로 처리된 그리고 hNSCLC NCI-H2110 세포로 이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 12는, 일 17에서, hNSCLC NCI-H2110 세포로 이식된 개별 CB17-SCID 마우스의 종양 용적, 뿐만 아니라 그룹 평균 및 SEM을 도시한다. 그룹은 PBS, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-0285의 단일 정맥내 용량으로 처리되었다.

도 13은 PBS, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-0285의 단일 정맥내 용량으로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 동력학을 도시한다.

도 14는, q4dx3 투약 레지멘에 따라, 비히클 (PBS)로, 또는 0.5, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리불린으로 정맥내로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 15는, 일 24에서, 개별 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 종양 용적, 뿐만 아니라 그룹 평균 및 SEM을 도시한다. 그룹은, q4dx3 투약 레지멘에 따라, 비히클 (PBS)로, 또는 0.5, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리불린으로 정맥내로 처리되었다.

도 16은, q4dx3 투약 레지멘에 따라, 비히클 (PBS)로, 또는 0.5, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리불린으로 정맥내로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학을 도시한다.

도 17은, 크리스탈 바이올렛 세포독성 검정에 의해 측정된 바와 같이, IGROV1, OVCAR3, NCI-H2110, A431-A3, 및 SJS-A1 세포에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)의 효력을 도시한다.

도 18은 PBS의 단일 정맥내 용량, 또는 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 19A 및 19B는 비히클 (PBS)의 단일 정맥내 용량, 5 mg/kg에서 MORAb-003, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 NSCLC PDx (LXFA-737) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학 (도 19A) 및 체중 변화 동력학 (도 19B)를 도시한다.

도 20A 및 20B는 PBS의 단일 정맥내 용량, 0.1 또는 3.2 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 자궁내막 암 PDx (Endo-12961) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 개별 종양 용적 비 (도 20A) 및 체중 변화 동력학 (도 20B)를 도시한다. 도 20C 및 20D는 PBS의 단일 정맥내 용량, 0.1 또는 3.2 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 자궁내막 암 PDx (Endo-10590) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학 (도 20C) 및 체중 변화 동력학 (도 20D)를 도시한다.

도 21A는 항-인간 IgG 항체를 가진 TNBC PDx (OD-BRE-0631) 종양-보유 마우스에서 종양 조직의 면역조직화학 (IHC) 염색을 도시한다. 비히클의 단일 정맥내 용량 (우), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202) (좌)로 처리된 마우스로부터 종양 조직은 처리후 5 일 염색되었다. 도 21B는 α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체를 가진 TNBC PDx (OD-BRE-0631) 종양-보유 마우스에서 종양 조직의 IHC 염색을 보여준다. 미처리된 마우스로부터 종양 조직은 처리에 앞서 2 일 수집되었고 (좌), 반면에 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)의 단일 정맥내 용량으로 처리된 마우스로부터 종양 조직은 처리후 5 일 수집되었다 (우). 도 21C는 비히클 (PBS)의 단일 정맥내 용량, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 TNBC PDx (OD-BRE-0631) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 22는, 유세포측정 분석에 의해 측정된 경우, 비히클 (PBS 또는 에탄올), 에리불린, MORAb-003, 또는 MORAb-

003-VCP-에리불린 (MORab-202)로 처리 이후 MKN-74 세포를 가진 배양물에서 인간 골수-간엽 줄기 세포 (BM-MSCs)의 분화를 도시한다. Stro-1⁺/CD105⁺, CD34⁺/CD31⁻, 및 NG2⁺는 MSCs, 지방세포, 및 혈관주위세포, 각각의 마커이다.

도 23은, α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체로 염색된, 비히클 (PBS)의 단일 정맥내 용량, 또는 5 mg/kg에서 MORab-003-VCP-에리불린 (MORab-202)로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스로부터 종양 조직의 시간 경과 분석을 도시한다. 종양 조직은 수집되었고 일 0에서, 그리고 처리후 일 3, 5, 7 및 9에서 염색되었다. Y-축: % = [카운트된 염색된 세포 / 카운트된 총 세포] * 100. X-축: 일 (카운트된 총 세포).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033]

개시된 조성물 및 방법은, 개시내용의 일부를 형성하는, 수행하는 도와 함께 실시된 하기 상세한 설명을 참고로 더욱 쉽게 이해될 수 있다. 개시된 조성물 및 방법이 본 명세서에서 기재된 및/또는 나타난 특정한 조성물 및 방법에 제한되지 않는다는 것, 그리고 본 명세서에서 사용된 전문용어가 단지 예로써 특정 구현예 기재의 목적을 위한 것이고 청구된 조성물 및 방법의 제한이도록 의도되지 않는 것이 이해되어야 한다.

[0034]

이 본문 전반에 걸쳐, 설명은 조성물 및 상기 조성물의 사용 방법을 참조한다. 본 개시내용이 조성물과 관련된 피쳐 또는 구현예를 기재하거나 청구하는 경우, 그와 같은 피쳐 또는 구현예는 동등하게 상기 조성물의 사용 방법에 적용가능하다. 마찬가지로, 본 개시내용이 조성물의 사용 방법과 관련된 피쳐 또는 구현예를 기재하거나 청구하는 경우, 그와 같은 피쳐 또는 구현예는 동등하게 조성물에 적용가능하다.

[0035]

값의 범위가 표현되는 경우, 그 범위 안에 임의의 특정 값을 사용하는 구현예를 포함한다. 또한, 범위에서 언급된 값 참조는 그 범위 안에 각각의 및 모든 값을 포함한다. 모든 범위는 그것의 종점을 포함하고 조합가능하다. 값이, 선행된 “약”의 사용에 의해, 근사치로서 표현되는 경우, 특정한 값이 또 다른 구현예를 형성한다는 것이 이해될 것이다. 특정 수치 참조는, 문맥이 명확히 달리 지시하지 않는 한, 적어도 그 특정 값을 포함한다. “또는”의 사용은 그것의 사용의 특이적 문맥이 달리 지시하지 않는 한 “및/또는”을 의미할 것이다. 본 명세서에서 인용된 모든 참조는 임의의 목적을 위하여 참고로 편입된다. 참조 및 명세서가 상충하는 경우, 명세서가 지배할 것이다.

[0036]

명백하게 하기 위해, 별개의 구현예의 문맥에서 본 명세서에서 기재되는, 개시된 조성물 및 방법의 특정 피쳐가 또한 단일 구현예에서 조합으로 제공될 수 있다는 것이 인정되어야 한다. 반대로, 간결하게 하기 위해, 단일 구현예의 문맥에서 기재되는 개시된 조성물 및 방법의 다양한 피쳐는 또한 별도로 또는 임의의 하위조합으로 제공될 수 있다.

[0037]

정의

[0038]

설명의 측면에 관한 다양한 용어는 명세서 및 청구항 전반에 걸쳐 사용된다. 그와 같은 용어는 달리 나타내지 않는 한 당해 분야에서 그것의 통상적인 의미로 주어져야 한다. 다른 구체적으로 정의된 용어는 본 명세서에서 제공된 정의와 일치하는 방식으로 해석되어야 한다.

[0039]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, 단수 형태 “한”, “하나”, 및 “그”는 문맥이 명확히 달리 지시하지 않는 한 복수 형태를 포함한다.

[0040]

수치 및 범위의 문맥에서 용어 “약” 또는 “대략”은, 본 명세서에서 함유된 교시로부터 숙련가에 분명한 바와 같이, 구현예가 의도된, 예컨대 반응 혼합물에서 핵산 또는 폴리펩타이드의 원하는 양을 갖는 것으로 수행할 수 있는 정도로 인용된 값 또는 범위에 가까운 또는 근사하는 값 또는 범위를 지칭한다. 이것은, 적어도 부분적으로, 핵산 조성물, 연령, 인종, 성별, 해부적 및 생리적 변화 그리고 생물학적 시스템의 부정확성의 다양한 특성 때문이다. 따라서, 이를 용어는 시스템 오차에서 비롯하는 것을 넘는 값을 포함한다.

[0041]

용어 “항체-약물 콘주게이트”, “항체 콘주게이트”, “콘주게이트”, “면역접합체”, 및 “ADC”는 상호교환적으로 사용되고, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체)에 연결되는 그리고 일반식에 의해 정의되는 화합물 또는 이의 유도체를 지칭한다: $Ab-(L-D)_p$ (식 I), 여기서 Ab = 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편), L = 링커 모이어티, D = 약물 모이어티, 및 p = 항체 모이어티당 약물 모이어티의 수.

[0042]

용어 “항체”는 면역글로불린 분자의 가변 영역 안에 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 표적, 예컨대 단백질, 폴리펩타이드, 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 또는 전술한 것의 조합에 특이적으로 결합하고 인

식하는 면역글로불린 분자를 지칭하기 위해 가장 넓은 의미로 사용된다. 항체의 중쇄는 중쇄 가변 도메인 (V_H) 및 중쇄 불변 영역 (C_H)로 구성된다. 경쇄는 경쇄 가변 도메인 (V_L) 및 경쇄 불변 도메인 (C_L)로 구성된다. 본원의 목적을 위하여, 성숙한 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 각각은 N-말단으로부터 C-말단까지 배열된 4 프레임워크 영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4) 안에 3 상보성 결정 영역 (CDR1, CDR2 및 CDR3)을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4. "항체", 예컨대 종래의 하이브리도마 기술에 의해 생산된 단클론성 항체는 자연 발생일 수 있거나 인공일 수 있다. 용어 "항체"는 전장 단클론성 항체 및 전장 다클론성 항체, 뿐만 아니라 항체 단편 예컨대 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 및 단일 쇄 항체를 포함한다. 항체는 면역글로불린의 5 주요 부류 중 어느 하나일 수 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 또는 이의 하위부류 (예를 들면, 아이소타입 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). 용어는, 원하는 생물학적 활성을 입증하는 한, 항원 인식 부위를 함유하는 인간 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체 및 임의의 변형된 면역글로불린 분자를 추가로 포함한다.

[0043] 용어 "단클론성 항체"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 실질적으로 균질한 항체의 모집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다, 즉, 모집단을 포함하는 개별 항체가 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론성 항체는, 단일 항원성 에피토프에 관하여, 고도로 특이적이다. 그에 반해서, 종래의 (다클론성) 항체 제제는 전형적으로 상이한 에피토프에 관한 (또는 특이적인) 다수의 항체를 포함한다. 변형제 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질한 모집단으로부터 수득된 경우 항체의 특성을 명시하고, 임의의 특정 방법에 의해 항체의 생산을 요구하는 것으로서 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 본 개시내용에 따라 사용될 단클론성 항체는 Kohler 등. (1975) Nature 256:495에 의해 최초 기재된 하이브리도마 방법에 의해 만들어질 수 있거나, 하기에 의해 만들어질 수 있다: 재조합 DNA 방법 (참고, 예를 들면, 미국특허 번호 4,816,567). 단클론성 항체는 또한, 예를 들어 Clackson 등. (1991) Nature 352:624-8, 및 Marks 등. (1991) J. Mol. Biol. 222:581-97에 기재된 기술을 이용하여 파아지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0044] 본 명세서에서 기재된 단클론성 항체는 구체적으로 "키메라" 항체를 포함하고, 여기에서 중쇄 및/또는 경쇄의 한 부분은 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 또는 특정 종에서 유래된 항체내 상응하는 서열에 상동성이거나 상기와 동일하고, 반면 쇄(들)의 나머지는 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 또는 또 다른 종에서 유래된 항체에서 상응하는 서열에 상동성이거나 상기와 동일하고, 뿐만 아니라, 이들이 표적 항원을 특이적으로 결합시키고/시키거나 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 상기 항체의 단편을 포함한다.

[0045] 용어 "인간 항체"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 인간에 의해 생산된 항체 또는 인간에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열을 갖는 항체를 지칭한다.

[0046] 용어 "키메라 항체"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이 2 이상의 종에서 유래되는 항체를 지칭한다. 일부 사례에서, 양쪽 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 원하는 특이성, 친화성, 및 활성을 하나의 종에서 유래된 항체의 가변 영역에 상응하고 반면 불변 영역은 후자 종에서 면역 반응을 최소화하기 위해 또 다른 종 (예를 들면, 인간)에서 유래된 항체에 상동성이다.

[0047] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "인간화된 항체"는 비-인간 (예를 들면, 첫과) 항체 뿐만 아니라 인간 항체로부터 서열을 함유하는 항체의 형태를 지칭한다. 그와 같은 항체는 비-인간 면역글로불린에서 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 하나의, 및 전형적으로 2, 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기에서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변성 루프는 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 (FR) 영역은 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 인간화된 항체는 선택적으로 또한 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 한 부분, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 것이다. 인간화된 항체는, 항체 특이성, 친화성, 및/또는 활성을 개선 및 최적화하기 위해 Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 대체된 비-인간 잔기 안에서, 잔기의 치환에 의해 추가로 변형될 수 있다.

[0048] 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항원-결합 부분"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체 (예를 들면, FRA)의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항원-결합 단편은 바람직하게는 또한 항원-발현 세포 속으로 내재화하는 능력을 보유한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단편은 또한 면역효과기 활성을 보유한다. 전장 항체의 단편이 전장 항체의 항원-결합 기능을 수행할 수 있다는 것이 나타났다. 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항원-결합 부분" 안에 포함된 결합 단편의 예는 하기를 포함한다: (i) V_L , V_H , C_L , 및 C_H 도메인으로 구성되는 1가 단편인, Fab 단편; (ii) 헌지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결된 2 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인, $F(ab')_2$ 단편; (iii) V_H 및 C_H 도메인으로 구성되는 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 구성되는 Fv 단편; (v) 단일 가변 도메인, 예를 들면, V_H 도메인을 포함하

는, dAb 단편 (참고, 예를 들면, Ward 등. (1989) *Nature* 341:544-6; 및 Winter 등, WO 90/05144); 및 (vi) 단리된 상보성 결합 항체 (CDR). 게다가, Fv 단편의 2 도메인, V_L 및 V_H 가 별개의 유전자에 의해 코딩되어도, 이들은, 재조합 방법을 이용하여, V_L 및 V_H 영역이 짹짓기하여 (단일 쇄 Fv (scFv)로서 공지된) 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇄로서 만들어지도록 이들을 가능하게 하는 합성 링커에 의해 연결될 수 있다. 참고, 예를 들면, Bird 등. (1988) *Science* 242:423-6; 및 Huston 등. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83. 그와 같은 단일 쇄 항체는 또한 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항원-결합 부분" 안에 포함되도록 의도되고, 결합 시 세포 속으로 내재화할 수 있는 결합 단편의 예시적 유형으로서 당해 기술에 공지되어 있다. 참고, 예를 들면, Zhu 등. (2010) 9:2131-41; He 등. (2010) *J. Nucl. Med.* 51:427-32; 및 Fitting 등. (2015) *MAbs* 7:390-402. 특정 구현예에서, scFv 분자는 융합 단백질 속으로 편입될 수 있다. 단일 쇄 항체의 다른 형태, 예컨대 디아바디는 또한 포함된다. 디아바디는 V_H 및 V_L 도메인이 단일 폴리펩타이드 쇄에서 발현되는 2가, 이중특이적 항체이지만, 동일한 쇄에서 2 도메인 사이 짹짓기를 허용하기에 너무 짧은 링커를 사용하고, 그렇게 함으로써 상기 도메인을 또 다른 쇄의 상보적 도메인과 강제로 짹짓기시키고 2 항원 결합 부위를 창출한다 (참조 예를 들면, Holliger 등. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-8; 및 Poljak 등. (1994) *Structure* 2:1121-3). 항원-결합 단편은 당해 분야의 숙련가에 공지된 종래의 기술을 사용하여 수득되고, 결합 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성 (예를 들면, 결합 친화성, 내재화)를 위하여 선별된다. 항원-결합 단편은 온전한 단백질의 절단에 의해, 예를 들면, 프로테아제 또는 화학 절단에 의해 제조될 수 있다.

[0049]

항체 또는 항원-결합 단편과 관련하여 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "내재화"는 세포에서, 바람직하게는 세포에서 분해적 구획 속에 결합시 내부 구획에 (즉, "내재화된") 세포의 지질 이중층 막을 통해 취득될 수 있는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다. 예를 들어, 내재화 항-FRA 항체는 세포 막에서 FRA에 결합후 세포 속으로 취득될 수 있는 것이다.

[0050]

용어 "플레이트 수용체 알파" 또는 "FRA"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 인간 FRA의 임의의 원상태 형태를 지칭한다. 용어는 하기를 포함한다: 전장 FRA (예를 들면, NCBI 참조 서열:NP_000793; 서열 식별 번호:19), 뿐만 아니라 세포 가공에서 비롯하는 인간 FRA의 임의의 형태. 용어는 또한, 비제한적으로 스플라이스 변이체, 대립유전자 변이체, 및 동형체를 포함하는, FRA의 자연 발생 변이체를 포함한다. FRA는 인간으로부터 단리될 수 있거나, 재조합으로 또는 합성 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0051]

용어 "항-FRA 항체" 또는 "FRA를 특이적으로 결합시키는 항체"는 FRA를 특이적으로 결합시키는 항체 또는 이의 단편의 임의의 형태를 지칭하고, 이들이 FRA를 특이적으로 결합하는 한 (전장 단클론성 항체를 포함하는) 단클론성 항체, 다클론성 항체, 및 생물학적으로 기능성 항체 단편을 포함한다. 바람직하게는 본 명세서에서 개시된 ADCs에서 사용된 항-FRA 항체는 내재화 항체 또는 내재화 항체 단편이다. MORAb-003은 예시적 내재화 항-인간 FRA 항체이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "특이적", "특이적으로 결합한다", 및 "결합한다 특이적으로"는 표적 항원 에피토프에 항체의 선택적 결합을 지칭한다. 항체는 주어진 세트의 조건 하에 무관한 항원 또는 항원 혼합물에 결합과 적절한 항원에 결합을 비교함으로써 결합의 특이성에 대하여 시험될 수 있다. 항체가 무관한 항원 또는 항원 혼합물보다 적어도 2, 5, 7, 및 바람직하게는 10배 더 친화성으로 적절한 항원에 결합하면, 특이적인 것으로 간주된다. 일 구현예에서, 특이적 항체는 FRA 항원을 단지 결합시키지만, 다른 항원에 결합하지 않는 (또는 최소 결합을 나타내는) 것이다.

[0052]

용어 "인간 표피 성장 인자 수용체 2", "her2", 또는 "her2/neu"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 인간 her2의 임의의 원상태 형태를 지칭한다. 용어는 하기를 포함한다: 전장 her2 (예를 들면, NCBI 참조 서열:NP_004439.2; 서열 식별 번호:21), 뿐만 아니라 세포 가공에서 비롯하는 인간 her2의 임의의 형태. 용어는 또한, 비제한적으로 스플라이스 변이체, 대립유전자 변이체, 및 동형체를 포함하는, her2의 자연 발생 변이체를 포함한다. Her2는 인간으로부터 단리될 수 있거나, 재조합으로 또는 합성 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0053]

용어 "항-her2 항체" 또는 "her2를 특이적으로 결합시키는 항체"는 her2를 특이적으로 결합시키는 항체 또는 이의 단편의 임의의 형태를 지칭하고, 이들이 her2를 특이적으로 결합시키는 한 (전장 단클론성 항체를 포함하는) 단클론성 항체, 다클론성 항체, 및 생물학적으로 기능성 항체 단편을 포함한다. 미국특허 번호 5,821,337 (본 명세서에서 참고로 편입됨)은, 예시적 항-her2 항체 서열을 포함하는, 예시적 her2-결합 서열을 제공한다. 바람직하게는 본 명세서에서 개시된 ADCs에서 사용된 항-her2 항체는 내재화 항체 또는 내재화 항체 단편이다. 트라스투주맙은 예시적 내재화 항-인간 her2 항체이다.

[0054]

용어 "에피토프"는 항체에 의해 구체적으로 결합될 수 있고 인식될 수 있는 항원의 부분을 지칭한다. 항원이

폴리펩타이드인 경우, 에피토프는 폴리펩타이드의 3차 폴딩에 의해 나란히 놓인 인접 아미노산 또는 비인접 아미노산으로부터 형성될 수 있다. 항체에 의해 결합된 에피토프는, 항원-항체 복합체의 직접적인 가시화에 의한 에피토프 확인용 X-선 결정학, 뿐만 아니라 단편에 항체의 모니터링 결합 또는 항원의 돌연변이된 변화, 또는 항체 및 항원의 상이한 부분의 모니터링 용매 접근성을 포함하는, 당해 분야에서 공지된 임의의 에피토프 맵핑 기술을 사용하여 확인될 수 있다. 항체 에피토프를 맵핑하는데 사용된 예시적 전략은, 비제한적으로, 어레이-기반 올리고-펩타이드 스캐닝, 제한된 단백질분해, 부위 지향적 돌연변이유발, 고-처리량 돌연변이유발 맵핑, 수소-중수소 교환, 및 질량 분광분석법을 포함한다 (참조, 예를 들면, Gershoni 등. (2007) 21:145-56; 및 Hager-Braun and Tomer (2005) Expert Rev. Proteomics 2:745-56).

[0055] 경쟁적 결합 및 에피토프 결합은 또한 동일한 또는 중첩 에피토프를 공유하는 항체를 결정하는데 사용될 수 있다. 경쟁적 결합은 교차-차단 검정, 예컨대 하기에서 기재된 검정을 사용하여 평가될 수 있다: "Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow and Lane (1st edition 1988, 2nd edition 2014). 일부 구현예에서, 경쟁적 결합은 시험 항체 또는 결합 단백질이 표적 항원 예컨대 FRA 또는 her2에 참조 항체 또는 결합 단백질 (예를 들면, 표 2, 4, 및 6에서 확인된 것으로부터 선택된 CDRs 및/또는 가변 도메인을 포함하는 결합 단백질)의 결합을 교차-차단 검정에서 적어도 약 50% (예를 들면, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 99.5%, 또는 초과, 또는 그사이 임의의 백분율)만큼 감소하는 경우, 및/또는 그 반대인 경우 확인된다. 일부 구현예에서, 경쟁적 결합은 공유된 또는 유사한 (예를 들면, 부분적으로 중첩) 에피토프 때문일 수 있거나, 항체 또는 결합 단백질이 근처 에피토프에서 결합하는 입체 장애 때문일 수 있다. 참조, 예를 들면, Tzartos, Methods in Molecular Biology (Morris, ed. (1998) vol. 66, pp. 55-66). 일부 구현예에서, 경쟁적 결합은 유사한 에피토프를 공유하는 결합 단백질의 그룹을 분류하는데 사용될 수 있고, 예를 들면, 결합에 대하여 경쟁하는 것은 중첩 또는 근처 에피토프를 갖는 결합 단백질의 그룹으로서 "비닝" 될 수 있고, 반면 경쟁하지 않는 것은 중첩 또는 근처 에피토프를 갖지 않는 결합 단백질의 별개의 그룹에서 배치된다.

[0056] 용어 "k_{on}" 또는 "k_a"는 항체/항원 복합체를 형성하기 위해 항원에 항체의 회합용 온 속도 상수를 지칭한다. 속도는 표준 검정, 예컨대 Biacore 또는 ELISA 검정을 사용하여 결정될 수 있다.

[0057] 용어 "k_{off}" 또는 "k_d"는 항체/항원 복합체로부터 항체의 해리용 오프 속도 상수를 지칭한다. 속도는 표준 검정, 예컨대 Biacore 또는 ELISA 검정을 사용하여 결정될 수 있다.

[0058] 용어 "K_D"는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭한다. K_D는 k_a/k_d에 의해 계산된다. 속도는 표준 검정, 예컨대 Biacore 또는 ELISA 검정을 사용하여 결정될 수 있다.

[0059] 용어 "p" 또는 "항체:약물 비" 또는 "약물-대-항체 비" 또는 "DAR"은 항체 모이어티당 약물 모이어티의 수, 즉, 약물 장입, 또는 식 I의 ADCs에서 항체 또는 항원-결합 단편 (Ab)당 -L-D 모이어티의 수를 지칭한다. 식 I의 ADCs의 다중 카페를 포함하는 조성물에서, "p"는, 또한 평균 약물 장입으로서 지칭된, 항체 또는 항원-결합 단편당 -L-D 모이어티의 평균 수를 지칭한다.

[0060] "링커" 또는 "링커 모이어티"는, 또 다른 모이어티 예컨대 항체 모이어티에, 화합물을 공유적으로 결합할 수 있는 임의의 화학 모이어티, 일반적으로 약물 모이어티 예컨대 화학치료제이다. 링커는, 화합물 또는 항체가 활성이 남아있는 조건에서, 산-유도된 절단, 펩티다제-유도된 절단, 광-기반된 절단, 에스테라제-유도된 절단, 및/또는 디설파이드 결합 절단에 민감성일 수 있거나 실질적으로 저항성일 수 있다.

[0061] 용어 "제제"는 화학 화합물, 화학 화합물의 혼합물, 생물학적 거대분자, 또는 생물학적 물질로부터 만들어진 추출물을 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 용어 "치료제", "약물", 또는 "약물 모이어티"는 생물학적 공정을 조절할 수 있는 및/또는 생물학적 활성을 갖는 제제를 지칭한다.

[0062] 용어 "화학치료제" 또는 "항-암 제제"는 작용 기전과 무관하게 암 치료에 효과적인 모든 화학 화합물을 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 전이 또는 혈관신생의 억제는 빈번하게 화학치료제의 특성이다. 화학치료제의 비-제한 예는 하기를 포함한다: 알킬화제, 예를 들어, 질소 머스타드, 에틸렌이민 화합물, 및 알킬 세포네이트; 항대사물질, 예를 들어, 엽산, 퓨린 또는 피리미딘 길항제; 항-유사분열 제제, 예를 들어, 항-튜불린 제제 예컨대 에리볼린 또는 에리볼린 메실레이트 (Halaven™) 또는 이의 유도체, 빈카 알카로이드, 및 아우리스타틴; 세포독성 항생제; DNA 발현 또는 복제를 손상시키거나 방해하는 화합물, 예를 들어, DNA 좁은 홈 결합제; 및 성장 인자 수용체 길항제. 게다가, 화학치료제는 항체, 생물학적 분자, 및 소 분자를 포함한다. 화학치료제는 세포 독성제 또는 세포증식억제제일 수 있다. 용어 "세포증식억제제"는 세포 성장 및/또는 세포의 증배를 억제 또

는 역암시키는 제제를 지칭한다.

[0063] 용어 "세포독성 약물"은 세포의 발현 활성 및/또는 기능화를 주로 방해함으로써 세포사를 야기시키는 서브스탄스를 지칭한다. 세포독성 약물의 예는, 비제한적으로, 하기를 포함한다: 항-유사분열 제제, 예컨대 에리불린, 아우리스타틴 (예를 들면, 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F (MMAF)), 메이탄시노이드 (예를 들면, 메이탄신), 돌라스타틴, 듀오스타틴, 크립토파이신, 빙카 알카로이드 (예를 들면, 빙크리스틴, 빙블라스틴), 탁산, 탁솔, 및 콜히친; 안트라사이클린 (예를 들면, 다우노루비신, 독소루비신, 디하이드록시안트라신디온); 세포독성 항생제 (예를 들면, 미토마이신, 악티노마이신, 듀오카르마이신 (예를 들면, CC-1065), 아우로마이신, 듀오마이신, 칼리키아마이신, 엔도마이신, 페노마이신); 알킬화제 (예를 들면, 시스플라틴); 개재물질 (예를 들면, 에티듐 브로마이드); 토포이소미라제 억제제 (예를 들면, 에토포시드, 테노포사이드); 방사선 동위원소, 예컨대 At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹² 또는 Bi²¹³, P³², 및 루테튬의 방사성 동위원소 (예를 들면, Lu¹⁷⁷); 및 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 독소 (예를 들면, 리신 (예를 들면, 리신 A-쇄), 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소 A (예를 들면, PE40), 내독소, 마이토겔린, 콤브레스타틴, 레스트릭토신, 젤로닌, 알파-사르신, 아브린 (예를 들면, 아브린 A-쇄), 모텍신 (예를 들면, 모텍신 A-쇄), 큐리신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 글루코코르티코이드).

[0064] 용어 "에리불린"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 해양 스펜지 할리콘드리아 오카다이스로부터 본래 단리된 거대환형 화합물인, 할리콘드린 B의 합성 유사체를 지칭한다. 용어 "에리불린 약물 모이어티"는 에리불린의 구조를 갖는 ADC의 성분을 지칭하고, 그것의 C-35 아민을 통해 ADC의 링커에 부착된다. 에리불린은, 유사분열 스펜들 어셈블리를 억제시킴으로써 G2/M 상에서 세포 사이클 정지를 유도하고 튜불린을 결합시킨다고 생각되는, 미세소관 동력학 억제제이다. 용어 "에리불린 메실레이트"은 상표명 Halaven™하에 시판되는, 에리불린의 메실레이트 염을 지칭한다.

[0065] 용어 "동족체"는, 예를 들어, 상응하는 위치에서 동일한 또는 유사한 것인 화학 잔기의 서열을 가짐으로써, 또 다른 문자에 상동성을 나타내는 문자를 지칭한다.

[0066] 용어 "억제한다" 또는 "의 억제"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 측정가능한 양에 의해 감소하는 것을 의미하고, 완전한 예방 또는 억제를 포함할 수 있지만 요구하지 않는다.

[0067] 용어 "표적-음성" 또는 "표적 항원-음성"은 세포 또는 조직에 의한 표적 항원 발현의 부재를 지칭한다. 용어 "표적-양성" 또는 "표적 항원-양성"은 표적 항원 발현의 존재를 지칭한다. 예를 들어, 표적 항원을 발현시키지 않는 세포 또는 세포주는 표적-음성으로서 기재될 수 있고, 반면에 표적 항원을 발현시키는 세포 또는 세포주는 표적-양성으로서 기재될 수 있다.

[0068] 용어 "방관자 사멸" 또는 "방관자 효과"는 표적-양성 세포의 존재 하에 표적-음성 세포의 사멸을 지칭하고, 여기서 표적-음성 세포의 사멸은 표적-양성 세포의 부재 하에 관측되지 않는다. 세포-대-세포 접촉, 또는 적어도 표적-양성과 표적-음성 세포 사이 근접은 방관자 사멸을 가능하게 한다. 이러한 유형의 사멸은, 표적-음성 세포의 무차별적인 사멸을 지칭하는, "부정확한 사멸"과 구별할 수 있다. "부정확한 사멸"은 표적-양성 세포의 부재 하에 관측될 수 있다.

[0069] 용어 "암"은 세포의 모집단이 조절되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서 생리적 병태를 지칭한다. 암의 예는, 비제한적으로, 암종, 럼프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병을 포함한다. 상기 암의 더욱 특정한 예는 하기를 포함한다: 편평상피 세포 암, 소 세포 폐 암, 비소 세포 폐 암, 폐의 선암종, 폐의 편평상피 암종, 복막의 암, 간세포 암, 위장 암, 췌장 암, 교모세포종, 자궁경부 암, 난소 암, 간 암, 방광 암, 간종양, 유방암 (예를 들면, 삼중 음성 유방 암), 골육종, 흑색종, 결장 암, 결장직장 암, 자궁내막 (예를 들면, 장액) 또는 자궁 암, 타액샘 암종, 신장 암, 간 암, 전립선 암, 외음부 암, 갑상선 암, 간 암종, 및 다양한 유형의 두경부암. 삼중 음성 유방 암은 에스트로겐 수용체 (ER), 프로게스테론 수용체 (PR), 또는 Her2/neu용 유전자의 발현에 대하여 음성인 유방 암을 지칭한다.

[0070] 용어 "종양" 및 "신생물"은, 전암성 병변을 포함하는, 어느 한쪽 양성 또는 악성인, 과도한 세포 성장 또는 증식에서 비롯하는 조직의 임의의 넉어리를 지칭한다.

[0071] 용어 "암 세포" 및 "종양 세포"는, 양쪽 비-종양형성 세포 및 암 줄기 세포를 포함하는, 종양에서 유래된 세포의 총 모집단 또는 개별 세포를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "종양 세포"는 암 줄기 세포로부터 그들 종양 세포를 식별하기 위해 재개 및 분화하는 수용력이 부족한 그들 종양 세포를 단독으로 지

칭하는 경우 용어 “비-종양형성”에 의해 변형될 것이다.

[0072] 용어 “대상체” 및 “환자”는, 임의의 동물, 예컨대, 비제한적으로, 인간, 비-인간 영장류, 설치류, 및 기타를 포함하는, 임의의 포유동물을 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. 일부 구현예에서, 포유동물은 마우스이다. 일부 구현예에서, 포유동물은 인간이다.

[0073] 용어 “공-투여” 또는 하나 이상의 치료제”와 조합으로” 투여는 임의의 순서로 동반 및 연속 투여를 포함한다.

[0074] “약제학적 조성물”은 투여를 허용하고 후속적으로 활성 성분(들)의 의도된 생물학적 활성을 제공하기 위한 및/또는 치료 효과를 달성하기 위한 그와 같은 형태인, 그리고 제형이 투여될 대상체에 허용불가능한 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다. 약제학적 조성물은 멸균될 수 있다.

[0075] “약제학적 부형제”는 물질 예컨대 아쥬반트, 캐리어, pH-조정제 및 완충제, 긴장성 조정제, 습윤제, 보존제, 및 기타를 포함한다.

[0076] “약제학적으로 허용가능한”은 연방 또는 주 정부의 관리 기관에 의해 승인된 또는 승인가능한, 또는 하기에서 열거된 것을 의미한다: 미국약전 또는 다른 일반적으로 인식된 약전, 동물에서, 및 더 상세하게는 인간에서 사용을 위하여.

[0077] 본 명세서에서 개시된 바와 같이 ADC의 “유효량”은 구체적으로 언급된 목적을 수행하는데, 예를 들어 투여후 치료 효과, 예컨대 종양 성장 속도 또는 종양 용적에서 감소, 암의 증상, 또는 치료 효능의 일부 다른 증상에서 감소를 생산하는데 충분한 양이다. 유효량은 언급된 목적에 관하여 일상적인 방식으로 결정될 수 있다. 용어 “치료적 유효량”은 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는데 효과적인 ADC의 양을 지칭한다. 암의 사례에서, ADC의 치료적 유효량은 암 세포의 수를 감소시킬 수 있고, 종양 크기를 감소시킬 수 있고, 종양 전이를 억제(예를 들면, 저속화 또는 중지)시킬 수 있고, 종양 성장을 억제(예를 들면, 저속화 또는 중지)시킬 수 있고/있거나, 하나 이상의 증상을 완화시킬 수 있다. “예방적 유효량”은, 원하는 예방적 결과를 달성하기 위해, 필요한 기간 동안 그리고 투약량에서, 효과적인 양을 지칭한다. 전형적으로, 예방적 용량이 질환에 앞서 또는 질환의 초기 단계에서 대상체에 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 더 적을 것이다.

[0078] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, “치료하기 위한” 또는 “치료” 및 문법적으로 관련 용어는 질환의 임의의 결과의 임의의 개선, 예컨대 장기적인 생존, 더 적은 이환율, 및/또는 대안적인 치료 양식의 부산물인 부작용의 축소를 지칭한다. 당해 분야에서 쉽게 인정되는 바와 같이, 질환의 전체 박멸은 바람직할지라도 치료 행위를 위한 요건은 아니다. “치료” 또는 “치료한다”는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 대상체, 예를 들면, 환자에 기재된 ADC의 투여를 지칭한다. 치료는 장애, 장애의 증상 또는 장애를 향한 소인, 예를 들면, 암을 치유, 힐링, 경감, 완화, 변경, 구제, 호전, 일시적 완화, 개선 또는 영향을 주기 위한 것일 수 있다.

[0079] 일부 구현예에서, 표지된 ADC는 사용된다. 적합한 “표지”는 방사선핵종, 효소, 기질, 보조인자, 억제제, 형광모이어티, 화학발광 모이어티, 자기 입자, 및 기타를 포함한다.

[0080] “단백질”은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 적어도 2 개의 아미노산을 포함하는 단백질로, 예를 들어 단백질이 발현 시스템 및 숙주 세포를 사용하여 재조합으로 만들어지는 경우 자연 발생 아미노산 및 웨이프타이드 결합으로 구성될 수 있다. 대안적으로, 단백질은 합성 아미노산(예를 들면, 호모페닐알라닌, 시트룰린, 오르니틴, 및 노르류신), 또는 웨이프타이드모사체 구조, 즉, “웨이프타이드 또는 단백질 유사체,” 예컨대 웨이프타이드를 포함할 수 있다. 웨이프타이드는, 측쇄가 (이들이 아미노산에서 처럼) α -탄소 보다는, 웨이프타이드 골격의 질소 원자에 첨부되는 웨이프타이드모사체의 예시적 부류이고, 웨이프타이드에 비교하여 상이한 수소 결합 및 형태적 특징을 갖는다 (참고, 예를 들면, Simon 등. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9367). 이와 같이, 웨이프타이드는 단백질분해 또는 다른 생리적 또는 보관 조건에 저항성, 그리고 세포 막 침투에 효과적일 수 있다. 그와 같은 합성 아미노산은 특히 항체가 당해 분야에서 잘 알려진 종래의 방법에 의해 시험관내 합성되는 경우 편입될 수 있다. 게다가, 웨이프타이드모사체, 합성 및 자연 발생 잔기/구조의 임의의 조합은 사용될 수 있다. “아미노산”은 또한 이미노 산 잔기, 예컨대 프롤린 및 하이드록시프롤린을 포함한다. 아미노산 “R 기” 또는 “측쇄”는 어느 한쪽으로 (L)- 또는 (S)-배치형태일 수 있다. 특이적 구현예에서, 아미노산은 (L)- 또는 (S)-배치형태이다.

[0081] “재조합 단백질”은 당해 분야에서 공지된 임의의 기술 및 방법을 사용하는 재조합 기술을 사용하여, 즉, 재조합

핵산의 발현을 통해 만들어진 단백질이다. 재조합 단백질의 생산 방법 및 기술은 당해 기술에 공지되어 있다.

[0082] "단리된" 단백질은 그것의 천연 상태에서 정상적으로 관련되는 것을 가진, 예를 들어 주어진 샘플에서 총 단백질의 적어도 약 5%, 또는 적어도 약 50중량 %를 구성하는 물질의 적어도 일부에 의해 동반되지 않는다. 단리된 단백질이 상황에 의존하여 총 단백질 함량의 5 내지 99.9중량 %를 구성할 수 있다는 것이 이해된다. 예를 들어, 단백질은 유도성 프로모터 또는 고 발현 프로모터의 사용을 통해 상당히 더 높은 농도에서 만들어질 수 있어서, 이로써 단백질은 증가된 농도 수준에서 만들어진다. 상기 정의는 당해 기술에 공지되어 있는 다양한 유기체 및/ 또는 숙주 세포에서 항체의 생산을 포함한다.

[0083] 아미노산 서열에 대하여, 서열 동일성 및/또는 유사성은, 비제한적으로, 하기를 포함하는, 당해 분야에서 공지된 표준 기술을 사용하여 결정될 수 있다: 하기의 국부 서열 동일성 알고리즘: Smith and Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482, Needleman and Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443의 서열 동일성 정렬 알고리즘, Pearson and Lipman (1988) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 85:2444의 유사성 검색 방법, 이를 알고리즘 (GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.)의 컴퓨터화된 실행, 하기에 의해 기재된 최적 서열 프로그램: Devereux 등. (1984) *Nucl. Acid Res.* 12:387-95, 바람직하게는 디폴트 설정을 사용하여, 또는 점검에 의해. 바람직하게는, 동일성 퍼센트는 하기 파라미터에 기반하여 FastDB에 의해 계산된다: 미스매치 패널티 1; 캡 패널티 1; 캡 크기 패널티 0.33; 및 연결 패널티 30 ("Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," *Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, pp. 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc).

[0084] 유용한 알고리즘의 예는 PILEUP이다. PILEUP은 진행성, 쌍별 정렬을 사용하여 관련된 서열의 그룹으로부터 다중 서열 정렬을 창출한다. 정렬을 창출하는데 사용된 클러스터링 관계를 도시하는 트리를 또한 플로팅할 수 있다. PILEUP은 하기의 진행성 정렬 방법의 단순화를 사용하고: Feng & Doolittle (1987) *J. Mol. Evol.* 35:351-60; 상기 방법은 Higgins and Sharp (1989) CABIOS 5:151-3에 의해 기재된 것과 유사하다. 3.00의 디폴트 캡 중량, 0.10의 디폴트 캡 길이 중량, 및 계량된 단부 캡을 포함하는 유용한 PILEUP 파라미터.

[0085] 유용한 알고리즘의 또 다른 예는, 하기에 기재된, BLAST 알고리즘이다: Altschul 등. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10; Altschul 등. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402; 및 Karin 등. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-87. 특히 유용한 BLAST 프로그램은 Altschul 등. (1996) *Methods in Enzymology* 266:460-80으로부터 수득된 WU-BLAST-2 프로그램이다. WU-BLAST-2는 몇 개의 검색 파라미터를 사용하고, 대부분의 이들은 디폴트 값으로 설정된다. 조정 가능한 파라미터는 하기 값으로 설정된다: 중첩 기간=1, 중첩 분획=0.125, 단어 역치 (T)=II.HSP S 및 HSP S2 파라미터는 동적 값이고 관심 서열이 검색되고 있는 것에 대한 특정한 데이터 베이스의 조성을 및 특정한 서열의 조성을 위하여 프로그램 자체에 의해 확립되지만; 그 값은 민감성을 증가시키기 위해 조정될 수 있다.

[0086] 추가의 유용한 알고리즘은 하기에 의해 보고된 바와 같이 캡핑된 BLAST이다: Altschul 등. (1993) *Nucl. Acids Res.* 25:3389-402. 캡핑된 BLAST는 BLOSUM-62 치환 스코어; 9로 설정된 역치 T 파라미터; 미캡핑된 연장을 유발시키기 위한 2-히트 방법, 10+k의 k a 비용의 전하 캡 길이; 16으로 설정된 Xu, 및 데이터베이스 검색 단계에 대하여 40으로 그리고 알고리즘의 출력 단계에 대하여 67로 설정된 Xg. 캡핑된 정렬은 약 22 비트에 상응하는 스코어에 의해 유발된다.

[0087] 일반적으로, FRA의 변이체, her2의 변이체, 튜불린 서열의 변이체, 및 (개별 변이체 CDRs를 포함하는) 항체 가변 도메인의 변이체를 포함하는, 본 명세서에서 개시된 단백질과 이의 변이체 사이 아미노산 상동성, 유사성, 또는 동일성은 본 명세서에서 묘사된 서열에 적어도 80%이고, 더욱 전형적으로 바람직하게는 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 및 거의 100% 또는 100%의 상동성 또는 동일성을 증가시킨다.

[0088] 유사한 방식으로, 본 명세서에서 확인된 항체 및 다른 단백질의 핵산 서열에 관하여 "퍼센트 (%) 핵산 서열 동일성"은 항원 결합 단백질의 코딩 서열에서 뉴클레오타이드 잔기와 동일한 후보 서열에서 뉴클레오타이드 잔기의 백분율로서 정의된다. 특이적 방법은, 1 및 0.125, 각각으로 설정된 중첩 기간 및 중첩 분획으로, 디폴트 파라미터로 설정된 WU-BLAST-2의 BLASTN 모듈을 사용한다.

[0089] 아미노산 서열 변화 도입용 부위 또는 영역이 예정되는 동안, 돌연변이 자체는 예정될 필요가 없다. 예를 들어, 주어진 부위에서 돌연변이의 성능을 최적화하기 위해, 랜덤 돌연변이 유발은 상기 표적 코돈 또는 영역 및 원하는 활성의 최적의 조합을 위하여 선별된 발현된 항원 결합 단백질 CDR 변이체에서 수행될 수 있다. 공지된 서열을 갖는 DNA내 예정된 부위에서 치환 돌연변이 제조 기술, 예를 들어, MI3 프라이머 돌연변이 유발 및 PCR 돌연

변이유발은 잘 알려진다.

[0090] 항체-약물 콘주케이트

[0091] 본 개시내용의 화합물은 항-암 활성을 가진 것을 포함한다. 특히, 화합물은 약물 모이어티에 콘주케이션된 (즉, 링커에 의해 공유적으로 부착된) (이의 항원-결합 단편을 포함하는) 항체 모이어티를 포함하고, 여기서 항체 모이어티에 콘주케이션되지 않은 상기 약물 모이어티는 세포독성 또는 세포증식억제성 효과를 갖는다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 콘주케이트에서 결합된 경우 감소된 또는 무 세포독성을 나타내지만 링커 및 항체 모이어티로부터 절단후 세포독성을 재개한다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 (예를 들면, 비-절단가능한 링커를 사용하는) 콘주케이트에서 결합된 경우 감소된 또는 무 방관자 사멸을 나타내지만 콘주케이트 (예를 들면, 절단가능한 Val-Cit 절단가능한 모이어티를 갖는 콘주케이트)로부터 절단후 증가된 방관자 사멸을 나타낸다.

[0092] 인간 치료제로서, 예를 들면, 종양 제제로서 사용을 위하여 ADC의 개발 및 생산은 원하는 표적 또는 표적들에 결합할 수 있는 그리고 암을 치료하는데 독자적으로 사용된 약물에 부착할 수 있는 항체의 확인 이상으로 요구할 수 있다. 약물에 항체 연결은 항체 및 약물의 한쪽 또는 양쪽에서 상당한 및 예측할 수 없는 효과를 가질 수 있고, 이 효과는 선택된 링커 및/또는 약물의 유형에 의존하여 다양할 것이다. 일부 구현예에서, 따라서, ADC의 성분은 하기를 하기 위해 선택된다: (i) 단리에서 항체 및 약물 모이어티에 의해 나타난 하나 이상의 치료 특성을 보유하기 위해, (ii) 항체 모이어티의 특이적 결합 특성을 유지하기 위해; (iii) 약물 장입 및 약물-대-항체 비를 최적화하기 위해; (iv) 항체 모이어티에 안정적인 부착을 통해 약물 모이어티의 전달, 예를 들면, 세포내 전달을 허용하기 위해; (v) 표적 부위에 수송 또는 전달까지 온전한 콘주케이트로서 ADC 안정성을 보유하기 위해; (vi) 투여에 앞서 또는 이후 ADC의 응집을 최소화하기 위해; (vii) 세포 환경에서 절단후 약물 모이어티의 치료 효과, 예를 들면, 세포독성 효과를 허용하기 위해; (viii) 단리에서 항체 및 약물 모이어티의 것에 비교할 만한 또는 우월한 생체내 항-암 치료 효능을 나타내기 위해; (ix) 약물 모이어티에 의해 부정확한 사멸을 최소화하기 위해; 및/또는 (x) 바람직한 약동학적 및 약력학 특성, 제형가능성, 및 독물학적/면역적 프로파일을 나타내기 위해. 각각의 이들 특성의 선별은 치료 용도를 위하여 개선된 ADC를 확인하는데 필요할 수 있다 (Ab 등. (2015) Mol. Cancer Ther. 14:1605-13).

[0093] 다양한 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 ADCs는 상기 열거된 일부 또는 각각의 카테고리에서 예상외로 양호한 특성을 나타낸다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 항체, PEG 스페이서 유닛 (바람직하게는 짧은 PEG 스페이서 유닛), 및/또는 웨타이드 절단가능한 링커 (예를 들면, Val-Cit 링커)에 Mal 부착을 포함하는 ADC 작제물은 놀랍게도 양호한 약물 장입, 응집, 및/또는 안정성 프로파일을 나타내고/내거나, 항체 결합 기능, 약물 활성, 및/또는 개선된 방관자 사멸을 보존하면서, 다른 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커 구조를 사용하는 ADCs에 비교된 경우, 부정확한 사멸을 감소시킨다.

[0094] 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003)에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 항체 모이어티에 에리불린을 결합시키는 다른 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커에 비교된 경우, 열거된 카테고리를 거쳐 특히 양호한 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003)에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는 절단불가능한 ADC에 비교된 경우 특히 양호한 방관자 사멸 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003)에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는 대안적 절단가능한 링커 구조를 사용하는 ADC에 비교된 경우 특히 양호한 방관자 사멸 특성을 나타낸다.

[0095] 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 대안적 모이어티 (예를 들면, 석신이미드 모이어티)를 통해 항체에 부착된 링커를 포함하는, ADC에 비해 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비 (즉, 약 3-4의 비)를 나타낸다. 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, (PEG)₈)을 포함하는, ADC에 비해, 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비, 및/또는 더 낮은 응집 수준을 나타낸다. 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 대안적 절단가능한 모이어티 (즉, 비-웨타이드 절단가능한 모이어티, 예컨대 절단가능한 디설파이드 또는 셀폰아미드)를 포함하는, ADC에 비해 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비, 더 낮은 응집 수준, 증가된 정확한 사멸, 및/또는 감소된 부정확한 사멸을 입증한다. 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는

Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 대안적 아미노산 유닛 (예를 들면, Ala-Ala-Asn) 또는 대안적 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 디설파이드 또는 셀론아미드)를 포함하는, ADC에 비해 증가된 안정성, 증가된 정확한 사멸, 감소된 부정확한 사멸, 더 낮은 응집 수준, 및/또는 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비를 입증한다.

[0096] 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADCs에 대하여 상기 기재된 일부 또는 모든 바람직한 피쳐는 항-her2 항체 예컨대 트라스투주맙, 또는 항-메소텔린 항체에 콘주게이션된 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린 링커-독소를 포함하는 ADCs로 판측될 수 있다.

[0097] 본 개시내용의 ADC 화합물은 암 세포에 또는 종양 조직에 세포독성제 또는 세포증식억제제의 효과적인 용량을 선택적으로 전달할 수 있다. 개시된 ADCs가 각각의 표적 항원 (예를 들면, FRA 또는 her2)를 발현시키는 세포에 대한 강력한 세포독성 및/또는 세포증식억제성 활성을 갖는다는 것이 밝혀졌다. 일부 구현예에서, ADC의 세포독성 및/또는 세포증식억제성 활성은 세포에서 표적 항원 발현 수준에 의존적이다. 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는, 저 수준에서 동일한 항원을 발현시키는 암 세포에 비교된 경우, 표적 항원의 고 수준을 발현시키는 암 세포 사멸에 특히 효과적이다. 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는, 저 수준에서 동일한 항원을 발현시키는 암 세포 사멸에 특히 효과적이다. 예시적 고 FRA-발현 암은 비제한적으로 난소 암 (예를 들면, 장액 난소 암, 투명 세포 난소 암), 폐 카르시노이드, 삼중 음성 유방 암, 자궁내막 암, 및 비소 세포 폐 암 (예를 들면, 선암종)을 포함한다. 예시적 중간 정도 FRA-발현 암은 비제한적으로 위암 및 결장직장 암을 포함한다. 예시적 저 FRA-발현 암은 비제한적으로 흑색종 및 립프종을 포함한다. 예시적 고 her2-발현 암은 비제한적으로 유방 암, 위 암, 식도 암, 난소 암, 및 자궁내막 암을 포함한다. 예시적 중간 정도 her2-발현 암은 비제한적으로 폐 암 및 방광 암을 포함한다.

[0098] 일부 구현예에서, ADC의 절단은 항체 모이어티 및 링커로부터 에리불린을 방출시킨다. 일부 구현예에서, 절단 및 에리불린의 방출은 ADC의 세포독성을 개선한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커를 포함하는 ADC는, 비-절단가능한 링커를 포함하는 ADC로 비교할만한 치료에 비교된 경우, 방관자 사멸을 포함하는, 암 세포 사멸에 특히 효과적이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커 (예를 들면, Val-Cit 링커)를 포함하는 ADC는 비-절단가능한 링커 (예를 들면, 비-절단가능한 (PEG)₂ 또는 (PEG)₄ 링커)를 포함하는 ADC에 비해 증가된 정확한 세포 사멸 및/또는 감소된 부정확한 세포 사멸을 입증하고, 특히 여기서 ADC로 처리된 상기 세포 및/또는 암은 표적 항원의 고 수준을 발현시키지 않는다.

[0099] 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는 또한 방관자 사멸 활성, 그러나 낮은 부정확한 세포독성을 입증한다. 이론에 의한 구속됨 없이, ADC의 방관자 사멸 활성은 고체 종양 속으로 그것의 침투가 제한되고/되거나 종양 세포 중에서 표적 항원 발현이 불균질한 경우 특히 유의할 수 있다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커를 포함하는 ADC는 방관자 사멸에 특히 효과적이고/이거나, 비-절단가능한 링커를 포함하는 ADC로 비교할만한 치료에 비교된 경우, 개선된 방관자 사멸 활성을 입증한다.

[0100] 종양 세포를 표적하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 (Ab), 약물 모이어티 (D), 및 Ab를 D에 공유적으로 부착시키는 링커 모이어티 (L)을 포함하는 ADC 화합물은 본 명세서에서 제공된다. 특정 측면에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 고 특이성 및 고 친화도를 가진 종양-관련된 항원 (예를 들면, FRA 또는 her2)에 결합시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들면, 세포에서 분해적 구획 속으로 결합시 표적 세포 속으로 내재화된다. 바람직한 ADCs는 따라서 표적 세포에 결합시 내재화하는, 열화를 경험하는, 그리고 암 세포를 사멸시키기 위해 약물 모이어티를 방출시키는 것이다. 약물 모이어티는 효소 작용, 가수분해, 산화, 또는 임의의 다른 기전에 의해 ADC의 링커 모이어티 및/또는 항체로부터 방출될 수 있다.

[0101] 예시적 ADC는 식 I을 갖는다:

[0102] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0103] 여기서 Ab = 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편), L = 링커 모이어티, D = 약물 모이어티, 및 p = 항체 모이어티당 약물 모이어티의 수.

[0104] 항체

[0105] 식 I의 항체 모이어티 (Ab)는 암 세포에서 표적 항원에 특이적으로 결합하는 그것의 범위 임의의 항체 또는 항원-결합 단편 안에 포함한다. 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들면, BIAcore® 분석에 의해 측정된 경우, ≤

1 mM, ≤100 nM 또는 ≤10 nM, 또는 그 사이 임의의 양의 해리 상수 (K_D)를 가진 표적 항원에 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, K_D 는 1 pM 내지 500 pM이다. 일부 구현예에서, K_D 는 500 pM 내지 1 μ M, 1 μ M 내지 100 nM, 또는 100 mM 내지 10 nM이다.

- [0106] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는, 2 중쇄 및 2 경쇄를 포함하는, (또한 면역글로불린으로서 지칭된) 4-쇄 항체이다. 일부 구현예에서 항체 모이어티는 면역글로불린의 2-쇄 절반 바디 (1 경쇄 및 1 중쇄), 또는 항원-결합 단편이다.
- [0107] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 세포의 표면에서 발현된 표적 암 항원에 결합하고 결합시 세포에 진입한다. 일부 구현예에서, ADC의 약물 모이어티는 ADC가 진입한 후 ADC의 항체 모이어티로부터 방출되고 (즉, ADC가 내재화된 후) 상기 표적 암 항원을 발현시키는 세포에서 존재한다.
- [0108] 본 개시내용의 예시적 항체의 아미노산 및 핵산 서열은 표 1-9에서 제시된다.

표 1. 항체

mAb	부류/아이소타입	표적
MORAb-003	인간화된	인간 폴레이트 수용체 알파
MORAb-009	마우스-인간 키메라	인간 메소텔린
트라스투주맙	인간화된	인간 her2/neu
33011-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
33011-zu	인간화된	인간 메소텔린
111B10-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
111B10-zu	인간화된	인간 메소텔린
201C15-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
201C15-zu	인간화된	인간 메소텔린
346C6-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
346C6-zu	인간화된	인간 메소텔린

약어: xi – 키메라; zu – 인간화된.

- [0109]

표 2. mAb 가변 영역의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	중쇄	23	EVQLVESGGVVQPGRSRLRSCASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGL EWVAMISGGSYTYYADSVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPED TGVYFCARHGDDPAWFAYWQGTPVTVSS
2	MORAb-003	경쇄	24	D1QLTQSPSSLASVGDRVTITCSVSSISSNNLHWYQQKPGKAP KPWIVGTSNLASGVPSRFSGSQGTDYFTTISSLQPEDIATYYCQ QWSSYPYMYTFGQGTTKVEIK
3	MORAb-009	중쇄	25	QVQLQQSGPPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSL EWIGLITPYNGASSYQNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSED SAVYFCARGGYDGRGFYDYGSGTPVTVSS
4	MORAb-009	경쇄	26	DIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKR WIYDTSKLASGVPGFRSGSGSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQW SKHPLTFGSGTKVEIK
5	트라스투주맙	중쇄	27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWWGGDFYAMDYWGQGTLVTVSS
6	트라스투주맙	경쇄	28	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSQGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTTKVEIK
7	33011-xi	중쇄	29	QSVEESGGLRVTPTPLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKLE YIGIINGGGNTYYASWAKGRFTISKTTVDLK1PTPTTEDTATYF CARGIQHGGGNSDYYYYGMDLWGPGLTVTSS
8	33011-xi	경쇄	30	EVLMQTPTPSSVAAVGDTVTIKCQASQSISSVLSWYQQKPGQPPK LLIYLASTLASGVPSRFSGSRSQGTEFTLTISDLECDAAATYYCQT NYGTSSNNYGFAGGGTEVVVK
9	33011-zu	중쇄	31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGSISLSSDAISWVRQAPGKGL EYIGIINGGGNTYYASWAKGRFT1SRHNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGIQHGGGNSDYYYYGMDLWGPGLTVTSS
10	33011-zu	경쇄	32	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQSISSVLSWYQQKPGKAPK LLIYLASTLASGVPSRFSGSRSQGTDFTLTISSLQCEDIAATYYCQT NYGTSSNNYGFAGGGTKEIK
11	111B10-xi	중쇄	33	QSVEESGGLRVTPTPLTLCTVSGFSLNYYAMSWVRQAPGKLE WIGSISTGGLAFYANWAKGRFTISRTSTTVDLKMTSLTTEDTATY FCGRNGGGSYIFYFDLWGPGLTVTSS
12	111B10-xi	경쇄	34	AFELTQTPTSSVEAAVGGTTIKCQASQSISSYLSWYQQKPGQPPK LLIYLASTLASGVSSRFKGSGSGTEYFTLTISDLECADAATYFCQS YYDIGTSTFGGGTEVVVK
13	111B10-zu	중쇄	35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLNNYAMSWVRQAPGKGL EWIGSISTGGLAFYANWAKGRFT1SRDNNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARNNGGSYIFYFDLWGPGLTVTSS
14	111B10-zu	경쇄	36	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPK LLIYLASTLASGVPSRFSGSRSQGTDFTLTISSLQCEDIAATYYCQS YYDIGTSTFGGGTTKVEIK
15	201C15-xi	중쇄	37	QSVKESGGGLRVTPTPLTLCTVSGIDLSSYAMGWRQAPGKLE YIGTINIIGRGRVYYASWAKGRFTISRTSTTVDLKAPSLTAEDTATY FCARYYNGGSYD1WGPGLTVTSS
16	201C15-xi	경쇄	38	DVVMQTPTPASAEVGGTVTIKCOASESIYRVLAWYQQKPGQPPK LLIYDTSTLASGAPRFKGSGSGTEFTLTISGVQCEDAAATYYCQGG YYADSYGIAFGGGTEVVVK

[0110]

17	201C15-zu	중쇄	39	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGIDLSSYAMGWVRQAPGKGL EYIGTINIGGRVYYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNLSRAEDT AVYYCARYYNGGSYDIWGQQLTVVSS
18	201C15-zu	경쇄	40	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASESIYRVLAWYQQKPGKAPK LLIYDTSTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQCDAAATYYCQG GYYADSYGIAFGGGTKVEIK
19	346C6-xi	중쇄	41	QSVEESGGRLVKPDESLLTCTASGFSLSSYAMIWVRQAPGEGLE WIGTISTGGITYYASWAKGRFTISKTSTTVDLKITPTTEDTATYF CARGGYAASSAYLPYFSDLWGQQLTVVSS
20	346C6-xi	경쇄	42	AAVLQTSPVSAAVGGTVTISQSSQS VYNNNNLAWFQQKPGQP PKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTIISGVQCDAAATYYC LGGCDDDA DTFAGGGTEVVVK
21	346C6-zu	중쇄	43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAGFSLSSYAMIWVRQAPGKGL EWIGTISTGGITYYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNLSRAEDT AVYYCARGGYAASSAYLPYFSDLWGQQLTVVSS
22	346C6-zu	경쇄	44	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQSSQS VYNNNNLAWYQQKPGKV PKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISSLQCDAAATYYC LGGCDDDA DTFAGGGTKVEIK

표 3.mAb 가변 영역을 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	중쇄	45	GAGGTCCA ACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGTGTTGCAACCTGGC CGGTCCCTGCGCCTGCTCTGCTCCGCATCTGGCTTACCTTCAGC GGCTATGGTTGCTTGGGTGAGACAGGCACCTGGAAAAGGTCTT GAGTGGTTGCAATGATTAGTAGTGGTGGTAGTTACCTACTAT GGAGACAGTGTGAAGGGTAGATTGCAATATGGCAGAGAACGCC AAGAACACATTGTTCTGCAATGGACAGCCTGAGACCCGAAGAC ACCGGGGTCTATTTTGTGCAAGACATGGGACATCCGCCCTGG TTCGCTTATTGGGGCCAAGGGACCCCGTCACCGTCTCCTCA
2	MORAb-003	경쇄	46	GACATCCAGCTGACCCAGAGGCCAACGAGCCTGAGGCCAGCGT GGTACAGAGT GACCATCACCTGTA GTGTCAGCTCAAGTATAAGT TCCAAACAATTCGACTGGTACCGAGCAGAACGGTAAGGCTCCA AAGCCATGGATCTACGGCACATCCAACCTGGCTTCTGGTGTGCCA AGCAGATT CAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGACTACACCTTACCC ATCAGCAGCTCCAGCCAGGGACATCGCCACCTACTACTGCCA CAGTGGAGTAGTTACCGTACATGTACACGTTGCCAAGGGACC AAGGTGAAATCAA
3	MORAb-009	중쇄	47	CAGGTACA ACTGCAGCAGTCTGGGCTGAGCTGGAGAACCTGGC GCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTCTGGTTACTCATTCACT GGCTACACCATGAACCTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAAGGCCTT GAGTGGATTGGACTTAACTCCTTACAATGGTGTCTAGCTAC AACCCAGAAGTT CAGGGCAAGGCCACATTAACTGTAGACAAGTCA TCCAGCACAGCCTACATGGACCTCTCAGTCTGACATCTGAAGAC TCTGCAGTCTATTTCTGCAAGGGGGTTACGACGGGAGGGT TTGACTACTGGGGATCCGGACCCCGTCACCGTCTCCTCA
4	MORAb-009	경쇄	48	GACATCGAGCTCACTCAGTCTCCAGCAATCATGTCCTGCATCTCCA GGGGAGAAGGTACCATGACCTGCACTGAGCTGCCAGCTCAAGTGTAAAGT TACATGCACTGGTACCGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGA TGGATTATGACACATCCAAACTGGCTTCTGGAGTCCCAGGTGCG TTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAAACTCTTACTCTCTACAATCAGC

				AGCGTGGAGGCTGAAGATGATGCAACTTAACTGCCAGCAGTGG AGTAAGCACCCCTCACGTTGGATCCGGGACCAAGGTGAAATC AAA
5	33011-xi	중쇄	49	CAGTCGGTGGAGGAGTCGGGGGTGCCCTGGTCACGCCCTGGGACA CCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGAATCTCCCTCAGTAGC GATGCAATAAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTCGAA TACATCGGAATCATTAAATGGTGGTGGTAACACATACTACCGCAGC TGGCGAAAGGCCATTACCATCTCCAAAACCTCGACCACGGTG GATCTAAAATCACCACTGGCACACCCGAGGACACGGCCACCTAT TTCTGTGCCAGAGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGTATTAT TATTACCGCATGGACCTCTGGGCCAGGCACCCCTGGTCACT GTCCTTCA
6	33011-xi	경쇄	50	GAAGTGGTGGATGACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCAGCTGTG GGAGACACAGTCACCATCAAGTGCAGGCCAGTCAGAGCATTAGT AGTGTCTTGCTCTGGTATCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCAAAG CTCCTGATCTATCTGGCATCCACTCTGGCATCTGGGTCCCATCG CGGTTCAAGCGGAGTAGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCAC AGGACCTGGAGTGTGACGATGCTCCACTTACTACTGTCAAACC AATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTTTGCTTCGGCGGA GGGACCGAGGTGGTGTCAA
7	33011-zu	중쇄	51	GAAGTCCAAGTGGGAAAGCGGGGGAGGACTGGTGCAGCCGGC GGATCCCTCCGGCTGTATGTCAGTCAGCAGGAAATTCCCTCTCC TCCGAOGCAGTAGCTGGTCAAGACAGGCCCGGAAAGGGGCTG GAGTACATCGGTATCATCAACGGCGCGGAAACACCTACTACGCC TCCGGGCCAAGGGCCGCTTACCATCTCGCGGCATAATTCCAAG AACACTCTGTACTTGCATTAACACTCCCTGAGGGCCGAGGACACC GCCGTGACTACTCGCGCGCGGCATCCAGCACGGTGGTGGAAAC AGGGACTACTACTATGGATGGATCTGTGGGCCAGGGAACT CTTGTGACCGTGTGCGTCA
8	33011-zu	경쇄	52	GACATTAGTGGACCCAGTCCTCAAGCTCGTGTCCGCCCTCCGTG GGCGACCGCGTGCACCATCACGTGCCAGGCCTCCAGTCATTAGC AGCGTGTCTCTGGTACCAACAGAAGCCGGGAAAGCACCCAAAG CTGCTGATCTACTGGCCTCCACTCTGGCCTGGGAGTGCCTTCA CGGTTCTCGGATGGGATCTGGTACTGATTTCACCCCTCACCAC TCGAGCCTTCAGTGCAGGACATCGCTACTTACTATTGTCAAACC AACTACGGAAACCTCCAGCTCAACTACGGCTTGCCTCGGTGCC GGGACCAAGTCGAAATCAA
9	111B10-xi	중쇄	53	CACTCGGTGGAGGAGTCGGGGGTGCCCTGGTCACCCCTGGGACA CCCTGACACTCACCTGCACAGTCTGGAATTCTCCCTAAAC TATGCAATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAA TGGATCGGATCCATTAGTACTGGTGGTCTCGCATCTACCGCAGC TGGGCAAAGGCCAGTACCATCTCCAGAACCTCGACCACGGTG GATCTGAAAATGACCGAGTCTGACACCCGAGGACACGGCCACCTAT TTCTGTGGCAGAAATGGTGGTGGTAGTTATTTCTATTATTT GACTTGTGGGCCAGGCACCCCTCGTCACTGTCTCTTCA
10	111B10-xi	경쇄	54	GCATTGAATTGACCCAGACTCCATCCTCCGTGGAGGCAGCTGTG GGAGGGCACAATCACCATCAAGTGCAGGCCAGTCAGAGCATTAGT AGTTACTTATCTGGTATCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCAAAG CTCCTGATCTATTCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGTCTCATCG CGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCAC AGGACCTGGAGTGTGCCGATGCTGCCACTTACTCTGTCAAAGC TATTATGATATTGGTACTAGTAGTACTTCGGCGGAGGGACCGAGGTG

				GTCGTCAA
11	111B10-zu	중쇄	55	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGGGCGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGTCTTGCCGCTCCGGCTTCCTCCCTGAAC AACTACGCCATGTCTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGCAAAGGCCTG GAATGGATCGGCTCCATCAGCACAGGCGGCCCTGGCCTTACGCC AATTGGCCAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACCTCAAG AACACCTGTACCTCCAGATGAACCTCCGTGGGGCCAGGGCACCC GCCGTGACTACTGTGCGAGAAACGGCGAGGCTTACATCTC TACTACTTCGACCTGTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGAACAGTGTCA TCT
12	111B10-zu	경쇄	56	GATATTCAAGTGAACCGACTCCCTCCAGCCGTGTCGCTCTGTG GGCAGACAGAGTGAACCATCACCTGTCAGGCCTCCAGTCCATCTCC TCCTACCTGCTCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGGCCCCAAG CTGCTGATCTACTGCTCCACACTGGCCTCGGGGTGCCCT AGATTCCGGCTCTGGCTGGCACCGACTTACCCGTACCATC AGCTCCCTCAGTGCAGGATGCCGCCACCTACTACTGCCAGTCC TACTACGACATCGGCACCTCACCTCGCGGAGGGCACCAAGGTG GAAATCAA
13	201C15-xi	중쇄	57	CAGTCAGTGAAGGAGTCGGGGGTCGCCCTGGTCACCCCTGGGACA CCCTGACACTCACCTGCACAGTCTGGAATCGACCTCAGTAGC TATGCAATGGGCTGGTCTGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGAA TACATCGGAACCATTAATATTGGTGGTGCCTATATTACCGCAGC TGGGCAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGACCACGGT GATCTGAAAGC GCCAGTCTGACAGCCGAGGACACGCCACCTAT TTCTGTGCCAGATAATAATGGTGGTAGTTATGACATCTGGGC CCAGGCACCCCTGGTACCGTCTTTA
14	201C15-xi	경쇄	58	GATTTGTGATGACCCAGACTCCAGCCTCCGCGTCTGAACCTGTG GGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCAGGCCAGTGAAGGACATTAT CGGGTATTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCAAAG CTCCTGATCTATGATACATCACTCTGGCATCTGGGCCATCG CGGTTCAAAGGCAGTGGATATGGGACAGAGTTCACTCTACCAC AGGGGGTGGAGTGTGAAGATGCTGCCACTTACTACTGTCAAGGC GGTTATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCTTCCGGGGAGGGACC GAGGTGGTGGTCAA
15	201C15-zu	중쇄	59	CAGGTGCAGCTGGTGAATCTGGGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCTCTGAGACTGTCTGTCCGCTCGGAATCGACCTGTCC TCCTACGCTATGGCCTGGGTGCGACAGGCTCTGGCAAGGGCTG GAGTACATCGGCACCATCAACATCGGCCAGAGTGTACTACGCC TCCTGGCCAAGGGCCGGTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAG AACACCTGTACCTCCAGATGAACCTCCGTGGGGCCAGGACACC GCCGTGACTACTGCGCCGGTACTACACGGCGGCTTACGAT ATCTGGGGCCAGGGCACACTCGTGAACCGTGTCTCT
16	201C15-zu	경쇄	60	GATATTCAAGTGAACCGACTCCACCCCTGTCGCTCTGTG GGCAGACAGAGTGAACCATCACCTGTCAGGCCTCCGAGTCCATCTC CGGGTGCCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGGCCCCAAG CTGCTGATCTACGACACAGCACACTGGCCTCGGGGTGCCCT AGATTCTCCGGCTCTGGCTGGCACCGAGTTACCCGTACCATC TCAGCCTCCAGTGCAGCAGGCCACCTACTATTGTAGGGC GGCTACTACGCCACTCTACGGAATCGCTTCCGGGGAGGCACC AAGGTGGAAATCAA
17	346C6-xi	중쇄	61	CAGTCGGTGGAGGAGTCGGGGTGCCTGGTAAAGCCTGACGAA TCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCGGATTCTCCCTCAGTAGT

				TATGCAATGATCTGGTCCGCCAGGGCTCCAGGGGAGGGGCTGGAA TGGATCGAACCATAGTACTGGTGGTATCACATACTACCGCAGC TGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCAAAACCTCGACCACGGTG GACTGAAAATCACCACTCCGACAAACCGAGGACACGCCACCTAT TTCTGTGCCAGAGGGGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATCTC CCGTACTACTTTGACTTGTGGGCCAAGGGACCCCTGGTCACCGTC TCCTCA
18	346C6-xi	경쇄	62	GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCACCGTGCTGCAGCTGTG GGAGGCACAGTCACCATCAGTTGCCAGTCAGTGTTAT AATAATAACAACCTAGCTGTTTCAGCAGAAACCCGGGAGCCT CCCAAGCTCTGATCTATCGCATCCACTCTGGCATCTGGGTC CCATCACGGTTCAAGGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTC ACCATCAGCGCGTGCAGTGACGATGCTGCCACTTAACTGT CTAGGTGGTTGTGATGATGCTGATACCTTGCTTGGCGGA GGGACTGAGGTGGTTGCAA
19	346C6-zu	중쇄	63	GAAGTCCAGCTGGTGAATCTGGCGCGGACTGGTGAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGCTTGTGCCCTCCGCTTCCTGTC TCCTACGCTATGATCTGGGTGCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTG GAATGGATCGGCACCATCTTACCGCGGAAATTACCTACTACGCC TCCTGGCCAAGGGCCGTTTACCATCTCCAGAGACAACCTCAAG AACACCTGTACCTCCAGATGAACCTCCCTGGGGCCGAGGACACC GCCGTGACTATTGTGCTAGAGGGGGCTACGCCGCCAGCTCCGCT TACTACCTGCCCTACTACTTCGACCTGTGGGCCAGGGCACCCCT GTGACAGTGTCACT
20	346C6-zu	경쇄	64	GATATTCAAGATGACCCAGTCCTCCAGCCTGTCCGCTTCTGT GGCGACAGAGTGAACCATCACCTGTCAGTCCTCCAGTCCTGTAT AACAAACAACAACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGGTG CCCAAGCTGCTGATCTACCTGGCTCCACACTGGCTCTGGCGTG CCCTCTAGATTCTCCGCTCTGGCTGGCACCAGCTTACCCCTG ACCATCAGCTCCCTCCAGTGCAGGATGCCGCCACCTACTATTGC CTGGCGGCTGCGACGACGCCGACACCTTGCTTGGCGGA GGCACCAAGGTGAAATCAA

[0114]

표 4.mAb 카별 CDRs 의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	2	GYGLS
2	MORAb-003	HC CDR2	3	MISSGGSYTYYADSVKG
3	MORAb-003	HC CDR3	4	HGDPAWFAY
4	MORAb-003	LC CDR1	7	SVSSSISSNNLH
5	MORAb-003	LC CDR2	8	GTSNLAS
6	MORAb-003	LC CDR3	9	QQWSSYPYMYT
7	MORAb-009	HC CDR1	65	GYTMN
8	MORAb-009	HC CDR2	66	LITPYNGASSYNQKFRG
9	MORAb-009	HC CDR3	67	GGYDGRGFDY
10	MORAb-009	LC CDR1	68	SASSSVSYMH
11	MORAb-009	LC CDR2	69	DTSKLAS
12	MORAb-009	LC CDR3	70	QQWSKHPLT
13	트라스투주맙	HC CDR1	71	DTYIH
14	트라스투주맙	HC CDR2	72	RIYPTNGYTRYADSVKG
15	트라스투주맙	HC CDR3	73	WGGDGFYAMDY
16	트라스투주맙	LC CDR1	74	RASQDVNTAVA
17	트라스투주맙	LC CDR2	75	SASFLYS
18	트라스투주맙	LC CDR3	76	QQHYTTPPT
19	33011-xi	HC CDR1	77	SDAIS
20	33011-xi	HC CDR2	78	IINGGGNTYYASWAKG
21	33011-xi	HC CDR3	79	GIQHGGGNSDYYYYGMDL
22	33011-xi	LC CDR1	80	QASQSISSVLS
23	33011-xi	LC CDR2	81	LASTLAS
24	33011-xi	LC CDR3	82	QTNYGTSSSNYGFA
25	33011-zu	HC CDR1	83	SDAIS
26	33011-zu	HC CDR2	84	IINGGGNTYYASWAKG
27	33011-zu	HC CDR3	85	GIQHGGGNSDYYYYGMDL
28	33011-zu	LC CDR1	86	QASQSISSVLS
29	33011-zu	LC CDR2	87	LASTLAS
30	33011-zu	LC CDR3	88	QTNYGTSSSNYGFA
31	111B10-xi	HC CDR1	89	NYAMS
32	111B10-xi	HC CDR2	90	SISTGGLAFYANWAKG
33	111B10-xi	HC CDR3	91	NGGGSYIFYFDL
34	111B10-xi	LC CDR1	92	QASQSISSYLS
35	111B10-xi	LC CDR2	93	SASTLAS
36	111B10-xi	LC CDR3	94	QSYYDIGTST
37	111B10-zu	HC CDR1	95	NYAMS
38	111B10-zu	HC CDR2	96	SISTGGLAFYANWAKG
39	111B10-zu	HC CDR3	97	NGGGSYIFYFDL
40	111B10-zu	LC CDR1	98	QASQSISSYLS
41	111B10-zu	LC CDR2	99	SASTLAS
42	111B10-zu	LC CDR3	100	QSYYDIGTST
43	201C15-xi	HC CDR1	101	SYAMG

44	201C15-xi	HC CDR2	102	TINIGGRVYYASWAKG
45	201C15-xi	HC CDR3	103	YYNNGGSYDI
46	201C15-xi	LC CDR1	104	QASESIYRVLA
47	201C15-xi	LC CDR2	105	DTSTLAS
48	201C15-xi	LC CDR3	106	QGGYYADSYGIA
49	201C15-zu	HC CDR1	107	SYAMG
50	201C15-zu	HC CDR2	108	TINIGGRVYYASWAKG
51	201C15-zu	HC CDR3	109	YYNNGGSYDI
52	201C15-zu	LC CDR1	110	QASESIYRVLA
53	201C15-zu	LC CDR2	111	DTSTLAS
54	201C15-zu	LC CDR3	112	QGGYYADSYGIA
55	346C6-xi	HC CDR1	113	SYAMI
56	346C6-xi	HC CDR2	114	TISTGGITYYASWAKG
57	346C6-xi	HC CDR3	115	GGYAASSAYLPYYFDL
58	346C6-xi	LC CDR1	116	QSSQS VYNNNNLA
59	346C6-xi	LC CDR2	117	LASTLAS
60	346C6-xi	LC CDR3	118	LGGCDDDA DTFA
61	346C6-zu	HC CDR1	119	SYAMI
62	346C6-zu	HC CDR2	120	TISTGGITYYASWAKG
63	346C6-zu	HC CDR3	121	GGYAASSAYLPYYFDL
64	346C6-zu	LC CDR1	122	QSSQS VYNNNNLA
65	346C6-zu	LC CDR2	123	LASTLAS
66	346C6-zu	LC CDR3	124	LGGCDDDA DTFA

표 5.mAb 카방 CDRs 를 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	125	GGCTATGGGTTGTCT
2	MORAb-003	HC CDR2	126	ATGATTAGTAGTGGTGGTAGTTACCTACTATGCAGA CAGTGTGAAGGGT
3	MORAb-003	HC CDR3	127	CATGGGGACGATCCGCGCTGGTTCGCTTAT
4	MORAb-003	LC CDR1	128	AGTGTCA GCTCAAGTATAAGTCCAACAACTTGAC
5	MORAb-003	LC CDR2	129	GGCACATCCAACCTGGCTCT
6	MORAb-003	LC CDR3	130	CAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACATGTACACG
7	MORAb-009	HC CDR1	131	GGCTACACCATGAAC
8	MORAb-009	HC CDR2	132	CTTATTACTCCTTACAATGGTGCTCTAGCTACAACCA GAAGTTCAGGGGC
9	MORAb-009	HC CDR3	133	GGGGGTTACGACGGGAGGGGTTT GACTAC
10	MORAb-009	LC CDR1	134	AGTGCCAGCTCAAGTGTAAAGTTACATGCAC
11	MORAb-009	LC CDR2	135	GACACATCCAACCTGGCTCT
12	MORAb-009	LC CDR3	136	CAGCAGTGGAGTAAGCACCCCTCTACG
13	33011-xi	HC CDR1	137	AGCGATGCAATAAGC
14	33011-xi	HC CDR2	138	ATCATTAATGGTGGTGGTAACACATACTACGCGAGCTG GGCGAAAGGC
15	33011-xi	HC CDR3	139	GGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGT GATTATTATTA TTACGGCATGGACCTC
16	33011-xi	LC CDR1	140	CAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTGTCTTGCC
17	33011-xi	LC CDR2	141	CTGGCATCCACTCTGGCATCT

18	33011-xi	LC CDR3	142	CAAACCAATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTT TGCT
19	33011-zu	HC CDR1	143	TCCGACGCGATTAGC
20	33011-zu	HC CDR2	144	ATCATCAACGGCGCGGAAACACCTACTACGCCCTCTG GGCCAAGGGC
21	33011-zu	HC CDR3	145	GGCATCCAGCACGGTGGTGGAAACAGCGACTACTA CTATGGGATGGATCTG
22	33011-zu	LC CDR1	146	CAGGCGTCCCAGTCATTAGCAGCGTGCTCTCC
23	33011-zu	LC CDR2	147	TTGGCCTCCACTCTGGCCTCG
24	33011-zu	LC CDR3	148	CAAACCAACTACGGAACCTCCAGCTCCAACTACGGCTT TGCC
25	111B10-xi	HC CDR1	149	AACTATGCAATGAGC
26	111B10-xi	HC CDR2	150	TCCATTAGTACTGGTGGTCTCGCATTCTACGCGAACTG GGCAAAGGC
27	111B10-xi	HC CDR3	151	AATGGTGGTAGTTATTTCTATTATTTGACTT G
28	111B10-xi	LC CDR1	152	CAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTTACTTATCC
29	111B10-xi	LC CDR2	153	TCTGCATCCACTCTGGCATCT
30	111B10-xi	LC CDR3	154	CAAAGCTATTATGATATTGGTACTAGTACT
31	111B10-zu	HC CDR1	155	AACTACGCCATGTCC
32	111B10-zu	HC CDR2	156	TCCATCAGCACAGGGGGCTGGCCTTACGCCAATTG GGCCAAGGGC
33	111B10-zu	HC CDR3	157	AACGGCGGAGGCTCTACATCTTACTACTTCGACCT G
34	111B10-zu	LC CDR1	158	CAGGCCCTCCAGTCATCTCTCCTACCTGTCC
35	111B10-zu	LC CDR2	159	TCTGCCTCCACACTGGCCTCC
36	111B10-zu	LC CDR3	160	CAGTCCTACTACGACATCGGCACCTCCACC
37	201C15-xi	HC CDR1	161	AGCTATGCAATGGGC
38	201C15-xi	HC CDR2	162	ACCATTAAATTGGTGGTGGTATATTACGCGAGCTG GGCAAAGGC
39	201C15-xi	HC CDR3	163	TATTATAATGGTGGTAGTTATGACATC
40	201C15-xi	LC CDR1	164	CAGGCCAGTGAGAGCATTATCGCGTATTGGCC
41	201C15-xi	LC CDR2	165	GATACATCCACTCTGGCATCT
42	201C15-xi	LC CDR3	166	CAAGGCGTTATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCT
43	201C15-zu	HC CDR1	167	TCCTACGCTATGGGC
44	201C15-zu	HC CDR2	168	ACCATAACATCGGGGGCAGAGTGTACTACGCCCTCTG GGCCAAGGGC
45	201C15-zu	HC CDR3	169	TAATACAACGGCGGCTCTACGATATC
46	201C15-zu	LC CDR1	170	CAGGCCCTCGAGTCATCTACGGGTGCTGGCC
47	201C15-zu	LC CDR2	171	GACACCAAGCACACTGGCCTCC
48	201C15-zu	LC CDR3	172	CAGGGCGGCTACTACGCCGACTCCTACGGAATCGCT
49	346C6-xi	HC CDR1	173	AGTTATGCAATGATC
50	346C6-xi	HC CDR2	174	ACCATTAGTACTGGTGGTATCACATACTACGCGAGCTG GGCGAAAGGC
51	346C6-xi	HC CDR3	175	GGGGGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATCTCCCGTA CTACTTTGACTT
52	346C6-xi	LC CDR1	176	CAGTCCTCCAGTCGGTGTATAACAACAACACCTGGC C
53	346C6-xi	LC CDR2	177	CTGGCATCCACTCTGGCATCT

54	346C6-xi	LC CDR3	178	CTAGGTGGTTGTGATGATGCTGATACTTTGCT
55	346C6-zu	HC CDR1	179	TCCTACGCTATGATC
56	346C6-zu	HC CDR2	180	ACCATCTCTACCGGCCGAATTACCTACTACGCCCTCG GGCCAAGGGC
57	346C6-zu	HC CDR3	181	GGGGGCTACGCCGCCAGCTCCGCTTACTACCTGCCCTA CTACTTCGACCTG
58	346C6-zu	LC CDR1	182	CAGTCCTCCCAGTCGTGTATAACAACAACCTGGC C
59	346C6-zu	LC CDR2	183	CTGGCCTCCACACTGGCCTCT
60	346C6-zu	LC CDR3	184	CTGGGCGGCTGCGACGACGACGCCGATACCTTGCT

표 6.mAb IMGT CDRs 의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	13	GFTFSGYG
2	MORAb-003	HC CDR2	14	ISSGGSYT
3	MORAb-003	HC CDR3	15	ARHGDDPAWFAY
4	MORAb-003	LC CDR1	16	SSISSNN
5	MORAb-003	LC CDR2	17	GTS
6	MORAb-003	LC CDR3	18	QQWSSYPYMYT
7	MORAb-009	HC CDR1	185	GYSFTGYT
8	MORAb-009	HC CDR2	186	ITPYNGAS
9	MORAb-009	HC CDR3	187	ARGGYDGRGFDY
10	MORAb-009	LC CDR1	188	SSVSY
11	MORAb-009	LC CDR2	189	DTS
12	MORAb-009	LC CDR3	190	QQWSKHPLT
13	트라스투주맙	HC CDR1	191	GFNIKDTY
14	트라스투주맙	HC CDR2	192	IYPTNGYT
15	트라스투주맙	HC CDR3	193	SRWGGDGFYAMDY
16	트라스투주맙	LC CDR1	194	QDVNTA
17	트라스투주맙	LC CDR2	195	SAS
18	트라스투주맙	LC CDR3	196	QQHYTTPPPT
19	33011-xi	HC CDR1	197	GISLSSDA
20	33011-xi	HC CDR2	198	INGGGNT
21	33011-xi	HC CDR3	199	ARGIQHGGGNSDYYYYGMDL
22	33011-xi	LC CDR1	200	QSISSV
23	33011-xi	LC CDR2	201	LAS
24	33011-xi	LC CDR3	202	QTNYGTSSNYGFA
25	33011-zu	HC CDR1	203	GISLSSDA
26	33011-zu	HC CDR2	204	INGGGNT
27	33011-zu	HC CDR3	205	ARGIQHGGGNSDYYYYGMDL
28	33011-zu	LC CDR1	206	QSISSV
29	33011-zu	LC CDR2	207	LAS
30	33011-zu	LC CDR3	208	QTNYGTSSNYGFA
31	111B10-xi	HC CDR1	209	GFSLNYYA
32	111B10-xi	HC CDR2	210	ISTGGLA
33	111B10-xi	HC CDR3	211	GRNNGGSYIFYFDL

34	111B10-xi	LC CDR1	212	QSISSY
35	111B10-xi	LC CDR2	213	SAS
36	111B10-xi	LC CDR3	214	QSYYDIGTST
37	111B10-zu	HC CDR1	215	GFSLNNYA
38	111B10-zu	HC CDR2	216	ISTGGGLA
39	111B10-zu	HC CDR3	217	ARNGGGSYIFYYFDL
40	111B10-zu	LC CDR1	218	QSISSY
41	111B10-zu	LC CDR2	219	SAS
42	111B10-zu	LC CDR3	220	QSYYDIGTST
43	201C15-xi	HC CDR1	221	GIDLSSYA
44	201C15-xi	HC CDR2	222	INIGGRV
45	201C15-xi	HC CDR3	223	ARYYNGGSYDI
46	201C15-xi	LC CDR1	224	ESIYRV
47	201C15-xi	LC CDR2	225	DTS
48	201C15-xi	LC CDR3	226	QGGYYADSYGIA
49	201C15-zu	HC CDR1	227	GIDLSSYA
50	201C15-zu	HC CDR2	228	INIGGRV
51	201C15-zu	HC CDR3	229	ARYYNGGSYDI
52	201C15-zu	LC CDR1	230	ESIYRV
53	201C15-zu	LC CDR2	231	DTS
54	201C15-zu	LC CDR3	232	QGGYYADSYGIA
55	346C6-xi	HC CDR1	233	GFSLSSYA
56	346C6-xi	HC CDR2	234	ISTGGIT
57	346C6-xi	HC CDR3	235	ARGGYAASSAYYLPIYYFDL
58	346C6-xi	LC CDR1	236	QSVYNNNN
59	346C6-xi	LC CDR2	237	LAS
60	346C6-xi	LC CDR3	238	LGGCDDDDADTFA
61	346C6-zu	HC CDR1	239	GFSLSSYA
62	346C6-zu	HC CDR2	240	ISTGGIT
63	346C6-zu	HC CDR3	241	ARGGYAASSAYYLPIYYFDL
64	346C6-zu	LC CDR1	242	QSVYNNNN
65	346C6-zu	LC CDR2	243	LAS
66	346C6-zu	LC CDR3	244	LGGCDDDDADTFA

표 7.mAb IMGT CDRs 를 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쪽	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	245	GGCTTCACCTCAGCGGTATGGG
2	MORAb-003	HC CDR2	246	ATTAGTAGTGGTAGTTATACC
3	MORAb-003	HC CDR3	247	GCAAGACATGGGACGATCCCGCCTGGTCGCTTAT
4	MORAb-003	LC CDR1	248	TCAAGTATAAGTTCCAACAAAC
5	MORAb-003	LC CDR2	249	GGCACATCC
6	MORAb-003	LC CDR3	250	CAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACATGTACACG
7	MORAb-009	HC CDR1	251	GGTTACTCATTCACTGGCTACACC
8	MORAb-009	HC CDR2	252	ATTACTCCTTACAATGGTGCTTCT
9	MORAb-009	HC CDR3	253	GCAAGGGGGGGTTACGACGGAGGGTTTGAATAC
10	MORAb-009	LC CDR1	254	TCAAGTGTAAAGTTAC

11	MORAb-009	LC CDR2	255	GACACATCC
12	MORAb-009	LC CDR3	256	CAGCAGTGGAGTAAGCACCCCTCTCACG
13	33011-xi	HC CDR1	257	GGAATCTCCCTCAGTAGGGATGCA
14	33011-xi	HC CDR2	258	ATTAATGGTGGTGGTAACACA
15	33011-xi	HC CDR3	259	GCCAGAGGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGTGATTA TTATTATTACGGCATGGACCTC
16	33011-xi	LC CDR1	260	CAGAGCATTAGTAGTGTC
17	33011-xi	LC CDR2	261	CTGGCCTCT
18	33011-xi	LC CDR3	262	CAAACCAATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTT TGCT
19	33011-zu	HC CDR1	263	GGAATTCCCTCTCCTCCGACGCG
20	33011-zu	HC CDR2	264	ATCAACGGCGGCCGAAACACC
21	33011-zu	HC CDR3	265	GCGCGGGCATCCAGCACGGTGGTGGAAACAGCGACTA CTACTACTATGGATGGATCTG
22	33011-zu	LC CDR1	266	CAGTCATTAGCAGCGTG
23	33011-zu	LC CDR2	267	TTGGCCTCC
24	33011-zu	LC CDR3	268	CAAACCAACTACGGAACCTCCAGCTCCAACACTACGGCTT TGCC
25	111B10-xi	HC CDR1	269	GGATTCTCCCTCAATAACTATGCA
26	111B10-xi	HC CDR2	270	ATTAGTACTGGTGGTCTCGCA
27	111B10-xi	HC CDR3	271	GGCAGAAATGGTGGTGGTAGTTATTTCTATTATT TGACTTG
28	111B10-xi	LC CDR1	272	CAGAGCATTAGTAGTTAC
29	111B10-xi	LC CDR2	273	TCTGCATCC
30	111B10-xi	LC CDR3	274	CAAAGCTATTATGATATTGGTACTAGTACT
31	111B10-zu	HC CDR1	275	GGCTTCTCCCTGAACAACTACGCC
32	111B10-zu	HC CDR2	276	ATCAGCACAGGGGGCTGGCC
33	111B10-zu	HC CDR3	277	GCCAGAAACGGCGGAGGCTCCATCTTACTACTT CGACCTG
34	111B10-zu	LC CDR1	278	CAGTCATCTCCTCTAC
35	111B10-zu	LC CDR2	279	TCTGCCTCC
36	111B10-zu	LC CDR3	300	CAGTCCTACTACGACATCGGCACCTCCACC
37	201C15-xi	HC CDR1	301	GGAATCGACCTCAGTAGCTATGCA
38	201C15-xi	HC CDR2	302	ATTAATTTGGTGGTGGTA
39	201C15-xi	HC CDR3	303	GCCAGATATTATAATGGTGGTAGTTATGACATC
40	201C15-xi	LC CDR1	304	GAGAGCATTATCGCGTA
41	201C15-xi	LC CDR2	305	GATACATCC
42	201C15-xi	LC CDR3	306	CAAGGCCATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCT
43	201C15-zu	HC CDR1	307	GGAATCGACCTGTCCTCCTACGCT
44	201C15-zu	HC CDR2	308	ATCAACATCGGCCGAGACTG
45	201C15-zu	HC CDR3	309	GCCCCGTACTACAACGGCGGCTCCACGATATC
46	201C15-zu	LC CDR1	310	GAGTCATCTACCGGGTG
47	201C15-zu	LC CDR2	311	GACACCAGC
48	201C15-zu	LC CDR3	312	CAGGGCGGCTACTACGCCGACTCCTACGGAATCGCT
49	346C6-xi	HC CDR1	313	GGATTCTCCCTCAGTAGTTATGCA
50	346C6-xi	HC CDR2	314	ATTAGTACTGGTGGTATCACA
51	346C6-xi	HC CDR3	315	GCCAGAGGGGGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATCT CCCGTACTACTTTGACTTG

52	346C6-xi	LC CDR1	316	CAGAGTGTATAATAATAACAAC
53	346C6-xi	LC CDR2	317	CTGGCATCC
54	346C6-xi	LC CDR3	318	CTAGGTGGTTGTGATGATGCTGATACCTTTGCT
55	346C6-zu	HC CDR1	319	GGCTTCTCCCTGCTCTACGCT
56	346C6-zu	HC CDR2	320	ATCTCTACCGCGGAATTAC
57	346C6-zu	HC CDR3	321	GCTAGAGCCGCTACGCCAGCTCCGTTACTACCT GCCCTACTACTTCGACCTG
58	346C6-zu	LC CDR1	322	CAGTCCTGTATAACAACAAC
59	346C6-zu	LC CDR2	323	CTGGCCTCC
60	346C6-zu	LC CDR3	324	CTGGCGGCTGCGACGACGCCGATACCTTGCT

표 8. 전장 mAb Ig 쇄의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	중쇄	1	EVQLVESGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISGGSY TYYADSVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARHGDDPAWFAYWGQGTP VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPEELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVE VHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVTLPSSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	MORAb-003	경쇄	6	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSISSNNLHWYQQKPGKAPKPVWYGTTSNLAS GVPSRFGSGSGTDYTFITSSLQPEDIATYYCQQWSSYPYMTFGQGTKEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
3	MORAb-009	중쇄	325	QVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSGFTGYTMMWVKOSHGKSLEWIGLITPYNGA SSYNQKFRGKATLTVKDSSTAYMDLLS LTSEDAVYFCARGGYDGRGFYDYGSGTP VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPEELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVE VHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVTLPSSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
4	MORAb-009	경쇄	326	DIELTQSPAIMSASPGEKVMTCSASSVSYMHWYQQKSGTSPKRWYDTSKLASGV PGRFSGSGSGNSYSLTISSEVAEDDATYYCQQWVKHPLTFGSGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
5	트라스 투주맙	중쇄	327	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGY TRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHT TFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPPKSCDKTHTC TCPGPCAPEELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVG VEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVTLPSSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
6	트라스 투주맙	경쇄	328	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG VPSRFGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQWYHTPPTFQGQGTKEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

7	33011-xi	중쇄	329	QSVEESGGLVTPGPTLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKGLEYIGIINGGGNTY YASWAKGRFTISKTSTTVDLKITPTTEDTATYFCARGIQHGGGNSDYYYYGMDL WGPGLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE TISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
8	33011-xi	경쇄	330	EVLMQTQPSVSAAVGDTVTIKCQASQSISSVLSWYQQKPGQPPKLLIYLASTLASG VPSRFSGRSGTEFTLTISDLECDDAATYYCQNTYGTSSSNYGFAGGGTEVVVKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
9	33011-zu	중쇄	331	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAAGFSLNYYAMSWVRQAPGKGLEYIGIINGGGNT YYASWAKGRFTISRHNSKNLTYLQMNLSRAEDTAVYYCARGIQHGGGNSDYYYYGMDL LWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGAL LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSC CDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE TISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNY YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	33011-zu	경쇄	332	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISSVLSWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASG VPSRFSGSGSTGDTFTLTISSLQCDIATYYCQNTYGTSSSNYGFAGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
11	111B10-xi	중쇄	333	QSVEESGGLVTPGPTLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKGLEWIGSISTGGAF YANWAKGRFTISRTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCGRNGGSIYFYFDLWGQGTLV TVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTPPV DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
12	111B10-xi	경쇄	334	AFELTQTPSSVEAAVGGTTIKCQASQSISSYLSWYQQKPGQPPKLLIYASTLASG VSSRFKGSGSGTEYTLTISDLECADAATYYFCQSYDIDGTSTFGGGTEVVVKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
13	111B10-zu	중쇄	335	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAAGFSLNYYAMSWVRQAPGKGLEWIGSISTGGAF YANWAKGRFTISRDNSKNLTYLQMNLSRAEDTAVYYCARNNGGSIYFYFDLWGQG TLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPCCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTT PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
14	111B10-zu	경쇄	336	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYASTLASG VPSRFSGSGSTGDTFTLTISSLQCDIATYYCQSYDIDGTSTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	201C15-xi	중쇄	337	QSVEESGGLVTPGPTLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKGLEYIGTINIIGRVY YASWAKGRFTISRTSTTVDLKAPSLTAEDTATYFCARYNGGSDIWGPGLTVVSL ASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCCPA

				PELLGGPSVLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQP PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
16	201C15-xi	경 쇄	338	DVMMTQTPASASEPVGGTVTIKCOASESIYRVLAWYQQKPGQPPKLLIYDTSTLAS APRFKGSGYGYTEFTLTIISGVQCEDAATYYCQGGYYADSYGIAFGGGTEVVVKRTVA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
17	201C15-zu	중 쇄	339	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCASGIDLSSYAMGWVRQAPGKGLEYIGTINIGRV YYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARYYNGGSYDIWGQGTLVT VSSASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSNKALPAPIEKTISAKGQ CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQ PREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
18	201C15-zu	경 쇄	340	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASESIYRVLAWYQQKPGKAPKLLIYDTSTLAS VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLOCDDAATYYCQGGYYADSYGIAFGGGTKVEIKRTVA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	346C6-xi	중 쇄	341	QSVEESGGLVKPDESLTLCAGSFLSSYAMIWVRQAPGEGLEWIGTISTGGITY YASWAKGRFTISKTSTVDLKITPTTEDATATYFCARGGYAASSAYYLPPYFDLWGQG TLTVSSASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSVVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSNKALPAPIEKTISAKGQ TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQ AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
20	346C6-xi	경 쇄	342	AAVLQTTPSPVSAAVGGTVTIQCQSSQSYNNNNLAWFQQKPGQPPKLLIYLASTLA SGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGGCDDADTFAGGGTEVVVKRT VAAPSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
21	346C6-zu	중 쇄	343	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFLSSYAMIWVRQAPGKGLEWIGTISTGGITY YYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARGGYAASSAYYLPPYFDL WGQGTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGV TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSNKALPAPIEKTISAKGQ DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQ KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
22	346C6-zu	경 쇄	344	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQSSQSYNNNNLAWYQQKPGKVPKLLIYLASTLA SGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGGCDDADTFAGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

표 9. 전장 mAb Ig 쇄⁺를 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	중 쇄	345	GAGGTCCAACCTGGTGGAGAGCGGTGGAGGTGTTGTGCAACCTGGCG GTCCCTGCGCCTGCTCCTGCTCCGCATCTGGCTTCACCTTCAGCGGCT ATGGGTTGCTTGGGTGAGACAGGCACCTGGAAAAGGTCTTGAGTGG TGTCAATGATTAGTAGTGTGGTAGTTATACCTACTATGCAGACAG TGTGAAGGGTAGATTGCAATATCGCAGACACGCAAGAACACAT TGTCTGCAAATGGACAGCCTGAGACCCGAAGACACCGGGGTCTAT TTTGTGCAAGACATGGGACATGGGACATCCCGCTGGTTCGCTTATTGGGG CCAAGGGACCCGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCACCACCAAGGGCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACA CGGGCCCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGAC GGTCTGTTGAACTCAGGCTGCTGGTCAAGGACTACTCCCGAACCGGTGAC CGGTCTGCTTACAGTCTGGTCAAGGACTACTCCCGAACCGGTGAC ACCGTCCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCAGCAACACAAGGGACAAGAAAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAGAAACTCACACATGCCACCGTGTCCCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTCCCCAAAACCCAAGGA CACCCCTATGATCTCCCGAACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCAGAAGACCTGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCAATATGCCAAGACAAGGCCGGGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTACCGTGTGGTCAAGGCTCCTCACCGTCTGACCAAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCCCTAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAGGGCAGCC CCGAGAACACCAGGTGTACACCCCTGCCCGGATGAGCTGA CCAAGAACAGGTGCTGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGGCACATGCCGTGGAGGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGAACAGCCTCCCGTGTGGACTCCGAGGCTCTGCACAAACCACTACAC TATATTCAAAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAAC GTCTTCTCATGCTCCGTATGCAAGGCTCTGCACAAACCACTACAC GCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGAAATGA
2	MORAb-003	경 쇄	346	GACATCCAGCTGACCCAGGCCAACGCCAGCAGCTGAGCGCCAGCGTGGG TGAGCAGAGTGAACCATCACCTGTAGTGTCAAGCTAACATTCCA ACAACCTTGCACTGGTACCCAGCAGGCCAGGTAAAGGCTCCAAGGCCA TGGATCTACGCCACATCCAACCTGGCTCTGGTGTGCCAAGCAGATT CAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGACTACACCTTCACCATCAGCAGCC TCCAGCGTACAGGACATGCCACCTACTACTGCAACAGTGGAGTAGT TACCGTACATGTACACGTTGCCAACGGGACCAAGGGTGAATCAA ACGAACATGTCGCTGCCACCATCTGTCTTACATCTCCGCCATCTGATG AGCAGTTGAAACTTGGAACTGCCCTCTGGTGTGCTGCTGAATAAC TTCATCCAGAGGGCAAAGGCTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCT CCAATGGGTAAACTCCAGGAGGTGTACAGCAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACCGAGAAACACAAAGCTACGCCCTGCAAGTCAACCCATCAGGGCCT GAGCTGCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTAA
3	MORAb-009	중 쇄	347	CAGGTACAACCTGCAGCAGTCTGGGCTGAGCTGGAGAAGCTGGCGC TTCACTGAAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCT ACACCATGAACTGGGTGAGCAGAGGCCATGGAAAAGGCCCTGGAGTGG ATTGGACTATTACTCCCTAACATGGTGTCTAGCTACACAGAA GTTCAAGGGGACCCGCCATTAACTGTAGACAAGTCACTCAGCACAG CCTACATGGACCTCCTCAGTCTGACATCTGAAGACTCTGCACT TTCTGTGCAAGGGGGGGTACAGCAGGGGGGTTTGACTACTGGGG ATCCGGGACCCGGTCAACGGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCAGGACTACTTCCCGAACCGGTGAC GGTCTGTTGAAACTCAGGCCCTGAGCAGGGGGCTGCCACACCTTCC CGGTCTGCTTACAGTCTCAGGACTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCA AATCTTGTGACAAGAAACTCACACATGCCACCGTGTCCCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGA CACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGG ACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCAATGCCAAGACAAGGCCGGGAGGAGCAGTA

				CAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGGTCTCCAAACAAAGCC CTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCTGGTCAAGGCTTCTATCCC CCAAGAACCGAGTCAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAGGCTTCTATCCC ACGGACATCCGGTGGAGTGGAGAGACCAATGGGAGCCGAGAACAA CTACAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCC TCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAC GTCTCTCATGCTCCGTGATGCACTGGGCTCTGCACAACCAACTACAC GCAGAACAGGCCCTCCCGTGTCCGGAAATGA
4	MORAb-009	경쇄	348	GACATCGAGCTCACTCAGTCCAGCAATCATGTCGATCTCAGGGAGAAGGTC ACCATGACCTGCGTGTGGCAGCTCAAGTGTAAAGTTACATGCACTGGTACCGCAGAACAG TCAGGCACCTCCCCAAAGATGGATTATGACACATCCAAACTGGCTCTGGAGTC CCAGGTCGCTTCACTGGCAGTGGCTGGAAACTCTACTCTCACAACTCAGCAGC GTGGAGGCTGAAGATGTGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAAAGCACCTCTC ACCTGGATCCGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACGTGGCTGACCCATGTCTTCACTGTC TTGATCTTCCGCCATCTGTGAGCAGTGTGAAATCTGGAACGTGCTCTGTTGTGCTG CTGCTGAATAACTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTTAACGCC CTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC TACGGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTGCCGTACAAGAGCTTCAAC AGGGAGAGTGTAA
5	33011-xi	중쇄	349	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGTCGCCCTGGTCAGCCTGGACACCCCTGACACTC ACCTGCACCGTCTCTGGAATCTCCCTCAGTAGCGATGCAATAAGCTGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAAAGGGCTCGAACATCGGAATCTTAACTGGTGGTAAACACATAC TACGGAGCTGGCAGAACGGCAGTACCCATCTCCAAACCTCGACACGGTGGAT CTGAAAATCACCAGTCCGACAAACCGAGGACACGGCACCTATTCTGTCAGAGGGC ATTCACATGGTGGTGTAAATAGTGTATTATTACGGCATGGACCTCTGGGGC CCAGGCACCTCTGGTCACTGTCTTCAGCATCCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCC CTGGCACCTCTCCAAAGACCCCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCCTGGTC AAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCGC GGCGTGACACCTTCCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGGACCTGCTCCAGCAGCTGGGACCCAGCCTACATGCAACGTGAAT CACAAGCCCAGAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTGGGGGACCGTCAGTCTC CTCTCCCCCAAACCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACA TGGCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCTGAGGTGCAATGCAAGAACAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCACTGGTCTCCACCGTCTGCACCGACTGGCTGAATGCCAG GAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGGCCCATCGAGAAAACCATC TCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCCAGGTGACACCCCTGCCCATCCGG GATGAGCTGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC ACGCACATGCCGTGGAGTGGAGAGGAATGGGAGCCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTATTCAGCTCAGGCTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTCTCATGCTCGTGTGAGGCT CTGCACAAACACTACACCGCAGAACAGCCTCTCCCGTGTCCGGAAATGA
6	33011-xi	경쇄	350	GAAGTGTGATGACCCAGACTCCATCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGAGACACAGTC ACCATCAAGTGCAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTGTCTGTCTGGTACAGCAG AAACCAAGGGCAGCCCTCCAAGCTCTGTATCTATGCTCCACTCTGGCATCTGGG GTCCCATCGCGTTCAGCGCAGTAGATCTGGGAGCAGAGTTCACTCTCACCATCAGC GACCTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTACTACTGTCAAACCAATTATGGTACTAGT AGTAGAATTATGGTTGTGTTCTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGTCAAACGAACGT GTGGCTGACCATCTGTCTTCATCTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCTCTGTGTGCGCTGCTGAATAACTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAG

				TGGAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGC TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCC GTACACAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTGA
7	33011-zu	중쇄	351	GAAGTCCAACCTGGTGGAAAGCGGGGGAGGACTGGTGCAGCCGGGATCCCTCGG CTGTATGTGCTGCATGGGAATTCCCTCTCCCGACGCGATTAGCTGGGTAGA CAGGCCCGGAAAGGGCTGGACTACATCGTATCATCACGGCGGAAACACC TACTACGCCCTCGGCCAAGGGCCGCTTACCATCTCGCGCATAATTCAAAGAAC ACTCTGTAATTGCAATGAACCTCGTGGAGGAGGACACCGCCGTGACTACTGC GCGCGCGCATCCACGACGGTGGAAACAGCGACTACTACTATGGATGGAT CTGTGGGCCAGGGAACTCTTGACCGTGTGTCAGCATCCACCAAGGGCCATCG GTCTCCCCCTGGCACCCCTCCAGAGCACCTCGGGGACAGCGCCCTGGG TGCGTGGTCAAGGACTACTCCCGAACCGGTGACGGTGTGGAACCTCAGGC CTGACAGCGGCGTGCACACCTCCCGCTGTCATCAGTCTCAGGACTCTAC CTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATCTG AACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC TGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCACCTGAACCTGGGGGACCG TCAGTCTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGGACCC GAGGTACATGCGTGGTGGACGCTGAGCCACGAGAACCCGAGGTCAGTTAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGG TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAACAGCTCCAGCCGAGGACTGGCTG AATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCG AAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCC CCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCGGGAGAAC TACAAGACCACCGCTCCGTGCTGACTCCGACGGCTCCTCTTATATTCAAAG CTCACCGTGGACAAGGAGCAGGTGGACGAGGGAACGTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTGTCACACCAACTACACCGAGAACGCTCTCCGTCTCCGGGAAA TGA
8	33011-zu	경쇄	352	GACATTCAAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCGTGTCCGCCCTCGTGGGACCGCGT ACCATCACGTGCCAGCGTCCAGTCATTAGCAGCGTGTCTCCGTACCAACAG AAGCGGGGAAAGCACCAAGCTGCTGATCTACTTGGCTCCACTTGGCTCGG GTGCCCTCACGGTCTCCGGATCGGATCTGTACTGATTTCACCCTCACCATCTG AGCCTCAGTGCAGGACATCGTACTTACTATTGTCACCAACTACGGAACCTCC AGCTCAACTACCGCTTGCTCGGGGACCAAGGTGAAATCAAACGA GTGGCTGCACCATCTGCTTCATCTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG ACTGCCTCTGTGTGCTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGGGCAAAGTACAG TGGAAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGC GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGC TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCG GTACACAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTGA
9	111B10-xi	중쇄	353	CAGTCGGTGGAGGAGTCGGGGGTCGCCCTGGTCACGCCCTGGGACACCC ACCTGCACAGTCTCGGATTCTCCCTCAATAACTATGCAATGAGCTGGTCC GCTCCAGGGAAAGGGCTGAAATGGATCGGATCCATTAGTACTGGTGTCTCG TACCGGAACCTGGCAAAGGCCGATTACCATCTCAGAACCTCGACACGGTGG CTGAAAATGACCGACTGACAACCGAGGACACGGCACCTATTCTGTGGCAG GGTGGTGGTAGTTATTCTATTCTGACTTGTGGGGCAAGGCACCCCTGTC ACTGCTCTCAGCATCCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTGGCACCC AAGAGCACCTCTGGGGCACAGGGCCCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACT GAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACAGCGGCGTGCACAC CCGGCTGCTTACAGCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGG TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAG GAAC

				ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCA CCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCCTCTTCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTGACATGCGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAAATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCTGCACCGAGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGG CAGCCCCGAGAACCAGGGTACACCCCTGCCCATCCGGATGAGCTGACCAAG AACCAAGGTCAAGCTGACCTQCCCTGGTCAAAGGCTCTATCCAGGACATGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCGTGCTG GACTCGACGGCTCTCTTATATTCAAAGTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGAAACGCTCTCATGCTCCGTGATGCAAGGGCTGACAACCAACTAC ACGAGAAGAGCCTCTCCGTCTCCGGAAATGA
10	111B10-xi	경 쇄	354	GCATTGAAATTGACCCAGACTCCATCTCCGTGGAGGGAGCTGTGGGAGGCACAAATC ACCATCAAGTGGCAGGCCAGTCAGAGGATTAGTAGTTACTTATCTCGTATCAGCAG AAACACAGGGCAGCCTCCCAAGCTCTGATCTTCTGCATCCACTCTGGCATCTGGG GTCTCATCGCGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGC GACCTGGAGTGTGGCATGTCGCACTTACTCTGTCAAAGCTATTATGATATTGGT ACTAGTACTTCGGCGAGGGACCGAGGTGGTGTGTCAAACGAACCTGTGGCTGACCA TCTGTCTTATCTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGAACTGCTCTGTT GTGTGCGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGAT AACGCCCTCAATCCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTCAACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAGAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGCTACGCCGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCGTACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTGAA
11	111B10-zu	중 쇄	355	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGCGGACTGGTCAGCCTGGGGATCTCTGAGA CTGCTTGTGCCGCCCTCCGGCTCTCCCTGAACAAACTACGCCATGTCCTGGGTGCGA CAGGCCCTGGCAAAGGCCCTGGAATGGATGGCTCCATCAGCACAGGCCCTGGCC TTCTACGCCAATTGGCCAAAGGCCGTTACCATCAGCCGGACAACCTCAAAGAAC ACCCGTACCTCCAGATGAACTCCCTGCGGGCGAGGACACCGCCGTGACTACTGT GCCGAAACAGGGAGGCTCTACATCTTACTACTTCGACCTGTGGGGCAGGGC ACCTCTGIGACAGTGTCACTGCACTCCACCAAGGGCCATGGTCTTCCCCTGGCA CCCTCTCCAAAGAGCACCTGGGGCACGGGCCCTGGGCTGCCGTGCAAGGAC TACTTCCCAGACGGTGAAGGTGTCGTGGAACCTGACGGGCCCTGACCGCCGTG CACACCTCCGGCTGCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACCCAGCTACATGCAAGTGAATCAAAG CCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAAACCTAC ACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAACTCTGGGGGACCGTCAGTCTCCCTTTC CCCCAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGAGGTGCTGAGGACCGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCTGAGGACCGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGC CGTGTGGTCACTGCTGCTCAGCGTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCCCTGAGGTACAGTCTCCGGAC GCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCCAGGTGACACCTGCTTACCTGCCCCATCCGGGATGAG CTGACCAAGAACAGGTGAGCCCTGACCTGGCTGGTCAAAGGCTTATCCAGCGAC ATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCT CCCGTGCTGACTCCGACGGCTCTTCTTATATTCAAAGCTACCCGTGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCAAGGGCTGCAAC AACCAACTACACCGAGAGAGCCCTCCCTGTCCTCCGGAAATGA
12	111B10-zu	경 쇄	356	GATATTCAAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCGGCTTCTGTGGGGGACAGAGTG ACCATCACCTGTCAGGCCCTCCAGTCCATCTCCCTACCTGTCCTGGTATCAGCAG AAGCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACTCTGCCACTAGGCCCTCCGGC

				GTGCCCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTACCCGTACCATCAGC TCCCTCCAGTGCAGGATGCCGCCACCTACTACTGCAGTCCTACTACGACATCGGC ACCTCCACCTCGGGAGGCCACCAAGGTGAAATCAAACGAACGTGGCTGCACCA TCTGCTCATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTGAATCTGAAACTGGAACTGCCTCTGTT GTGTGCCTGCTGAATAACTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGAT AACGCCCTCAATCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGCCAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCGGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTGCCGTACAAAGAGC TTCAACAGGGAGAGTGTGA
13	201C15-xi	종 쇄	357	CAGTCAGTGAAGGAGTCCGGGGTCGCCGTGGTCAAGCCTGGACACCCCTGACACTC ACCTGCACAGTCTCTGAAATCGACCTCAGTACGCTATGCAATGGGCTGGTCCGCCAG GCTCCAGGAAAGGGCTGAAATACATCGGAACCTTAATATTGGTGGTCCGCTATAT TACCGAGCTGGGCAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGACCCAGGTGGAT CTGAAAGCGCCAGCTGACAGCCGAGGACACGGCACCTATTCTGTCCAGATAT TATAATGGTGTAGTTATGACATCTGGGCCCAGGCACCCCTGGTCAAGGCTCTTTA GCATCCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTGGCACCCCTCCAAAGGACACCTCT GGGGCACAGCGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACG GTGTGGAACTCAGCGCCCTGACCGAGCGCGTGCACACCTCCGGTGTCTA CAGTCAGGACTACTCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCCCTCAGCAGCTTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATACAAGCCCAGCACCAAGGTGGAC AAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCA CTGAACTCTGGGGGACCGTCAGTCTCTCTCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATCGCTGGTGGACGTGAGCCAGAA GACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGGTCTCCAAACAA GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAA CCACAGGTACACCCCTGCCCATCCGGATGAGCTGACCAAGAACCGGTACGC CTGACCTGCTGGTCAAGGCTCTATCCAGCAGACATGCCGTGGAGGTGGAGAGC AATGGGCGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCCCTCCGGTGTGGACTCCGAGGGC TCCTCTCTTATATTCAAGCTCAGCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAAC GTCTCTCATGCTCCGTGATGAGGTCTGACAAACCAACTACAGCAGAAAGG CTCTCCCTGCTCCGGGAAATGA
14	201C15-xi	경 쇄	358	GATGTTGTGATGACCCAGACTCCAGCCTCCCGCTGTAACCTGTGGAGGCACAGTC ACCATCAAGTGCAGGCCAGTGAAGCATTATCGGTATTGGCCTGGTATCAGCAG AAACCGGGCAGCCTCCAAAGCTCTGATCTATGATACTCCACTTGGCATCTGG GCCCATCGCGGTCAGGCAAGGCTGATGGGAGAGTCACTCTCACCACATCAGC GGCGTGCAGTGTGAAGATGCTGCAACTACTGTCAGGCGGTATTATGCTGAT AGTTATGGTATTGCTTCGGCGAGGGACCGAGGTGGTGTCAAACGAACGTGGCT GCACCATCTGCTTCATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGAACTGCC TCTGTTGTGCTGCTGTAATACTCTATCCAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTGCCGTACA AAGAGCTAACAGGGAGAGTGTGA
15	201C15-zu	종 쇄	359	CAGGTGCAGCTGGTGAATCGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGCTCTGAGA CTGCTCTGTCGCCCTCCGGAATCGACCTGTCCTCTACGCTATGGGCTGGGTGCGA CAGGTCTGCCAGGGCTGGAGTACATCGCACCATCAACATCGGCCAGAGTG TACTACGCCCTGCCAGGGCAAGGGCGGTTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAAC ACCCGTACCTCCAGATGAACCTCCGCGGAGGACACCGCCGTGTACTACTG GCCCGTACTACAACGGCGCTCTACGATATCTGGGCCAGGGCACACTCGTGA GTGTCTCTGATCCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCTGGCACCCCTCCAAAG

				AGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTACGGTGTCTGGAACTCAGCGCCCTGACCAGCGGTGACACCTTCCCG GCTGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTAAATCAGCCCAGCAACCC AAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACACACATGCCACCG TGCCCCAGCACCTGAACCTCTGGGGACCGTCAAGTCTTCCTTCCCCAAAACCC AAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCTGGAGGTGCA AATGCCAAGACAAGCGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCTCACCGTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGCAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACATCTCCAAAGCAGGGCAG CCCCGAGAACCCAGCGTCAACCCCTGCCCTATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTAGCCTGACTGCCTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGGAGTGTACAGAGCAGGAC TGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCACGCCCTCCGTGCTGGAG TCCGACGGCTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACTCTCATGCTCGTGTGATGCGTGGAGGCTCTGCACAAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCGTCTCCGGAAATGA
16	201C15-zu	경 쇄	360	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCCTGTCGCTCTGTGGCGACAGAGTG ACCATCACCTGTCAAGGCTCGAGTCATCTACCGGGTCTGCCCTGGTATCAGCAG AAGCCTGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGACACAGCACACTGGCTCGGC GTGCCCTCTAGTTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCCGAGTTACCGTACCATCTCC AGCCTCCAGTGCAGCACGCCGCCACCTACTATTGTCAAGGGCGGACTACGCCGAC TCCTACGGAATCGCTTCCGGAGGACCAAGGTGAAATCAAAGAACTGTGGCT GCACCATCTGTTCTATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGAACTGCC TCTGTTGTGCTGCTGTAATACTTCTATCCAGAGGAGGCAAAGTACAGTGGAAAG GTGGATAACGCCCTCAATCGGTTAATCCCAGGAGGAGTGTACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGAGCCTGAGCAAAGCAGACTACAG AAACACAAAGTCTACGCTCGGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTGCCGTACA AAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTGA
17	346C6-xi	중 쇄	361	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGCGGTGCGCTGGTAAAGCCTGACGAATCCCTGACACTC ACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCCCTCAGTAGTTGCAATGATCTGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAGGGCTGGAATGGATGGAACCTAGTAGTACTGGTGGTACACATAC TACCGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATTACCCATCTCCAAAACCTCGACCCAGGGT CTGAAAATCACCAGTCCGACAAACCGAGGACACGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGG GGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTCTCCCGTACTACTTTGACTTGTGGGCCAA GGGACCTGGTACCGTCTCTCAGCATCCACCAAGGGCCATCGCTTCCCGT GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCAGCGGCCCTGGCTGCCGTCAAG GACTACTTCCCCAACCGGTGACGGTGTGGAACCTAGCGCCCTGACCCAGGGC GTGCACCCCTCCCGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGGCCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATGCAACAGTGAATCAC AAGCCCAGAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGGCCAAATCTTGTGACAAAAC CACACATGCCACCGTCCCCAGCACCTGACTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTC TTCCCCCCTAACCCAAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGC GTGGTGGTGGAGCTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAGCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG TACCGTGTGGTCAAGGCTCCTCACCGTCTGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGAAGGCTCCAAACAAAGCCCTCCAGCAGGCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACACACAGTGTACACCCCTGCCCATCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCCAGGTCAAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGC GACATGCCGTGGAGTGGGAGGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTTCTCATGCTCCGTGATGCGTGGAGGCTG

				CACAACCACATACACCGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAAATGA
18	346C6-xi	경쇄	362	GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCACCGTGTCTGCAGCTGTGGAGGCACAGTC ACCATCAGTTGCGAGTCAGAGTGTATAATAACAACCTAGCCTGGTT CAGCAGAAACCCGGCAGCCTCCAAGCTCTGATCTATCTGGCATCCTGGCA CTGGGGTCCCACAGGTTAGCGGAGTGGATCTGGACACAGTCACTCTCACC ATCAGCGGTGCGAGTGTGACGATGTCGCACTTATTACTGTCTAGGTGGTTGAT GATGATGCTGATCACTTTGCTTCAGCGGAGGGACTGAGGTGGTCAAACGA GTGGCTGCACCATCTGCTTCATCTCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCTCTGTTGTCGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCC GTCACAAAGAGCTAACAGGGAGAGTGTGA
19	346C6-zu	중쇄	363	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGGGGACTGGTGCAGCCTGGGGATCTCTGAGA CTGTCCTGCGCCCTCCGGCTCTCCCTGTCCTCCAGCTATGATCTGGTGC CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGCACCATCTACCGGCGGAATTACC TACTACGCCCTCCGGCCAAGGGCGGTTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAAC ACCCGTGACTCCAGATGAACCTCTGGGCCAGGGACACCCGCGTGTACTATTG GCTAGAGGGGGTACGCCGCCAGCTCGCTACTACCTGCCCTACTACTCGACCTG TGGGCCAGGGCACCTCGTGAAGTGTATCTGCATCCACCAAGGGCCATGGTC TTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGAACTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGTGACACCTCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACCC AGCAGCGTGGTGAACGCTGCCCTCACGAGCTGGCACCCAGACCTACATGCAAC GTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTG GACAAAACACACATGCCACCGTGCCTCACCTGAACCTCTGGGGACCGTCA GTCCTCCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAG GTCACATGGTGGTGGACGTCAGCAGGCTGAGGTCAAGGTTCAACTCG TACGGTGGACGGCGTGGAGGTGCAATAATGCCAAGACAAGCCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGGCCCCATCGAGAAA ACCACCTCCAAGGCAAGGGCACCCGGAGAACACAGGTGTACACCTGCC TCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGACGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTC TATCCCAGCAGCATCGCCGTGGAGTGGAGGCAATGGGCAGCGGAGAACACTAC AAGACACGCGCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTATATTCAAAGCTC ACCGTGGACAAGGACAGGTGGCACGGGAACTGCTCTCATGCTCGTGTGCA GAGGCTCTGACAAACCACTACACCGAGAAGGCCCTCCCTGTCTCCGGAAATGA
20	346C6-zu	경쇄	364	GATATTAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCGGCTCTGTGGGAGACAGAGTG ACCATCACCTGTCAGTCCTCCAGTCGGTGTATAACACAAACACTGGCCTGGTAT CAGCAGAAACCCGGCAAGGTGCCAAGCTGCTGATCTACCTGGCCTCACA CTGGCGTGCCTCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCTACCTTACCC ATCAGCTCCCTCAGTCGCGAGGATGCCGCCACCTACTATTGCTGGCGGCTGC GACGACGCCGATACCTTGTGTTGGCGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAACGA CTGTGGCTGCACCATCTGCTTCATCTCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG ACTGCTCTGTTGTCGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCC GTCACAAAGAGCTAACAGGGAGAGTGTGA

⁺ 열거된 핵산 서열은 리더 서열을 포함하지 않는다.

[0130]

다양한 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 ADC는 상기 표에서 열거된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 (예를 들면, MORAB-003 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 트拉斯투주맙 중쇄 및 경쇄 가변 도메인)의 임의의 세트, 또는 중쇄 및 경쇄 세트로부터 6 CDR 서열의 세트를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, ADC는 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 추가로 포함한다. 예를 들면, ADC는 인간 IgG 중쇄 불변 도메인 (예컨대 IgG1) 및 인간 카파 또는 람다 경쇄 불변 도메인을 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 기재된 ADCs의 항체 모이어티는 인간 Ig 카파 경쇄 불변 도메인과 인간 면역글로불린 G 하위유형 1 (IgG1) 중쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0132]

다양한 구현예에서, ADC용 상기 표적 암 항원은 플레이트 수용체 알파 ("FRA")이다.

[0133]

다양한 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: 카밧 님버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:2로 구성되는 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열 식별 번호:3으로 구성되는 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열 식별 번호:4로 구성되는 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열 식별 번호:7로 구성되는 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열 식별 번호:8로 구성되는 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:9로 구성되는 경쇄 CDR3 (LCDR3), (카밧, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National

Institutes of Health, Bethesda, Md.(1987 및 1991))).

[0134] 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:13으로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:14로 구성되는 중쇄 CDR2, 서열 식별 번호:15로 구성되는 중쇄 CDR3; 서열 식별 번호:16으로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:17로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:18로 구성되는 경쇄 CDR3 (International ImMunoGeneTics Information System (IMGT®)).

[0135] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:24에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는다.

[0136] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 인간 Ig 카파 경쇄 불변 도메인과 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0137] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 서열 식별 번호:1의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:1에 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열 식별 번호:6의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:6에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 특정한 구현예에서, 항체는 서열 식별 번호:1의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:6의 경쇄 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체는 서열 식별 번호:1에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및/또는 서열 식별 번호:6에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체는 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 있는) 서열 식별 번호:11, 또는 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 없는) 서열 식별 번호:345의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 중쇄; 및 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 있는) 서열 식별 번호:12, 또는 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 없는) 서열 식별 번호:346의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄 아미노산 서열은 C-말단 리신이 부족하다. 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 하기와 부다페스트 조약에 따른 조건 하에 기탁된 세포주에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열을 갖는다: 미국 종균 협회 (ATCC, 10801 University Blvd., Manassas, Va.20110-2209) (2006년 4월 24일에, 수탁 번호 PTA-7552로, 또는 중쇄 C-말단 리신이 부족한 그와 같은 서열로). 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 MORAb-003 (USAN 명칭: 파를레투주맙) (Ebel 등. (2007) Cancer Immunity 7:6), 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0138] 다양한 다른 구현예에서, ADC용 표적 암 항원은 인간 표피 성장 인자 수용체 2 ("her2")이다.

[0139] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:71로 구성되는 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열 식별 번호:72로 구성되는 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열 식별 번호:73으로 구성되는 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열 식별 번호:74로 구성되는 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열 식별 번호:75로 구성되는 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:76으로 구성되는 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0140] 일부 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:191로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:192로 구성되는 중쇄 CDR2, 서열 식별 번호:193으로 구성되는 중쇄 CDR3; 서열 식별 번호:194로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:195로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:196으로 구성되는 경쇄 CDR3.

[0141] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및/또는 서열 식별 번호:28에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는다.

[0142] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체는 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 인간 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을

포함한다.

- [0143] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체는 서열 식별 번호:327의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:327에 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열 식별 번호:328의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:328에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 특정한 구현예에서, 항체는 서열 식별 번호:327의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:328의 경쇄 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-her2 항체는 서열 식별 번호:327에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:328에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. 다양한 구현예에서, 항-her2 항체는 트拉斯투주맙, 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0144] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 MORAb-003의 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하거나 여기서 CDRs는 HCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:2, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:13), HCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:3, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:14), HCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:4, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:15); LCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:7, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:16), LCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:8, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:17), 및 LCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:9, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:18)의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 이하 아미노산 부가, 결실 또는 치환을 포함한다.
- [0145] 다양한 다른 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 트拉斯투주맙의 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하거나 여기서 CDRs는 HCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:71, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:191), HCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:72, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:192), HCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:73, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:193); LCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:74, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:194), LCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:75, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:195), 및 LCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:76, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:196)의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 이하 아미노산 부가, 결실 또는 치환을 포함한다.
- [0146] 다양한 구현예에서, 아미노산 치환은 단일 잔기의 것이다. 생물학적 기능 (예를 들면, FRA 또는 her2에 결합)이 유지되는 한 상당히 더 큰 삽입이 용인될 수 있어도, 삽입은 일반적으로 약 1 내지 약 20 아미노산 잔기의 정도일 것이다. 일부 경우에 결실이 훨씬 더 클 수 있어도, 결실은 일반적으로 약 1 내지 약 20 아미노산 잔기 범위이다. 치환, 결실, 삽입, 또는 이의 임의의 조합은 최종 유도체 또는 변이체에 도달하는데 사용될 수 있다. 일반적으로 이들 변화는 문자의 변경, 특히 항원 결합 단백질의 면역원성 및 특이성을 최소화하기 위해 몇몇 아미노산에서 실시된다. 그러나, 더 큰 변화는 특정 상황에서 용인될 수 있다. 보존적 치환은 표 10으로서 묘사된 하기 차트에 따라 일반적으로 실시된다.

[0147]

표 10

최초 잔기	예시적 치환
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

[0148]

기능 또는 면역학적 동일성에서 실질적인 변화는 표 10에서 나타난 것보다 덜 보존적인 치환 선택에 의해 실시된다. 예를 들어, 하기의 더욱 상당히 영향을 미치는 치환은 실시될 수 있다: 변형의 구역에서 폴리펩타이드 골격의 구조, 예를 들어 알파-나선 또는 베타-시트 구조; 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성; 또는 측쇄의 벌크. 일반적으로 폴리펩타이드의 특성에서 가장 큰 변화를 생산하기 위해 기대되는 치환은 하기이다: (a) 친수성 잔기, 예를 들면, 세릴 또는 트레오닐이 소수성 잔기, 예를 들면, 류실, 이소류실, 페닐알라닐, 발릴 또는 알라닐로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것; (b) 시스테인 또는 프롤린이 임의의 다른 잔기로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것; (c) 양전기 측쇄, 예를 들면, 라이실, 아르기닐, 또는 히스티딜을 갖는 잔기가 음전기 잔기, 예를 들면, 글루타밀 또는 아스파르틸로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것; 또는 (d) 큰 부피의 측쇄, 예를 들면, 페닐알라닌을 갖는 잔기가 측쇄를 갖지 않는 것, 예를 들면, 글리신으로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것.

[0149]

변이체 항체 서열이 ADC에서 사용되는 다양한 구현예에서, 변이체가 필요에 따라 항원 결합 단백질의 특징을 변형시키기 위해 또한 선택될 수 있어도, 변이체는 전형적으로 동일한 정성적 생물학적 활성을 나타내고 동일한 면역 반응을 유도할 것이다. 대안적으로, 변이체는 항원 결합 단백질의 생물학적 활성이 변경되도록 설계될 수 있다. 예를 들어, 당화 부위는, 본 명세서에서 논의된 바와 같이, 변경 또는 제거될 수 있다.

[0150]

다양한 항체는 암 세포를 표적하기 위해 본 명세서에서 사용된 ADCs와 사용될 수 있다. 아래에서 나타낸 바와 같이, 본 명세서에서 개시된 ADCs에서 링커-독소는 상이한 종양 항원-표적화 항체와 놀랍게도 효과적이다. 건강한 세포를 제외한 종양 세포에서 발현된, 또는 건강한 세포에서 보다 더 높은 수준으로 종양 세포에서 발현된 적합한 항원은, 이들에 관한 항체와 같이, 당해 기술에 공지되어 있다. 이들 항체는 본 명세서에서 개시된 링커 및 독소 (예를 들면, 에리불린)에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 FRA를 표적한다. 일부 구현예에서, FRA-표적화 항체 모이어티는 MORAb-003이다. 일부 구현예에서, 개시된 링커 및 독소 (에리불린)은 몇 개의 상이한 종양-표적화 항체로 놀랍게도 효과적인 반면, FRA-표적화 항체 모이어티 예컨대 MORAb-003은 특히 개선된 약물:항체 비, 종양 표적화, 방관자 사멸, 치료 효능, 및 감소된 부정확한 사멸을 제공하였다. 개선된 치료 효능은 시험관내 또는 생체내 측정될 수 있고, 감소된 종양 성장 속도 및/또는 감소된 종양 용

적을 포함할 수 있다.

[0152] 특정 구현예에서, 다른 항원 표적에 대한 항체는 사용되고 FRA-표적화 항체 모이어티 예컨대 MORAb-003을 포함하는 ADC의 양호한 기능성 특성 (예를 들면, 개선된 약물:항체 비, 개선된 치료 효능, 감소된 부정확한 사멸, 등)의 적어도 일부를 제공한다. 일부 구현예에서, 이들 양호한 기능성 특성의 일부 또는 전부는 개시된 링커 및 독소 (에리불린)이 her2-표적화 항체 모이어티 예컨대 트라스투주맙에 콘주케이션되는 경우 관측된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 her2를 표적한다. 일부 구현예에서, her2-표적화 항체 모이어티는 트라스투주맙이다. 일부 구현예에서, 이들 양호한 기능성 특성의 일부 또는 전부는 개시된 링커 및 독소 (에리불린)이 MSLN-표적화 항체 모이어티 예컨대 MORAb-009에 콘주케이션되는 경우 관측된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 MSLN을 표적한다. 일부 구현예에서, MSLN-표적화 항체 모이어티는 MORAb-009이다.

링커

[0154] 다양한 구현예에서, ADC에서 링커는 치료적으로 효과적이도록 충분한 방식으로 세포외로 안정적이다. 일부 구현예에서, 링커는 세포 외부에서 안정적이어서, 이로써 ADC가 세포외 조건에서 (예를 들면, 세포 속으로 수송 또는 전달에 앞서) 존재한 경우 온전하게 남아있다. ADC의 문맥에서 사용된, 용어 “온전한”은 항체 모이어티가 약물 모이어티에 부착된 채 남아있는 것을 의미한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 링커 또는 링커를 포함하는 ADC의 문맥에서, “안정적인”은 ADC가 세포외 조건에서 존재하는 경우 ADC의 샘플에서 링커의 20% 이하, 약 15% 이하, 약 10% 이하, 약 5% 이하, 약 3% 이하, 또는 약 1% 이하 (또는 그 사이 임의의 백분율)이 절단되는 (또는 전반적인 ADC의 경우에서 달리 온전하지 않는) 것을 의미한다.

[0155] 링커가 세포외로 안정적인지 여부는, 예를 들어, 예정된 기간 (예를 들면, 2, 4, 6, 8, 16, 또는 24 시간) 동안 혈장내 ADC의 포함 및 그 다음 혈장에서 존재하는 자유 약물 모이어티의 양의 정량화에 의해 결정될 수 있다. 안정성은 표적 종양 세포를 국재화하기 위해 그리고 약물의 미성숙한 방출을 예방하기 위해 ADC 시간을 허용할 수 있고, 이는 양쪽 정상 및 종양 조직의 무차별적으로 손상화에 의해 ADC의 치료 지수를 낮출 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 표적 세포의 외부에서 안정적이고 ADC로부터 한번 세포의 내부에서 약물 모이어티를 방출시켜, 이로써 약물 모이어티는 그것의 표적에 (예를 들면, 미세소관에) 결합할 수 있다. 따라서, 효과적인 링커는 하기 할 것이다: (i) 항체 모이어티의 특이적 결합 특성을 유지; (ii) 항체 모이어티에 안정적인 부착을 통해 약물 모이어티의 전달, 예를 들면, 세포내 전달을 허용; (iii) ADC가 그것의 표적 부위에 수송 또는 전달되는 때 까지 안정적이고 온전하게 유지; 및 (iv) 절단후 약물 모이어티의 치료 효과, 예를 들면, 세포독성 효과를 허용.

[0156] 링커는 ADC의 물리화학 특성에 영향을 줄 수 있다. 많은 세포독성 약물이 사실상 소수성이기 때문에, 추가의 소수성 모이어티를 가진 항체에 이들의 결합은 응집으로 이어질 수 있다. ADC 응집물은 불용성이고 종종, ADC의 효력에 부정적으로 영향을 줄 수 있는, 항체에 달성가능한 약물 장입을 제한시킨다. 생물제제의 단백질 응집물은, 일반적으로, 또한 증가된 면역원성에 연결되어 있다. 아래에서 나타낸 바와 같이, 본 명세서에서 개시된 링커는 약물 장입의 바람직한 수준 및 낮은 응집 수준을 가진 ADCs를 초래한다.

[0157] 링커는 “절단가능한” 또는 “비-절단가능한” 것일 수 있다 (Ducry and Stump, Bioconjugate Chem. (2010) 21:5-13). 절단가능한 링커는 특정 환경 인자에 거치는 경우, 예를 들면, 상기 표적 세포 속으로 내재화된 경우 약물을 방출시키기 위해 설계되고, 반면에 비-절단가능한 링커는 일반적으로 항체 모이어티 자체의 열화에 의존한다.

[0158] 일부 구현예에서, 링커는 비-절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, ADC의 약물 모이어티는 항체 모이어티의 열화에 의해 방출된다. 비-절단가능한 링커는 상기 표적 세포 안에 열화 그리고 상기에 의한 내재화시 항체 및 약물의 적어도 하나의 아미노산과 공유적으로 관련되어 남아있다. 비-절단가능한 링커는 통상적으로 항체 또는 약물, 각각에서 말레이미드 또는 할로아세트아미드 기와 약물 또는 항체에서 티올 기의 콘주케이션에 의해 제조되는, 티오에테르 연결을 포함한다 (Goldmacher 등, In Cancer Drug Discovery and Development:Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins (G.L.Phillips ed., Springer, 2013)). 예시적 비-절단가능한 링커는 티오에테르, 사이클로헥실, N-석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1 카복실레이트 (SMCC), N-하이드록시석신이미드 (NHS), 또는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 비-절단가능한 링커는 (PEG)₂를 포함한다. 다른 구현예에서, 비-절단가능한 링커는 (PEG)₄를 포함한다.

[0159] 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 링커이다. 절단가능한 링커는 절단가능한 모이어티를 포함하는 임의의 링

커를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 “절단가능한 모이어티”는 절단될 수 있는 임의의 화학 결합을 지칭한다. 적합한 절단가능한 화학 결합은 당해 분야에서 잘 알려지고, 비제한적으로, 산 불안정성 결합, 프로테아제/펩티다제 불안정성 결합, 광불안정적인 결합, 디설파이드 결합, 및 에스테라제 불안정성 결합을 포함한다. 절단가능한 모이어티를 포함하는 링커는 링커에서 특정 부위에 절단을 통해 ADC로부터 약물을 모이어티의 방출을 허용할 수 있다. 다양한 구현예에서, 연결된 독소로부터 항체의 절단은 독소의 활성을 활성화 또는 증가시킨다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커 (예를 들면, Val-Cit 링커)를 포함하는 ADC는, 비-절단가능한 링커 (예를 들면, 비-절단가능한 (PEG)₂ 또는 (PEG)₄ 링커)를 포함하는 ADC에 비교된 경우, 증가된 정확한 세포 사멸 및/또는 감소된 부정확한 세포 사멸을 입증한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커를 포함하는 ADC는 ADC로 처리된 세포 및/또는 암이 표적 항원 (예를 들면, FRA 또는 her2)의 고 수준을 발현시키지 않는 경우 비-절단가능한 링커를 포함하는 ADC에 비해 개선된 치료 효능을 나타낸다. 일부 구현예에서, 연결된 독소로부터 항체의 절단은, 시험관내 및/또는 생체내 측정된 경우, ADC의 개선된 치료 효능을 달성하기 위해 요구된다.

[0160]

일부 구현예에서, 링커는 세포내 조건 하에 절단가능하여서, 이로써 링커의 절단이 약물을 활성화시키기 위해 및/또는 약물을 치료적으로 효과적으로 만들기 위해 세포내 환경에서 항체 모이어티로부터 약물을 모이어티를 충분히 방출시킨다. 일부 구현예에서, 약물을 모이어티는 ADC가 ADC의 항체 모이어티에 특이적인 항원을 발현시키는 세포에 진입하는 때까지 항체 모이어티로부터 절단되지 않고, 약물을 모이어티는 세포에 진입시 항체 모이어티로부터 절단된다. 일부 구현예에서, 링커는 링커 또는 항체 모이어티의 일부가 절단시 약물을 모이어티에 결합된 채 남아있지 않도록 배치되는 절단가능한 모이어티를 포함한다. 예시적 절단가능한 링커는 산 불안정성 링커, 프로테아제/펩티다제-감수성 링커, 광불안정적인 링커, 디메틸-, 디설파이드-, 또는 설폰아미드-함유 링커를 포함한다.

[0161]

일부 구현예에서, 링커는 pH-민감성 링커이고, 특정 pH 값에서 가수분해에 민감성이다. 전형적으로, pH-민감성 링커는 산성 조건 하에 절단가능하다. 이러한 절단 전략은 일반적으로, 링커에서 산 불안정성 기, 예컨대 하이드라존의 가수분해를 유발시키기 위해, 사이토졸 (pH ~ 7.4)에 비교된 경우, 엔도조말 (pH ~ 5-6) 및 리소좀 (pH ~ 4.8) 세포내 구획에서 더 낮은 pH를 이용한다 (Jain 등. (2015) Pharm Res 32:3526-40). 일부 구현예에서, 링커는 산 불안정성 및/또는 가수분해성 링커이다. 예를 들어, 리소좀에서 가수분해성이고, 산 불안정성 기 (예를 들면, 하이드라존, 세미카바존, 티오세미카바존, 시스-아코니트산 아미드, 오르토에스테르, 아세탈, 케탈, 또는 기타)를 함유하는 산 불안정성 링커는 사용될 수 있다. 참고, 예를 들면, 미국특허 번호 5,122,368; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik and Walker (1999) Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville 등. (1989) Biol. Chem. 264:14653-61. 그와 같은 링커는 중성 pH 조건, 예컨대 혈액에서의 것 하에 상대적으로 안정적이지만, 리소좀의 근사치 pH인, pH 5.5 또는 5.0 미만에서 불안정하다. 특정 구현예에서, 가수분해성 링커는 티오에테르 링커 (예컨대, 예를 들면, 아실하이드라존 결합을 통해 치료제에 부착된 티오에테르)이다. 참고, 예를 들면, 미국특허 번호 5,622,929.

[0162]

일부 구현예에서, 링커는 환원 조건 하에 절단가능하다. 일부 구현예에서, 링커는 환원제, 예컨대 글루타티온 또는 디티오트레이톨의 존재 하에 절단가능하다. 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 디설파이드 링커 또는 절단가능한 설폰아미드 링커이다.

[0163]

일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 디설파이드 링커이다. 예를 들어, SATA (N-석신이미딜-5-아세틸티오아세테이트), SPDP (N-석신이미딜-3-(2-페리딜디티오)프로페오네이트), SPDB (N-석신이미딜-3-(2-페리딜디티오)부티레이트) 및 SMPT (N-석신이미딜옥시카보닐-알파-메틸-알파-(2-페리딜-디티오)톨루엔), SPDB 및 SMPT를 이용하여 형성될 수 있는 것을 포함하는, 다양한 디설파이드 링커는 당해 기술에 공지되어 있다. 참고, 예를 들면, Thorpe 등. (1987) Cancer Res. 47:5924-31; Wawrzynczak 등, In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer (C. W. Vogel ed., Oxford U.Press, 1987). 참고 또한 미국특허 번호 4,880,935. 디설파이드 링커는, 그것의 디설파이드 결합의 절단을 용이하게 할 수 있는, 세포내 티올의 존재도를 탐구하는데 전형적으로 사용된다. 가장 풍부 세포내 티올, 환원된 글루타티온의 세포내 농도는 일반적으로 약 5 μM에 혈액에서 가장 풍부한 저-분자 티올 (즉, 시스테인)의 것보다 약 1,000-배 더 높은, 1-10 nM의 범위이다 (Goldmacher 등, In Cancer Drug Discovery and Development:Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins (G.L. Phillips ed., Springer, 2013)). 단백질 디설파이드 이소머라제 계열의 세포내 효소는 또한 디설파이드 링커의 세포내 절단에 기여할 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 절단가능한 디설파이드 링커는 절단가능한 디설파이드 모이어티를 포함하는 임의의 링커를 지칭한다. 용어 “절단가능한 디설파이드 모이어티”는, 예를 들면, 티올 또는 효소에 의해 절단 및/또는 환원될 수 있는 디설파이드 결합을 지칭한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 디설파이드 모이어티는 디설파이드-디메틸이다.

- [0164] 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 셀론아미드 링커이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 절단가능한 셀론아미드 링커는 절단가능한 셀론아미드 모이어티를 포함하는 임의의 링커를 지칭한다. 용어 “절단가능한 셀론아미드 모이어티”는 아민 기에 연결된 셀론아미드 기, 즉, 설포닐 기를 지칭하고, 여기서 상기 황-질소 결합은 절단될 수 있다.
- [0165] 일부 구현예에서, 링커는 분지화, 다작용성 링커 모이어티를 통해 항체 모이어티에 1 초과 약물 모이어티의 공유결합용 수지상 유형 링커일 수 있다. 참고, 예를 들면, Sun 등. (2002) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:2213-5; Sun 등. (2003) *Bioorg. Med. Chem.* 11:1761-8. 수지상 링커는, ADC의 효력에 관련되는, 약물 대 항체의 몰비, 즉, 약물 장입을 증가시킬 수 있다. 따라서, 항체 모이어티가 단 하나의 반응성 시스테인 티올 기를 보유하는 경우, 예를 들어, 다수의 약물 모이어티는 수지상 링커를 통해 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 모이어티 또는 링커-약물 모이어티는 환원된 디설파이드 브릿징 화학 또는 제한된 리신 이용 기술을 통해 항체에 부착될 수 있다. 참고, 예를 들면, 국제공개번호 WO2013173391 및 WO2013173393.
- [0166] 일부 구현예에서, 링커는, 세포내 환경에서 (예를 들면, 리소좀 또는 엔도솜 또는 카베올레아 안에) 존재하는 절단제, 예를 들면, 효소에 의해 절단가능하다. 링커는, 예를 들면, 비제한적으로, 리소좀 또는 엔도조말 프로테아제를 포함하는, 세포내 웨티다제 또는 프로테아제 효소에 의해 절단되는 웨타이드 링커일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 웨타이드 링커이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 절단가능한 웨타이드 링커는 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함하는 임의의 링커를 지칭한다. 용어 “절단가능한 웨타이드 모이어티”는 세포내 환경에서 존재하는 제제에 의해 절단될 수 있는 아미노산 (천연 또는 합성 아미노산 유도체)를 결합시키는 임의의 화학 결합을 지칭한다. 예를 들면, 링커는 웨티다제 예컨대 카텝신, 예를 들면, 카텝신 B에 의해 절단가능한 알라닌-알라닌-아스파라긴 (Ala-Ala-Asn) 서열 또는 발린-시트룰린 (Val-Cit) 서열을 포함할 수 있다.
- [0167] 일부 구현예에서, 링커는 효소-절단가능한 링커이고 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티는 효소에 의해 절단가능하다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 리소좀 효소, 예를 들면, 카텝신에 의해 절단가능하다. 일부 구현예에서, 링커는 카텝신-절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티는 리소좀 시스테인 카텝신, 예컨대 카텝신 B, C, F, H, K, L, O, S, V, X, 또는 W에 의해 절단가능하다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 카텝신 B에 의해 절단가능하다. 카텝신 B에 의해 절단될 수 있는 예시적 디웨타이드는 발린-시트룰린 (Val-Cit)이다 (Dubowchik 등. (2002) *Bioconjugate Chem.* 13:855-69). 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함하는 ADC는 대안적 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 디설파이드 모이어티 또는 절단가능한 셀론아미드 모이어티)를 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입 (*p*)을 입증한다.
- [0168] 일부 구현예에서, 링커 또는 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 프로테아제에 의한 링커의 절단을 허용하고, 그렇게 함으로써 하나 이상의 세포내 프로테아제, 예컨대 하나 이상의 리소좀 효소에 노출시 ADC로부터 약물 모이어티의 방출을 용이하게 한다 (Doronina 등. (2003) *Nat. Biotechnol.* 21:778-84; Dubowchik and Walker (1999) *Pharm. Therapeutics* 83:67-123). 예시적 아미노산 유닛은, 비제한적으로, 디웨타이드, 트리웨타이드, 테트라웨타이드, 및 펜타웨타이드를 포함한다. 예시적 디웨타이드는, 비제한적으로, 발린-시트룰린 (Val-Cit), 알라닌-아스파라긴 (Ala-Asn), 알라닌-페닐알라닌 (Ala-Phe), 페닐알라닌-리신 (Phe-Lys), 알라닌-리신 (Ala-Lys), 알라닌-발린 (Ala-Val), 발린-알라닌 (Val-Ala), 발린-리신 (Val-Lys), 리신-리신 (Lys-Lys), 페닐알라닌-시트룰린 (Phe-Cit), 류신-시트룰린 (Leu-Cit), 이소류신-시트룰린 (Ile-Cit), 트립토판-시트룰린 (Trp-Cit), 및 페닐알라닌-알라닌 (Phe-Ala)를 포함한다. 예시적 트리웨타이드는, 비제한적으로, 알라닌-알라닌-아스파라긴 (Ala-Ala-Asn), 글리신-발린-시트룰린 (Gly-Val-Cit), 글리신-글리신-글리신 (Gly-Gly-Gly), 페닐알라닌-페닐알라닌-리신 (Phe-Phe-Lys), 및 글리신-페닐알라닌-리신 (Gly-Phe-Lys)를 포함한다. 다른 예시적 아미노산 유닛은, 예를 들면, 하기에서 기재된 바와 같이, 비제한적으로, Gly-Phe-Leu-Gly, Ala-Leu-Ala-Leu, Phe-N⁹-토실-Arg, 및 Phe-N⁹-니트로-Arg를 포함한다: 미국특허 번호 6,214,345. 일부 구현예에서, 링커에서 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커에서 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, Val-Cit를 포함하는 ADC는 대안적 아미노산 유닛 또는 대안적 절단가능한 모이어티를 포함하는 ADC에 비해 감소된 부정확한 세포 사멸, 증가된 정확한 세포 사멸, 더 낮은 응집 수준, 및/또는 더 높은 약물 장입 (*p*)를 입증한다. 아미노산 유닛은 자연적으로 발생하는 아미노산 잔기 및/또는 소수의 아미노산 및/또는 비-자연 발생 아미노산 유사체, 예컨대 시트룰린을 포함할 수 있다. 아미노산 유닛은 특정 효소, 예를 들어, 종양-관련된 프로테아제, 리소좀 프로테아제 예컨대 카텝신 B, C, D, 또는 S, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소 절단을 위하여 설계 및 최적화

될 수 있다.

[0169] 일부 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 임의의 ADCs에서 링커는 약물 모이어티에 항체 모이어티를 결합시키는 적어도 하나의 스페이서 유닛을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 링커에서 절단 부위 (예를 들면, 절단가능한 웨타이드 모이어티)를 항체 모이어티에 결합시킨다. 일부 구현예에서, 링커, 및/또는 링커에서 스페이서 유닛은 실질적으로 친수성이다. 친수성 링커는 약물이 다중 약물 저항 (MDR) 또는 기능적으로 유사한 수송체를 통해 저항성 암 세포 밖으로 펌핑될 수 있는 정도로 감소시키는데 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 더 짧은 PEG 링커이고, 더 긴 PEG 링커에 대해 감소된 응집 및 개선된 안정성을 제공한다.

[0170] 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 하나 이상의 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 $-(PEG)_m$ -를 포함하고, m 은 정수 1 내지 10이다. 일부 구현예에서, m 은 1 내지 10; 2 내지 8; 2 내지 6; 2 내지 5; 2 내지 4; 또는 2 내지 3 범위이다. 일부 구현예에서, m 은 8이다. 일부 구현예에서, m 은 4이다. 일부 구현예에서, m 은 3이다. 일부 구현예에서, m 은 2이다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 $(PEG)_2$, $(PEG)_4$, $(PEG)_8$, $(PEG)_9$, $(PEG)_3$ -트리아졸- $(PEG)_3$, $(PEG)_4$ -트리아졸- $(PEG)_3$, 또는 디벤질사이클로옥텐-트리아졸- $(PEG)_3$ 을 포함한다. 일부 바람직한 구현예에서, 스페이서 유닛은 $(PEG)_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, 더 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_2$)를 포함하는 ADC는 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_8$)을 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입 (p)를 입증한다.

[0171] 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 $-(CH_2)_n$ -를 포함하고, n 은 정수 1 내지 10이다 (즉, n 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10일 수 있다). 일부 구현예에서, n 은 5이다. 일부 구현예에서, 더 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, $(CH_2)_5$)을 포함하는 ADC는 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_8$)을 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입 (p)를 입증한다.

[0172] 스페이서 유닛은, 직접적으로 또는 간접적으로, 예를 들어, 항체 모이어티를 약물 모이어티에 결합시키는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 항체 모이어티를 약물 모이어티에 직접적으로 결합시킨다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 및 약물 모이어티는 하나 이상의 PEG 모이어티 (예를 들면, $(PEG)_2$ 또는 $(PEG)_4$)를 포함하는 스페이서 유닛을 통해 부착된다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 항체 모이어티를 약물 모이어티에 간접적으로 결합시킨다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 항체 모이어티, 예를 들면, 말레이미드 모이어티에 스페이서 유닛을 연결시키기 위해 부착 모이어티 및/또는 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 웨타이드, 절단가능한 디설파이드, 또는 절단가능한 셀폰아미드)를 통해 간접적으로 약물 모이어티에 항체 모이어티를 결합시킨다.

[0173] 스페이서 유닛은, 다양한 구현예에서, 말레이미드 모이어티 (Mal)을 통해 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편)에 부착한다. 일부 구현예에서, 말레이미드 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC는 대안적 부착 모이어티 예컨대 석신이미드 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC에 비해 더 높은 약물 장입 (p)를 입증한다.

[0174] Mal을 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 부착하는 스페이서 유닛은 본 명세서에서 “Mal-스페이서 유닛”으로서 지칭된다. 용어 “말레이미드 모이어티”는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 말레이미드 기를 함유하는 그리고 설프하이드릴 기, 예를 들면, 항체 모이어티에서 시스테인 잔기의 설프하이드릴 기와 반응성인 화합물을 의미한다. 설프하이드릴 기 (티올)과 반응성인 다른 기능성 기는, 비제한적으로, 아이오도아세트아미드, 브로모아세트아미드, 비닐 페리딘, 디설파이드, 페리딜 디설파이드, 이소시아네이트, 및 이소티오시아네이트를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 항체 또는 항원-결합 단편에서 시스테인 잔기와 반응성이다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다.

[0175] 특정 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함

한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂ 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)_m 및 Val-Cit를 포함하고, 여기에서 m 은 2 내지 8 또는 2 내지 5, 또는 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈ 및 Val-Cit를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅ 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂ 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0176] 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 절단가능한 디설파이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 디설파이드 모이어티는 디설피딜-디메틸이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 디설피딜-디메틸을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃ 및 디설피딜-디메틸을 포함한다.

[0177] 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 절단가능한 설폰아미드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃ 및 설폰아미드를 포함한다.

[0178] 다양한 구현예에서, 스페이서 유닛은 석신이미드 모이어티 (OSu)를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 부착한다. OSu를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 부착하는 스페이서 유닛은 본 명세서에서 “OSu-스페이서 유닛”으로서 지칭된다. 용어 “석신이미드 모이어티”는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 아민 기, 예를 들면, 항체 모이어티에서 리신 잔기의 아민 기와 반응성인 석신이미드 화합물을 함유하는 화합물을 의미한다. 예시적 석신이미드 모이어티는 N-하이드록시석신이미드 (NHS)이다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 항체 또는 항원-결합 단편에서 리신 잔기와 반응성이다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 리신 잔기를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 연결된다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다.

[0179] 특정 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 절단가능한 웨بت아이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨بت아이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂ 및 Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉ 및 Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅ 및 Val-Cit를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃ 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂ 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0180] 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 절단가능한 디설파이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 디설파이드 모이어티는 디설피딜-디메틸이다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 디설피딜-디메틸을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃ 및 디설피딜-디메틸을 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃ 및 디설피딜-디메틸을 포함한다.

[0181] 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 절단가능한 설폰아미드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃ 및 설폰아미드를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃ 및 설폰아미드를 포함한다.

[0182] 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 링커에서 절단가능한 모이어티에 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편)을 부착시킨다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 절단가능한 웨بت아이드 모이어티에 항체 또는 항원-결합 단편을 부착시킨다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨بت아이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-아미노산 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛-아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서-유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0183] 일부 구현예에서, 링커는 하기 구조를 포함한다: Mal-스페이서 유닛-Val-Cit. 일부 구현예에서, 링커는 하기 구조를 포함한다: Mal-(PEG)₂-Val-Cit. 일부 구현예에서, 링커는 하기 구조를 포함한다: Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB.

일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈-Val-Cit를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0184] 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛-Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉-Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅-Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛-Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0185] 다양한 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 절단가능한 디설파이드 모이어티에 항체 또는 항원-결합 단편을 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파이드 또는 OSu-스페이서 유닛-디설파이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 디설파이드는 디설파딜-디메틸이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파딜-디메틸을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설파딜-디메틸을 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛-디설파딜-디메틸을 포함한다. OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-디설파딜-디메틸을 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-디설파딜-디메틸을 포함한다.

[0186] 특정 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 절단가능한 셀폰아미드 모이어티에 항체 또는 항원-결합 단편을 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-셀폰아미드 또는 OSu-스페이서 유닛-셀폰아미드를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드를 포함한다.

[0187] 다양한 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 약물 모이어티에 직접적으로 연결된다. 다른 구현예에서, 또 다른 스페이서 유닛은 링커에서 약물 모이어티에 절단가능한 모이어티를 부착시키는데 사용된다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 에리불린이다. 다양한 구현예에서, 에리불린은 스페이서 유닛에 의해 링커에서 절단가능한 모이어티에 부착된다. 일부 구현예에서, 에리불린은 자기-희생적 스페이서 유닛에 의해 링커에서 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서, 에리불린은 자기-희생적 스페이서 유닛에 의해 링커에서 절단가능한 모이어티에 부착되고, 절단가능한 모이어티는 Val-Cit를 포함하고, PEG를 포함하는 추가 스페이서 유닛은 항체 모이어티에 절단가능한 모이어티를 연결시킨다. 특정 구현예에서, 에리불린은 pAB 자기-희생적 스페이서 유닛 및 Val-Cit 절단가능한 모이어티에 연결된 링커에서 Mal-스페이서 유닛을 통해 항-FRA 항체에 연결된다. 특정 다른 구현예에서, 에리불린은 pAB 자기-희생적 스페이서 유닛 및 Val-Cit 절단가능한 모이어티에 연결된 링커에서 Mal-스페이서 유닛을 통해 항-her2 항체에 연결된다.

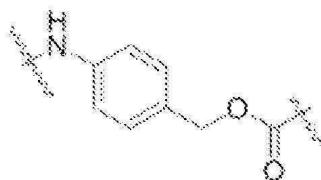
[0188] 스페이서 유닛은 "자기-희생적" 또는 "비-자기-희생적"일 수 있다. "비-자기-희생적" 스페이서 유닛은 일부 또는 모든 스페이서 유닛이 링커의 절단시 약물 모이어티에 결합된 채 남아있는 것이다. 비-자기-희생적 스페이서 유닛의 예는, 비제한적으로, 글리신 스페이서 유닛 및 글리신-글리신 스페이서 유닛을 포함한다. 비-자기-희생적 스페이서 유닛은 결국 경시적으로 분해할 수 있지만 전적으로 세포 조건 하에 연결된 원상태 약물을 쉽게 방출시키지 않는다. "자기-희생적" 스페이서 유닛은 세포내 조건 하에 원상태 약물 모이어티의 방출을 허용한다. "원상태 약물"은 스페이서 유닛 또는 다른 화학 변형의 일부가 스페이서 유닛의 절단/열화 후 남아있지 않는 것이다.

[0189] 자기-희생 화학은 당해 분야에서 공지되고 개시된 ADCs를 위하여 쉽게 선택될 수 있다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)에 링커에서 절단가능한 모이어티를 부착시키는 스페이서 유닛은 자기-희생적이고, 세포내 조건 하에 절단가능한 모이어티의 절단과 동시에 또는 상기 직전/직후 자기-희생을 경험한다.

[0190] 특정 구현예에서, 링커에서 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, p-아미노벤질 알코올 (pABOH)는 아미드 결합을 통해 링커에서 다른 절단가능한 모이어티 또는 아미노산 유닛에 부착되고, 카바메이트, 메틸카바메이트, 또는 카보네이트는 pABOH와 약물 모이어티 사이 만들어진다 (Hamann 등. (2005) Expert Opin.Ther. Patents 15:1087-103). 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)이거나 상기를 포함한다. 이론에 의한 구속됨 없이, pAB의 자기-희생이 자발적인 1,6-제거

반응을 포함한다고 생각된다 (Jain 등. (2015) Pharm Res 32:3526-40).

[0191] 다양한 구현예에서, 개시된 ADCs에서 사용된 p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)의 구조는 아래 나타난다:



[0192]

p-아미노-벤조일옥시카보닐

[0193]

다양한 구현예에서, 자기-희생 스페이서 유닛은 에리불린상의 C-35 아민에 링커에서 절단가능한 모이어티를 부착시킨다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 pAB이다. 일부 구현예에서, pAB는 에리불린상의 C-35 아민에 링커에서 절단가능한 모이어티를 부착시킨다. 일부 구현예에서, pAB는 절단가능한 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험하고, 에리불린은 그것의 원상태, 활성 형태로 ADC로부터 방출된다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 (예를 들면, MORAb-003)은 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커에 의해 에리불린의 C-35 아민에 연결된다. 다른 구현예에서, 항-her2 항체 (예를 들면, 트라스투주맙)은 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커에 의해 에리불린의 C-35 아민에 연결된다.

[0194]

일부 구현예에서, pAB는 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit이다. 일부 구현예에서, 링커는 Val-Cit-pAB (VCP)를 포함한다. 특정 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn이다. 일부 구현예에서, 링커는 Ala-Ala-Asn-pAB를 포함한다.

[0195]

일부 구현예에서, pAB는 링커에서 절단가능한 디설파이드 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험한다. 일부 구현예에서, 링커는 디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 디설피딜-디메틸-pAB를 포함한다.

[0196]

일부 구현예에서, pAB는 링커에서 절단가능한 셀폰아미드 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험한다. 일부 구현예에서, 링커는 셀폰아미드-pAB를 포함한다.

[0197]

다양한 측면에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛, 절단가능한 아미노산 유닛, 및 pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈-Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB를 포함한다.

[0198]

다양한 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설피딜-디메틸-pAB를 포함한다.

[0199]

다양한 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설피딜-디메틸-pAB를 포함한다.

[0200]

일부 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛-셀폰아미드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드-pAB를 포함한다.

[0201]

일부 측면에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 OSu-스페이서 유닛-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는

OSu-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉-Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-Val-Cit-pAB를 포함한다.

[0202] 일부 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 OSu-스페이서 유닛-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-디설파일-디메틸-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-디설파일-디메틸-pAB를 포함한다.

[0203] 일부 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 OSu-스페이서 유닛-설폰아미드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-설폰아미드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-설폰아미드-pAB를 포함한다.

[0204] 다양한 구현예에서, 링커는 인접하는 세포에 약물 모이어티 단독 및/또는 링커-약물 모이어티의 세포 내재화 및 확산 후 절단을 통해 방관자 사멸 (인접하는 세포의 사멸)을 용이하게 하기 위해 설계된다. 일부 구현예에서, 링커는 세포 내재화를 촉진시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 세포외 환경에서 절단을 최소화하기 위해 설계되고 그렇게 함으로써 부정확한 조직 (예를 들면, 비-암성 조직)에 독성을 감소시키면서, 표적 조직에 ADC 결합 그리고 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원을 발현시키지 않는, 그러나 그 항원을 발현시키는 표적 암 조직을 둘러싸는 암성 조직의 방관자 사멸을 보존한다. 일부 구현예에서, 말레이미드 모이어티 (Mal), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 발린-시트룰린 (Val-Cit 또는 "vc"), 및 pAB를 포함하는 링커는 이들 기능성 피쳐를 제공한다. 일부 구현예에서, Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커는, 예를 들면, 항-FRA 항체 모이어티 예컨대 MORAb-003 및 약물 모이어티 예컨대 에리불린을 연결하는 경우 이들 기능성 피쳐 제공에 특히 효과적이다. 일부 구현예에서, 이들 기능성 피쳐의 적어도 일부는 또한 항-FRA 항체 모이어티 없이, 및/또는 MORAb-003 없이 관측될 수 있다. 예를 들면, 일부 구현예에서, Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커는, 예를 들면, 항-her2 항체 모이어티 예컨대 트라스투주맙 및 약물 모이어티 예컨대 에리불린을 연결하는 경우 이들 기능성 피쳐의 일부 또는 전부 제공에 효과적이다.

[0205] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 말레이미드 모이어티 (Mal), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 발린 시트룰린 (Val-Cit 또는 "vc"), 및 pAB를 포함하는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션된다. 이들 구현예에서, 말레이미드 모이어티는 항체 모이어티에 링커-약물 모이어티를 공유적으로 부착시키고, pAB는 자기-희생적 스페이서 유닛으로 작용한다. 그와 같은 링커는 "m-vc-pAB" 링커, "Mal-VCP" 링커, "Mal-(PEG)₂-VCP" 링커, 또는 "Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB" 링커로서 지칭될 수 있다. 일부 구현예에서, 약물 모이어티는 에리불린이다. Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린의 구조는 표 46에서 제공된다. Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커의 pAB는 에리불린상의 C-35 아민에 부착된다.

[0206] Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함하는 ADCs가, 특히 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003 또는 이의 항원-결합 단편과 쌍으로 된 경우, 바람직한 특성의 특정한 조합을 입증한다는 것이 밝혀졌다. 이들 특성은, 비제한적으로, 다른 링커-독소 및/또는 항체 모이어티를 사용하는 ADCs에 비교된 경우 모두, 약물 장입 (p ~ 4)의 효과적인 수준, 낮은 응집 수준, 바디에서 순환인 경우 또는 보관 조건 하에 안정성 (예를 들면, 혈청 안정성), 미콘주게이션된 항체에 비교할만한 표적-발현 세포용 유지된 친화성, 표적-발현 세포에 대한 강력한 세포독성, 부정확한 세포 사멸의 낮은 수준, 방관자 사멸의 높은 수준, 및/또는 효과적인 생체내 항-암 활성을 포함한다. 스페이서 및 절단 부위의 수많은 링커 옵션 및 조합이 당해 분야에서 공지되었고 하나 이상의 이들 기능성 카테고리에서 특정 이점을 제공할 수 있는 반면, 항체 모이어티 예컨대 항-FRA 항체 (예를 들면, MORAb-003)에 에리불린을 연결하는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커의 특정한 조합은 치료적 ADC에 대하여 바람직한 기능

성 특성의 범주에 걸쳐 양호한 또는 우월한 특성을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티에 에리불린을 연결하는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커의 특정한 조합에 의해 제공된 양호한 또는 우월한 기능성 특성은, 예를 들면, 항-her 2 항체 예컨대 트拉斯투주맙에 콘주게이션된 이러한 링커-독소로 관측될 수 있다.

[0207] 일부 구현예에서, ADC는 종양 세포에서 표적화 및 내재화하는 능력을 보유하는 내재화 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 항체 모이어티 및 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, ADC는 FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편 및 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:2 (HCDR1), 서열 식별 번호:3 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:4 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:7 (LCDR1), 서열 식별 번호:8 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:9 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:13 (HCDR1), 서열 식별 번호:14 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:15 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:16 (LCDR1), 서열 식별 번호:17 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:18 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함한다. 일부 구현예에서, FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0208] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0209] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0210] 여기서:

[0211] (i) Ab는, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:2 (HCDR1), 서열 식별 번호:3 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:4 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:7 (LCDR1), 서열 식별 번호:8 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:9 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:13 (HCDR1), 서열 식별 번호:14 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:15 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:16 (LCDR1), 서열 식별 번호:17 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:18 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함하는 내재화 항-폴레이트 수용체 알파 (FRA) 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0212] (ii) D가 에리불린이고;

[0213] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0214] (iv) p 는 정수 1 내지 20임.

[0215] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 MORAb-003이다. 일부 구현예에서, p 는 1 내지 8, 또는 1 내지 6이다. 일부 구현예에서, p 는 2 내지 8, 또는 2 내지 5이다. 일부 구현예에서, p 는 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p 는 4이다.

[0216] 다른 구현예에서, ADC는 her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편 그리고 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:71 (HCDR1), 서열 식별 번호:72 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:73 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:74 (LCDR1), 서열 식별 번호:75 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:76 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:191 (HCDR1), 서열 식별 번호:192 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:193 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:194 (LCDR1), 서열 식별 번

호:195 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:196 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함한다. 일부 구현예에서, her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0217] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0218] Ab-(L-D)_p (I)

[0219] 여기서:

[0220] (i) Ab는, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:71 (HCDR1), 서열 식별 번호:72 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:73 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:74 (LCDR1), 서열 식별 번호:75 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:76 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:191 (HCDR1), 서열 식별 번호:192 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:193 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:194 (LCDR1), 서열 식별 번호:195 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:196 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함하는 내재화 항-인간 표피 성장 인자 수용체 2 (her2) 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0221] (ii) D가 에리불린이고;

[0222] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0223] (iv) p는 정수 1 내지 20임.

[0224] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 트拉斯투주맙이다. 일부 구현예에서, p는 1 내지 8, 또는 1 내지 6이다. 일부 구현예에서, p는 2 내지 8, 또는 2 내지 5이다. 일부 구현예에서, p는 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p는 4이다.

[0225] 다른 구현예에서, ADC는 메소텔린 (MSLN)-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편 그리고 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, MSLN-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:65 (HCDR1), 서열 식별 번호:66 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:67 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:68 (LCDR1), 서열 식별 번호:69 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:70 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:185 (HCDR1), 서열 식별 번호:186 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:187 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:188 (LCDR1), 서열 식별 번호:189 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:190 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함한다. 일부 구현예에서, MSLN-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, MSLN-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0226] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0227] Ab-(L-D)_p (I)

[0228] 여기서:

[0229] (i) Ab가, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:65 (HCDR1), 서열 식별 번호:66 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:67 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:68 (LCDR1), 서열 식별 번호:69 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:70 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:185 (HCDR1), 서열 식별 번호:186 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:187 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:188 (LCDR1), 서열 식별 번호:189 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:190 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함하는 내재화 항-인간 표피 성장 인자 수용체 2 (her2) 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:188 (LCDR1), 서열 식별 번호:189 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:190 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함하는 내재화 항-메소텔린 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0230] (ii) D가 에리불린이고;

[0231] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0232] (iv) p는 정수 1 내지 20임.

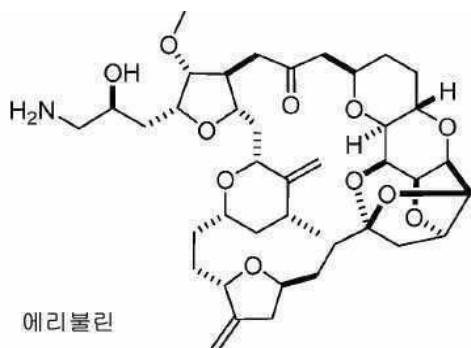
[0233] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 MORAb-003, MORAb-009, 또는 트拉斯투주맙이다. 일부 구현예에서, p는 1 내지 8, 또는 1 내지 6이다. 일부 구현예에서, p는 2 내지 8, 또는 2 내지 5이다. 일부 구현예에서, p는 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p는 4이다.

약물 모이어티

[0235] 본 명세서에서 기재된 ADCs의 약물 모이어티 (D)는 임의의 화학치료제일 수 있다. 유용한 부류의 화학치료제는, 예를 들어, 항-튜불린 제제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약물 모이어티는 항-튜불린 제제이다. 항-튜불린 제제의 예는 크립토피신 및 에리불린을 포함한다. 기재된 ADCs에서 사용을 위하여 바람직한 약물 모이어티는 에리불린이다.

[0236] 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 에리불린이다. 이를 구현예에서, ADC의 링커는 에리불린상의 C-35 아민을 통해 부착된다.

[0237] 다양한 구현예에서, 링커 및 항체 모이어티에 연결을 위하여 사용된 에리불린의 천연 형태는 아래 나타난다:



[0238] [0239] 특정 구현예에서, 링커의 전구체인, 중간체는 적절한 조건 하에 약물 모이어티와 반응된다. 특정 구현예에서, 반응성 기는 약물 및/또는 중간체 또는 링커에서 사용된다. 약물과 중간체 사이 반응의 생성물, 또는 유도된 약물은 후속적으로 적절한 조건 하에 항체 또는 항원-결합 단편과 반응된다. 대안적으로, 링커 또는 중간체는 항체 또는 유도된 항체와 먼저 반응될 수 있고, 그 다음 약물 또는 유도된 약물과 반응될 수 있다.

[0240] 다수의 상이한 반응은 항체 모이어티에 약물 및/또는 링커의 공유결합에 이용가능하다. 이것은 종종, 리신의 아민 기, 글루탐산 및 아스파르트산의 카복실산 기, 시스테인의 셀프하이드릴 기, 및 방향족 아미노산의 다양한 모이어티를 포함하는, 항체 분자의 하나 이상의 아미노산 잔기의 반응에 의해 달성된다. 예를 들면, 비-특이적 공유결합은 항체 모이어티상의 아미노 (또는 카복시) 기에 화합물상의 카복시 (또는 아미노) 기를 결합시키기 위해 카보디이미드 반응을 사용하여 착수될 수 있다. 추가로, 2기능제 예컨대 디알테하이드 또는 이미도에스테르는 또한 항체 모이어티상의 아미노 기에 화합물 상의 아미노 기를 결합시키는데 사용될 수 있다. 쉬프 염기 반응은 결합제에 약물의 부착에 또한 이용가능하다. 이러한 방법은 글리콜 또는 하이드록시 기를 함유하는 약물의 퍼아이오데이트 산화를 포함하고, 따라서 그 다음 결합제와 반응되는 알데하이드를 형성한다. 부착은 결합제의 아미노 기로 쉬프 염기의 형성을 통해 발생한다. 이소티오시아네이트는 또한 결합제에 약물을 공유적으로 부착시키기 위한 커플링제로서 사용될 수 있다. 다른 기술은 숙련가에 공지되고 본 개시내용의 범위 내이다.

약물 장입

[0241] 약물 장입은 p에 의해 표시되고, 또한 본 명세서에서 약물-대-항체 비 (DAR)로서 지정된다. 약물 장입은 항체 모이어티당 1 내지 20 약물 모이어티 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, p는 정수 1 내지 20이다. 일부 구현예

에서, p 는 정수 1 내지 10, 1 내지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 일부 구현예에서, p 는 정수 2 내지 10, 2 내지 9, 2 내지 8, 2 내지 7, 2 내지 6, 2 내지 5, 2 내지 4, 또는 2 내지 3이다. 일부 구현예에서, p 는 정수 3 내지 4이다. 다른 구현예에서, p 는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 3 또는 4이다.

[0243] 약물 장입은 항체 모이어티에서 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 일부 구현예에서, ADC의 링커 모이어티(L)은 항체 모이어티상의 하나 이상의 아미노산 잔기에서 화학적으로 활성 기를 통해 항체 모이어티에 부착한다. 예를 들어, 링커는 자유 아미노, 아미노, 하이드록실, 티올, 또는 카복실 기를 통해 항체 모이어티에 (예를 들면, N- 또는 C-말단에, 하나 이상의 리신 잔기의 앱실론 아미노 기에, 하나 이상의 글루탐산 또는 아스파르트산 잔기의 자유 카복실산 기에, 또는 하나 이상의 시스테인 잔기의 설프하이드릴 기에) 부착될 수 있다. 링커가 부착되는 부위는 항체 모이어티의 아미노산 서열에서 천연 잔기일 수 있거나, 예를 들면, DNA 재조합 기술에 의해 (예를 들면, 아미노산 서열 속으로 시스테인 잔기 도입에 의해) 또는 단백질 생화학에 의해 (예를 들면, 환원, pH 조정, 또는 가수분해에 의해) 항체 모이어티 속으로 도입될 수 있다.

[0244] 일부 구현예에서, 항체 모이어티에 콘주게이션될 수 있는 약물 모이어티의 수는 자유 시스테인 잔기의 수에 의해 제한된다. 예를 들어, 부착이 시스테인 티올 기인 경우, 항체는 단 하나의 또는 몇몇 시스테인 티올 기를 가질 수 있거나, 링커가 부착될 수 있는 단 하나의 또는 몇몇 충분히 반응성 티올 기를 가질 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 많은 자유 및 반응성 시스테인 티올 기를 함유하지 않는다. 사실상, 항체에서 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디설파이드 브릿지로서 존재한다. 항체에 링커-독소의 과-부착은 디설파이드 브릿지를 형성하기 위해 이용가능한 시스테인 잔기를 환원시킴으로써 항체를 탈안정화 시킬 수 있다. 따라서, 최적의 약물:항체 비는 항체 모이어티의 탈안정화 없이 (항체당 부착된 약물 모이어티의 수 증가에 의한) ADC의 효력을 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 최적의 비는 약 3-4일 수 있다.

[0245] 일부 구현예에서, Mal 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커는 약 3-4의 비를 제공한다. 일부 구현예에서, 대안적 모이어티 (예를 들면, OSu 모이어티)를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커는 덜 최적의 비 (예를 들면, 더 낮은 비, 예컨대 약 0-3)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, 짧은 PEG 스페이서 유닛 예컨대 (PEG)₂ 또는 (PEG)₄, 또는 짧은 알킬 스페이서 유닛 예컨대 (CH₂)₅)를 포함하는 링커는 약 3-4의 비를 제공한다. 일부 구현예에서, 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, (PEG)₈)을 포함하는 링커는 덜 최적의 비 (예를 들면, 더 낮은 비, 예컨대 약 0-3)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 웨타이드 절단가능한 모이어티를 포함하는 링커는 약 3-4의 비를 제공한다. 일부 구현예에서, 대안적 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 디설파이드 또는 절단가능한 셀론아미드)를 포함하는 링커는 덜 최적의 비 (예를 들면, 더 낮은 비, 예컨대 약 0-3)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 예컨대 항-FRA 항체 (예를 들면, MORAb-003)에 연결된 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함하는 ADC는 약 3-4의 비를 갖는다. 일부 구현예에서, 약 3-4의 비는 상이한 항체, 예컨대 항-her2 항체 (예를 들면, 트라스투주맙)에 연결된 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함하는 ADC로 판측된다. 일부 구현예에서, Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린 링커-독소를 포함하는 ADCs로 판측된 최적의 비는 항체-독립적이다.

[0246] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 하나 이상의 자유 시스테인 잔기를 생성하기 위해 콘주게이션에 앞서 환원 조건에 노출된다. 항체는, 일부 구현예에서, 부분적인 또는 총 환원 조건 하에, 환원제 예컨대 디티오트레이톨(DTT) 또는 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)로 환원되어, 반응성 시스테인 티올 기를 생성할 수 있다. 짹짓기되지 않은 시스테인은, 쇄내 디설파이드 결합 온전하게 유지하면서 힌지 영역에서 2 중쇄 (인간 IgG1의 경우에서 H-H 짹짓기당 2 쌍) 및 경쇄 및 중쇄 (H-L 짹짓기당 1 쌍)을 결합시키는 쇄간 디설파이드 결합을 우선적으로 환원시키는, TCEP의 제한된 몰 당량으로 부분적 환원을 통해 생성될 수 있다 (Stefano 등. (2013) Methods Mol. Biol. 1045:145-71). 구현예에서, 항체 안에 디설파이드 결합은, 예를 들면, 교대 환원 및 산화 전압을 인가하는 작동 전극 사용에 의해 전기화학적으로 환원된다. 이러한 접근법은 하기에 디설파이드 결합 환원의 온라인 커플링을 허용할 수 있다: 분석 디바이스 (예를 들면, 전기화학적 검출 디바이스, NMR 분광기, 또는 질량 분광분석기) 또는 화학 분리 디바이스 (예를 들면, 액체 크로마토그래프 (예를 들면, HPLC) 또는 전기영동 디바이스 (참조, 예를 들면, 미국공개번호 20140069822)). 특정 구현예에서, 항체는 아미노산 잔기, 예컨대 리신 또는 시스테인에서 반응성 친핵성 기를 드러내기 위해 변성 조건에 적용된다.

[0247] ADC의 약물 장입은 상이한 방식으로, 예를 들면, 하기에 의해 제어될 수 있다: (i) 항체에 비해 몰 과잉의 약물-링커 중간체 또는 링커 시약의 제한; (ii) 콘주게이션 반응 시간 또는 온도의 제한; (iii) 시스테인 티올 변형

용 부분적인 또는 제한 환원 조건; 및/또는 (iv) 시스테인 잔기의 수 및 위치가 링커-약물 부착의 수 및/또는 위치의 제어에 의해 변형되도록 항체의 아미노산 서열의 재조합 기술에 의한 공학기술.

[0248]

일부 구현예에서, 자유 시스테인 잔기는 항체 모이어티의 아미노산 서열 속으로 도입된다. 예를 들어, 모체 항체의 하나 이상의 아미노산이 시스테인 아미노산으로 대체되는 시스테인 조작된 항체는 제조될 수 있다. 항체의 임의의 형태는 그렇게 조작, 즉 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 모체 Fab 항체 단편은 "ThioFab"로서 지칭된 시스테인 조작된 Fab를 형성하기 위해 조작될 수 있다. 유사하게, 모체 단클론성 항체는 "ThioMab"를 형성하기 위해 조작될 수 있다. 단일 부위 돌연변이는 ThioFab에서 단일 조작된 시스테인 잔기를 수득하고, 반면에 단일 부위 돌연변이는, IgG 항체의 이량체성 성질 때문에, ThioMab에서 2 조작된 시스테인 잔기를 수득한다. 모 폴리펩타이드의 아미노산 서열 변이체를 인코딩하는 DNA는 당해 분야에서 공지된 다양한 방법 (참조, 예를 들면, WO2006/034488에서 기재된 방법)에 의해 제조될 수 있다. 이를 방법은, 비제한적으로, 부위 지향적 (또는 올리고뉴클레오타이드-매개된) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발, 및 폴리펩타이드를 인코딩하는 초기 제조된 DNA의 카셋트 돌연변이유발에 의한 제조를 포함한다. 재조합 항체의 변이체는 또한 제한 단편 조작에 의해 또는 합성 올리고뉴클레오타이드로 연장 PCR 중첩에 의해 또한 작제될 수 있다. 식 I의 ADCs는, 비제한적으로, 1, 2, 3, 또는 4 조작된 시스테인 아미노산을 갖는 항체를 포함한다 (Lyon 등. (2012) Methods Enzymol. 502:123-38). 일부 구현예에서, 하나 이상의 자유 시스테인 잔기는, 공학기술의 사용 없이, 항체 모이어티에서 이미 존재하고, 이 경우에 현존하는 자유 시스테인 잔기는 약물 모이어티에 항체 모이어티를 콘주게이션하는데 사용될 수 있다.

[0249]

일부 구현예에서, 더 높은 약물 장입 (예를 들면, $p > 5$)는 특정 항체-약물 콘주게이트의 응집, 불용해성, 독성, 또는 세포 투과도의 손실을 야기시킬 수 있다. 더 높은 약물 장입은 또한 특정 ADCs의 약동학 (예를 들면, 청소능)에 부정적으로 영향을 줄 수 있다. 일부 구현예에서, 더 낮은 약물 장입 (예를 들면, $p < 3$)은 표적-발현 세포 및/또는 방관자 세포에 대한 특정 ADCs의 효력을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 ADC용 약물 장입은 1 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 약 2 내지 약 5; 약 3 내지 약 5; 또는 약 3 내지 약 4 범위이다.

[0250]

1 초과 친핵성 기가, 항체 모이어티 및 링커 모이어티의 다중 카피를 포함하는 반응 혼합물에서, 약물-링커 중간체 또는 링커 모이어티 시약 이어서 약물 모이어티 시약과 반응하는 경우, 수득한 생성물은 혼합물에서 항체 모이어티의 각각의 카피에 부착된 하나 이상의 약물 모이어티의 분포를 가진 ADC 화합물의 혼합물일 수 있다. 일부 구현예에서, 콘주게이션 반응에서 비롯하는 ADCs의 혼합물에서 약물 장입은 항체 모이어티당 부착된 1 내지 20 약물 모이어티 범위이다. 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수 (즉, 평균 약물 장입, 또는 평균 p)는 당해 분야에서 공지된 임의의 종래의 방법에 의해, 예를 들면, 질량 분광분석법 (예를 들면, 역상 LC-MS), 및/또는 고-성능 액체 크로마토그래피 (예를 들면, HIC-HPLC)에 의해 계산될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 소수성 상호작용 크로마토그래피-고성능 액체 크로마토그래피 (HIC-HPLC)에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 역상 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법 (LC-MS)에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3 내지 약 4; 약 3.1 내지 약 3.9; 약 3.2 내지 약 3.8; 약 3.2 내지 약 3.7; 약 3.2 내지 약 3.6; 약 3.3 내지 약 3.8; 또는 약 3.3 내지 약 3.7이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.2 내지 약 3.8이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.8이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 3 내지 4; 3.1 내지 3.9; 3.2 내지 3.8; 3.2 내지 3.7; 3.2 내지 3.6; 3.3 내지 3.8; 또는 3.3 내지 3.7이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 3.2 내지 3.8이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 3.8이다.

[0251]

일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.5 내지 약 4.5; 약 3.6 내지 약 4.4; 약 3.7 내지 약 4.3; 약 3.7 내지 약 4.2; 또는 약 3.8 내지 약 4.2이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.6 내지 약 4.4이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 약 4.0이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 3.5 내지 4.5; 3.6 내지 4.4; 3.7 내지 4.3; 3.7 내지 4.2; 또는 3.8 내지 4.2이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 3.6 내지 4.4이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 4.0이다.

[0252]

다양한 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수에 관하여 사용된 바와 같이 용어 “약”은 $\pm 10\%$ 를 의미한다.

[0253]

개별 ADC 화합물, 또는 “종”은 질량 분광법에 의해 혼합물에서 확인될 수 있고 UPLC 또는 HPLC, 예를 들면 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC-HPLC)에 의해 분리될 수 있다. 특정 구현예에서, 단일 장입 값을 가진 균질

한 또는 거의 균질한 ADC는, 예를 들면, 전기영동 또는 크로마토그래피에 의해 콘주케이션 혼합물로부터 단리될 수 있다.

[0254] 일부 구현예에서, 약 4의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은 유익한 특성을 제공한다. 일부 구현예에서, 약 4 미만의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은, 표적 항원에 결합을 위하여 ADC와 경쟁할 수 있고/있거나 감소된 치료 효능을 제공할 수 있는, 미콘주케이션된 항체 종의 허용불가능하게 높은 수준을 초래할 수 있다. 일부 구현예에서, 약 4 초과의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은 생성물 불균질성 및/또는 ADC 응집의 허용불가능하게 높은 수준을 초래할 수 있다. 약 4 초과의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은, 항체 모이어티를 안정화시키기 위해 요구된 하나 이상의 화학 결합의 순서 때문에, ADC의 안정성에 또한 영향을 줄 수 있다.

[0255] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0256] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0257] 여기서:

[0258] (i) Ab가 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 내재화 항-플레이트 수용체 알파 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고;

[0259] (ii) D가 에리불린이고;

[0260] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0261] (iv) p가 정수 3 내지 4임.

[0262] 다른 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0263] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0264] 여기서:

[0265] (i) Ab는 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 내재화 항-인간 표피 성장 인자 수용체 2 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고;

[0266] (ii) D가 에리불린이고;

[0267] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0268] (iv) p가 정수 3 내지 4임.

[0269] 일부 구현예에서, p는 4이다.

[0270] 본 개시내용은 기재된 ADCs의 생산 방법을 포함한다. 간단히, ADCs는 항체 모이어티로서 항체 또는 항원-결합 단편, 약물 모이어티, 및 약물 모이어티 및 항체 모이어티를 연결하는 링커를 포함한다. 일부 구현예에서, ADCs는 항체 모이어티에 그리고 약물 모이어티에 공유적으로 부착을 위하여 반응성 기능성을 갖는 링커를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항체 모이어티의 시스테인 티올은 링커 또는 약물-링커 중간체 (예를 들면, 말레이이미드 모이어티)의 반응성 기능성 기와 결합을 형성하여 ADC를 만들 수 있다. ADCs의 생성은 숙련가에 공지된 임의의 기술에 의해 달성될 수 있다.

[0271] 일부 구현예에서, ADC는 순차적인 방식으로 링커 및 약물 모이어티와 항체 모이어티 접촉에 의해 생산되어, 이로써 항체 모이어티는 먼저 링커에 공유적으로 연결되고, 그 다음 사전-형성된 항체-링커 중간체는 약물 모이어티와 반응한다. 항체-링커 중간체는 약물 모이어티와 접촉에 앞서 정제 단계를 거칠 수 있거나 아닐 수 있다. 다른 구현예에서, ADC는 약물 모이어티와 링커 반응에 의해 사전-형성된 링커 약물 화합물과 항체 모이어티 접촉에 의해 생산된다. 사전-형성된 링커-약물 화합물은 항체 모이어티 접촉에 앞서 정제 단계를 거칠 수 있거나 아닐 수 있다. 다른 구현예에서, 항체 모이어티는 하나의 반응 혼합물에서 링커 및 약물 모이어티를 접촉시켜, 항체 모이어티와 링커 사이, 그리고 링커와 약물 모이어티 사이 공유결합의 동시 형성을 허용한다. ADCs의 이러한 생산 방법은 반응을 포함할 수 있고, 여기서 상기 항체 모이어티는 반응 혼합물에 링커의 첨가에 앞서 항체 모이어티를 접촉시키고, 그 반대일 수 있다. 특정 구현예에서, ADC는, 콘주케이션을 허용하는 조건 하에, 약물

모이어티, 예컨대 $\text{Mal}-(\text{PEG})_2-\text{Val}-\text{Cit}-\text{pAB}$ -에리불린에 연결된 링커와 항체 모이어티 반응에 의해 생산된다.

[0272] 상기 기재된 방법에 따라 제조된 ADCs는 정제 단계를 거칠 수 있다. 정제 단계는 단백질 정제용 당해 분야에서 공지된 임의의 생화학적 방법, 또는 이의 방법의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 이들은, 비제한적으로, 접선 유동 여과 (TFF), 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 임의의 전하 또는 등전점-기반 크로마토그래피, 혼합된 방식 크로마토그래피, 예를 들면, CHT (세라믹 수산화인회석), 소수성 상호작용 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 투석, 여과, 선택적 침전, 또는 이의 임의의 조합을 포함한다.

치료 용도 및 조성물

[0273] 장애, 예를 들면, 종양 장애에 대하여 대상체 치료에서 개시된 ADCs의 이용 방법은 본 명세서에서 개시된다. ADCs는 제2 치료제와 조합으로 또는 단독 투여될 수 있고, 임의의 약제학적으로 허용가능한 제형, 투약량, 및 투약 레지멘으로 투여될 수 있다. ADC 치료 효능은 효능의 지표 뿐만 아니라 독성에 대하여 평가될 수 있고 따라서 조정될 수 있다. 효능 측정은, 비제한적으로, 시험관내 또는 생체내 관측된 세포증식억제성 및/또는 세포 독성 효과, 감소된 종양 용적, 종양 성장 억제, 및/또는 장기적인 생존을 포함한다.

[0274] ADC가 세포에서 세포증식억제성 및/또는 세포독성 효과를 행사하는지의 결정 방법은 공지되어 있다. 예를 들어, ADC의 세포독성 또는 세포증식억제성 활성을 하기에 의해 측정될 수 있다: 세포 배양 배지에서 ADC의 표적 단백질을 발현시키는 포유동물 세포 노출; 약 6 시간 내지 약 5 일 기간 동안 세포 배양; 및 세포 생존력 측정. 세포-기반 시험관내 검정은 또한 ADC의 생존력 (증식), 세포독성, 및 세포자멸사 (카스파제 활성화)의 유도를 측정하는데 사용될 수 있다.

[0275] 항체-약물 콘주게이트가 세포증식억제성 효과를 행사하는지의 결정을 위하여, 티미딘 편입 검정은 사용될 수 있다. 예를 들어, 플레이팅된 96-웰의 5,000 세포/웰의 밀도에서 표적 항원을 발현시키는 암 세포는 72-시간 기간 동안 배양될 수 있고 72-시간 기간의 최종 8 시간 동안 0.5 μCi 의 ^3H -티미딘에 노출될 수 있다. 배양액의 세포 속으로 ^3H -티미딘의 편입은 ADC의 존재 및 부재 하에 측정된다.

[0276] [0277] 세포독성 결정을 위하여, 괴사 또는 세포자멸사 (프로그래밍된 세포사)는 측정될 수 있다. 괴사는 원형질막의 증가된 투과도; 세포의 팽윤, 및 원형질막의 파열에 의해 전형적으로 동반된다. 세포자멸사는 막 수포형성, 세포질의 축합, 및 내인성 엔도뉴클레아제의 활성화를 전형적으로 특징으로 한다. 암 세포에서 임의의 이들 효과의 결정은 ADC가 암의 치료에서 유용하다는 것을 명시한다.

[0278] 세포 생존력은, 예를 들면, 세포에서 하기의 흡수 결정에 의해 측정될 수 있다: 염료 예컨대 뉴트럴 레드, 트립판 블루, 크리스탈 바이올렛, 또는 ALAMARTTM 블루 (참조, 예를 들면, Page 등. (1993) *Int J. Oncology* 3:473-6). 그와 같은 검정에서, 세포는 염료를 함유하는 배지에서 인큐베이션되고, 세포는 세정되고, 염료의 세포 흡수를 반영하는, 잔존 염료는 분광광도법적으로 측정된다. 특정 구현예에서, 제조된 ADCs의 시험관내 효력은 크리스탈 바이올렛 검정을 이용하여 평가된다. 크리스탈 바이올렛은 생존가능한 세포의 핵에서 축적하는 트리아릴메탄 염료이다. 이 검정에서, 세포는 한정된 시간의 기간 동안 ADCs 또는 조절제에 노출되고, 그 후, 세포는 크리스탈 바이올렛으로 염색되고, 물로 방대하게 세정되고, 그 다음 1% SDS로 가용화되고 분광광도법적으로 판독된다. 단백질-결합 염료 살포로다민 B (SRB)는 또한 세포독성을 측정하는데 사용될 수 있다 (Skehan 등. (1990) *J. Natl. Cancer Inst.* 82:1107-12).

[0279] 세포자멸사는, 예를 들어, DNA 단편화 측정에 의해 정량화될 수 있다. DNA 단편화의 정량적 시험관내 결정을 위한 상업적 측광 방법은 이용가능하다. (단편화된 DNA에서 표지된 뉴클레오타이드의 편입을 검출하는) TUNEL을 포함하는, 그와 같은 검정 및 ELISA-기반 검정의 예는 하기에서 기재된다: *Biochemica* (1999) No. 2, pp. 34-37 (Roche Molecular Biochemicals).

[0280] 세포자멸사는 또한 세포에서 형태적 변화 측정에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 괴사와 같이, 원형질막 완전성의 손실은 특정 염료 (예를 들면, 형광 염료 예컨대, 예를 들어, 아크리딘 오렌지 또는 에티듐 브로마이드)의 흡수 측정에 의해 결정될 수 있다. 세포자멸적 세포 수 측정 방법은 하기에 의해 기재되어 있다: Duke and Cohen, *Current Protocols in Immunology* (Coligan 등, eds. (1992) pp. 3.17.1-3.17.16). 세포는 또한 DNA 염료 (예를 들면, 아크리딘 오렌지, 에티듐 브로마이드, 또는 프로피듐 아이오다이드)로 표지될 수 있고 세포는 내부 핵 막을 따라 염색질 응축 및 변연화에 대하여 관측될 수 있다. 세포자멸사를 결정하기 위해 측정될 수 있는 다른 형태적 변화는, 예를 들면, 세포질 축합, 증가된 막 수포형성, 및 세포 수축을 포함한다.

[0281] 개시된 ADCs는 또한 방관자 사멸 활성에 대하여 평가될 수 있다. 방관자 사멸 활성은, 예를 들면, 2 세포주, 표

적 항원에 양성인 것 및 표적 항원에 음성인 것을 사용하는 검정에 의해 결정될 수 있다. 세포주는 바람직하게는 이들을 분화하기 위해 표지된다. 예를 들어, Nuclight™ Green (NLG)로 표지된 IGROV1 세포 (FRA+) 및 Nuclight™ Red (NLR)로 표지된 HL-60 (FRA-)는 공-배양될 수 있고, 항-FRA ADC로 처리될 수 있고 이어서 세포 독성의 모니터링이 될 수 있다. 표적 항원 양성 세포와 혼합된 경우 표적 항원 음성 세포의 사멸은 방관자 사멸을 나타내고, 반면에 표적 항원 양성 세포의 부재 하에 표적 항원 음성 세포의 사멸은 부정확한 사멸을 나타낸다.

[0282]

일부 측면에서, 본 개시내용은 튜불린 방해에 의해 암 세포 또는 조직의 사멸, 상기의 성장 억제 또는 조절, 또는 상기의 대사 방해의 방법이 특징이다. 상기 방법은 튜불린의 파괴가 치료 이점을 제공하는 경우 임의의 대상체와 사용될 수 있다. 튜불린 방해로부터 유익할 수 있는 대상체는, 비제한적으로, 하기를 갖거나 가질 위험에 처한 것을 포함한다: 위 암, 난소 암 (예를 들면, 장액 난소 암), 폐 암 (예를 들면, 비-소 세포 폐 암), 유방 암 (예를 들면, 삼중 음성 유방 암), 자궁내막 암 (예를 들면, 장액 자궁내막 암종), 골육종, 카포시 육종, 고환 세균 세포 암, 백혈병, 림프종 (예를 들면, 호지킨 질환, 비-호지킨 림프종), 골수종, 두경부 암, 식도 암, 췌장 암, 전립선 암, 뇌암 (예를 들면, 교모세포종), 갑상선 암, 결장직장 암, 및/또는 피부 암 (예를 들면, 흑색종), 또는 이의 임의의 전이 (Dumontet and Jordan (2010) *Nat. Rev. Drug Discov.* 9:790-803). 다양한 구현 예에서, 개시된 ADCs는 FRA, 예컨대 FRA-발현 암 세포 또는 조직을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에서 투여될 수 있다. 예시적 구현 예는 FRA-매개된 세포 신호전달의 억제 방법 또는 세포의 사멸 방법을 포함한다. 상기 방법은 FRA, 예컨대 암성 세포 또는 전이성 병변을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에 따라 사용될 수 있다. FRA-발현 암의 비-제한 예는 위 암, 장액 난소 암, 투명 세포 난소 암, 비-소 세포 폐 암, 결장직장 암, 삼중 음성 유방 암, 자궁내막 암, 장액 자궁내막 암종, 폐 카르시노이드, 및 골육종을 포함한다. FRA-발현 세포의 비-제한 예는 IGROV1 및 OVCAR3 인간 난소 암종 세포, NCI-H2110 인간 비-소 세포 폐 암종 세포, 및 FRA 또는 이의 부분을 인코딩하는 재조합 핵산을 포함하는 세포를 포함한다.

[0283]

다양한 다른 구현 예에서, 개시된 ADCs는 her2, 예컨대 her2-발현 암 세포 또는 조직을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에서 투여될 수 있다. 예시적 구현 예는 her2-매개된 세포 신호전달의 억제 방법 또는 세포의 사멸 방법을 포함한다. 상기 방법은 her2, 예컨대 암성 세포 또는 전이성 병변을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에 따라 사용될 수 있다. her2-발현 암의 비-제한 예는 유방 암, 위 암, 방광 암, 요상피 세포 암종, 식도 암, 폐 암, 자궁경부 암, 자궁내막 암, 및 난소 암을 포함한다 (English 등. (2013) *Mol. Diagn. Ther.* 17:85-99). her2-발현 세포의 비-제한 예는 NCI-N87-luc 인간 위 암종 세포, ZR75 및 BT-474 인간 가슴 관 암종 세포, 및 her2 또는 이의 부분을 인코딩하는 재조합 핵산을 포함하는 세포를 포함한다.

[0284]

다양한 다른 구현 예에서, 개시된 ADCs는 메소텔린 (MSLN)을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직, 예컨대 MSLN-발현 암 세포 또는 조직에서 투여될 수 있다. 예시적 구현 예는 MSLN-매개된 세포 신호전달의 억제 방법 또는 세포의 사멸 방법을 포함한다. 상기 방법은 MSLN을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직, 예컨대 암성 세포 또는 전이성 병변에 따라 사용될 수 있다. MSLN-발현 암의 비-제한 예는 중피종, 췌장 암 (예를 들면, 췌장 선암종), 난소 암, 및 폐 암 (예를 들면, 폐 선암종)을 포함한다 (Wang 등. (2012) *PLoS ONE* 7:e33214). MSLN-발현 세포의 비-제한 예는 OVCAR3 인간 난소 암종 세포, HEC-251 인간 자궁내막 세포, H226 인간 폐 편평상피 세포 중피종 세포, 및 MSLN 또는 이의 부분을 인코딩하는 재조합 핵산을 포함하는 세포를 포함한다.

[0285]

예시적 방법은, 유효량, 즉, 세포를 사멸시키는데 충분한 양으로, 본 명세서에서 기재된 바와 같이, ADC와 세포의 접촉 단계를 포함한다. 상기 방법은, 예를 들면 시험관내, 생체내, 생체외, 또는 원위치에서 배양액내 세포에 사용될 수 있다. 예를 들어, FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 세포 (예를 들면, 종양 또는 전이성 병변의 생검에 의해 수집된 세포; 확립된 암 세포주로부터 세포; 또는 재조합 세포)는 배양 배지에서 시험관내 배양될 수 있고 접촉 단계는 배양 배지에 ADC 첨가에 의해 영향받을 수 있다. 상기 방법은, FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 종양 세포를 특히 포함하는, FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 세포의 사멸을 초래할 것이다. 대안적으로, ADC는 생체내 효과를 갖기 위해 임의의 적합한 투여 경로 (예를 들면, 종양 조직과 정맥내, 폐하, 또는 직접 접촉)에 의해 대상체에 투여될 수 있다.

[0286]

개시된 ADC 치료 조성물의 생체내 효과는 적합한 동물 모델에서 평가될 수 있다. 예를 들어, 이종 암 모델은 사용될 수 있고, 여기서 암 외식편 또는 통과된 이종이식 조직은 면역 절충된 동물, 예컨대 누드 또는 SCID 마우스 속으로 도입된다 (Klein 등. (1997) *Nature Med.* 3:402-8). 효능은 종양 형성, 종양 퇴행 또는 전이의 억제를 측정하는 검정, 및 기타를 이용하여 예상될 수 있다.

[0287]

세포자멸사의 촉진을 평가할 수 있는 생체내 검정은 또한 사용될 수 있다. 일 구현 예에서, 치료 조성물로 치료

된 종양 보유 마우스로부터 이종이식은 세포자멸적 병소의 존재에 대하여 검사될 수 있고 미처리된 대조군 이종이식-보유 마우스에 비교될 수 있다. 세포자멸적 병소가 치료된 마우스의 종양에서 발견되는 정도는 조성물의 치료 효능의 정후를 제공한다.

[0288] 암의 치료 방법은 본 명세서에서 추가로 제공된다. 본 명세서에서 개시된 ADCs는 치료 목적으로 비-인간 포유동물 또는 인간 대상체에 투여될 수 있다. 치료 방법은 발현된 항원에 결합하는, 결합에 접근가능한, 또는 암 세포 표면에서 국재화되는 표적화 항체에 연결된 선택된 화학치료제 (예를 들면, 에리불린)을 포함하는 ADC의 생물학적 유효량을 종양을 갖는 포유동물에 투여하는 것을 수반한다. 예시적 구현예는, FRA 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체에 화학치료제의 콘주케이팅 및 ADC에 세포의 노출을 포함하는, FRA를 발현시키는 세포에 화학치료제의 전달 방법이다. 본 개시내용의 ADCs가 명시되는 FRA를 발현시키는 예시적 종양 세포는 장액 조직학을 가진 위 암, 장액 난소 암, 비소 세포 폐 암, 결장직장 암, 유방 암 (예를 들면, 삼중 음성 유방 암), 폐 카르시노이드, 골육종, 자궁내막 암, 및 자궁내막 암종으로부터 세포를 포함한다.

[0289] 또 다른 예시적 구현예는, her2 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체에 화학치료제 콘주케이팅 및 ADC에 세포 노출을 포함하는, her2를 발현시키는 세포에 화학치료제의 전달 방법이다. 본 개시내용의 ADCs가 명시되는 her2를 발현시키는 예시적 종양 세포는 유방 암, 위 암, 방광 암, 요상피 세포 암종, 식도 암, 폐 암, 자궁경부 암, 자궁내막 암, 및 난소 암으로부터 세포를 포함한다.

[0290] 또 다른 예시적 구현예는, MSLN 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체에 화학치료제 콘주케이팅 및 ADC에 세포 노출을 포함하는, MSLN을 발현시키는 세포에 화학치료제의 전달 방법이다. 본 개시내용의 ADCs가 명시되는 MSLN을 발현시키는 예시적 종양 세포는 중피종, 체장 암 (예를 들면, 체장 선암종), 난소 암, 및 폐 암 (예를 들면, 폐 선암종)으로부터 세포를 포함한다.

[0291] 또 다른 예시적 구현예는, 본 개시내용의 ADC의 치료적 유효량을 환자에 투여하는 것을 포함하는, ADC의 항체 모이어티용 표적 항원, 예컨대 FRA, her2, 또는 MSLN을 발현시키는 암을 갖거나 가질 위험에 처한 환자의 치료 방법이다. 일부 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 항-FRA 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 비-반응성 또는 저조하게 반응성이다. 다른 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 항-her2 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 비-반응성 또는 저조하게 반응성이다. 다른 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 항-MSLN 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 비-반응성 또는 저조하게 반응성이다. 다른 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 불내성이다. 예를 들면, 환자는, ADC의 항체 모이어티용 표적 항원 예컨대 FRA, her2, 또는 MSLN을 발현시키는 암에 표적화된 전달, 그렇게 함으로써 부정확한 사멸을 감소시킴으로써 극복되는, 전신 독성으로 이어지는 암을 치료하기 위해 에리불린의 용량을 필요로 할 수 있다.

[0292] 또 다른 예시적 구현예는, ADC의 치료적 유효량 투여를 포함하는, 표적 항원-발현 종양 (예를 들면, FRA-발현 종양, her2-발현 종양, 또는 MSLN-발현 종양)의 성장 감소 또는 억제 방법이다. 일부 구현예에서, 치료는 환자의 종양의 성장을 감소 또는 억제시키는데, 전이성 병변의 수 또는 크기를 감소시키는데, 종양 부하를 감소시키는데, 1차 종양 부하를 감소시키는데, 침입을 감소시키는데, 생존 시간을 연장시키는데, 및/또는 삶의 질을 유지 또는 개선하는데 충분하다. 일부 구현예에서, 종양은 단독 투여된 경우 항-FRA 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 저항성 또는 난치성이다. 다른 구현예에서, 종양은 단독 투여된 경우 항-her2 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 저항성 또는 난치성이다. 일부 구현예에서, 종양은 단독 투여된 경우 항-MSLN 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 저항성 또는 난치성이다.

[0293] 또한, 본 개시내용의 항체는 ADC가 인간 질환의 동물 모델로서 또는 수의과 목적을 위하여 결합할 수 있는 항원을 발현시키는 비-인간 포유동물에 투여될 수 있다. 후자에 관하여, 그와 같은 동물 모델은 개시된 ADCs의 치료 효능 (예를 들면, 투약량의 시험 및 투여의 시간 경과) 평가에 유용할 수 있다.

[0294] 개시된 ADCs의 치료 용도는 본 명세서에서 추가로 제공된다. 예시적 구현예는 표적 항원-발현 암 (예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암)의 치료에서 ADC의 용도이다. 표적 항원-발현 암 (예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암)의 치료에서 사용을 위한 ADCs는 또한 개시된다. FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 암을 갖는 대상체의 확인 방법은 당해 기술에 공지되어 있고 개시된 ADC로 치료를 위하여 적합한 환자를 확인하는데 사용될 수 있다.

- [0295] 또 다른 예시적 구현예는 표적 항원-발현 암 (예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암)의 치료용 약제의 제조 방법에서 ADC의 용도이다.
- [0296] 전술한 방법의 실시에서 사용된 치료 조성물은 원하는 전달 방법에 적합한 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다. 예시적 구현예는 본 개시내용의 ADC 및 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는 약제학적 조성물이다. 적합한 캐리어는, 치료 조성물과 조합된 경우, 치료 조성물의 항-종양 기능을 보유하고 일반적으로 환자의 면역계와 비-반응성인 임의의 물질을 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 캐리어는 생리적으로 양립가능한 임의의 및 모든 용매, 분산매, 코팅물, 항균 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제, 및 기타를 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 캐리어의 예는 물, 염수, 포스페이트 완충 식염수, 엑스트로스, 글리세롤, 에탄올, 메실레이트 염, 및 등, 뿐만 아니라 이의 조합 중 하나 이상을 포함한다. 많은 사례에서, 조성물에서 등장제, 예를 들어, 당, 폴리알코올 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 약제학적으로 허용가능한 캐리어는, ADC의 유통 기한 또는 유효성을 향상시키는, 보조 물질 예컨대 습윤제 또는 유화제, 보존제 또는 완충제의 소량을 추가로 포함할 수 있다.
- [0297] 치료 제형은 가용화될 수 있고 종양 부위에 치료 조성물을 전달할 수 있는 임의의 경로를 통해 투여될 수 있다. 잠재적으로 효과적인 투여 경로는, 비제한적으로, 정맥내, 복강내, 근육내, 종양내, 진피내, 기관내, 동소이식, 및 기타를 포함한다. 치료 단백질 제제는 동결건조될 수 있고, 바람직하게는 진공 하에, 멸균된 분말로서 저장될 수 있고 그 다음 주사에 앞서 멸균수에서 또는 (예를 들어, 벤질 알코올 보존제를 함유하는) 정균수에서 재구성될 수 있다. 치료 제형은 ADC 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 예를 들면, 메실레이트 염을 포함할 수 있다.
- [0298] 본 명세서에서 개시된 ADCs는 필요로 하는 환자에 약 0.2 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위의 투약량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, ADC는 매일, 격월, 또는 그 사이 임의의 기간 환자에 투여된다. 전술한 방법을 사용하는 암의 치료를 위한 투약량 및 투여 프로토콜은 방법 및 표적 암에 따라 다양할 것이고, 일반적으로 당해 분야에서 인정된 다수의 다른 인자에 의존할 것이다.
- [0299] 다양한 전달 시스템은 공지되고 본 개시내용의 하나 이상의 ADCs를 투여하는데 사용될 수 있다. ADCs의 투여 방법은, 비제한적으로, 비경구 투여 (예를 들면, 진피내, 근육내, 복강내, 정맥내 및 피하), 경막외 투여, 종양내 투여, 및 점막 투여 (예를 들면, 비강내 및 경구 경로)를 포함한다. 게다가, 폐 투여는, 예를 들면, 흡입기 또는 분무기, 그리고 에어로졸화제를 가진 제형의 사용에 의해, 이용될 수 있다. 참조, 예를 들면, 하기에서 기재된 폐 투여용 조성물 및 방법: 미국특허 번호 6,019,968, 5,985,320, 5,985,309, 5,934,272, 5,874,064, 5,855,913, 5,290,540, 및 4,880,078; 및 PCT 공개번호 WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346, 및 WO 99/66903. ADCs는 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 주입 또는 볼러스 주사에 의해, 또는 상피성 또는 점막피부 라이닝 (예를 들면, 경구 점막, 직장 및 장 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국부일 수 있다.
- [0300] 본 명세서에서 개시된 치료 조성물은 제조 및 저장의 조건 하에 멸균성 및 안정적일 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 ADCs, 또는 약제학적 조성물은 용융밀봉된 컨테이너에서 건조 멸균된 동결건조된 분말 또는 무수 농축물로서 공급되고 대상체에 투여용 적절한 농도로 (예를 들면, 물 또는 염수로) 재구성될 수 있다. 바람직하게는, 하나 이상의 예방적 또는 치료제 또는 약제학적 조성물은 적어도 5 mg, 적어도 10 mg, 적어도 15 mg, 적어도 25 mg, 적어도 35 mg, 적어도 45 mg, 적어도 50 mg, 적어도 75 mg, 또는 적어도 100 mg, 또는 그 사이 임의의 양의 유닛 투약량으로 용융밀봉된 컨테이너에서 건조 멸균된 동결건조된 분말로서 공급된다. 일부 구현예에서, 동결건조된 ADCs 또는 약제학적 조성물은 최초 컨테이너에서 2 °C 내지 8 °C에서 저장된다. 일부 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 하나 이상의 ADCs 또는 약제학적 조성물은 용융밀봉된 컨테이너, 예를 들면, 제제의 양 및 농도를 명시하는 컨테이너에서 액체 형태로 공급된다. 일부 구현예에서, 투여된 조성물의 액체 형태는 적어도 0.25 mg/mL, 적어도 0.5 mg/mL, 적어도 1 mg/mL, 적어도 2.5 mg/mL, 적어도 5 mg/mL, 적어도 8 mg/mL, 적어도 10 mg/mL, 적어도 15 mg/mL, 적어도 25 mg/mL, 적어도 50 mg/mL, 적어도 75 mg/mL, 또는 적어도 100 mg/mL ADC의 용융밀봉된 컨테이너에서 공급된다. 액체 형태는 최초 컨테이너에서 2 °C 내지 8 °C에서 저장될 수 있다.
- [0301] 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물에 편입될 수 있다. 주사가능한 용액은 플린트 또는 호박색 바이알, 앰플, 또는 미리 충전된 주사기, 또는 다른 공지된 전달 또는 저장 장치에서 액체 또는 동결건조된 투약 형태로 구성될 수 있다.
- [0302] 본 명세서에서 기재된 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 이들은, 예를 들어, 액체, 반-고체, 및 고형 투약

형태, 예컨대 액체 용액 (예를 들면, 주사가능한 및 불용성 용액), 분산물 또는 혼탁액, 정제, 알약, 분말, 리포좀, 및 죄약을 포함한다. 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료 적용에 좌우된다.

[0303] 다양한 구현예에서, 치료는 허용가능한 투여 경로를 통한 ADC 제제의 단일 볼러스 또는 반복된 투여를 포함한다.

[0304] 환자는 가장 효과적인 투약 레지멘, 등의 결정을 돋기 위해 주어진 샘플에서 표적 항원의 수준 (예를 들면 표적 항원 발현 세포의 수준)에 대하여 평가될 수 있다. 예시적 구현예는, 환자로부터 생물학적 샘플의 제공 및 ADC와 생물학적 샘플의 접촉을 포함하는, 본 개시내용의 ADC로 치료에 환자가 반응성일지의 결정 방법이다. 예시적 생물학적 샘플은 조직 또는 체액, 예컨대 염증성 삼출물, 혈액, 혈청, 장 유체, 대변 샘플, 또는 종양 생검 (예를 들면, 표적 항원-발현 암, 예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암을 갖거나 가질 위험에 처한 환자에서 유래된 종양 생검)을 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플 (예를 들면, 조직 및/또는 체액)은 대상 체로부터 수득될 수 있고, 적합한 면역학적 방법은 표적 항원 (예를 들면, FRA, her2, 또는 MSLN)의 단백질 발현을 검출 및/또는 측정하는데 사용될 수 있다. 그와 같은 평가는 요법 내내 모니터링 목적으로 또한 사용되고, 다른 파라미터의 평가와 조합으로 치료 성공을 추정하는데 유용하다.

[0305] 일부 구현예에서, ADC의 효능은 대상체로부터 종양 샘플의 ADC와의 접촉 그리고 종양 성장 속도 또는 용적의 평가에 의해 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, ADC가 효과적인 것으로 결정된 경우, 대상체에게 투여될 수 있다.

[0306] 상기 치료 접근법은 다양한 추가의 외과적, 화학요법, 또는 방사선 치료 레지멘 중 어느 하나와 조합될 수 있다.

[0307] 예를 들면, 상기 기재된 방법에 따라, 암 치료용 약제의 제조에서 하나 이상의 개시된 ADCs의 용도가 본 명세서에서 또한 개시된다. 일부 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 ADCs는, 예를 들면, 상기 기재된 방법에 따라, 암 치료에 사용된다.

[0308] 다양한 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 실험실 및 치료 적용에서 사용을 위한 키트는 본 개시내용의 범위 내이다. 그와 같은 키트는 하나 이상의 컨테이너 예컨대 바이알, 튜브, 및 기타를 수령하기 위해 구획화되는 캐리어, 패키지, 또는 컨테이너를 포함할 수 있고, 각각의 컨테이너(들)은 사용 지침, 예컨대 본 명세서에서 기재된 용도를 포함하는 표지 또는 삽입물을 따라, 본 명세서에서 개시된 방법에서 사용되도록 별개의 요소 중 하나를 포함한다. 키트는 약물 모이어티를 포함하는 컨테이너를 포함할 수 있다. 본 개시내용은 또한, 제제의 양을 명시하는, 용융밀봉된 컨테이너, 예컨대 앰풀 또는 샤프트에서 포장된, 하나 이상의 ADCs, 또는 이의 약제학적 조성물을 제공한다.

[0309] 키트는 상기 기재된 컨테이너 그리고, 완충제, 희석제, 필터, 니들, 주사기를 포함하는, 상업적 및 사용자 관점으로부터 바람직한 물질을 포함하는 그와 관련된 하나 이상의 다른 컨테이너; 캐리어, 패키지, 컨테이너, 바이알 및/또는 함량 및/또는 사용 지침을 열거하는 튜브 표지, 및 사용 지침을 가진 포장 삽입물을 포함할 수 있다.

[0310] 표지는 조성물이 특이적 요법 또는 비-치료 적용, 예컨대 예후적, 예방적, 진단적, 또는 실험실 적용에 사용되는 것을 명시하기 위해 컨테이너상에 또는 상기와 함께 존재할 수 있다. 표지는 또한 생체내 또는 시험관내 용도, 예컨대 본 명세서에서 기재된 것을 위한 사용법을 명시할 수 있다. 사용법 및 또는 다른 정보는 또한, 키트와 함께 또는 키트 상에 포함되는, 삽입물(들) 또는 표지(들)상에 포함될 수 있다. 표지는 컨테이너상에 있을 수 있거나 상기와 관련될 수 있다. 표지는 표지를 형성하는 문자, 숫자, 또는 다른 캐릭터가 컨테이너 자체 속으로 성형되거나 에칭되는 경우 컨테이너상에 있을 수 있다. 표지는, 예를 들면, 포장 삽입물로서 컨테이너를 또한 보관하는 소켓 또는 캐리어 안에 존재하는 경우 컨테이너와 관련될 수 있다. 표지는 조성물이 병태, 예컨대 본 명세서에서 기재된 암의 진단 또는 치료에 사용되는 것을 명시할 수 있다.

[0311] 본 명세서에서 기재된 본 발명의 방법의 다른 적합한 변형 및 적응이 명백하고 본 발명의 범위 또는 본 명세서에서 개시된 구현예에서 이탈 없이 적합한 등가물을 사용하여 실시될 수 있다는 것이 당해 분야의 숙련가에 쉽게 분명할 것이다. 이제 본 발명을 상세히 기재하였다면, 동일한 것은 하기 실시예를 참고로 더욱 명확히 이해될 것이고, 이는 실례만의 목적으로 포함되고 제한되는 의도는 아니다.

[0312] 실시예 1

[0313] 1. 물질 및 방법

[0314] ADCs의 제조에 사용된 MORab-003은 Lot #AA0312 제이었다.

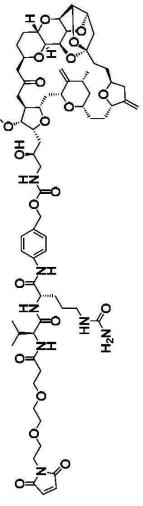
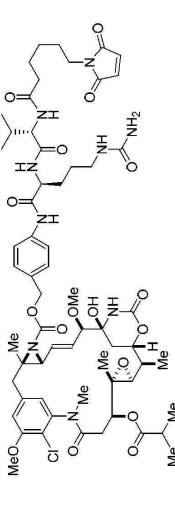
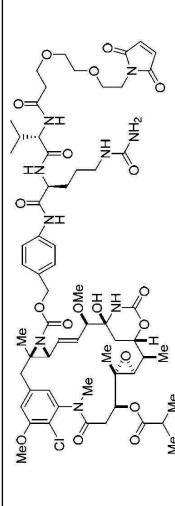
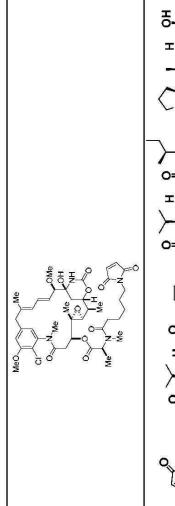
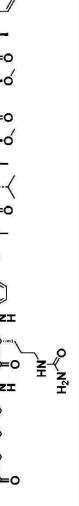
[0315] 1.1세포독소

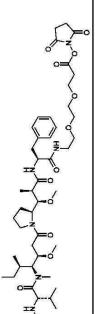
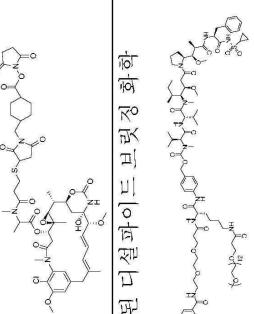
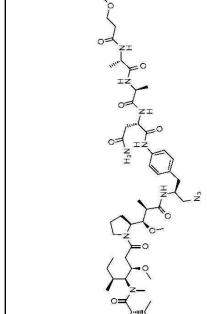
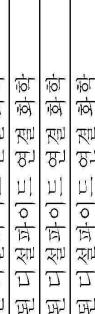
[0316] 콘주게이션가능한 세포독소의 구조는 표 11에서 나타난다.

표 11. 콘주게이션가능한 세포독소

화합물 명칭	링커	세포독소	절단가능성	구조
PEG3-Bz-디-셀피딘-디-메틸-크립토퍼신	말테이미도-PEG3-벤질-디-셀피딘-디-메틸	크립토퍼신	유	
LL2-크립토퍼신	LL2	크립토퍼신	유	
LL3-크립토퍼신	LL3	크립토퍼신	유	
VCP-크립토퍼신	VCP	크립토퍼신	유	

[0317]

VCP-이 러 블린 (ER-001159569)	발레이미 도-PEG2- Val-Cit-pAB	에리 불린 의	
ER-001161318	발레이미 도- (CH ₂) ₅ -Val-Cit- pAB	ER-001150828 (아지리 디 노- 메이 탄진-P3)	
ER-001161319	발레이미 도-PEG2- Val-Cit-pAB	ER-001150828 (아지리 디 노- 메이 탄진-P3)	
ER-001159200	발레이미 도-(CH ₂) ₅	메이 탄진 DM1	
M-MMAE	발레이미 도- (CH ₂) ₅ -Val-Cit- pAB	모노메틸 아-우리스터틴 E	

NHS-PEG2-AuF	NHS-PEG2	아우리스터틴 F	무	
M-DM1	SMCC	메이탄신 DM1	무	
M-0285	PEG-pAB	듀오스터틴 3	유	현원분 디설파이드 보렐정 화학· 
M-0115	Asn-Ala	듀오스터틴 5	유	
M-172	사이클로헥실	듀오스터틴 3	무	현원분 디설파이드 연결 화학· 
M-174	사이클로헥실	듀오스터틴 3	무	현원분 디설파이드 연결 화학· 
M-158	PEG-pAB	듀오스터틴 10	유	현원분 디설파이드 연결 화학· 
M-0384	PEG-티오에테르	듀오스터틴 14	무	현원분 디설파이드 연결 화학· 
M-0302	PEG-Asn	듀오스터틴 14	무	현원분 디설파이드 연결 화학· 
M-292	PEG-Asn	듀오스터틴 14	유	현원분 디설파이드 연결 화학· 
M-0026	PEG	듀오스터틴 14	유	현원분 디설파이드 연결 화학· 

M-0267	PEG-티오에테르	듀오마이신 7	무	환원된 디설파이드 연결 화학
M-0272	Asn-Ala	듀오마이신 7	유	환원된 디설파이드 연결 화학
M-0260	PEG-pAB	듀오마이신 7	유	환원된 디설파이드 연결 화학
M-0276	Asn-Ala	듀오마이신 7	유	환원된 디설파이드 연결 화학
M-015-0913	사이클로헥실 듀오스터틴 3	무	제한된 리신 이용	
M-030-0132	PEG-pAB	듀오스터틴 6	유	제한된 리신 이용
M-0161	사이클로헥실 듀오스터틴 10	무	제한된 리신 이용	
M-0157	PEG-pAB	듀오스터틴 10	유	제한된 리신 이용
M-027-0381	티오에테르	듀오스터틴 14	무	제한된 리신 이용
M-0025	PEG	듀오스터틴 14	무	제한된 리신 이용
M-0301	PEG-Asn	듀오스터틴 14	무	제한된 리신 이용
M-030-0011	PEG-pAB	듀오스터틴 14	유	제한된 리신 이용
M-030-0291	PEG-Asn	듀오스터틴 14	유	제한된 리신 이용
M-0114	PEG-pAB	듀오스터틴-5	유	제한된 리신 이용
				환원된 디설파이드 브릿징 화학

약어:Ala, 알라닌; Asn, 아스파라간; Cit, 시트룰린, NHS, N-하이드록시석산이미드, PAB, p-아미노벤질옥시카보닐; PEG, 폴리에틸렌 글리콜; SMCC, 석신이미달 4-(N-말테이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트; Val, 발린; VCP, Val-Cit-pAB.

[0320]

1.2항체-약물 콘주게이션

1.2.1TCEP를 사용하는 부분적인 환원

MORAb-003용 부분적인 환원 조건은 비-티올 환원제 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)의 다양한 농도, 항체 농도, 및 환원의 시간에 의해 확립되었다. MORAb-003은 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)를 함유하는 둘레코 포스페이트-완충 식염수 (DPBS)에 완충액-교환되었고, 그 다음 10 kD 분자량 컷-오프 (MWCO) 원심 필터로 원심 농축을 사용하여 10 mg/mL로 농축되었다. 항체는 적절한 농도로 희석되었고 TCEP는 지시된 최종 농도에서 첨가되었고, 실온에서 1 시간 동안 부드럽게 혼합되었다. TCEP는, 제조자의 프로토콜에 따라, 완충액 (Thermo Fisher, 40 kD MWCO)로서 DPBS/1mM EDTA를 가진 5 또는 10 mL ZebaTM 스피n 탈염 칼럼을 사용하는 탈염에 의해 제거되었다. 샘플은, 제조자의 프로토콜에 따라, 티올 형광 정량화 키트 (Abcam)을 사용하여 유리 티올 함량에 대하여 분석되었다. 비-환원 조건 하에 SDS-PAGE 분석은, 섹션 1.3.3에서 기재된 바와 같이, 디설파이드 결합 과손의 정도 및 위치를 결정하기 위해 수행되었다. 일부 경우에, 탈염된 MAbs는 DPBS내 희석에 의해 1-2 mg/mL이 되었고 바이오티닐화를 거쳐서 콘주게이션가능성 및 약물-대-항체 (DAR) 비를 결정하였다. 디메틸셀록사이드

(DMSO)내 10 mM 말레이미도-PEG2-바이오틴 (Thermo Fisher)는 10:1의 몰비로 항체 (mAb)에 첨가되었고 부드럽게 진탕하면서 4 시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 콘주케이션 이후, 미반응된 화합물은 Zeba™ 스펜 탈염 칼럼 (Thermo Fisher)를 사용하는 탈염에 의해 제거되었다. 샘플은 그 다음 섹션 1.3.4에서 상세히 설명된 바와 같이, DAR의 결정용 LC-MS에 의해 분석되었다.

[0324] 1.2.2 세포독소 콘주케이션

[0325] 부분적으로-감소된 항체는 0.5X DPBS, 0.5 mM EDTA에서 2.5 mg/mL가 되었고, 철저하게 혼합되었다. 유기 공-용매는, 사용된다면, 그 다음 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 검사된 공-용매는 프로필렌 글리콜 (20% 및 50% 최종 농도), 디메틸실록사이드 (DMSO) (10%), N,N-디메틸포름아미드 (20%), N,N-디메틸아세트아미드 (20%), 및 N,N-디메틸프로피온아미드 (20%)이었다. 말레이미도-변형된 세포독소 (DMSO내 6 mM 스톡)은 1:6 (mAb:화합물)의 몰비로 항체에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 콘주케이션은 부드럽게 혼합하면서 3.5 시간 동안 실온에서 진행하였다. 50%에서 50% 프로필렌 글리콜은 최종 유기 변형제로서 선택되었고 모든 후속적인 콘주케이션 반응에서 사용되었다.

[0326] 1.2.3 정제

[0327] 콘주케이션된 항체는, 미반응된 말레이미도-세포독소 및 프로필렌 글리콜을 제거하기 위해, 고속 단백질 액체 크로마토그래피 (FPLC) (GE Healthcare)에서 수행된 크로마토그래피와 26/10 HiTrap® 탈염 칼럼(들) (GE Healthcare)를 사용하여 정제되었다. MORAb-003-mal-VCP-에리볼린 (MORAb-202)를 포함하는, MORAb-003 ADCs는 DPBS에서 제형화되었다 (제형 완충제는 FPLC 크로마토그래피 동안 작동 완충제로서 사용되었다).

[0328] 1.3 생체물리학적 특성규명

[0329] 1.3.1 BCA 검정

[0330] 제조된 비시코닌산 (BCA) 시약 (200 μ L)는 25 μ L의 연속으로-희석된 ADCs 또는 소 감마 글로빈 (Thermo Fisher) 2 mg/mL 표준에 첨가되었고, 샘플은 철저하게 혼합되었다. 샘플은 20 분 동안 37°C에서 인큐베이션되었다. 플레이트는 SpectraMax® M5 플레이트 판독기 (Molecular Devices)상의 595 nm에서 판독되었다. 데이터는 4-파라미터 적합화 모델로 SoftMax® Pro (ver 3.2)를 이용하여 분석되었다.

[0331] 1.3.2 SEC-HPLC 분석

[0332] 항체 응집은 Agilent 1100을 사용하는 크기-배체, 고-성능 액체 크로마토그래피 (SEC-HPLC)에 의해 분석되었다. mAb는 DPBS에서 1 mg/mL로 희석되었다. 항체 (20 μ L)는 TSKgel® SuperSW 가드 칼럼 (4.6 mm x 3.5 cm, 4 μ m 기공 크기, Tosoh Bioscience), 이어서 TSKgel® SuperSW3000 칼럼 (4.6 mm x 30 cm, 4 μ m 기공 크기)에 주사되었고, 20 분 동안 0.3 mL/min의 유량에서, pH 7.4에서, 0.15 M NaCl 및 0.05% NaNO₃을 함유하는 0.1 M 인산나트륨을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 모든 데이터는 Agilent ChemStation 소프트웨어를 사용하여 분석되었다. 퍼센트 응집은 하기로서 계산되었다: [PA_{응집}/PA_총]*100, 여기에서 PA = 통합된 피크 면적.

[0333] 1.3.3 SDS-PAGE 분석

[0334] 단백질 샘플 (0.1-10 μ g)은 리튬 도데실설페이트 (LDS) 샘플 완충액으로 1X가 되었다. 비-환원된 샘플을 위하여, 인큐베이션은 전기영동에 앞서 10분 동안 실온에서 수행되었다. 환원된 샘플을 위하여, 디티오토레이톨 (DTT)는 20 mM의 최종 농도로 첨가되었고 샘플은 10분 동안 95°C로 가열되었고 전기영동에 앞서 얼음상에 배치되었다. 샘플은 작동 완충제로서 1X MOPS 또는 1X MES를 가진 10-, 12-, 또는 15-웰 Bis-Tris SDS-PAGE 젤 (Thermo Fisher)에 장입되었다. 전기영동은 1 시간 동안 185 V (정전압)에서 수행되었다. 젤은 InstantBlue 염색 용액 (Expedeon)으로 염색되었고 물에서 탈염되었다. 문서화는 600 nm 오렌지 필터를 사용하는 UltraLum 젤 문서화 시스템에서 수행되었다.

[0335] 1.3.4 약물-대-항체 비 (DAR)의 UPLC/ESI-MS 분석

[0336] ADCs는 PNGase F (New England BioLabs)를 사용하여 탈당화되었다. G7 완충액 (10 μ L) 및 PNGase F (2 μ L)는 mAb (90 μ L, DPBS내 1 mg/mL)에 첨가되었다. 반응은 Discover 마이크로웨이브 (CEM)에서 2 사이클 동안 인큐베이션되었다: (1) 마이크로웨이브 전력 10 W, 37°C, 10 분, 이어서 5분 휴지; (2) 마이크로웨이브 전력 2 W, 37°C, 10 분. 샘플의 한 부분은 20 mM의 최종 농도로 DTT 첨가에 의해 환원되었고, 이어서 60°C에서 3 분 동안 인큐베이션되었다. 샘플은 그 다음 Waters Acquity Ultra 성능 액체 크로마토그래피 (UPLC) 및 사중극자 비파시간 (Q-Tof) Premier 질량 분광분석기를 사용하여 분석되었다. 샘플 (0.5-2 μ g 각각)은 65°C에서

MassPrep™ 마이크로 탈염 칼럼에 주사되었고, 이동상 A의 95%에서 5 분 평형, 10 분 구배 (5-90% B), 및 0.05 mL/min에서, 이동상 A의 95%에서 10 분 재-평형을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 이동상 A는 물내 0.1% 포름산이었다. 이동상 B는 아세토니트릴내 0.1% 포름산이었다. Q-Tof 질량 분광분석기는 500-4000 m/z의 범위에서 검출하는 양이온, V-방식에서 운영되었다. 공급원 파라미터는 아래와 같았다: 모세관 전압, 2.25 kV (온전한 항체)-2.50 kV (감소된 항체); 샘플링 콘 전압, 65.0 V (온전한 항체) 또는 50.0 V (감소된 항체); 공급원 온도, 100 °C; 탈용매화 온도, 250 °C; 탈용매화 가스 흐름, 550 L/hr. 단백질 피크는 MassLynx® MaxEnt 1 기능을 사용하여 디콘볼류션되었다. 각각의 미콘주게이션된, 단독으로-콘주게이션된, 및 다중-콘주게이션된 중쇄 및 경쇄 질량은 조합되어 하기 식을 사용하여 전반적인 DAR을 계산하였다:

$$2[[I_{LC+1} + 2(I_{LC+2}) + 3(I_{LC+3}) + \dots n(I_{LC+n})]/\Sigma I_{LCtot}] + 2[[I_{HC+1} + 2(I_{HC+2}) + 3(I_{HC+3}) + \dots n(I_{HC+n})]/\Sigma I_{HCtot}]$$

[0337] 여기에서 I_{LC+1}

은 1 세포독소로 콘주게이션된 경쇄의 질량 강도이고, I_{LC+2} 는 2 세포독소, 등으로 콘주게이션된 경쇄의 질량 강도이다. I_{HC} 는 상응하는 콘주게이션된 중쇄로부터 강도이고, ΣI_{LCtot} 및 ΣI_{HCtot} 는 모든 미콘주게이션된 및 콘주게이션된 경쇄 및 중쇄, 각각의 조합된 강도이다.

[0338] 1.3.5 HIC-HPLC DAR 분석

[0339] UPLC/전기분무 이온화 (ESI)-MS 분석에 의한 DAR 분석에 더하여, MORAb-003-vcp-에리불린 DAR 및 MORAb-003-0285 DAR은 소수성 상호작용 HPLC (HIC-HPLC)를 사용하여 또한 분석되었다. 샘플은 TSKgel® Ether-5 PW, 7.5 mm ID x 7.5cm, 10 μM 기공 크기에 주사되었고, 이동상 A의 100%에서 3 분 평형, 15 분 구배 (0-100% B), 100% B에서 5 분 유지, 100% A로 1 분 변화, 및 0.7 mL/min에서, 이동상 A의 100%에서 5 분 재-평형을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 이동상 A는 25 mM 인산나트륨, 1.5 M 황산암모늄, pH 7.0이었다. 이동상 B는 25 mM 인산나트륨, 25% 이소프로판올, pH 7.0이었다. 검출은 280 nm (참조 320 nm)에서 실시되었다. DAR은 하기 식에 의해 결정되었다:

$$[AUC_{+1} + 2(AUC_{+2}) + 3(AUC_{+3}) + \dots n(AUC_{+n})]/\Sigma AUC_{tot}]$$

[0340] [0341] 여기에서 AUC_{+1} 는 1 세포독소로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 mAb 피크에 대하여 곡선하 면적이고, AUC_{+2} 는 2 세포독소, 등으로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 mAb 피크에 대하여 곡선하 면적이다. ΣAUC_{tot} 는 모든 피크에 대하여 조합된 곡선하 면적이다.

[0342] 1.4 세포독성 분석

[0343] 1.4.1 크리스탈 바이올렛 검정

[0344] IGROV1 (FR^{hi}) 및 SJS-1 (FR^{neg}) 세포는 96-웰 조직 배양 플레이트내 완전한 성장 배지에서 10,000 세포/웰로 하위-배양 및 씨딩되었고, 37° C, 5% CO₂에서 밤새 (16 시간) 인큐베이션되었다. 전형적으로, 시험 시약은, 1 μM (총 10 회석)에서 시작하는, 2 mL 딥-웰 회석 플레이트에서 1:4 연속 회석되었다. 100 μL의 회석된 샘플은 (500 nM에서 시험 샘플의 농도를 시작하는) 세포 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 37° C, 5% CO₂에서 추가의 48 시간 동안 인큐베이션되었다. 배지는 폐기되었고, 플레이트는 200 μL DPBS로 1회 세정되었고, 50 μL의 0.2% 크리스탈 바이올렛 용액으로 실온에서 15 분 동안 염색되었고, 그 다음 수돗물로 광범위하게 세정되었다. 플레이트는 공기-건조되었고, 크리스탈 바이올렛은 200 μL의 1% SDS 용액으로 용해되었다. 플레이트는 570 nm에서 판독되었다. 데이터는 GraphPad Prism 6을 사용하여 분석되었다. 검정은 1,000 세포 / 웰의 씨딩 밀도를 사용하여 수행되었고 화합물 노출은 총 5 일 동안이었다. 더 짧은 기간 노출이 요구된 경우, 세포독성 약물을 함유하는 배지는 4 시간 후 제거되었고 5-일 인큐베이션에 앞서 신선한 성장 배지로 대체되었다. OVCAR3, CaOV3, 및 NCI-H2110을 위하여, 세포는 3,000 세포/웰로 씨딩되었고 5일 동안 ADC로 인큐베이션되었다. 경쟁 실험을 위하여, 적정된 ADCs는 세포로 인큐베이션에 앞서 2 μM (최종) 미콘주게이션된 MORAb-003으로 사전-인큐베이션되었다.

[0345] 1.4.2 방관자 사멸 검정

[0346] 연구 개시 전날, Nuclight™ Green (NLG) IGROV1 세포는 96-웰 등근바닥 플레이트에 5,000 세포 / 웰로 씨딩되었

고, 이어서 실온에서 3 분 동안 1,000 rpm에서 원심분리되어 세포 펠렛의 형성을 보장하였다. 플레이트는 Incucyte Zoom® (EssenBio science)의 용기에 배치되었고 37° C/5% CO₂에서 밤새 인큐베이션되었다. 프로그램은 세포 성장의 이미지를 수집하기 위해, 그리고 핵 녹색-염색된 및 핵 적색-염색된 세포의 총 수 뿐만 아니라 매 2 시간 세포의 상-밀집도를 결정하기 위해 셋팅되었다. 실험의 날에, MORab-003 ADC 또는 자유 약물은 완전한 RPMI 배지에서 희석되었고, 400 nM에서 시작하여, 연속으로 희석되었다. 50 μL의 세포독소 용액은 NLG-IGROV1 세포에 첨가되었고 30 분 동안 인큐베이션되었다. 인큐베이션 기간 동안, Nuclight™ Red (NLR) HL-60 (FR^{neg}) 세포는 새로운 배지로 2x10⁵, 1x10⁵ 또는 5x10⁴ 세포/mL로 희석되었다. 50 μL의 NLR-HL60 세포 혼탁액 또는 배지 단독은 NLG-IGROV1 웰에 첨가되었고, 이어서 1,000 rpm에서 3 분 동안 실온에서 원심분리되어 세포 펠렛의 재-형성을 보장하였다. 플레이트는 Incucyte Zoom (EssenBio science)의 용기 속에 반대로 배치되었고 37° C/5% CO₂에서 최대 5 일 동안 인큐베이션되었다. NLG-IGROV1의 상대 세포 성장은 녹색 세포 카운트를 사용하는 자유 약물 단독 첨가된 샘플 또는 무 ADC에 비교에 의해 결정되었다. HL60의 상대 세포 성장은 유사하게 실시되었고, 단, 적혈구 카운트는 결정되었다. 양쪽 NLG-IGROV1 및 NLR-HL-60에 대하여 IC₅₀ 값의 결정은 Prism (GraphPad)를 사용하여 결정되었다.

1.4.3 혈청 안정성 검정

20 μL의 MORab-003 ADCs는 80 μL의 DPBS, 정상 풀링된 인간 혈청 (Bioreclamation, Lot BRH552911), 또는 정상 풀링된 마우스 혈청 (Bioreclamation, Lot MSE152591)과 철저하게 혼합되었고, 37° C에서 0, 4, 24, 및 48 시간 동안 인큐베이션되었다. 인큐베이션 이후, 샘플은 세포독성 및 결합 검정에서 평가까지 -20 °C에서 냉동 및 저장되었다. 세포독성 분석을 위하여, 샘플은 섹션 1.4.1에서 상세히 설명된 바와 같이, IGROV1 및 SJS-1 세포에서 평가되었다. 결합 평가를 위하여, 샘플은 용액-기반 MSD ECL 검정을 사용하여 평가되었다. 샘플은 스트렙타비딘 플레이트에서 포착전 바이오티닐화된 플레이트 수용체 알파 및 설포-태그 항-MORab-003으로 인큐베이션되었고 MSD Sector Imager 2400이 있는 전기화학발광을 사용하여 검출되었다.

2. 결과

2.1 MORab-003 ADCs의 제조

MORab-003으로 콘주게이션하기 위한 링커 및 세포독소의 최상의 조합을 선택하기 위해, ADCs는 3 방법론을 사용하여 제조되었다. 도 1에서 도시된 콘주게이션 전략에 따라, 짹짓기되지 않은 시스테인은 비-티올 환원제 TCEP의 제한된 몰 당량으로 부분적인 환원을 통해 생성된다. 이러한 전략은 경쇄 및 중쇄 (H-L 짹짓기당 1 쌍) 그리고 힌지 영역에서 2 중쇄 (인간 IgG1의 경우에서 H-H 짹짓기당 2 쌍)을 결합시키는 쇄간 디설파이드 결합을 우선적으로 감소시키면서, 쇄내 디설파이드 결합을 온전하게 유지시킨다.

MORab-003 ADCs 제조용 제2 콘주게이션 전략은 환원된 디설파이드 브릿징 화학을 이용하였다. 환원된 디설파이드 브릿징 화학은 부분적인 환원 공정 동안 방출된 시스테인 잔기의 유리 티올을 리브릿징하고, 디설파이드 결합의 역할을 모방하고 따라서 ADC의 안정성 및 기능을 보유한다.

MORab-003 ADCs 제조용 제3 콘주게이션 전략은 제한된 리신 이용을 사용하였다. 제한된 리신 이용은 전형적인 인간 IgG 분자에서 이용가능한 추정된 70+ 용매-노출된 리신의 매우 제한된 수의 콘주게이션을 초래하고, 시스테인 변형을 포함하는 전략에 비해 더 낮은 균질성을 가진 ADC 생성물의 혼합물을 잠재적으로 제공할 수 있다.

2.1.1 MORab-003 ADCs용 VCP-에리불린의 제조

에리불린 (1) (10 mg, 14 μmol) (도 2)는 N,N-디메틸포름아미드 (DMF) (1mL)에 용해되었고, 양호하게 혼합되었다. N,N-디이소프로필에틸아민 (휘니그 염기 또는 iPr₂NEt) (3.6 μL, 21 μmol) 및 Fmoc-Val-Cit-파라-아미노벤질-파라-나트로페놀 (Fmoc-VCP-PNP) (2) (16 mg, 21 μmol, Concordis Biosystems, cat# VC1003)은 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 4-16 시간 동안 교반되었고, 반응이 완료된 때까지 닌히드린 시험 키트 (Anaspec, cat# 25241)을 사용하여 모니터링되었다. 디에틸아민 (Et₂NH) (0.014 mL, 0.14 mmol)은 그 다음 반응 혼합물에 첨가되었고, 2 시간 동안 18-25° C에서 교반되어 Fmoc 보호 기를 제거하였다. 반응은 닌히드린 시험 키트를 사용하여 모니터링되었다. 완료 시, 용매는 진공 하에 증발되어 미정제 VCP-에리불린 (3) (16 mg)을 제공하였고, 15-70%의 구배를 통해, 0.1% 포름산을 함유하는 H₂O-CH₃CN의 이동상에서 Waters Alliance e2695 HPLC 시스템상의 ZOBAX SB-C18 칼럼 (5 μm 기공 크기, 9.4 x 150mm)를 사용하여 정제되었다. VCP-에리불린

(3) (16 mg)은 DMF (1 mL)에 용해되었다. 휘니그 염기 (7.2 μ L, 41 μ mol) 및 말레이미도-PEG₂-NHS (4) (9.7 mg, 27 μ mol)은 첨가되었다. 반응 혼합물을 18–25° C에서 3 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물을 15–70%B의 구배로 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 H₂O-CH₃CN)에 의해 정제되었다. 용매는 동결건조에 의해 제거되어 mal-(PEG)₂-Val-Cit-p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)-에리불린 (mal-(PEG)₂-VCP-에리불린) (5)를 수득하였다.

[0356]

2.1.2 환원 조건의 최적화

[0357]

MORAb-003 ADCs는 비-티올 환원제 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)의 제한된 몰 당량의 부분적인 환원을 통해 짹짓기되지 않은 시스테인 생성에 의해 제조되었다. 초기 조사는 MORAb-003에서 수행되었고, 이로써 항체 농도, TCEP 농도, 및 인큐베이션 시간은, 항체 분자당 4 콘주게이션 가능한 부위의 평균을 생성하기 위한 목표로, 가변되었다. 유리 티올 부위의 수는 형광 티올 정량화 검정을 사용하여 결정되었다. 이러한 분석의 결과는 표 12에서 나타난다. 10 분, 30 분, 60 분, 또는 120 분 인큐베이션 이후 H-H 및 H-L 결합 파손의 정도는 SDS-PAGE (도 3)에 의해 또한 분석되었다. 이러한 분석을 위하여, 비-환원된 및 환원된 샘플은 SDS-PAGE 젤상에 장입되었고 전기영동은 185 V에서 1 시간 동안 수행되었다. 도 3에서, 레인 1은 단백질 표준에 상응한다. 레인 1은 미처리된, 비-환원된 MORAb-003에 상응한다. 레인 2는 70.6 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 (5.3 mg/mL)에 상응한다. 레인 3은 141.2 μ M TCEP에서 MORAb-003 (환원된 5.3 mg/mL)에 상응한다. 레인 4는 20 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 (1.5 mg/mL)에 상응한다. 레인 5는 40 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 (1.5 mg/mL)에 상응한다. 각각의 밴드의 동일성은 우하측 젤상에 명시된다. “H”는 중쇄를 명시하고, 반면에 “L”은 경쇄를 명시한다.

표 12. MORAb-003의 환원 조건의 최적화

MORAb-003 농도 μ M (mg/mL)	TCEP 농도 μ M	10 분		30 분		60 분		120 분	
		유리 티올 μ M	MAb 당 환원된 디설파이드 결합						
35.3 (5.3)	70.6	215	3.0	247.5	3.5	297.6	4.2	266.8	3.8
35.3 (5.3)	141.2	339	4.8	372.8	5.3	384.2	5.4	479.8	6.8
10 (1.5)	20	13.3	0.7	14.7	0.7	15.2	0.8	14.6	0.7
10 (1.5)	40	21.8	1.1	25.6	1.3	26.9	1.3	27.4	1.4

[0358]

SDS-PAGE 및 티올 함량의 분석은 TCEP 대 mAb의 4-배 몰비에서 5.3 mg/mL mAb의 60 분 인큐베이션이, (유리 티올 함량에 의해 결정된 경우) 존재하는 것처럼 보이는 분자내 디설파이드의 제한된 환원으로서, 합리적인 개시 점을 제공하였고, 매우 적은 감소되지 않은 mAb가 잔존하였다는 것을 제안하였다 (감소되지 않은 mAb는 제조된 ADCs를 사용하여 시험관내 및 생체내 연구에서 경쟁적 억제제로서 작용할 것이다). 추가 연구는 5.0 mg/mL의 시작 농도에서 MORAb-003으로 수행되어 SDS-PAGE 분석을 사용하는 TCEP 대 mAb의 이러한 최적화된 몰비를 확인하였다 (도 4). 도 4에서, 레인 1은 단백질 표준에 상응한다. 레인 2는 미처리된, 비-환원된 MORAb-003에 상응한다. 레인 3은 1:1의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 레인 4는 1:2의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 레인 5는 1:3의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 레인 6은 1:4의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 말레이미도-PEG2-바이오틴을 사용하는 콘주게이션은, ADC 제조용 세포독소의 콘주게이션을 시뮬레이션하기 위해, 감소 및 TCEP 제거에 이어서 또한 수행되었다. DAR 분석은 LC-MS를 사용하여 수행되었다. 이를 연구의 결과는 표 13에서 제공된다.

표 13. 말레이미도-PEG2-바이오틴으로 MORAb-003 – 콘주게이션 수준의 환원 조건의 최적화

TCEP		MORAb-003		
TCEP:mAb	TCEP (μ M)	LC	HC	DAR
1	33.3	0.29	0.34	1.26
2	66.7	0.48	0.83	2.62
3	100	0.63	1.21	3.68
4	133.2	0.73	1.70	4.86

LC, 경쇄 바이오틴 수준; HC, 중쇄 바이오틴 수준; DAR, mAb 당 바이오틴 [DAR = 2(LC) + 2(HC)].

[0360]

[0361] 바이오틴 콘주게이션 이후, 유리 티올 분석은 유리 티올이 MORAb-003-바이오틴에서 존재하지 않는다는 것을 명시하였다. 이것은, 디설파이드 결합의 환원 이후, 콘주게이션이 전형적으로 생성된 양쪽 티올에서 발생하였다는 것, 그리고 임의의 미콘주게이션된, 환원된 디설파이드가 재-산화를 경험하여 디설파이드 결합을 형성하였다는 것을 명시하였다. ADC 생성용 환원을 위하여 선택된 최종 조건은 항체 농도 5.0 mg/mL, TCEP 농도 110 μ M, 및 인큐베이션 시간 60 분이었다. 이것은 콘주게이션 이후 4의 DAR을 가진 mAb를 유발시킨다.

[0362]

2.1.3 ADC 콘주게이션 최적화

[0363]

소수성 화합물인, 크립토페신이 제1 세포독소로서 ADC 제조에 사용됨에 따라, 초기 콘주게이션 최적화 실험은 특이적 위치에서 콘주게이션 (경쇄당 1)에 이용가능한 2 짹짓기되지 않은 시스테인을 갖는 “대리” 항-인간 매소텔린 항체로 수행되었다. 이것은, 경쇄만이 분석될 필요가 있음에 따라, 질량 분광분석법에 의한 콘주게이션 효율의 분석을 크게 용이하게 한다. 항체를 대리하기 위해 말레이미도-LL3-크립토페신의 콘주게이션 동안 프로필렌 글리콜의 적정은 수행되었고 이어서 LC-MS에 의한 경쇄의 콘주게이션 효율이 분석되었다 (표 14).

표 14. 콘주게이션 반응에서 프로필렌 글리콜 농도의 최적화

프로필렌 글리콜 (%)	콘주게이션된 Ab LC (%)
0	8 %
20	48 %
50	100 %

LC 질량: 미 콘주게이션된, 23536 Da; 콘주게이션된, 24367 Da.

[0364]

[0365] 50% 프로필렌 글리콜은 이용가능한 부위의 전체 점유를 초래하였고, 사용될 최종 농도로서 선택되었다. mAb의 결합에서 손실 없음은 콘주게이션 이후 관측되었고 (데이터 도시되지 않음), 프로필렌 글리콜이 항체에 유해한 효과를 갖지 않는다는 것을 명시하였다. 따라서, 선택된 최종 콘주게이션 반응 조건은 실온에서 3.5-4 시간 동안 2.5 mg/mL mAb 최종, 0.5X DPBS내 말레이미도-링커-세포독소:mAb의 6:1 몰비 (프로필렌 글리콜 첨가후 최종 농도), 0.5 mM EDTA, 50% 프로필렌 글리콜, pH 7.2이었다. 이를 반응에서, 프로필렌 글리콜은 말레이미도-링커-세포독소의 첨가에 앞서 첨가된다.

[0366]

2.1.4 ADCs 및 생체물리학적 특성규명의 제조

[0367]

섹션 2.1.2에서 기재된, 확립된 환원 및 콘주게이션 조건은 표 15에서 열거된 제1 10 MORAb-003 ADCs를 제조하는데 사용되었다. 잔존 ADCs는, M-MMAE 및 M-DM1을 예외로, 환원된 디설파이드 브릿징 또는 제한된 리신 이용에 의해 제조되었다. M-MMAE 및 M-DM1은 Concortis Biosystems, Inc.에 의해 제조되었고, 콘주게이션된 형태로 수용되었다.

[0368]

환원된 디설파이드 브릿징 화학은, 환원된 디설파이드당 1 세포독소를 제공하는, 부분적인 환원 공정 동안 유리 티올을 거쳐 브릿지를 생산하였다. 이론상, DAR = 4의 항체는 재-브릿징된 양쪽 H-L 및 헌지 디설파이드를 가질 것이고, 전통적 콘주게이션 접근법에 대해 증가된 안정성 및 균질성을 가진 ADC를 제공한다. 제한된 리신 이용은 전형적인 인간 IgG 분자에서 이용가능한 추정된 70+ 용매-노출된 리신의 매우 제한된 수의 콘주게이션을 초래한다. 이러한 방법을 사용하여 제조된 MORAb-003 콘주게이트는 2.0의 DAR을 초래하였고, 단일 리신이 H-L 쌍

당 이용되었다는 것을 시사하였다.

[0369] 모든 ADCs는 HiPrep 26/10 탈염 크로마토그래피에 의해 정제되었고 DPBS로 제형화되었다. DAR 분석은 LC-MS에 의해 모든 제조된 ADCs에서 수행되었고 응집 수준은 SEC-HPLC에 의해 결정되었다. 이를 DAR 및 응집 분석의 결과는 각각의 ADC와 나란히 표 15에서 열거된다.

표 15. MORAb-003 ADCs의 생체물리학적 분석

	화합물 명칭	DAR	응집 (%)
1	PEG3-Bz-디설파딜-디메틸-크립토피신	3.7 - 3.9	29
2	LL2-크립토피신	3.2	18 - 36
3	LL3-크립토피신	3.2 - 3.7	22 - 36
4	VCP-크립토피신	3.4	50
5	VCP-에리불린	3.6	0 - 2.6
6	ER-001161318	3.5	3.2
7	ER-001161319	3.5	3.1
8	ER-001159200	2.8	
9	M-MMAE	4.0	2
10	NHS-PEG2-AuF	5.0	
11	M-DM1	3.6	1.8
12	M-0285	4.0	1.2
13	M-0115	4.0	0.4
14	M-172	3.1	3.6
15	M-174	2.8	4.4
16	M-158	4.5	3.8
17	M-0384	4.2	4.2
18	M-0302	4.3	3.3
19	M-292	4.0	4.5
20	M-0026	4.2	3.3
21	M-0267	4.0	2.9
22	M-0272	3.3	1.5
23	M-0260	3.2	1
24	M-0276	4.6	6.2
25	M-015-0913	2.0	<1
26	M-030-0132	2.0	<1
27	M-0161	2.1	2.4
28	M-0157	2.0	<1
29	M-027-0381	2.0	<1
30	M-0025	2.0	1.7
31	M-0301	2.0	1.4
32	M-030-0011	2.0	<1
33	M-030-0291	2.0	<1
34	M-0255	3.6	5.9
35	M-0114	4.0	3.9

[0370]

[0371] 모든 ADCs에 대하여 DAR 값은 사전-결정된 범위 (3 내지 4의 DAR)이었다. 크립토피신-기반 ADCs에 대하여 응집 물 수준은 원하는 것보다 상당히 더 높았고 (>10%), 반면에 에리불린-기반 (VCP-에리불린) 및 메이탄신-기반 말레이미도-링커-세포독소 (ER-001161318, ER-001161319, 및 M-MMAE)는 모두 허용가능한 응집물 수준을 실증하였다. 다른 유기 공-용매에 조사는 VCP-크립토피신을 사용하여 MORAb-003에 대한 콘주케이션 반응에서 수행되었다. 시험된 공-용매는 DMSO (10%), N,N-디메틸포름아미드 (20%), N,N-디메틸아세트아미드 (20%), 및 N,N-디메틸프로피온아미드 (20%)이었다. 이를 공-용매를 사용하여 콘주케이션 이후 응집물 수준은 모두 50% 프로필렌 글리콜과 맞먹거나, 이보다 더 높았다.

[0372] 비-환원 SDS-PAGE 분석은 ADCs의 서브셋에서 수행되었다 (도 5). 모든 이를 ADCs용 DAR이 4인 것으로 결정되었기 때문에, 양쪽 H-L 및 양쪽 힌지 디설파이드가 재-브릿징될 수 있음에 따라, 이를 ADCs가 ~ 160 kD의 온전한 IgG로서 이주할 수 있다고 생각되었다. ADCs의 이러한 서브셋은 M-MMAE (레인 2), M-DM1 (레인 3), M-0026 (레인 4), M-0260 (레인 5), M-0267 (레인 6), M-0272 (레인 7), M-0285 (레인 8), M-292 (레인 9), M-027-0381

(레인 10), 및 M-0384 (레인 11)을 포함하였다 (도 5). 도 5에서, 레인 1은 단백질 표준에 상응한다.

[0373] 환원된 디설파이드 브릿징 화학 ADCs (레인 4-9, 11)에 대하여, 온전한 ADC에 더하여, 상당한 H-L 1가 총 (80 kD)가 있다는 것이 이러한 분석으로부터 명백하다. 이것은, 쇄간 힌지 브릿징에 더하여, 상당한 쇄내 힌지 디설파이드 브릿징이 있다는 것을 명시하다. SEC-HPLC 분석은 ADCs가 단일 온전한 IgG로서 이주하는 것을 명시하고, 쇄내 H-H 브릿징을 가진 ADCs에 대하여, 중쇄가 최종 ADC에서 비-공유적으로 관련되는 것을 명시한다.

[0374] 2.2 MORAb-003 ADCs의 시험관내 효력 분석

[0375] 2.2.1 IGROV1 및 SJSA-1 세포의 세포독성

[0376] 제조된 ADCs의 시험관내 효력은 섹션 1.4.1에서 상세히 설명된 바와 같이 크리스탈 바이올렛 검정을 사용하여 평가되었다.

[0377] 모든 MORAb-003 ADCs의 초기 스크리닝은 IGROV1 (FR^{hi+++}) 및 SJSA-1 (FR^{neg-}) 세포에서 수행되었다. IGROV1 세포는 인간 난소 상피성 암종 기원이고 MORAb-003의 표적 항원인, 폴레이트 수용체 알파 (FR)의 높은 수준을 발현시킨다. SJSA-1 세포는 폴레이트 수용체 알파에 대하여 음성인 인간 골육종 종양 세포주이다. 선택된 ADCs의 스크리닝은 CaOV3 (인간 난소 암종, FR^{med++}), NCI-H2110 (인간 비-소 세포 폐 암종, FR^{med++}), 및/또는 OVCAR3 (인간 난소 암종, FR^{med++}) 세포에서 또한 수행되었다. 이러한 스크리닝의 결과는 표 16에서 제공된다.

표 16. 다양한 종양 세포주에서 MORAb-003 ADCs의 세포독성 (IC_{50}) 스크리닝

화합물 명칭	IGROV1	SJSA-1	CaOV3	NCI-H2110	OVCAR3
PEG3-Bz-디설파이드-디메틸-크립토피신	0.067	0.41			

[0378]

LL2-크립토피신	0.023	4.7	0.33		
LL3-크립토피신	0.086	12.7	0.19		0.094
VCP-크립토피신	0.03	~100	0.02		
VCP-에리불린	0.054	>100	3.7	0.73	0.16
ER-001161318	0.26	>100	3.1		
ER-001161319	0.49	>100	11.3		
ER-001159200	6.5	>100	9.2		
M-MMAE	0.2	253			
NHS-PEG2-AuF	0.2	>500			
M-DM1	55	132			
M-0285	0.3	>100		14	8.8
M-0115	0.54	>100			
M-172	>500	>500			
M-174	>500	>500			
M-158	>500	>500			
M-0384	2.25	2.45			
M-0302	330	>500			
M-292	1.7	>500			
M-0026	1.38	540			
M-0267	0.029	0.028			
M-0272	0.252	1.02			
M-0260	0.383	0.036			
M-0276	0.43	30			
M-015-0913	>500	>500			
M-030-0132	>500	17.3			
M-0161	>500	>500			
M-0157	>500	>500			
M-027-0381	14.5	28			
M-0025	>500	>500			
M-0301	>500	>500			
M-030-0011	61.6	>500			
M-030-0291	>500	105			
M-0255	0.12	0.46			
M-0114	144	>100			

[0379]

[0380] 모든 값은 nM으로 IC₅₀s이고, 수행된 경우, 복제 실험의 평균 값이다.

[0381]

VCP-에리불린 ADC는 IGROV1 세포에서 강력하였고 (54 pM) SJS-1 세포에서 거의 사멸을 갖지 않았다. 이들 세포 주에 대하여, VCP-에리불린 ADC는 동등 DAR 값을 가진 ADCs, 예컨대 M-MMAE 및 M-DM1에 비해 더 높은 효력 및 특이성을 실증하였다. VCP-에리불린 ADC는 난소 (CaOV3 및 OVCAR3) 및 비-소 세포 폐 암종 (NC-H2110) 기원의 추가의 FR-발현 종양 세포주에서 강력한 세포독성을 또한 실증하였다.

[0382]

ADCs VCP-에리불린, LL2-크립토피신, LL3-크립토피신, VCP-크립토피신, ER-001161318, ER-001161319, 및 ER-001159200은 CaOV3 (FR^{med(++)}) 세포에서 특이적 세포독성 (특이성의 > 2-logs)을 표시하였다. 다수의 이들 ADCs는 하위-나노몰 효력을 표시하였다. 크립토피신 콘주게이트는 IGROV1 세포내 효력의 높은 수준 (23 pM - 86 pM)을 또한 실증하였지만, VCP-크립토피신을 예외로, SJS-1 세포에서 측정가능한 세포독성을 또한 실증하였다. 절단가능한 메이탄신 콘주게이트 ER-001161318 및 ER-001161319는 IGROV1에서 중간체 효력 (0.26 nM 및 0.49 nM)을 가졌고, SJS-1 세포의 부정확한 사멸을 거의 갖지 않았다.

[0383]

모든 제한된 리신 이용 콘주게이트는 특이성 없음을 실증하였고 추가로 평가되지 않았다. 듀오스타틴-3 (M-0285), 듀오스타틴-5 (M-0115), 및 듀오스타틴-14 (M-292 및 M-0026)의 환원된 디설파이드 브릿징 기술을 사용하는 절단가능한 콘주게이트는 모두, SJS-1 세포주에서 세포독성 거의 없이, IGROV1 세포주에서 특이적 세포독성을 실증하였다. 아우리스타틴의 유도체인, 듀오스타틴-3 및 듀오스타틴-5 콘주게이트는, 메이탄신 유도체인, 듀오스타틴-14 콘주게이트보다 효력에서 약간 더 높았다. 효력 및 특이성은, 모노메틸 E에 부착된 Val-Cit-pAB (VCP) 링커를 사용하는, 대조군 M-MMAE 콘주게이트에 비교할만 하였다. 비-절단가능한 환원된 디설파이드 화학 콘주게이트는 모두 충분한 효력 또는 특이성이 부족하였고, 추가로 분석되지 않았다.

[0384] 2.2.2 인간 플레이트 수용체-발현 난소 암 세포주 CaOV3에서 세포독성

[0385] 선택 MORAb-003 ADCs의 효력은 인간 난소 종양 세포주 OVCAR3 및 CaOV3, 뿐만 아니라 인간 NSCLC 세포주 NCI-H2110에서 또한 결정되었다 (표 16). 인간 난소 세포주 CaOV3에서, 크립토피신 콘주케이트는, IGROV1 세포에서 관측된 것과 달리, VCP-에리불린 콘주케이트보다 측정가능하게 더 높은 효력을 실증하였다. 이것은 IGROV1에 비교하여 CaOV3 세포에서 플레이트 수용체 알파의 더 낮은 발현 수준, 또는 에리불린에 비교하여, 이들 세포에서 크립토피신의 더 높은 효력 때문일 수 있다. 메이탄신-기반 콘주케이트 ER-001161318, ER-001161319, 및 ER-001159200은 모두 VCP-에리불린에 유사한, 또는 이보다 낮은 효력을 가졌다.

[0386] 2.3 VCP-에리불린, ER-001161318, 및 M-0285의 방관자 사멸

[0387] 방관자 사멸 활성을 평가하기 위해, 검정은 2 표지된 세포주를 사용하여 셋업되었다. 이 검정에서, Nuclight™ Green으로 표지된 IGROV1 세포 (FR^{hi}) 및 Nuclight™ Red로 표지된 HL-60 (FR^{neg})는 상이한 세포 수 비로 공-배양되었고, MORAb-003 ADCs VCP-에리불린, ER-001161318, 또는 M-0285의 적정으로 처리되었다. VCP-에리불린은 말레이미도-PEG₂-Val-Cit-pAB 절단가능한 링커를 포함하는 에리불린-기반 ADC이고, 반면 ER-001161318은 말레이미도-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB 절단가능한 링커를 포함하는 메이탄신-기반 ADC이고 M-0285는 PEG-pAB 절단가능한 링커를 포함하는 듀오스타틴-기반 ADC이다. 세포독성은 Incucyte Zoom® 세포 이미저로 모니터링되었다. 이러한 방관자 세포독성 검정의 결과는 표 17 및 도 6A-C에서 나타난다.

표 17. FR-양성 및 FR-음성 세포주의 공-배양에서 VCP-에리불린의 방관자 사멸 활성

EC ₅₀ (nM)			
IGROV-1	HL-60	HL-60 (IGROV-1로 공-배양)	HL-60 (에리불린)
0.0005972	39.74	0.2399	0.1702

[0388] [0389] HL-60 (FR^{neg}) 세포가 IGROV1 (FR^{hi}) 세포에 2:1 비로 배양된 경우, MORAb003-VCP-에리불린으로 치료는, HL-60 세포 단독과 비교하여, HL-60 세포의 사멸에서 2-log 증가를 초래하였다 (표 17 및 도 6A). 이들 데이터는 플레이트 수용체 알파 (FR) 표적-음성 세포가, 본 명세서에서 방관자 사멸로서 지정된, FR 표적-양성 세포로 공-배양된 경우 MORAb003-VCP-에리불린에 의해 더 효과적으로 사멸되는 것을 시사한다. 방관자 사멸은, 표적-양성 세포로 공-배양의 부재 하에 그리고 상기와 독립적으로, 표적-음성 세포 스스로의 사멸로서 정의되는, 부정확한 사멸과 구별가능하다. 방관자 사멸에서 관측된 증가는 자유 에리불린으로 HL-60 세포의 치료 이후 관측된 증가에 또한 거의 동일하여, 방관자 효과에 대하여 잠재적인 기전을 명시하였다. 어떤 이론에 의해 구속되기를 바라지 않으면서, MORAb003-VCP-에리불린은, 세포자멸사를 또한 경험하고 자유 에리불린을 배양물 속에 방출시키는, FR-양성 IGROV1 세포에서 또는 근처에서 절단될 수 있다. 방출된 세포독소는 FR-음성 HL-60 세포를 사멸시킬 수 있다.

[0390] 그에 반해서, 단지 약간의 시프트는 MORAb003-ER-001161318에 대하여 관측되었고 (도 6B), 시프트 없음은 MORAb003-0285로 관측되었다 (도 6C). HL-60:IGROV1 비가 2:1에서 1:2로 낮아진 경우, HL-60 세포의 측정가능한 사멸은, HL-60 세포 단독에 비해, MORAb003-ER-001161318에 대하여 관측되었고, 반면 방관자 효과는, 검출가능할 지라도, MORAb003-0285에 대하여 여전히 낮게 유지하였다. 이들 데이터는, 방관자 사멸에 관하여, 평가된 MORAb-003 ADCs가 VCP-에리불린 > ER-001161318 > M-0285로서 등급화될 수 있다는 것을 시사한다.

[0391] 2.4 혈청 안정성 분석

[0392] 세포독소가 순환에서 방출되면 독성에 대한 잠재력 및 ADCs의 생체내 긴 순환 반감기를 감안하면, ADCs는 혈청에서 안정성을 실증할 수 있다. MORAb-003 ADCs VCP-에리불린, ER-001161319, 및 M-0285는 최대 48 시간 동안 37°C에 인간 또는 마우스 혈청에서 사전인큐베이션되었고, 그 다음 IGROV1 및 SJS-1 세포로 세포독성 검정에서 평가되었다. ER-001161319은 VCP-에리불린, 말레이미도-PEG₂-Val-Cit-pAB와 동일한 절단가능한 링커를 포함하는 메이탄신-기반 ADC이다. PBS 및 혈청 대조군은 검정 성능에서 임의의 혈청 효과를 보정하기 위해 포함되었다. 이러한 연구의 결과는 표 18에서 나타난다.

표 18. 선택된 MORAb-003 ADCs 의 혈청 안정성

시간	세포-기반 세포독성 검정, EC ₅₀ , nM									
	MORAb003-VCP 에리불린			MORAb003-ER001161319			MORAb003-0285			
	PBS	인간 혈청	마우스 혈청	PBS	인간 혈청	마우스 혈청	PBS	인간 혈청	마우스 혈청	
IGROV1	0hr-PBS	0.021	0.013	0.02	0.28	0.15	0.2	0.074	0.089	ND
	0hr-혈청	0.022	0.014	0.01	0.15	0.15	0.2	0.063	0.078	0.049
	4hr	0.03	0.018	0.019	0.14	0.17	0.25	0.065	0.075	0.049
	24hr	0.024	0.019	ND	ND	0.27	0.9	0.059	0.074	0.044
	48hr	0.022	0.021	0.03	0.21	0.73	2.56	0.043	0.05	0.051
SJSAs-1	0hr-PBS	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	0hr-혈청	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	4hr	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	24hr	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	48hr	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

[0393] 음영된 박스는 T=0 샘플로부터 효력에서 상당한 감소를 명시한다.

[0394] [0395] VCP-에리불린 및 M-0285가 어느 한쪽 혈청에서 적어도 48 시간 동안 안정적이었던 반면, ER-001161319는 48 시간후 효력에서 상당한 하락을 실증하였다. 이것은, 이전에 문헌에서 기재되어 있지 않았던, 메이탄신에 아지리디노-카바메이트 연결 때문일 수 있다. 방출된 화합물의 형태는, 세포독성에서 증가 없음이 SJSAs-1 세포에서 보여졌기 때문에, 고도로 강력할 수 없다.

2.5 MORAb003-VCP-에리불린으로 시험관내 연구

2.5.1 DAR 및 생성물 불균질성의 HIC-HPLC 분석

[0396] [0397] MORAb003-VCP-에리불린 및 MORAb003-0285는 대안적 방법에 의해 DAR을 평가하기 위해 그리고 미콘주케이션된 항체 (경쟁자)의 함량 및 생성물 불균질성을 시험하기 위해 HIC-HPLC에 의해 분석되었다. MORAb003-VCP-에리불린은, 환원 및 콘주케이션에 대하여 사용된 방법과 일치하는, 0, 2, 4, 및 6의 DAR 종을 갖는 것으로 나타났다 (도 7A). DAR = 0 종의 초저 양은 판측되었다. AUC 계산에 기반된, 전반적인 DAR은, LC-MS에 의해 결정된 값과 일치하는, 3.80이었다. MORAb003-0285는, 단일 DAR 종을 명시하는, HIC-HPLC에 의해 단일 피크로서 이주하였다 (도 7B). 이것은 DAR 4.0으로서 배정되었다.

2.5.2 경쟁 검정에 의한 특이성

[0398] [0399] MORAb-003-VCP-에리불린 세포독성의 항원 특이성은 경쟁 검정 포맷을 사용하여 the VCP-에리불린 콘주케이트에 대하여 실증되었다 (도 8). 이 실험에서, MORAb-003-VCP-에리불린 (시작 농도 100 nM)의 적정은 2 μ M 미콘주케이션된 MORAb-003으로 공-인큐베이션되었다. 미콘주케이션된 MORAb-003은, KB 세포에서, II 기 임상시험내 현재 면역원으로부터 항-인간 폴레이트 수용체 알파-메이탄신 ADC인, IMGN853으로 수득된 결과에 유사한, IGROV1 세포에서 효력의 2-log 시프트를 제공하였다 (Moore 등, 2015 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, Abstract 5518).

2.5.3 NCI-H2110 NSCLC 세포에서 세포독성

[0400] [0401] 인간 NSCLC 세포주 NCI-H2110에서 양쪽 MORAb003-VCP-에리불린 및 MORAb003-0285에 대하여 세포독성은 크리스탈 바이올렛 검정을 사용하여 수행되었다. 이 검정의 결과는 표 16에서 나타난다. MORAb003-VCP-에리불린은 0.73 nM의 IC₅₀을 가졌고, 반면 MORAb003-0285는 14 nM의 IC₅₀을 가졌다.

2.6 생체내 연구

2.6.1 CD-1 마우스 균주에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)의 최대 용인된 용량 (MTD)

[0402] [0403] 미접촉 CD-1 마우스는 표 19에서 스케줄에 따라 200 μ L의 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 체중은 투약 일에 용량에 앞서, 용량후 24 시간, 및 그 후에 1주 3회 측정되었다. 동물은 연구 지속기간 내내 임상 웰빙에 대하여 판측되었다. 투약 2주 후, 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 연구의 마지막에 (그리고 임의의 마우스가 연구 동

안 안락사되었거나 죽은 채 발견되었다면) 안락사된 마우스는 검시를 위하여 처리되었다. 기관은 조직 손상의 정후에 대하여 검사되었다.

표 19. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	3	MORAb-202	비 히클*	0	i.v.
2			10		
3			20		
4			40		
5			80		

[0406]

[0407]

상당한 체중 손실 없음은 PBS-치료된 대조군 그룹, 또는 치료 동안 독성을 명시하는 임의의 임상 발견과 비교된 임의의 치료 그룹에서 관측되었다. 개별 마우스의 체중은 표 20에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 21에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 9에서 도시된다. 볼러스 정맥내 투여를 통해 용량 최대 80 mg/kg에서 MORAb-202는 무 독성을 생산하였다. 따라서, MTD는 80 mg/kg 초과이다.

EX 후 일수	PBS 대조군 A:Y1 A:Y2	MORAb-202 10mg/kg		MORAb-202 20mg/kg		MORAb-202 40mg/kg		MORAb-202 80mg/kg	
		B:Y1 B:Y2	C:Y1 C:Y2	D:Y1 D:Y2	E:Y1 E:Y2	F:Y1 F:Y2	G:Y1 G:Y2		
0	22.50	20.80	21.20	22.60	23.50	21.80	21.00	23.80	21.70
1	23.60	21.50	22.00	22.80	23.50	21.40	21.50	23.60	21.60
2	23.30	21.90	22.00	23.30	24.00	22.50	22.10	23.60	21.80
4	23.30	21.90	22.00	23.30	23.50	23.20	31.00	23.00	24.10
7	23.50	23.10	22.70	24.50	22.20	23.50	23.00	22.00	22.70
9	24.80	22.50	22.80	24.90	25.00	26.00	31.70	23.40	25.50
11	24.20	23.40	23.20	24.30	25.10	31.00	32.40	25.30	25.80
14	24.00	23.50	24.40	25.80	25.70	33.20	32.40	24.10	25.70

무작위화 후 일수	PBS sem	MORAb-202 10 mg/kg			MORAb-202 20 mg/kg			MORAb-202 40 mg/kg			MORAb-202 80 mg/kg		
		평균 (g)	n	평균 (g)	sem	평균 (g)	n	평균 (g)	sem	평균 (g)	n	평균 (g)	n
0	21.4	0.6	3	22.6	0.5	3	24.9	2.0	3	22.9	0.6	3	24.7
1	22.4	0.6	3	23.2	0.3	3	25.9	2.3	3	22.9	0.7	3	26.2
2	22.4	0.5	3	23.4	0.3	3	26.8	2.4	3	23.3	0.8	3	26.6
4	22.4	0.5	3	23.5	0.2	3	28.1	2.5	3	23.7	0.5	3	27.2
7	23.2	0.4	3	25.0	0.1	3	28.5	2.4	3	24.7	0.6	3	27.9
9	23.3	0.7	3	25.1	0.1	3	28.6	2.6	3	24.9	0.6	3	28.3
11	23.6	0.3	3	24.6	0.3	3	29.1	2.7	3	24.7	0.5	3	27.2
14	24.0	0.3	3	25.7	0.1	3	29.9	2.9	3	25.8	0.3	3	26.5

표 20

[0408]

표 21

[0409] 2.6.2 CD-1 마우스에서 에리불린의 최대 용인된 용량

[0410] 미접촉 CD-1 마우스는 표 22에서 스케줄에 따라 200 μ L의 에리불린으로 정맥내로 주사되었다. 체중은 각각의 투약 일에서 용량에 앞서 그리고 각각의 용량 이후 24 시간에서 1주 3회 측정되었다. 동물은 연구 지속기간 (마지막 용량후 2주) 내내 임상 웰빙에 대하여 관측되었다. 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 연구의 마지막에 (그리고 임의의 마우스가 연구 동안 안락사되었거나 죽은 채 발견되었다면) 안락사된 마우스는 검시를 위하여 처리되었다. 기관은 조직 손상의 징후에 대하여 검사되었다.

표 22. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	3	에리불린	PBS	0	q4dx3 i.v.
2			0.4		
3			0.8		
4			1.6		
5			3.2		

[0411] [0412] 상당한 체중 손실 또는 독성을 명시하는 임상 발견은, q4dx3 투약 레지멘 (총 3 용량에 대하여 매 4일 1회)를 사용하여, 용량 최대 1.6 mg/kg에서 에리불린 투여된 동물에서 관측되지 않았다. 동일한 스케줄로 3.2 mg/kg의 투여는 제2 용량후 모두 3 마우스에서 텔세움을 유도하였다. 중증 체중 감소 (제2 용량후, 1 마우스, #552에서 23% 손실; 제3 용량후, 나머지, #551 및 #552에서 17% 및 8%)는, PBS-치료된 대조군에 비교하여, 관측되었다. 총 변화는 검시 동안 마우스의 기관에서 관측되지 않았다. 개별 마우스의 체중은 표 23에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 24에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 10에서 도시된다.

[0413] q4dx3 투약 레지멘을 사용하는, 용량 최대 1.6 mg/kg에서 에리불린은 무 독성을 생산하였고, 반면 3.2 mg/kg은 중증 체중 감소를 유도하였다. 따라서, 에리불린의 MTD는, 이 연구에서, 1.6 mg/kg, q4dx3이다.

III 23

번호	PBS				예리풀 0.4mg/kg				예리풀 0.8mg/kg				예리풀 1.2mg/kg				예리풀 1.6mg/kg			
	A.Y1	A.Y2	A.Y3	B.Y1	B.Y2	B.Y3	C.Y1	C.Y2	C.Y3	D.Y1	D.Y2	D.Y3	E.Y1	E.Y2	E.Y3	F.Y1	F.Y2	F.Y3		
0	26.50	24.40	22.40	21.84	20.02	22.43	23.10	23.50	23.10	21.90	21.50	21.50	23.70	24.30	23.70	22.00	23.47	22.31		
1	28.13	25.11	26.38	22.70	24.40	24.00	22.43	23.03	23.60	24.46	21.13	24.10	24.15	22.31	22.20	22.20	23.47	20.57		
4	25.60	25.10	24.40	22.70	22.30	24.00	24.00	23.80	23.80	24.40	24.50	21.70	24.10	23.30	20.90	22.20	22.20	17.50		
5	26.40	24.30	26.50	22.30	24.10	23.40	24.10	24.00	24.00	24.60	21.50	24.50	24.10	20.90	22.70	22.70	16.50			
8	27.50	25.70	26.50	23.30	23.70	25.20	24.00	24.00	24.00	23.50	21.90	24.50	24.20	21.80	23.50	23.50	23.50	9003.00		
9	27.50	25.50	24.40	22.90	23.40	23.40	24.00	24.70	25.30	21.80	24.80	24.30	20.20	20.20	23.00	23.00	23.00			
11	27.50	25.60	24.40	22.60	23.50	25.00	24.70	25.10	26.00	22.20	25.70	24.70	20.00	23.30	23.30	23.30	23.30			
13	27.40	25.50	26.40	23.70	23.90	26.50	25.30	25.80	26.50	22.80	25.80	25.20	21.40	21.40	23.70	23.70	23.70			
16	27.20	25.80	26.20	24.70	24.10	26.70	25.40	25.80	26.70	23.40	26.70	26.10	21.60	21.60	24.30	24.30	24.30			
18	27.00	27.40	25.30	24.30	24.50	27.50	26.20	26.00	27.50	27.50	24.70	27.50	26.20	25.90	25.90	25.90	25.90			
20	28.10	27.80	26.50	26.10	25.70	28.50	28.20	28.40	28.20	28.10	28.40	28.00	26.00	26.80	26.80	26.80	26.80			

각각의 칼립은 개별 동물을 나타낸다.
*9003. >20% 체중 감소로 안락사됨.

표 24

주사/후 일수	PBS			에리불린 0.0mg/kg			에리불린 0.0mg/kg			에리불린 1.0mg/kg			에리불린 2.0mg/kg		
	평균 [g]	sem	n	평균 [g]	sem	n	평균 [g]	sem	n	평균 [g]	sem	n	평균 [g]	sem	n
0	24.8	0.9	3	23.4	0.6	3	24.8	0.5	3	23.3	0.7	3	23.8	0.9	3
1	25.9	1.2	3	22.8	0.7	3	23.7	0.4	3	23.1	1.0	3	22.1	0.8	3
4	25.0	0.3	3	23.6	0.4	3	24.2	0.2	3	23.0	0.7	3	20.2	1.4	3
5	25.2	0.6	3	23.3	0.5	3	24.3	0.3	3	23.4	0.9	3	20.2	1.7	3
8	25.9	0.9	3	24.1	0.6	3	24.9	0.6	3	23.5	0.8	3	23.9	0.9	2
9	25.8	0.9	3	23.9	0.8	3	24.7	0.4	3	23.6	0.9	3	23.6	1.1	2
11	25.8	0.9	3	24.0	0.9	3	25.3	0.4	3	24.2	1.0	3	23.7	1.3	2
13	26.5	0.6	3	24.7	0.9	3	25.8	0.4	3	24.6	0.9	3	23.6	0.9	2
16	26.8	0.3	3	25.2	0.8	3	25.9	0.3	3	25.4	1.0	3	24.0	0.3	2
18	27.2	0.4	3	25.7	1.1	3	27.4	0.6	3	26.3	0.9	3	25.9	0.0	2
20	27.4	0.5	3	26.8	0.9	3	27.2	0.9	3	26.8	1.1	3	26.4	0.3	2

[0415]

2.6.3 MORAb003-VCP-에리불린의 최소 유효한 용량의 평가

CB17-SCID 마우스내 hNSCLC NCI-H2110 모델에서 (MORab-202)

인간 NSCLC, NCI-H2110 세포, 통로 47은 30 CB17 SCID 마우스 (암컷, 5 내지 6 주령, 체중 20 그램)에서 피하로 이식되었다. 이식후 14 일후, 마우스는 5 그룹으로 무작위 추출되었다. 치료 일 (일 0)에서 각각의 그룹 평균 종양 용적은 154-175 mm³ 범위이었다 (표 27). 등록된 마우스는, 연구 설계에 따라, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb003-VCP-에리불린 (MORab-202) (Lot# NB2900-87E 10/07/15)로, 5 mg/kg에서 대조군으로서 MORAb-003-0285 (Lot# 042-150-002)로, 또는 PBS로 치료되었다 (표 25). 각각의 그룹은 그룹에서 임의의 동물내 종양 용적이 >2000 mm³인 경우 연구로부터 제거되었다. 마지막 그룹은 일 61에서 종결되었다.

표 25. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	5	PBS	0	단일 볼러스	i.v.
2		MORAb-003-VCP-에리불린	1		
3		MORAb-003-VCP-에리불린	2.5		
4	4 ¹	MORAb-003-VCP-에리불린	5		
5	5	MORAb003-0285	5		

[0419]

[0420] 개별 마우스에서 종양 용적은 표 26에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 27에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 평균의 표준 오차, SEM)에 대하여 종양 성장 동력학은 도 11에서 도시되고, 개별 마우스내 종양 용적, 뿐만 아니라 그룹 평균 및 SEM은 도 12에서 도시된다. (제1 종양 용적 $>2000 \text{ mm}^3$ 이 관측된 경우) 일 17 종양 용적에 기반하여, MORAb-202는 1 mg/kg ($p = 0.002$ 대 염수)에서 47%의 종양 성장 억제 (TGI), 2.5 mg/kg ($p < 0.0001$ 대 염수)에서 96%의 TGI를 야기시켰다. 그러나, 퇴화된 종양은 치료 종료 후 1 내지 2 주 재성장하였다. 종양은 5 mg/kg의 MORAb-202로 치료된 마우스에서 검출되지 않았다.¹ 이 그룹에서 4 마우스. 1 마우스는 치료 주사 오류 때문에 이 그룹에서 제외되었고, 이는 전기화학발광 면역검정 (ECLIA) 데이터에 기반하여 동물 혈청에서 화합물의 부재에 의해 확인되었다. 이들 마우스는 단일 용량 치료 후 60 일 넘게 종양 없이 남아있었다. MORAb-003-0285는 5 mg/kg ($p < 0.0001$ 대 염수)에서 89.7%의 TGI를 야기시켰다.

[0421]

개별 마우스의 체중은 표 28에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 29에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 13에서 나타난다.

[0422]

상당한 체중 손실은 대조군과 비교된 임의의 치료 그룹에서 관측되지 않았다.

[0423]

MORAb-202는 NCI-H2110 종양 성장에서 상당한 효과를 보여주었다. 종양 퇴행은 94%의 TGI로 2.5 mg/kg (대 PBS)에서 볼러스 치료에 의해 달성되었다. 따라서, MORAb-202의 최소 유효한 용량은, 이 모델에서 시험된, 2.5 mg/kg이다. 완전한 종양 박멸은 단일 용량에 의해 5 mg/kg에서 달성되었다. 종양 성장은 60 일 넘는 동안 관측되지 않았다.

표 26. 종양 용적

무자위회초 일수	PBS	MORAb-202 1mg/kg				MORAb-202 2.5 mg/kg				MORAb-202 5mg/kg				003-0285 5mg/kg			
		150	187	189	92	120	236	110	202	159	146	65	208	241	243	97	
0	164	195	137	300	80	178	218	133	118	150	187	97	115	68	83	259	358
3	368	413	279	587	171	178	207	104	106	216	144	69	148	40	115	68	252
5	327	481	285	555	190	161	193	83	95	215	75	51	37	35	56	14	52
6	467	758	541	894	275	257	258	139	160	348	61	52	58	33	57	7	28
7	642	815	621	1055	395	317	306	182	167	476	64	54	53	36	57	8	48
10	891	1238	895	1328	662	506	494	230	285	708	24	37	35	15	71	0	0
12	993	1274	983	1519	1115	638	655	371	361	865	40	21	51	9	69	0	0
14	981	1410	1131	1695	971	848	812	402	418	901	41	30	37	0	89	0	0
17	1320	1723	1319	2089	1466	955	980	727	592	946	46	33	64	0	161	0	0
19						838	1030	856	602	953	56	37	90	0	282	0	0
24										102	37	197	0	702	0	0	0
26										168	102	319	0	790	0	0	0
28										269	54	474	9	990	0	0	0
31										362	105	558	13	1187	0	0	0
33										496	124	588	9	1461	0	0	0
35										573	212	669	16	1847	0	0	0
38										764	348	952	20	2367	0	0	0
40															0	0	0
42															0	0	0
45															0	0	0
47															0	0	0
52															0	0	0
54															0	0	0
59															0	0	0
61															0	0	0

[0425]

각각의 칼럼은 개별 동물을 나타낸다.

표 27

동작위회후 일수	PBS			MORAb-202 1mg/kg			MORAb-202 2.5mg/kg			MORAb-202 5mg/kg			MORAb-003-0285 5mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	175.2	36.41527	5	159.4	17.68781	5	164.8	25.8917	5	154.25	16.95792	4	170.8	37.46065	5
3	363.6	69.3831	5	162.2	24.14101	5	104.6	17.7581	5	72.75	13.88661	4	231.2	48.4055	5
5	367.6	66.241275	5	149.4	26.13343	5	50.8	7.242607	5	31.25	7.500133	4	145.2	31.14483	5
6	587	108.7468	5	232.4	37.74183	5	52.2	5.005179	5	20	4.14008	4	170.2	37.81015	5
7	705.6	109.7441	5	289.6	55.74694	5	52.8	4.611415	5	23	7.76666	4	178.6	40.08123	5
10	1002.8	122.532	5	444.6	85.61518	5	36.4	9.499597	5	0	0	4	140.2	35.30337	5
12	1176.8	100.25	5	578	95.18355	5	38	10.62087	5	0	0	4	130	36.5513	5
14	1237.6	138.9994	5	676.2	109.4307	5	39.4	14.30871	5	0	0	4	123.4	34.69758	5
17	1583.4	146.0629	5	840	76.78507	5	60.8	27.09899	5	0	0	4	162.6	58.96373	5
19				855.8	72.16584	5	93	49.35207	5	0	0	4	212.4	79.06236	5
24							207.6	127.8177	5	0	0	4	538.4	219.5123	5
26							275.8	138.3498	5	0	0	4	690.8	249.2466	5
28							359.2	177.874	5	0	0	4	842.6	310.8141	5
31							445	208.4929	5	0	0	4	1173.2	373.2365	5
33							555.6	255.2269	5	0	0	4			
35							663.4	318.1881	5	0	0	4			
38							890.2	402.5237	5	0	0	4			
40									0	0	4				
42									0	0	4				
45									0	0	4				
47									0	0	4				
52									0	0	4				
54									0	0	4				
59									0	0	4				
61									0	0	4				

[0426]

표 28

무작위번호 일수	PBS	MORAb-202.1mg/kg						MORAb-202.5mg/kg						MORAb-202.5mg/kg											
		MORAb-202.1mg/kg			MORAb-202.5mg/kg			MORAb-202.5mg/kg			MORAb-202.5mg/kg			MORAb-202.5mg/kg			MORAb-003-0285.5mg/kg								
0	19.1	18.2	18.4	18.9	18.8	19.1	18.6	19.3	20.6	18.4	17.8	18.1	18	19.8	16.3	17.6	18.7	16.1	19.7	20.5	17.4	18.8			
3	19.6	18.2	18.9	18.9	19.3	19.3	18.4	19.0	18.6	18.4	19.1	18.6	19.9	16.4	17.5	18.8	15.9	19.9	20.8	17	18.1	16.3	18.5		
6	19.7	18.4	18.4	19.1	19.1	19	18.3	20.3	21.3	19	18.5	19.4	18.7	20	16.4	17.5	19.3	16.3	19.6	20.8	17.7	18.2	16.8	18.7	
7	19.7	18	18.9	18.8	18.9	18.9	18	20	21.2	18.9	18.7	18.7	18.7	19.7	16.5	17.4	19.4	16.5	19.2	20.6	17.7	18.5	16.8	19	
10	19.7	18	19.2	18.5	19.1	18.4	18	20.1	20.9	19	19.3	19.7	18.8	19.8	16.6	17.6	19.4	16.7	20	20.5	18.2	18.6	17.5	20.3	
12	19.8	17.7	19.1	18.4	19	18.3	17.8	20.5	20.9	19.5	18.9	20	19.7	20.2	17.2	17.9	19.6	16.9	20.2	20.4	18.3	18.8	18.1	20.4	
14	18.8	17.4	18.4	18.2	17.5	17.9	17.7	20.3	21.2	19.9	18.8	19.6	19	19.3	17	17.5	19.3	17	19.2	20	18.2	18.9	18.4	19.7	
17	18.8	17.2	18.3	17.5	17.2	17.4	17.7	20.4	20.7	19.2	18.8	19.8	19.7	19.2	17.3	17.9	20	17.3	19.7	19.8	17.9	18.9	18.6	19.5	
19						16.7	17.2	19.9	20.7	18.9	18.3	19.8	18.7	19.5	16.8	18.1	20	17.1	20.2	19.7	18	19.3	18.4	19.6	
24											18.8	20.2	19.2	19.9	16.9		18.5	20.7	17.5	20.2	20.1	18.5	20	19.1	18.9
26											18.9	19.6	18.9	19.5	16.5		18.3	20.7	17.6	19.7	20.6	18.4	19.9	18.6	19.1
28											18.8	19.6	19.5	19.6	16.6		18.6	21.3	17.6	20.1	20.8	18.5	19.9	18.8	19.5
31											18.9	20.1	19.6	20.7	17		18.6	20.4	17.9	20.9	20.7	18.2	20.9	19.6	19.5
33											18.9	19.8	19.4	21.2	17.6		18.8	19.6	18.2	21.3					
35											19.2	19.7	19.5	20.7	17.4		18.7	20.2	18.1	19.6					
38											19.6	20	19.7	20.6	18		18.8	20.4	19	17.2					
40																19.4	20.4	18.7	19.3						
42																19.9	20.4	18.8	20.6						
45																19.8	21	18.3	21.7						
47																19.7	20.7	18.3	21.1						
52																20.2	21.1	18.5	21.9						
54																20.3	21.4	18.6	22.6						
59																20	21.6	18.8	21.7						
61																20.5	22.1	19.2	21.3						

[0428] **표 29**

무작위화후 일수	PBS			MORAb-202 1mg/kg			MORAb-202 2.5mg/kg			MORAb-202 5mg/kg			MORAb-203-듀로스탁틴 5mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	18.68	0.165239	5	19.2	0.385328	5	18	0.554902	5	18.025	0.689078	4	18.42	0.578982	5
3	18.98	0.234959	5	19.48	0.47393	5	18.48	0.579842	5	18.025	0.769253	4	18.14	0.76975	5
6	18.94	0.245739	5	19.58	0.537015	5	18.6	0.609665	5	18.175	0.694839	4	18.44	0.667108	5
7	18.86	0.268971	5	19.4	0.549488	5	18.46	0.525953	5	18.125	0.628577	4	18.52	0.638721	5
10	18.9	0.29444	5	19.28	0.537015	5	18.84	0.585996	5	18.425	0.68618	4	19.02	0.590063	5
12	18.8	0.352933	5	19.4	0.600608	5	19.2	0.545849	5	18.65	0.678513	4	19.2	0.502108	5
14	18.06	0.267112	5	19.4	0.683817	5	18.74	0.454832	5	18.25	0.523801	4	19.04	0.352368	5
17	17.8	0.320373	5	19.08	0.673649	5	18.96	0.451533	5	18.725	0.592675	4	18.94	0.33497	5
19				18.68	0.764423	5	18.62	0.527655	5	18.85	0.670634	4	19	0.338521	5
24							19	0.579498	5	19.225	0.665539	4	19.32	0.313137	5
26							18.68	0.563279	5	19.075	0.621135	4	19.32	0.41086	5
28							18.82	0.573795	5	19.4	0.728103	4	19.5	0.407939	5
31							19.26	0.636533	5	19.45	0.638148	4	19.78	0.484329	5
33							19.38	0.585826	5	19.475	0.60047	4			
35							19.3	0.536644	5	19.15	0.416401	4			
38							19.58	0.430983	5	18.85	0.58918	4			
40										19.45	0.314619	4			
42										19.925	0.359691	4			
45										20.2	0.665164	4			
47										19.96	0.549137	4			
52										20.425	0.651414	4			
54										20.725	0.758819	4			
59										20.525	0.620064	4			
61										20.775	0.552051	4			

2.6.4 CB17-SCID 마우스내 hNSCLC NCI-H2110 모델에서 에리불린의 최소 유효한 용량의 평가

인간 NSCLC, H2110 세포, 통로 46은 30 CB17 SCID 마우스 (암컷, 5 내지 6 주령, 청량 20 그램)에서 피하로 이식되었다. 이식후 11 일 후, 마우스는 5 그룹으로 무작위 추출되었다. 평균으로부터 가장 이탈하는 종양 용적을 가진 5 동물은 제외되었다. 치료 일 (일 0)에서 각각의 그룹내 평균 종양 용적은 $87.6\text{--}89.4 \text{ mm}^3$ 범위이었다 (표 32). 등록된 마우스는, 연구 설계에 따라, 0.05, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리불린 (Lot# N1201193)으로, 또는 PBS로 치료되었다 (표 30). 각각의 그룹은, 종양 용적 $>2000 \text{ mm}^3$ 의 그룹 안에서 먼저 판측된 경우, 각각, 종결되었다. 연구는 일 38 (마지막 용량후 30 일)에서 종결되었다.

표 30. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	5	에리불린	PBS	0	q4dx3
2				0.05	
3				0.2	
4	4*			0.8	
5	5			1.6	

[0431]

개별 마우스에서 종양 용적은 표 31에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 32에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학은 도 14에서 도시되고, 개별 마우스에서 종양 용적, 뿐만 아니라 (종양 용적 $>2000\text{mm}^3$) PBS 치료된 마우스에서 관측된 경우) 일 24에서 그룹 평균 및 SEM은 도 15에서 도시된다. 에리불린은 0.05 mg/kg ($p = 0.0026$ 대 염수)에서 (관측된 종양 퇴행 없이) 50.5%의 TGI; 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 ~ 99%의 TGI를 야기시켰다 (p 값은 염수에 비교된 경우 모든 3 그룹에 대하여 < 0.0001 이었다). 종양 퇴행을 유도하였던 최소 유효한 용량은 0.2 mg/kg이다. 그러나, 이들 마우스에서 퇴화된 종양 (0.2 mg/kg 그룹에서 3/5, 0.8 mg/kg 그룹에서 4/5, 및 1.6 mg/kg 그룹에서 2/5)는 연구 지속기간 (마지막 용량후 30 일) 내내 재성장하였거나 측정가능하게 남아있었다.

[0432]

개별 마우스의 체중은 표 33에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 34에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 16에서 나타난다.

[0433]

염수-치료된 대조군 그룹과 비교된 임의의 치료 그룹에서 상당한 체중 손실은 관측되지 않았다. 치료 동안 독성을 명시하는 임상 발견은 관측되지 않았다.

[0434]

q4dX3 i.v. 투여된, 0.2 mg/kg 및 초과에서, 에리불린은 H2110 종양 성장에 상당한 효과를 보여주었다. 종양 퇴행은 달성되었다. 더 적은 용량이 (0.05 mg/kg에서) 투여된 경우, 종양 퇴행은 달성되지 않았다. 따라서, 이 연구에서 시험된 최소 유효한 용량은 0.2 mg/kg이다.

표 31

첫 번째 용량후 일수	비 헥토		에리볼린 0.05mg/kg						에리볼린 0.2mg/kg						에리볼린 0.8mg/kg						에리볼린 1.6mg/kg						
	0	3	5	7	11	14	17	21	24	28	31	35	37	40	44	47	50	54	57	60	64	68	72	76	80	84	87
0	59	91	118	88	91	105	101	94	61	77	103	68	78	130	62	111	104	81	93	54	70	116	74	91	91	91	91
3	62	179	219	236	173	175	149	117	161	64	68	62	52	79	61	54	55	40	51	33	50	44	44	44	44	44	47
5	80	255	436	283	257	231	157	228	261	132	60	60	48	90	51	32	29	34	42	25	25	22	32	24	24	24	24
7	111	433	440	472	446	357	171	269	247	102	48	47	39	49	47	26	34	17	21	24	19	12	31	15	15	11	11
10	120	230	555	747	622	489	370	200	413	376	236	33	39	28	36	47	17	22	19	5	21	15	0	29	14	0	0
12	126	263	677	722	877	620	539	265	448	350	135	19	41	23	13	14	15	23	16	12	24	13	0	14	0	0	0
17	170	720	959	960	1158	885	725	514	751	620	531	0	0	0	0	13	17	38	0	0	26	0	0	0	0	0	0
19	1862	1314	940	1097	941	859	437	908	776	837	277	39	29	29	16	0	20	18	0	27	0	0	19	0	0	0	0
24	1886	2308	1854	2760	1671	712	718	1499	1225	1040	0	15	19	23	11	14	0	20	0	33	18	0	19	0	0	0	0
26											0	24	0	11	14	0	8	14	14	15	8	0	17	0	0	0	0
28											0	7	0	14	83	0	16	20	14	17	0	0	16	0	0	0	0
31											0	16	0	10	31	0	10	15	26	29	11	0	17	0	0	0	0
33											0	27	0	13	22	0	13	8	18	44	8	0	28	0	0	0	0
35											0	19	0	16	42	0	13	0	22	50	14	0	17	0	0	0	0
38											0	19	0	14	45	0	11	13	13	54	11	0	20	0	0	0	0

표 32

첫 번째 용량후 일수	PBS			에리톨린 0.05mg/kg			에리톨린 0.2mg/kg			에리톨린 0.8mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	89.4	9.34	5	87.6	8.18	5	88.2	12.56	5	88.6	10.02	5
3	173.8	30.31	5	133.2	19.74	5	64.4	4.45	5	46.6	4.31	5
5	262.2	56.43	5	201.8	24.37	5	61.8	7.43	5	32.4	2.83	5
7	380.4	67.55	5	229.2	43.40	5	46	1.79	5	24.4	2.83	5
10	528.6	85.83	5	317	43.21	5	36.6	3.17	5	16.8	3.07	5
12	631.8	101.42	5	347.4	70.14	5	22	5.07	5	18	2.34	5
17	936.4	70.46	5	628.2	48.40	5	2.6	2.60	5	16.2	7.39	5
19	1030.8	80.29	5	765.4	84.75	5	28	3.65	5	13	5.50	5
24	2095.8	195.76	5	1036.8	149.24	5	13.6	3.94	5	13.4	6.26	5
26							9.8	4.54	5	10.2	2.83	5
28							20.8	15.74	5	13.4	3.48	5
31							11.4	5.77	5	16	5.29	5
33							12.4	5.53	5	16.6	7.45	5
35							15.4	7.72	5	17	9.22	5
38							15.6	8.25	5	18.2	9.25	5

Ⅳ. 33

[0438]

제작일자 월/일/연도	제작일자 월/일/연도	제작일자 월/일/연도																								
		제작일자 월/일/연도																								
0	18.5	16.7	19.1	20.4	19.6	19.1	16.4	18.6	20.1	17.9	18.2	18.5	16.7	9.8	18.9	18.6	17.8	18.4	17.8	18.1	18.2	18.3	19.4	16.3	19.0	
3	18.8	16.6	19.3	20.9	20.0	19.4	17.1	18.5	20.4	18.7	18.6	18.6	16.7	9.8	18.8	18.8	18.0	18.5	18.1	19.0	18.3	18.3	19.0	15.8	19.6	
5	18.8	16.8	19.3	21.2	20.0	19.4	16.5	18.4	20.4	19.4	18.5	19.1	16.9	9.6	19.8	18.9	18.1	18.5	17.6	18.2	18.1	18.1	19.5	18.0	19.3	
7	18.6	16.5	19.3	21.2	19.8	16.4	16.3	18.7	20.3	19.1	18.5	18.5	17.1	9.6	20.7	19.1	18.1	19.0	17.8	19.0	18.1	18.2	19.5	16.3	19.4	
8	18.3	16.7	18.8	21.1	19.6	16.3	18.4	20.4	19.4	18.6	19.1	17.0	19.6	9.9	19.2	18.0	19.0	17.7	18.8	18.0	18.3	18.3	18.0	16.2	19.4	
9	18.4	16.4	18.5	21.0	19.5	18.8	18.1	18.6	19.9	19.1	18.3	20.0	16.8	9.5	19.5	19.2	17.7	18.5	17.5	18.5	17.4	18.0	19.6	15.8	19.4	
10	19.0	17.2	19.2	21.6	20.3	19.7	16.3	19.4	20.5	20.0	18.7	19.4	17.1	20.0	20.1	19.0	17.7	18.9	17.8	19.1	18.5	18.5	21.0	16.1	20.0	
12	19.0	15.9	18.5	21.3	19.2	18.8	15.9	18.6	19.6	19.7	18.3	19.3	16.9	9.7	19.9	18.9	19.0	17.8	19.0	18.0	18.8	18.0	18.8	20.5	16.3	20.1
17	18.8	15.5	17.8	20.4	18.3	17.5	16.0	18.5	18.0	19.3	19.7	19.6	19.3	17.4	20.5	20.0	19.2	18.0	18.8	18.1	19.1	19.0	19.2	21.0	16.4	19.4
19	18.9	15.6	17.2	20.6	18.1	17.8	16.3	18.4	18.0	19.4	19.1	19.0	17.1	19.1	21.1	21.0	19.1	17.7	19.4	17.7	19.1	19.1	19.5	21.1	16.3	19.8
24	18.2	15.8	17.4	20.3	18.2	18.8	16.5	18.8	17.4	18.0	19.3	20.2	18.8	20.2	21.7	22.0	20.1	18.5	20.3	19.1	20.3	19.4	20.6	21.7	18.1	20.7
26																										
28																										
31																										
33																										
35																										
38																										

각각의 칼럼은 개별 동물을 나타낸다.

첫 번째 용량후 일수	PBS			에리볼린 0.05mg/kg			에리볼린 0.2mg/kg			에리볼린 0.8mg/kg			에리볼린 1.6mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	18.9	0.62	5	18.4	0.62	5	18.4	0.51	5	18.1	0.16	5	18.2	0.53	5
3	19.2	0.73	5	18.8	0.54	5	18.7	0.51	5	18.5	0.19	5	18.3	0.75	5
5	19.2	0.73	5	18.8	0.66	5	19.0	0.60	5	18.3	0.22	5	18.2	0.62	5
7	19.1	0.77	5	18.8	0.67	5	18.9	0.60	5	18.6	0.27	5	18.3	0.58	5
10	18.9	0.72	5	18.8	0.69	5	18.8	0.51	5	18.5	0.29	5	18.4	0.67	5
12	18.8	0.76	5	18.5	0.65	5	18.8	0.59	5	18.3	0.30	5	18.0	0.69	5
17	19.5	0.73	5	19.2	0.74	5	19.1	0.55	5	18.5	0.32	5	18.7	0.84	5
19	18.8	0.86	5	18.5	0.68	5	18.8	0.56	5	18.5	0.28	5	18.7	0.77	5
24	18.2	0.79	5	17.9	0.60	5	19.3	0.53	5	18.6	0.24	5	19.0	0.73	5
26							19.5	0.74	5	18.8	0.30	5	19.2	0.79	5
28							20.4	0.63	5	19.7	0.36	5	20.1	0.62	5
31							20.3	0.56	5	19.7	0.48	5	20.1	0.57	5
33							20.3	0.59	5	19.7	0.50	5	20.0	0.66	5
35							20.1	0.66	5	19.8	0.43	5	20.4	0.71	5
38							20.5	0.68	5	19.8	0.47	5	20.1	0.62	5

표 34

[0439]

[0440] 실시예 2

[0441] 1. 물질 및 방법

[0442]

MORAb003-VCP-에리볼린 (MORAb-202)는 실시예 3의 섹션 1.1에서 기재된 MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리볼린 (ER-001159569) 화합물에 MORAb-003 (인간화된 항-인간 폴리에이트 수용체 알파) 콘주게이션에 의해 합성되었다. 콘주게이션 방법은 실시예 4의 섹션 1.4.1에서 기재된다.

[0443] 1.1종양 모델

[0444]

MORAb-202의 추가의 시험관내 평가에서 사용된 인간 종양 세포주는 IGROV1 (인간 난소 암종, $FR^{hi\ (++)}$), OVCAR3 (인간 난소 암종, $FR^{med(++)}$), NCI-H2110 (인간 비-소 세포 폐 암종, $FR^{med(++)}$), A431-A3 (인간 메소텔린으로 안정적으로 형질감염된 A431 친계 세포주, $FR^{lo(+-)}$), SJSA-1 (인간 골육종, $FR^{neg(-)}$), 및 HL-60 (인간 백혈병, $FR^{neg(-)}$)을 포함한다. 모든 이들 세포주는 미국 종균 협회 (ATCC)로부터 직접적으로 수득되었다. 생체내 연구를 위하여

여, 비-소 세포 폐 암, 삼중 음성 유방 암, 및 자궁내막 암 환자-유래된 이종이식 마우스 모델은 Oncotest GmbH (Freiburg, Germany), Oncodesign (Dijon, France), 및 EPO Berlin-Buch GmbH (Berlin, Germany), 각각에서 확립 및 유지되었다.

[0445] 1.2시험관내 세포독성 분석

[0446] 1.2.1크리스탈 바이올렛 검정

[0447] IGROV1 (FR^{hi}^{+++}), A431-A3 ($FR^{lo(+/-)}$), 및 SJS-1 ($FR^{neg(-)}$) 세포는 96-웰 조직 배양 플레이트내 완전한 성장 배지에서 10,000 세포/웰로 하위-배양 및 씨딩되었고, 37°C, 5% CO₂에서 밤새 (16 시간) 인큐베이션되었다. 전형적으로, 시험 시약은 1 μM (총 10 희석)에서 시작하는, 2 mL 딥-웰 희석 플레이트에서 1:4 연속으로-희석되었다. 100 μL의 희석된 샘플은 (100 nM에서 시험 샘플의 농도를 시작하는) 세포 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 37°C, 5% CO₂에서 추가의 48 시간 동안 인큐베이션되었다. 배지는 폐기되었고, 플레이트는 200 μL DPBS로 1회 세정되었고, 50 μL의 0.2% 크리스탈 바이올렛 용액으로 실온에서 15 분 동안 염색되었고, 그 다음 수돗물로 광범위하게 세정되었다. 플레이트는 공기-건조되었고, 크리스탈 바이올렛은 200 μL의 1% SDS 용액으로 용해되었다. 플레이트는 570 nm에서 판독되었다. 데이터는 GraphPad Prism 6을 사용하여 분석되었다. OVCAR3 ($FR^{med(++)}$) 및 NCI-H2110 ($FR^{med(++)}$)에 대하여, 세포는 3,000 세포/웰로 씨딩되었고 5 일 동안 MORAb-202로 인큐베이션되었다.

[0448] 1.3생체내 연구

[0449] 1.3.1NCI-H2110 이종이식 모델

[0450] 동물 준비: CB17 SCID 마우스 (암컷, 6 주령)은 환기된 케이지당 5 마우스로 하우징되었다. 멸균된 음식 펠렛 및 물 병은, 즉석으로, 동물에 이용가능하였다. 동물은 종양 이식에 앞서 5-7 일 동안 순응되었다.

[0451] 세포 배양: 인간 NCI-H2110 세포는 냉동된 스톡 (NB2813-65)으로부터 해동되었고 37°C에서 5% CO₂에서 10% 태아 소 혈청 (FBS)로 보충된 RPMI-1640 배지에서 배양되었다. 2 통로후, 대략 70%에서 합류점 도달시, 세포는 세포 해리 용액 이용에 의해 수확되었고, 무혈청 배지로 2회 세정되었고, 카운트되었다.

[0452] 종양 이식: 무혈청 배지내 세포 혼탁액은 빙랭 매트리겔과 1:1 (v:v)로 1.0×10^8 세포/mL의 최종 농도까지 혼합되었다. 각각의 마우스는 100 μL의 혼합물로 1.0×10^7 세포/마우스에서 피하로 주사되었다. 27G 바늘은 모든 주사에 사용되었다. 마우스는 임상 웰빙에 대하여 모니터링되었고 종양은, 이식후 일 3에서 시작하는, 매주 3회 디지털 캘리퍼스로 측정되었다. 종양 용적 (mm^3)은 하기 식을 사용하여 계산되었다: $W (mm) \times L (mm) \times D (mm) \times \pi / 6$. 종양이 (>70 내지 $\sim 130 mm^3$ 의 평균으로) $\sim 100 mm^3$ 을 도달하였던 경우, 동물은 그룹당 4-5로 무작위 추출되었다. 평균으로부터 최대 이탈하는 종양 용적을 가진 5 동물은 제외되었다.

[0453] 연구 설계: 등록된 실험 마우스는, 무작위화의 날에, 연구 설계 (표 35)에 따라, 1.0, 2.5, 및 5 mg/kg에서 200 μL의 비히클 또는 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 체중은 용량에 앞서, 그리고 연구 동안 주당 2회 측정되었다. 연구의 마지막에, 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 동물은 개별 종양 용적이 $2000 mm^3$ 을 초과하였던 경우 안락사되었다. 최대 허용된 종양 용적 도달에 앞서 초기 종결 기준은 하기를 포함하였다: (1) 종양 (v:v)의 50% 초과 종양 궤양화; (2) 마비; (3) 체중 손실 >20%; 및 (4) 그룹 내에 동물의 50%가 종결을 충족시켰다. 연구 동안 안락사된 또는 죽은채 발견된 임의의 마우스는 상기 기재된 말기 절차에 따라 가공되었다.

표 35. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	5	MORAb-202	비히클	단일 볼리스	i.v.
2			0		
3			1		
4			2.5		
			5		

[0455] 1.3.2환자-유래된 이종이식 (PDx) 모델

[0456] 1.3.2.1 비-소 세포 폐 암 (NSCLC) PDx 모델:LXFA-737 (Oncotest)

종양 이식: NSCLC 종양 단편은 누드 마우스에서 연속으로 통과된 LXFA-737 종양 이종이식편으로부터 수득되었다. 공여체 마우스로부터 제거 후, 종양은 단편 (3-4 mm 모서리 길이)로 절단되었고 10% 폐니실린/스트렙토마이신을 함유하는 포스페이트-완충 식염수 (PBS)에서 배치되었다. 수령체 동물은 이소플루란의 흡입으로 마취되었고 옆구리에서 피하로 편측성 또는 양측 종양 이식물을 수령하였다. 종양 이종이식편은 흡수율 < 65%에서 마우스당 1 또는 2 종양으로 이식되었다. 양측 흡수의 경우에서, 이들 종양 중 하나는 무작위화에 앞서 외식되었다. 동물 및 종양 이식편은 고체 종양 성장이 동물의 충분한 수에서 검출가능한 때까지 매일 모니터링되었다. 무작위화에서, 성장 종양의 용적은 결정되었다. 무작위화 기준을 충족시키는 (즉 50-250 mm³, 바람직하게는 80-200 mm³의 종양을 보유하는) 동물은, 대략 100-120 mm³의 비교할만한 종양 및 평균 그룹 종양 용적을 목표로, 5-6 동물 / 그룹으로 구성되는 실험 그룹에서 분포되었다. 실험에 사용되지 않은 동물은 안락사되었다. 무작위화의 날은 실험의 일 0으로서 지정되었다.

[0458] 연구 설계: 등록된 실험 마우스는, 무작위화의 날에, 연구 설계 (표 36)에 따라, 비히클, 5 mg/kg에서 MORAb-003, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 체중은 각각의 투약 일에서 용량에 앞서, 그리고 연구 동안 주당 2회 측정되었다. 연구의 마지막에, 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 동물은 개별 종양 용적이 2000 mm³을 초과하였던 경우 안락사되었다.

표 36. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	6	비히클	0	단일 볼러스	i.v.
2	6	MORAb-003	5		
3	6	MORAb-202	5		

[0459] 1.3.2.2 삼중 음성 유방 암 (TNBC) PDx 모델:OD-BRE-0631 (Oncodesign)

종양 이식: 9 암컷 SWISS 누드 마우스는 환자-유래된 TNBC 종양 단편으로 오른쪽 옆구리에 피하로 주사되었다. 종양-보유 마우스는 종양 용적이 500-1000 mm³을 도달하였던 경우 안락사되었고, 종양은 수술로 절개되었다. 종양 단편 (30-50 mg)은 감마-공급원 (2 Gy, 60Co, BioMEP, France)으로 전신 조사후 24 내지 72 시간에 34 암컷 SWISS 누드 마우스의 유선 지방 패드 영역에 동소이식으로 이식되었다. 종양이 200-300 mm³의 평균 용적을 도달하였던 경우, 34 총 동물 중 24마리는 Vivo Manager® 소프트웨어 (Biosystemes, Couteron, France)를 사용하는 그것의 개별 종양 용적에 따라 2 그룹 (n=12 동물)에 무작위 추출되었다. 통계 시험 (변동의 분석)은 그룹 사이 균질성을 평가하기 위해 수행되었다. 무작위화의 날은 실험의 일 0으로서 지정되었다.

[0460] 연구 설계: 일 1 (무작위화후 1 일 및 치료에 앞서 2 일)에서, 각각의 2 미치료된 그룹으로부터 3 마우스는 종결되었다. 잔존 실험 마우스는, 일 3에서, 연구 설계 (표 37)에 따라, 5 mg/kg에서 비히클 또는 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 일 8 (치료후 5 일)에서, 각각의 2 치료된 그룹으로부터 3 마우스는 종결되었다. 종결 직후, 종양 조직은 수집되었고 24 내지 48 시간 동안 4% 중성 완충 포르말린에서 고정되었고 그 다음 파라핀 (Histosec®, Merck, Darmstadt, Germany)에서 포매되었다. 파라핀 포매된 샘플은 후속적인 면역조직화학 분석을 위하여 실온에서 저장되었다.

표 37. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	3	n/a	n/a	n/a	n/a
	9	비히클	0	단일 볼러스	i.v.
2	3	n/a	n/a	n/a	n/a
	9	MORAb-202	5	단일 볼러스	i.v.

[0461] 면역조직화학 (IHC) 분석: 포르말린-고정된, 파라핀-포매된 종양 조직의 IHC 염색은 양쪽 MORAb-202 점유 및 암 관련된 섬유아세포 발현을 평가하기 위해 수행되었다. 염색에 앞서, 슬라이드는 탈립되었고 항원은, 하기 프로그램을 사용하여, 85°C로 사전-가온된 시트레이트 완충액 (pH 6.0)내, Lab Vision™ PT 모듈 (Thermo

Scientific)에서 회수되었다: 97° C로 가온; 97° C에서 30 분 동안 인큐베이션; 및 60 °C로 냉각. 슬라이드는 그 다음 이중 중류수에 실온에서 5 분 동안 전달되었다. 염색은 Lab Vision™ Autostainer 360 (Thermo Scientific)에서 수행되었다. 간단히, 슬라이드는 6 분/세정으로 1X 트리스-완충 식염수/Tween-20 (TBST)에서 2 회 세정되었다. 조직 부문은 그 다음 1 시간 동안 차단 완충액 (300 μL) (3% 소 혈청 알부민 (BSA) - 포스페이트 완충 식염수 (PBS)에서 희석된 10% 염소 혈청 (Jackson Immunoresearch Laboratory Inc., Cat No. 005-000-121)에서 인큐베이션되었고, 1 시간 동안 콘주게이션된 항체 (200 μL) (표 38)에서 인큐베이션되었고, 6 분/세정으로 1X TBST에서 5회 세정되었다. 슬라이드는 마운팅 배지에서 DAPI로 대조염색되었고, 커버슬립된 슬라이드는 30 분 동안 경화하게 되었다. 슬라이드는 Panoramic MIDI 스캐너 (3DHISTECH)상에 가공되었고, IHC 이미지는 Halo 소프트웨어 (Indica Labs)를 사용하여 분석되었다. 이 분석에서 사용된 항체는, 암 관련된 섬유아세포용 특이적 마커인, α -평활근 액틴 (SMA), 그리고 MORAb-202의 존재를 검출할 수 있는, 인간 IgG를 표적화하였다.

표 38. IHC 항체

항체	콘주게이션된	판매인	Cat.No.	Lot	스톡 용액	작업 용액
α -평활근 액틴 (SMA)-FITC	FITC	Sigma	F3777	124M4775V	2.0 mg/mL	5.0 μg/mL
마우스 IgG1, κ 아이소타입 대조군	AF488	Biolegend	400129	B128493	0.2 mg/mL	1:1000
염소 항-인간 IgG	AF555	분자 프로브	A21433	1709318	n/a	1:200

[0465]

1.3.2.3 자궁내막 암 PDx 모델: Endo-12961 및 Endo-10590 (EPO Berlin)

종양 이식: 자궁내막 암 종양 단편은 연속으로 통과된 Endo-12961 및 Endo-10590 종양 이종이식편으로부터 수득되었고, 유체 질소내 스톡으로서 저장되었다. 종양 단편은 40 NMRI nu/nu 암컷 마우스의 좌측 옆구리에 피하로 이식되었고, 종양 용적은 모니터링되었다. 100-160 mm^3 의 종양 용적을 가진 마우스는 4 그룹 (그룹 A-D, 표 39) 중 하나로 무작위 추출되었다. 무작위화용 위성 마우스는 제5 그룹 (그룹 E, 표 39)에서 포함되었다. 각각의 그룹은 8 동물로 구성되었다. 무작위화의 날은 실험의 일 0으로서 지정되었다.

연구 설계: 등록된 실험 마우스는, 무작위화의 날에, 연구 설계 (표 39)에 따라, PBS, 3.2 mg/kg 또는 0.1 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 종양 성장은 매주 2회 2 수직 직경의 측정에 의해 평가되었고, 종양 용적 (TV), 상대 종양 용적 (RTV) 및 처리된/대조군 (T/C) 값은 계산되었다. 체중은, 치료 시작에 비해 체중 변화 (BWC) 및 그룹당 체중의 계산과 함께, 독성용 파라미터로서 매주 2회 또한 평가되었다. 동물은 개별 종양 용적이 1 cm^3 를 초과하였던 경우, 또는 연구의 마지막에 희생되었다.

표 39. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
A	8	PBS	0	단일 볼러스	i.v.
B		에리불린	3.2		
C		에리불린	0.1		
D		MORAb-202	5		
E		n/a	n/a	n/a	n/a

1.4작용 기전

1.4.1zPredicta내 3-차원 (3D) 공-배양 시스템

모든 간엽 줄기 세포 (MSC)-함유 3D 공-배양 실험은, 장기-특이적 3D 세포의 기질 시스템 예컨대 rStomach™을 사용하여, zPredicta에서 수행되었다. rStomach™에서 골수 간엽 줄기 세포 (BM-MSCs)는 12 일 동안 48-웰 포맷에서 4배로 Nuc Red Light MKN-74 위 암 세포주로 공-배양되었다. MKN-74 세포는 세포 자멸사를 유도하기 위한 MORAb-202 치료용 충분한 폴레이트 수용체 알파 (FR)을 발현시키는 것으로 이전에 나타났다. 배양에 앞서,

[0469]

BM-MSCs는 유세포측정에 의해 MSC 분화의 마커에 대하여 그리고 표적 항원 발현에 대하여 평가되었다 (표 40).

표 40. MSC 분화의 마커

세포 모집단	마커
간엽 출기 세포 (MSCs)	Stro-1 ⁺ /CD105 ⁺
지방전구세포	CD34 ⁺ /CD31 ⁻
지방세포	오일 레드
암 관련된 섬유아세포 (CAFs)	알파-평활근 액틴 (α SMA), 비멘틴
전-혈관주위세포/혈관주위세포	NG2 ⁺ , CD13 ⁺ , CD146 ⁺
전부	FRA

[0473]

[0474] rStomachTM 배양물은, 표 41에서 기재된 바와 같이, MORAb-202, 미콘주계이션된 MORAb-003 항체, 에리불린, 또는 대조군으로 치료되었다. 대조군은 미치료된 및 비히클-치료된 (PBS 및 DMSO) 배양액을 포함하였다. MSC 분화는 광학 현미경검사로 모니터링되었다. 가시적 분화가 관측되었다면, 샘플은 염색 및 유세포측정 분석을 위하여 수확되었다.

표 41. 공-배양 치료

제제	작업 농도(들)
MORAb-202	10 nM
MORAb-003 (미콘주계이션된 항체)	10 nM
에리불린	1.7 nM 및 0.2 nM
PBS	
DMSO	0.1%
미처리된 대조군	

[0475]

1.4.2 암 관련된 섬유아세포에서 MORAb-202의 효과의 시간 경과 분석

[0476] 피하 H2110 이종이식 종양-보유 마우스는 섹션 1.3.1에서 기재된 바와 같이 준비되었다. 종양 샘플은 비히클, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202 투여 이후 일 0, 3, 5, 7, 및 9에서 수확되었다. 수집된 종양 샘플은 슬라이드에서 가공되었고, 암 관련된 섬유아세포의 발현은 섹션 1.3.2.2에서 기재된 바와 같이 IHC에 의해 분석되었다.

[0478]

2. 결과

2.1 시험관내 세포독성 분석

2.1.1 MORAb-202의 세포독성

[0481]

MORAb-202의 시험관내 효력은, 섹션 1.2.1에서 상세히 설명된 바와 같이, 크리스탈 바이올렛 검정을 사용하여 평가되었다. 스크리닝은 IGROV1 ($FR^{hi\ (+++)}$), OVCAR3 ($FR^{med(++)}$), NCI-H2110 ($FR^{med(++)}$), A431-A3 ($FR^{lo(+-)}$), 및 SJS-1 ($FR^{neg(-)}$) 세포에서 수행되었다. 이러한 스크리닝의 결과는 도 17 및 표 42에서 제공된다.

표 42. 다양한 종양 세포주에서 MORAb-202의 세포독성 (EC_{50}) 스크리닝

EC_{50} (nM)				
IGROV I (FR+++)	OVCAR3 (FR++)	NCI-H2110 (FR++)	A431-A3 (FR+/-)	SJS-1 (FR-)
0.01	0.16	0.74	23	> 100

[0482]

[0483] MORAb-202는 종양 세포주에 대한 폴레이트 수용체 알파 발현-의존적 세포독성, 및 부정확한 사멸의 낮은 수준을 나타냈다. MORAb-202는 IGROV1 세포에서 최고 수준의 효력 (0.01 nM)을 실증하였고, 폴레이트 수용체 알파-음성 SJS-1 세포에서 세포독성 (> 100 nM)이 거의 없었다. 중간체 효력은 OVCAR3 및 NCI-H2110 세포 (0.16 nM 및

0.74 nM)에서 관측되었다.

[0484] 2.2 생체내 연구

[0485] 2.2.1 NC1-H2110 이종이식 모델에서 MORAb-202의 효능

피하 H2110 종양-보유 마우스는 비히클 또는 1, 2.5, 및 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 상당한 종양 퇴행은 5 mg/kg에서 MORAb-202의 단일 용량 이후 관측되었다 (도 18 및 표 43). 높은 폴레이트 수용체 알파 발현 및 단일 용량 투여를 가진 이러한 이종이식 모델을 사용하여, MORAb-202용 적정 약물 농도는 (안정적인 질환을 가진) 종양 성장 지연에 대하여 1 mg/kg 그리고 종양 퇴행에 대하여 ≥ 2.5 mg/kg인 것으로 나타났다. 이러한 연구에서, 2.5 mg/kg의 용량에서 MORAb-202는 부분적인 반응을 초래하였고, 5 mg/kg의 용량에서 MORAb-202는 완전한 반응을 초래하였다.

표 43. NC1-H2110 이종이식 모델에서 MORAb-202의 항-종양 활성

	종양 용적, mm^3 (종양 성장 억제, %)	
	일 17	일 31
비히클 (n=5)	1583.4 \pm 146.1 (100)	n/a
MORAb-202, 1 mg/kg, 단일 용량 (n=5)	840.0 \pm 76.8 (53.1)	n/a
MORAb-202, 2.5 mg/kg, 단일 용량 (n=5)	60.8 \pm 27.1 (3.8)	1173.2 \pm 373.2
MORAb-202, 5 mg/kg, 단일 용량 (n=4)	0.0 (0.0)	0 (0.0)

[0487]

[0488] 2.2.2 NSCLC PDx 모델에서 MORAb-202의 효능:LXFA-737

피하 NSCLC PDx 종양-보유 마우스는 비히클, 5 mg/kg에서 MORAb-003, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. MORAb-202의 단일 용량 (5 mg/kg)은, 상당한 항-종양 활성을 입증하지 않았던, 미콘주개이션된 MORAb-003 항체의 단일 용량 (5 mg/kg)에 대조적으로, 상기 모델에서 상당한 종양 퇴행을 초래하였다 (도 19A). MORAb-202로 치료된 6 총 마우스 중 5마리는 연구의 일 32에서 무종양인 것으로 간주되었고(표 44), 4마리는 일 74 (연구의 종결)을 통해 무종양으로 남아있었다. 게다가, 상당한 체중 손실은 비히클-치료된 대조군 그룹에 비교된 경우 치료 그룹에서 관측되지 않았고, 치료 동안 무 독성을 명시하였다 (도 19B).

표 44. NSCLC PDx 모델에서 MORAb-202의 항-종양 활성

	종양 용적, mm^3 (종양 성장 억제, %)		
	일 21	일 32	일 74
비히클 (n=6)	1004.5 (100)	1561.3 (100)	n/a
MORAb-003, 5 mg/kg, 단일 용량 (n=6)	860.7 (85.7)	1572.1 (100.7)	n/a
MORAb-202, 5 mg/kg, 단일 용량 (n=6)	22.9 (2.3)	4.7 (0.3)	418.3 (4/6 무종양)

[0490]

[0491] 2.2.3 자궁내막 암 PDx 모델에서 에리불린 및 MORAb-202의 상대 효능:Endo-12961 및 Endo-10590

Endo-12961 및 Endo-10590 이종이식편은 높은 수준의 폴레이트 수용체 알파를 발현시킨다. 피하 자궁내막 암 PDx 종양-보유 마우스는 PBS, 3.2 mg/kg 또는 0.1 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 상기 모델에서 에리불린의 최대 용인된 용량 (MTD)은 3.2 mg/kg이고, 반면에 0.1 mg/kg은 5 mg/kg에서 투여된 MORAb-202에 의해 제공된 에리불린의 투약량에 맞먹는다. 연구의 시작 내내, 상당한 항-종양 활성은 양쪽 동물 모델에서 에리불린의 MTD 용량 (3.2 mg/kg) 및 MORAb-202 (5 mg/kg)으로 치료 이후 관측되었고, 반면 상당한 항-종양 활성은 0.1 mg/kg에서 에리불린으로 치료 이후 관측되지 않았다 (도 20A 및 20C). 그러나, 3.2 mg/kg에서 에리불린으로 치료된 마우스에서 퇴화된 종양은 연구 지속기간 동안 재성장하기 시작하였고, 반면에 상당한 종양은 MORAb-202로 치료된 마우스에서 언급되었다. 이 연구에서, MORAb-202는 에리불린보다 상당히 더욱 유효한 것으로 밝혀졌다. 에리불린 치료는 또한 일시적으로 치료후 제1 주에서 체중에 영향을 미쳤다 (도 20B 및 20D). 그에 반해서, 체중 손실은 MORAb-202로 치료된 동물에서 관측되지 않았다.

[0493] 2.3MORAb-202의 작용 기전

[0494] 2.3.1TNBC PDx 모델에서 MORAb-202의 IHC 및 효능:OD-BRE-0631

피하 TNBC PDx 종양-보유 마우스는 비히클 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 종양 조직은 치료에 앞서 (일 1) 및 치료후 (일 8) 각각의 그룹에서 마우스로부터 수집되었다. 수집된 종양 조직의 IHC 분석은 MORAb-202가, 단일 용량 (5 mg/kg)으로서 일 3에서 투여 이후, 5 일 후처리 (일 8) 폴레이트 수용체 알파-발현 종양 세포를 점유하는 것을 드러냈다. 세포 점유는 항-인간 IgG 항체를 사용하여 평가되었다 (도 21A). MORAb-202 치료는 또한, 항- α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체로 IHC 염색에 의해 나타난 바와 같이, 암 관련된 섬유아세포의 구조를 약화시키는 것으로 나타났다 (도 21B). 효능에 관하여, MORAb-202 치료는, 0.62의 상대 종양 용적 (RTV)에 의해 측정된, 11 일 후처리에서 최대 종양 퇴행을 초래하였다 (도 21C).

[0496] 2.3.23D 공-배양 시스템에서 MORAb-202, MORAb-003, 및 에리불린의 효과

rStomachTM (zPredicta)내 골수 간엽 줄기 세포 (BM-MSCs)는 12 일 동안 MKN-74 위 암 세포주로 공-배양되었다. 배양에 앞서, BM-MSCs는 유세포측정에 의한 MSC 분화의 마커에 대하여 그리고 폴레이트 수용체 알파 발현에 대하여 평가되었다. rStomachTM 배양물은 그 다음 MORAb-202, 미콘주게이션된 MORAb-003 항체, 에리불린, 또는 대조군으로 치료되었다. 가시적인 MSC 분화가 광학 현미경검사에 의해 관측되었다면, 샘플은 염색 및 유세포측정 분석에 대하여 수확되었다. 이들 분석의 결과는 도 22에서 나타난다.

이 기간 동안 치료 보급으로, 7 일의 총 치료 지속기간은 MKN-74 세포를 가진 배양물에서 인간 BM-MSCs의 분화에서 측정가능한 효과를 생산하기에 충분하였다. 비히클 대조군에 비해, MORAb-202 (10 nM)으로 치료는 MSC 및 지방세포 모집단에서 증가, 그리고 혈관주위세포 모집단에서 감소를 초래하였다 (표 45). 이들 데이터는 MORAb-202가 종양 미세환경에서 상당한 효과를 가질 수 있다는 것을 명시한다.

표 45. 3D 공-배양 시스템에서 MORAb-202, MORAb-003, 및 에리불린의 효과

살아있는 세포의 백분율			
치료	MSCs	지방세포	혈관주위세포
PBS	32.3%	0.72%	14.6%
MORAb-202	43.7%	22.6%	11.4%
MORAb-003	37.1%	0.69%	24.0%
에리불린	29.9%	2.68%	25.8%

[0499] [0500] 2.3.3암 관련된 섬유아세포에서 MORAb-202의 효과의 시간 경과 분석

종양 샘플은 비히클, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202의 투여 이후 일 0, 3, 5, 7, 및 9에서 피하 H2110 이종이식 종양-보유 마우스로부터 수확되었다. 수집된 종양 샘플은 슬라이드에서 가공되었고, 암 관련된 섬유아세포 (CAF) 발현은 IHC에 의해 분석되었다. 항- α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체로 염색에 의해 평가 및 정량화된 경우, CAF 네트워크 구조는, 5 mg/kg에서 MORAb-202의 단일 용량의 투여 이후, 일 3 및 일 5에서 두드러졌다 (도 23). 그러나, 일 7까지, 다수의 이러한 구조는 상당히 줄어들었다.

[0502] 실시예 3

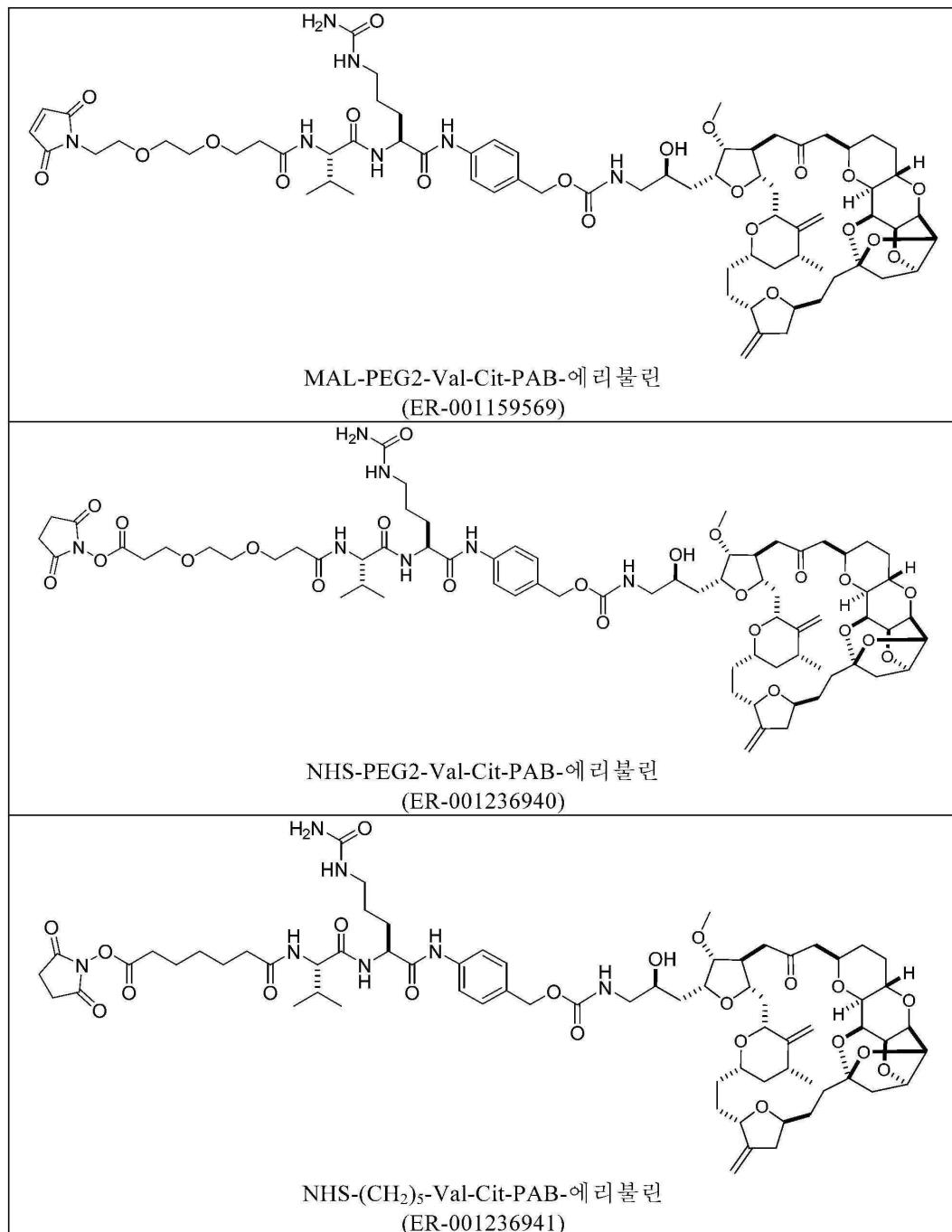
[0503] 1. 물질 및 방법

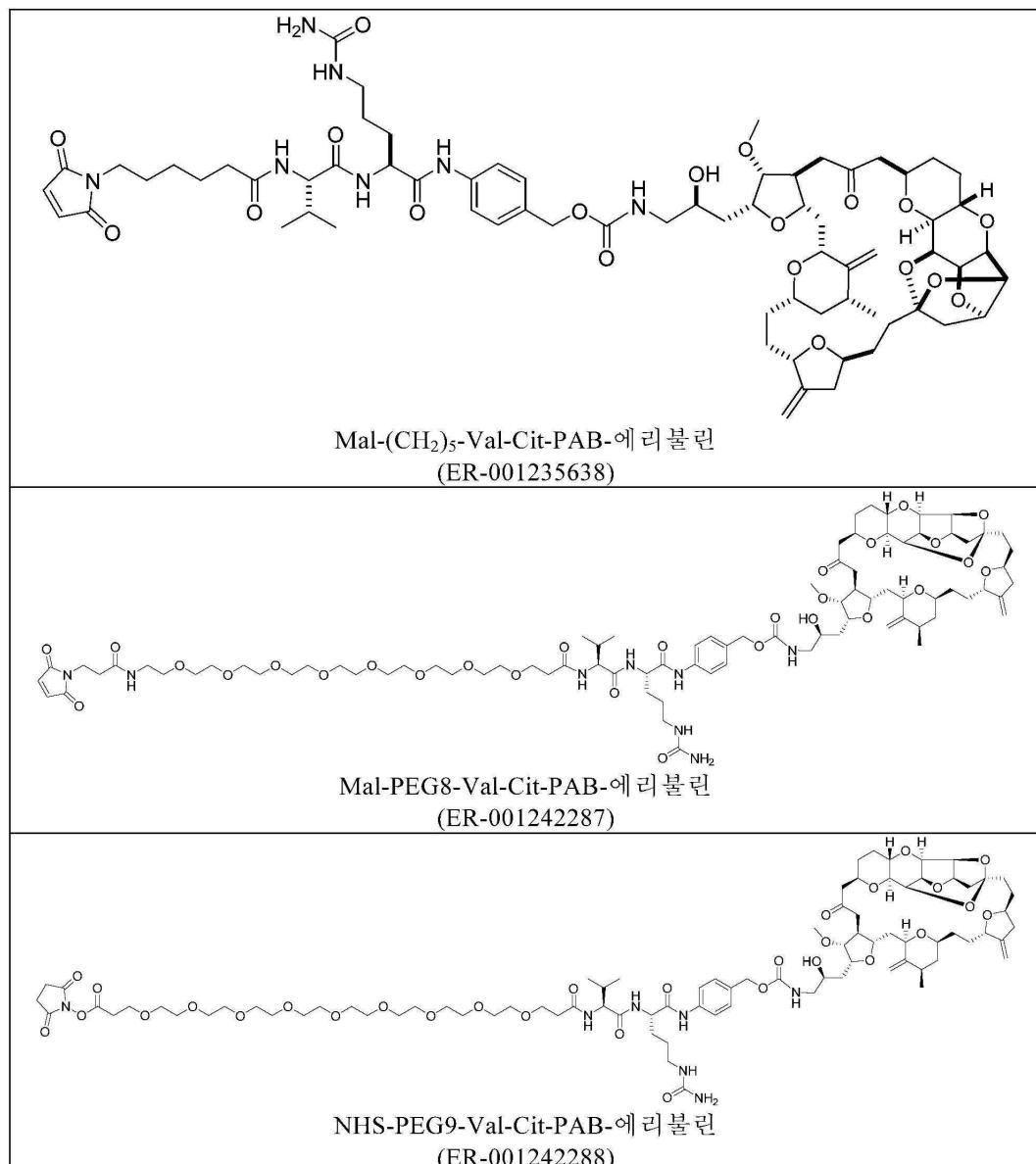
표 46에서 나타난 구조를 갖는 콘주게이션가능한 에리불린 화합물은 하기 절차에 따라 합성되었고, ADCs의 제조에서 사용되었다 (실시예 4).

합성 반응에서 사용된 모든 용매는 무수 등급 (EMD Millipore)이었다. 워크업 또는 정제에 사용된 모든 용매는 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 등급 (EMD Millipore)이었다. 달리 나타내지 않는 한, 모든 화학물질은 상업적으로 입수 가능하였다. 칼럼 크로마토그래피는 Biotage[®] SP4를 사용하여 수행되었다. 용매 제거는 회전식 증발기 (Buchi Labortechnik AG), 또는 원심 증발기 (Genevac, SP Scientific)을 사용하여 수행되었다. 분취형 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법 (LC/MS)는 산성 이동상 조건 하에 Waters AutoPurification System 및 XTerra MS C18 칼럼 (5 μ m, 19 mm x 100 mm)를 사용하여 수행되었다. 핵자기 공명 (NMR) 스펙트럼은 달리 언급되지 않는 한 중수소화된 클로로포름 ($CDCl_3$)을 사용하여 취득되었고, Varian 기기 (Agilent Technologies)를

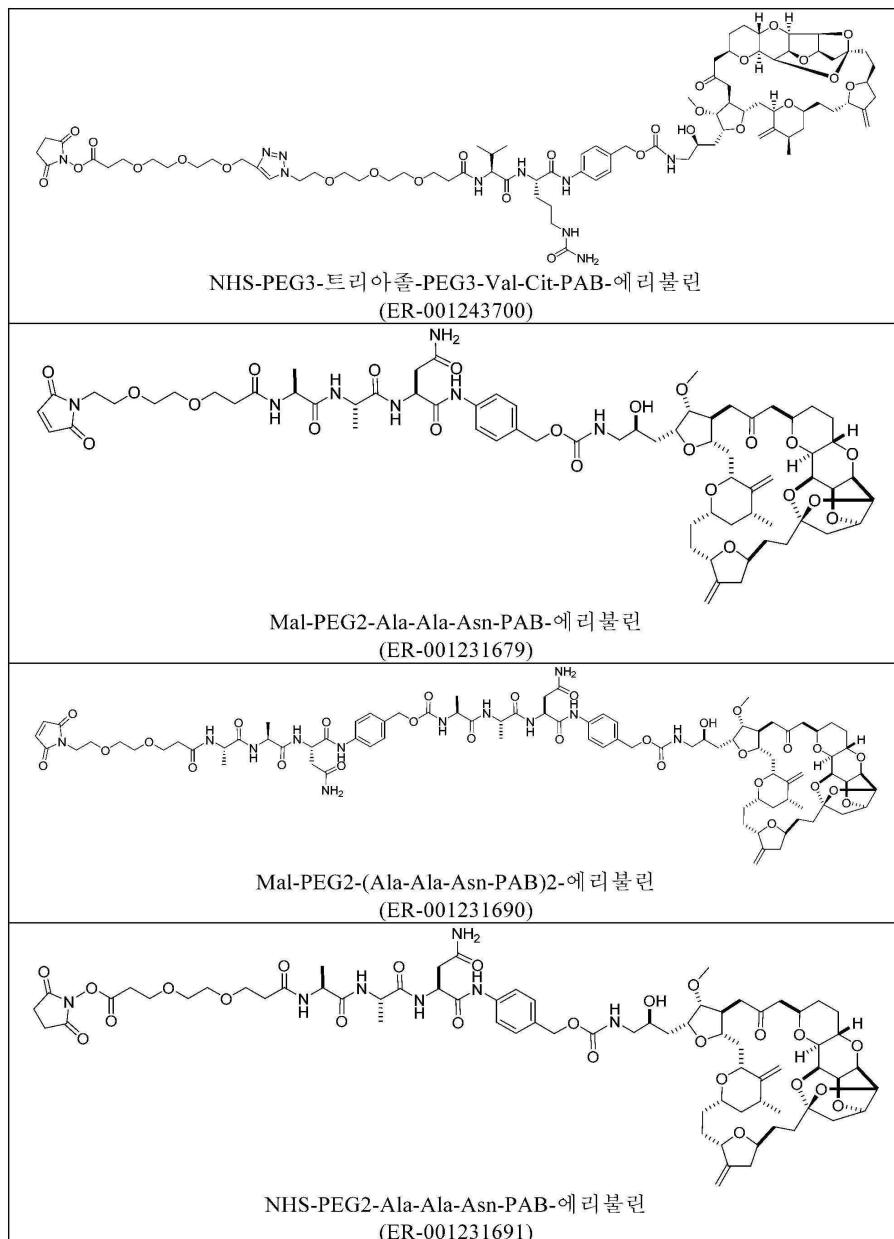
사용하여 400 또는 500 MHz에서 기록되었다. 질량 스펙트럼은 Waters Acquity Ultra Performance LC/MS를 사용하여 취득되었다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 “불활성”은 본질적으로 수분 없는, 불활성 가스, 예컨대 질소 또는 아르곤을 가진 반응기 (예를 들면, 반응 용기, 플라스크, 유리 반응기)에서 공기의 대체를 지칭한다. 다중도는 하기 약어를 사용하여 명시된다: s=단일항, d=이중항, t=삼중항, q=사중항, quint=오중항, sxt=육중항, m=다중항, dd=이중항의 이중항, ddd=이중항의 이중항의 이중항, dt=삼중항의 이중항, br s=넓은 단일항.

표 46. 콘주개이션가능한 에리불린 화합물

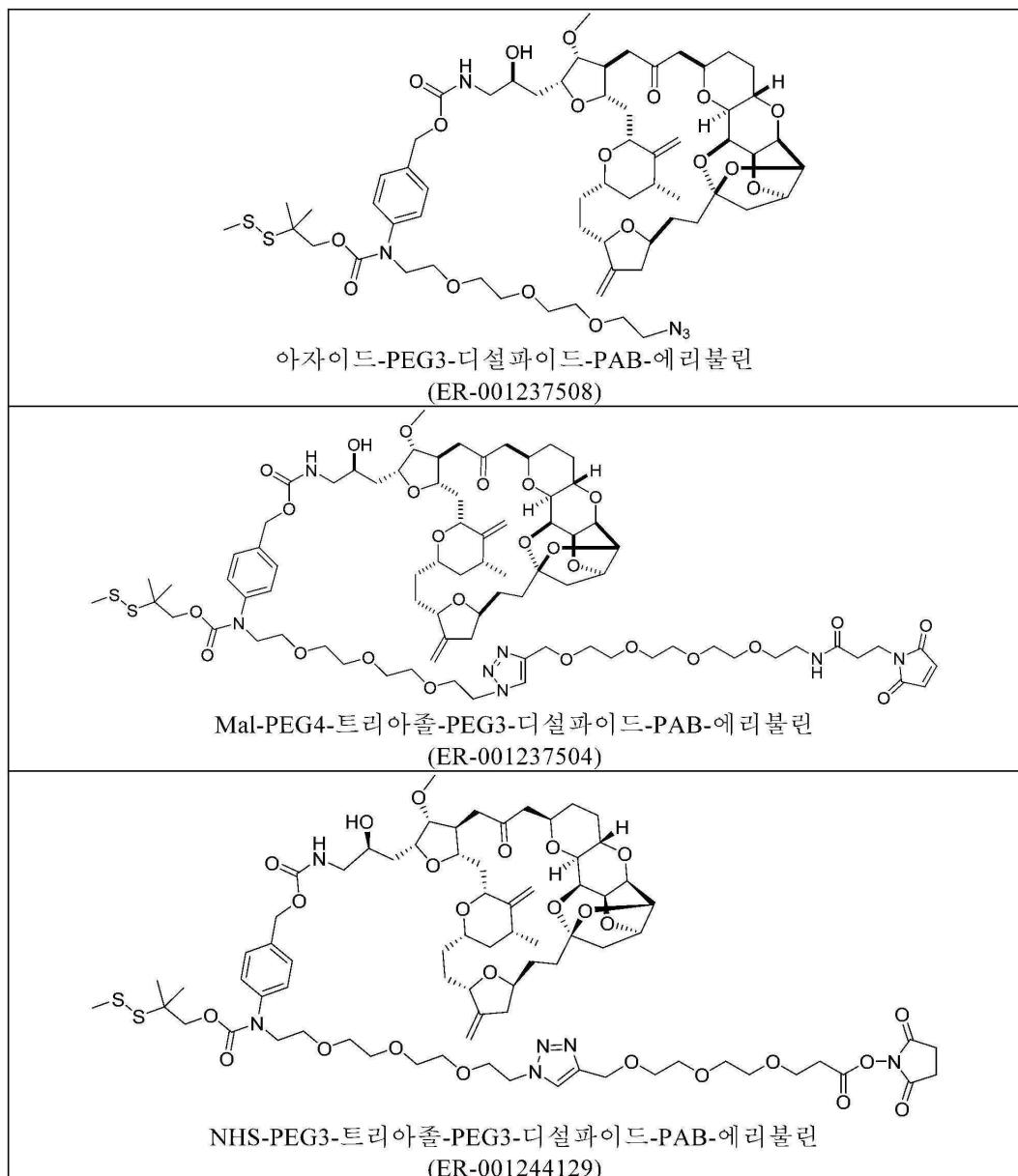




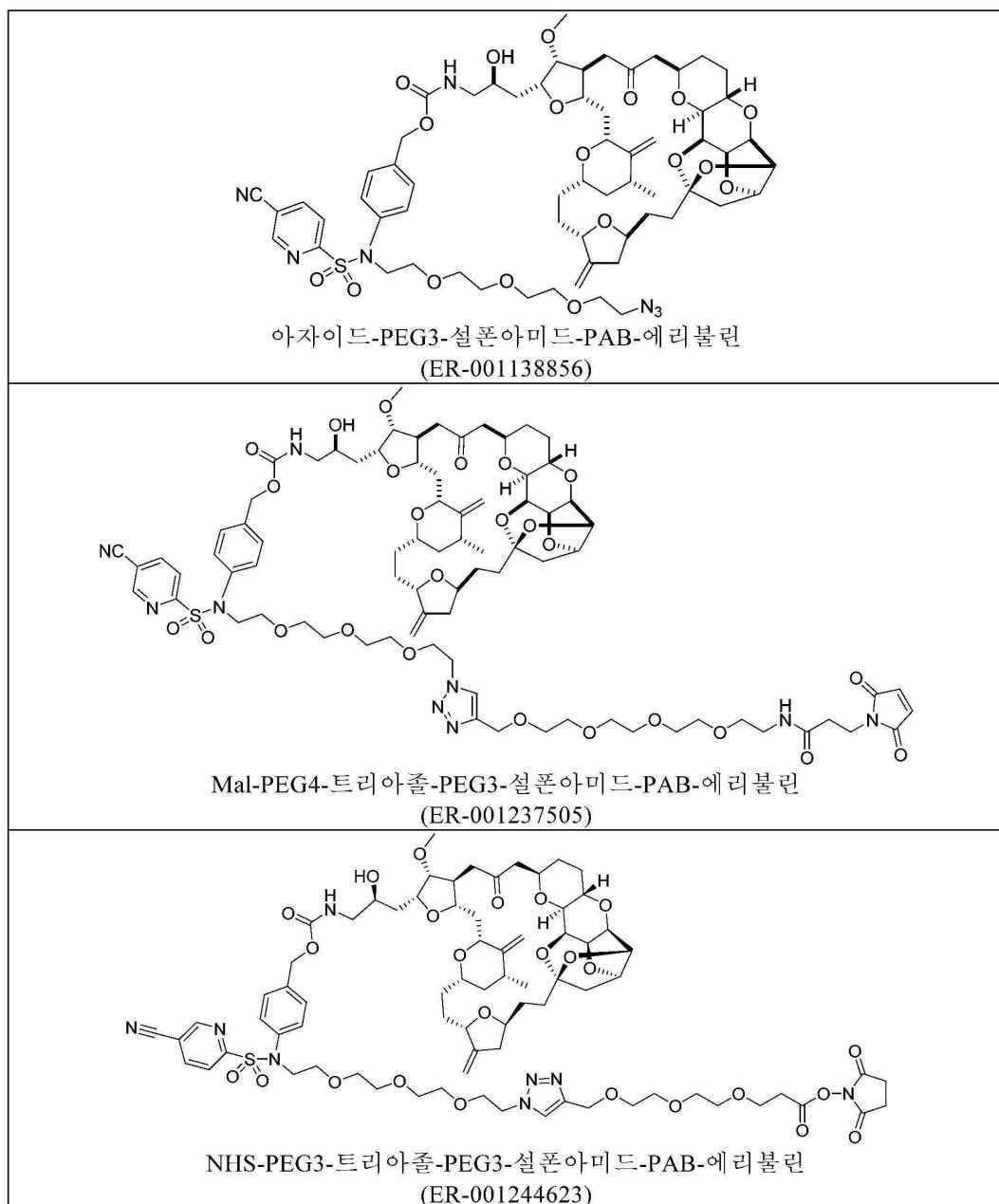
[0507]



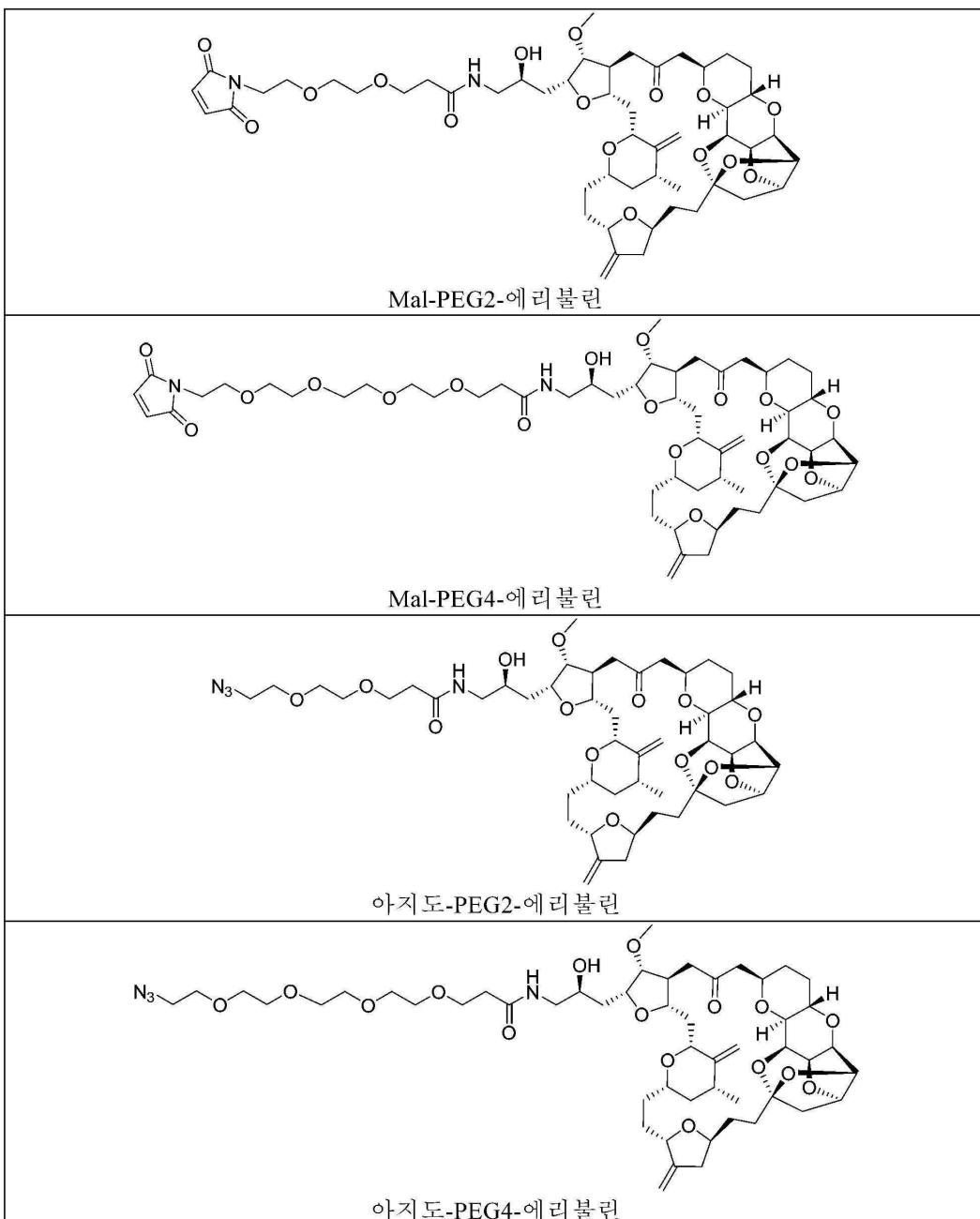
[0508]



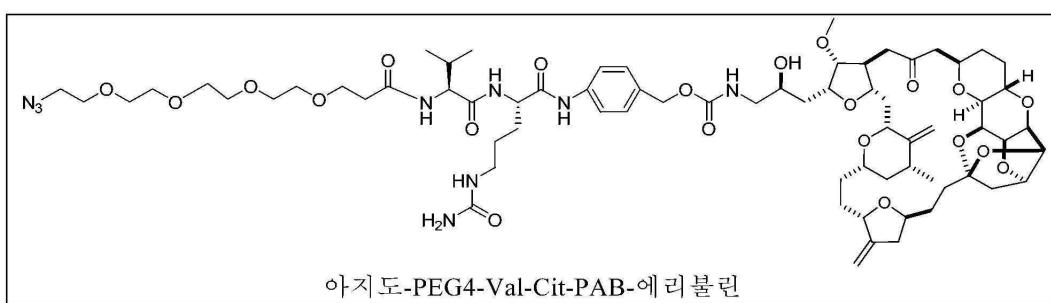
[0509]



[0510]

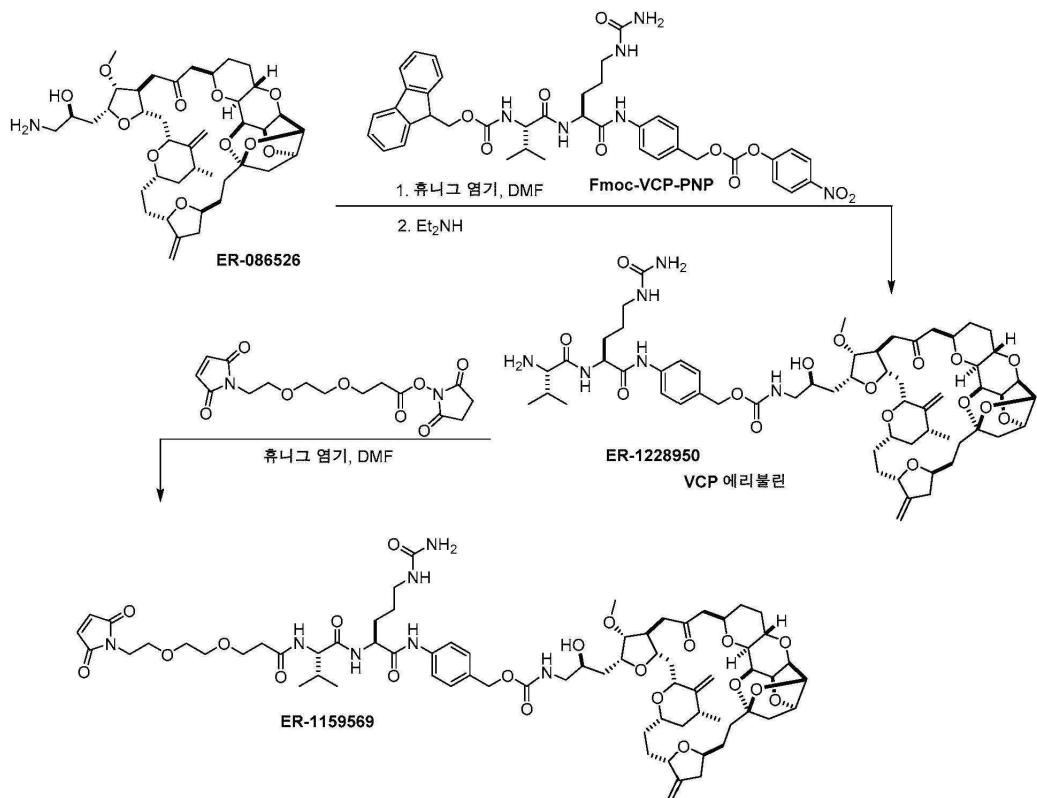


[0511]



[0512]

[0513] 1.1 MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)의 제조



[0514]

[0515]

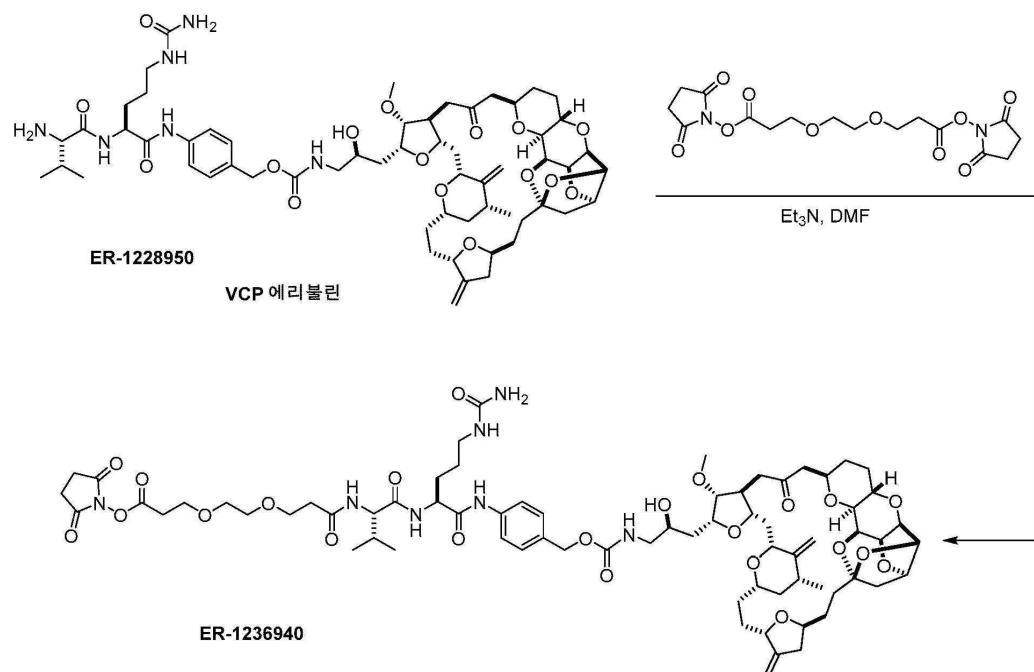
에리불린 (ER-000086526) (61.5 mg, 0.074 mmol)은 *N,N*-디메틸포름아미드 (DMF) (6.0 mL)에 용해되었고 그 다음 휴니그 염기 (0.027 mL, 0.156 mmol) 및 Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP (86 mg, 0.112 mmol)과 혼합되었다. 반응은 커플링이, 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 분석으로 결정된 경우, 완료된 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 디에틸아민 (0.078 mL, 0.745 mmol)은 혼합물에 첨가되었고, 혼합물은 반응이 완료된 때까지 추가의 2 시간 동안 교반되었다. 용매는 증발로 제거되었고, 잔기는 플래시 크로마토그래피로 정제되어 백색 고체 (60 mg, 71% 수율)로서 Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950)을 수득하였다. ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.06 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.62 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.57 (dd, *J* = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.47 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.18 (dd, *J* = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.98 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.76-3.70 (m, 4H), 3.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.26-3.10 (m, 3H), 2.93 (dd, *J* = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.75-2.64 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 8H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.72 (m, 5H), 1.68-1.29 (m, 8H), 1.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.07-1.01 (m, 1H), 1.06 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.02 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1135.7.

[0516]

Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950) (16 mg, 14 μ mol)은 DMF (1 mL)에 용해되었다. *N,N*-디이소프로필에틸아민 (7.2 μ L, 41 μ mol) 및 Mal-PEG2-NHS (9.7 mg, 27 μ mol)은 그 다음 이 용액에 실온에서 첨가되었고, 반응 혼합물은 실온에서 1 시간 동안 교반되었다. 반응의 완료시, 미정제 혼합물은 0.1% 포름산을 함유하는 아세토니트릴-물 이동상을 사용하여 역상 HPLC에 의해 정제되었다. 수집된 분획은 진공 하에 실온에서 비-가열된 수조에 농축되어 Mal-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)를 수득하였다 (7.1 mg, 5.2 μ mol, 38% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.59 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.81 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.06 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.71 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 5.2, 9.2 Hz, 1H), 4.47 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.19 (dd, *J* = 6.8, 11.6 Hz, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.98 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.76-3.64 (m, 6H), 3.62-3.51 (m, 6H), 3.38 (s, 3H), 3.22-3.08 (m, 4H), 2.93 (dd, *J* = 2.4, 9.6 Hz, 1H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.76-2.63 (m, 2H), 2.52 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H),

2.21-1.97 (m, 8H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.80-1.66 (m, 5H), 1.66-1.28 (m, 10H), 1.11 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.07-1.01 (m, 1H), 0.99 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 6.4 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1374.9.

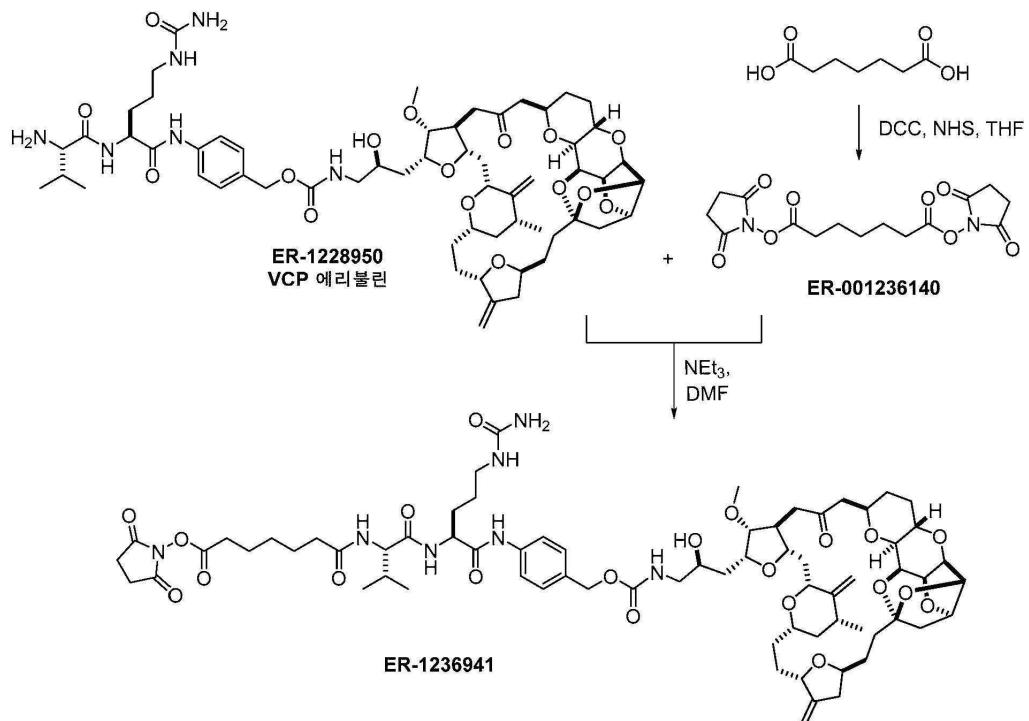
[0517] 1.2 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조



[0518]

[0519]

Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950) (45 mg, 0.04 mmol) 및 비스(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3,3'-(에탄-1,2-디일비스(옥시))디프로파노에이트 (79 mg, 0.198 mmol)은 DMF (1.5 mL)에서 혼합되었고, Et_3N (44.2 μ l, 0.317 mmol)은 그 다음 첨가되었다. 혼합물을, HPLC 분석으로 결정된 경우, 반응이 완료된 때까지 18 시간 동안 교반되었다. 용매는 증발되었고 잔기는 플래시 크로마토그래피로 정제되어 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)을 백색 고체로서 수득하였다 (38 mg, 68% 수율). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) ppm 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.05 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.62 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.51 (dd, J = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.50-4.47 (m, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.21 (dd, J = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.14-4.08 (m, 2H), 3.99 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.78-3.70 (m, 4H), 3.62 (s, 2H), 3.62-3.58 (m, 1H), 3.50-3.46 (m, 2H), 3.39 (s, 4H), 3.36 (s, 3H), 3.22-3.08 (m, 3H), 2.93 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.87 (m, 1H), 2.84 (s, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.75-2.64 (m, 2H), 2.59-2.52 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 10H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.72 (m, 5H), 1.68-1.29 (m, 8H), 1.11 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.08-0.98 (m, 1H), 1.00 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1421.0.

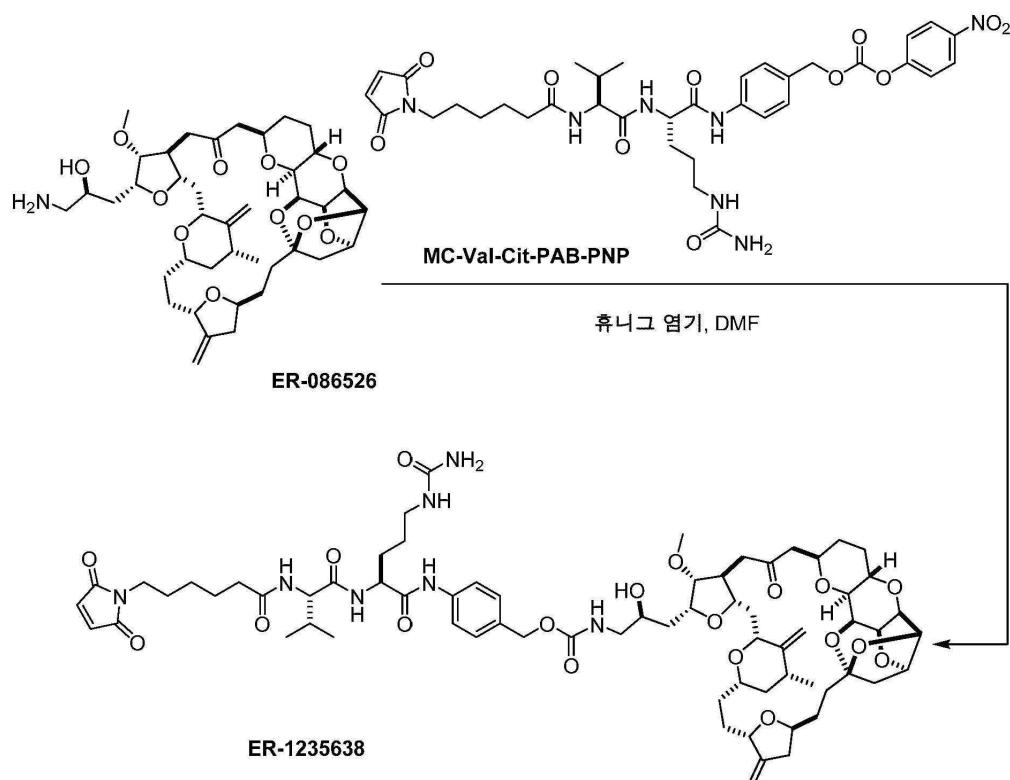
[0520] 1.3 NHS-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236941)의 제조

[0521]

헵탄이 산 (1.6 g, 9.99 mmol)은 테트라하이드로포린 (THF) (100 mL)에 용해되었고, 1-하이드록시페롤리딘-2,5-디온 (2.299 g, 19.98 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 DCC (4.12 g, 19.98 mmol)이 첨가되었다. 혼합물은 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 고체는 셀라이트 패드를 통해 여과로 제거되었고, THF (3 x 2 mL)로 세정되었다. 조합된 여과물은 농축되었고 플래시 크로마토그래피로 정제되어 비스(2,5-디옥소페롤리딘-1-일) 헵탄디오에이트 (ER-001236140)을 백색 고체로서 수득하였다 (2.5 g, 71% 수율). ¹HNMR (400 MHz) ppm 2.83 (s, 8H), 2.64 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H), 1.80 (dt, *J* = 7.6 Hz, 4H), 1.59-1.51 (m, 2H). LCMS (M+H)=355.2.

[0523]

NHS-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236941)은 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 VCP-에리불린 (ER-001228950) 및 비스(2,5-디옥소페롤리딘-1-일) 헵탄디오에이트 (ER-001236140)으로부터 제조되었다 (8.5 mg, 47% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.04 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 5.00 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.70 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.60 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.46 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.36-4.25 (m, 2H), 4.17 (dd, *J* = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.13-4.06 (m, 2H), 3.97 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.87-3.80 (m, 3H), 3.74-3.68 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.20-3.06 (m, 4H), 2.94 (dd, *J* = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.82 (s, 4H), 2.74-2.65 (m, 2H), 2.61 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 2.46-2.26 (m, 7H), 2.24-1.81 (m, 13H), 1.78-1.28 (m, 19H), 1.10 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.06-0.96 (m, 1H), 0.97 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.95 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1375.1.

[0524] 1.4 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001235638)의 제조

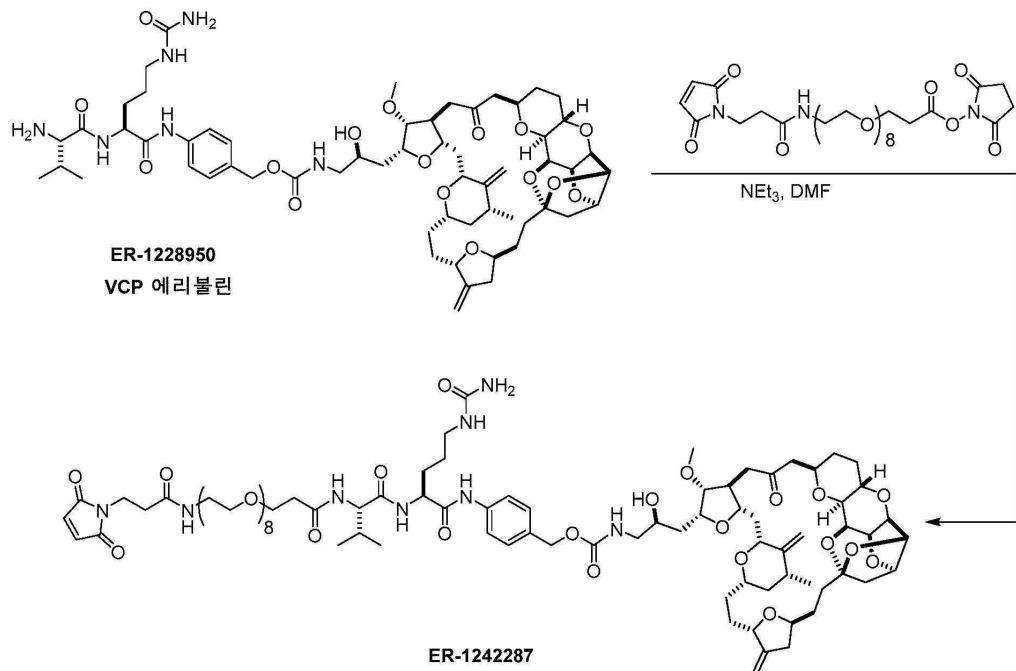
[0525]

[0526]

에리불린 (ER-000086526) (10 mg, 0.012 mmol)은 DMF (1 mL)에 용해되었고, MC-Val-Cit-PAB-PNP (9.02 mg, 0.012 mmol) 및 휴니그 염기 (4.44 μ L, 0.025 mmol)와 혼합되었다. 혼합물은 그 다음 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 12 시간 동안 실온에서 교반되었다. 반응 혼합물은 농축되었고 플래시 크로마토그래피로 정제되어 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001235638)을 백색 고체로서 수득하였다 (11.3 mg, 63% 수율).

¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.57 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.79 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.05 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.00 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.56-4.46 (m, 3H), 4.35-4.27 (m, 2H), 4.20-4.07 (m, 4H), 3.98 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 3.87-3.83 (m, 3H), 3.73-3.70 (m, 2H), 3.48 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.20-3.08 (m, 4H), 2.93 (dd, J = 1.6, 9.6 Hz, 1H), 2.89-2.85 (m, 1H), 2.69 (dt, J = 11.2, 16.8 Hz, 2H), 2.44-2.33 (m, 5H), 2.27-1.83 (m, 13H), 1.78-1.68 (m, 5H), 1.66-1.27 (m, 14H), 1.11 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 1.07-0.98 (m, 1H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.96 (d, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1328.9.

[0527] 1.5 Mal-PEG8-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242287)의 제조

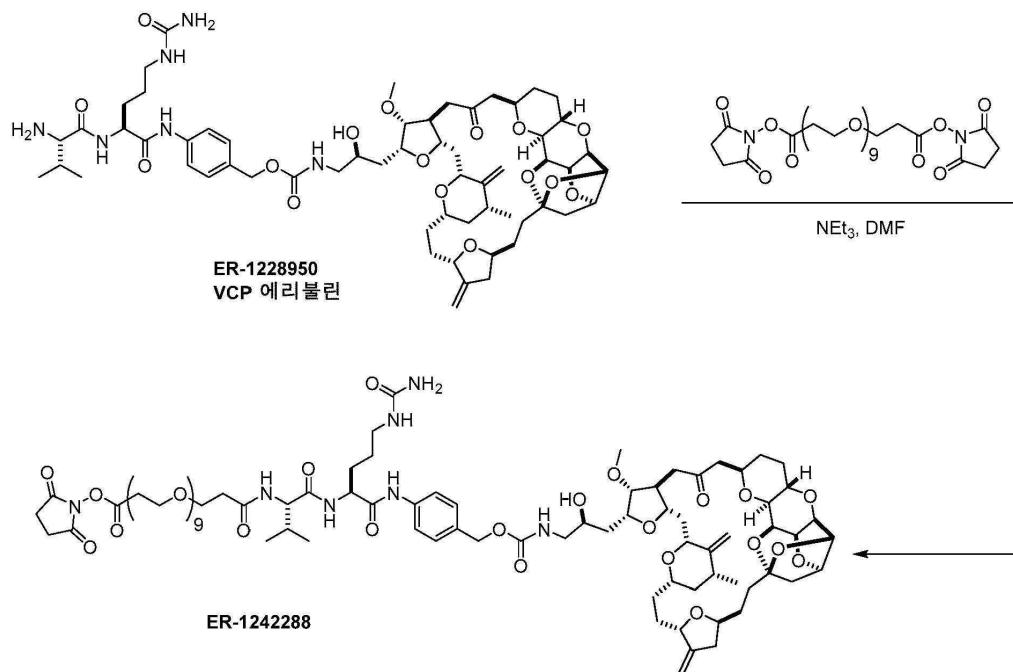


[0528]

[0529]

VCP-에리불린 (ER-001228950) (10 mg, 8.808 μ mol) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28-옥타옥사-4-아자헨트리아콘탄-31-오에이트 (6.07 mg, 8.808 μ mol)은 DMF (1 mL)에서 혼합되었고, 이어서 Et_3N (9.82 μ l, 0.07 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 용매는 증발로 제거되었고, 잔기는 풀래시 크로마토그래피로 정제되어 Mal-PEG8-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242287)을 백색 고체로서 수득하였다 (3.0 mg, 20% 수율). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) ppm 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.80 (s, 2H), 5.12 (s, 1H), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.99 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.59 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.50-4.42 (m, 2H), 4.32-4.24 (m, 2H), 4.20-4.14 (m, 2H), 4.12-4.04 (m, 3H), 3.96 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.86-3.80 (m, 3H), 3.76-3.57 (m, 4H), 3.48 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.20-3.08 (m, 3H), 2.91 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.74-2.60 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 10H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.20 (m, 19H), 1.09 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.04-0.98 (m, 1H), 0.99 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS ($\text{M}+\text{H}$)=1711.6.

[0530] 1.6 NHS-PEG9-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242288)의 제조

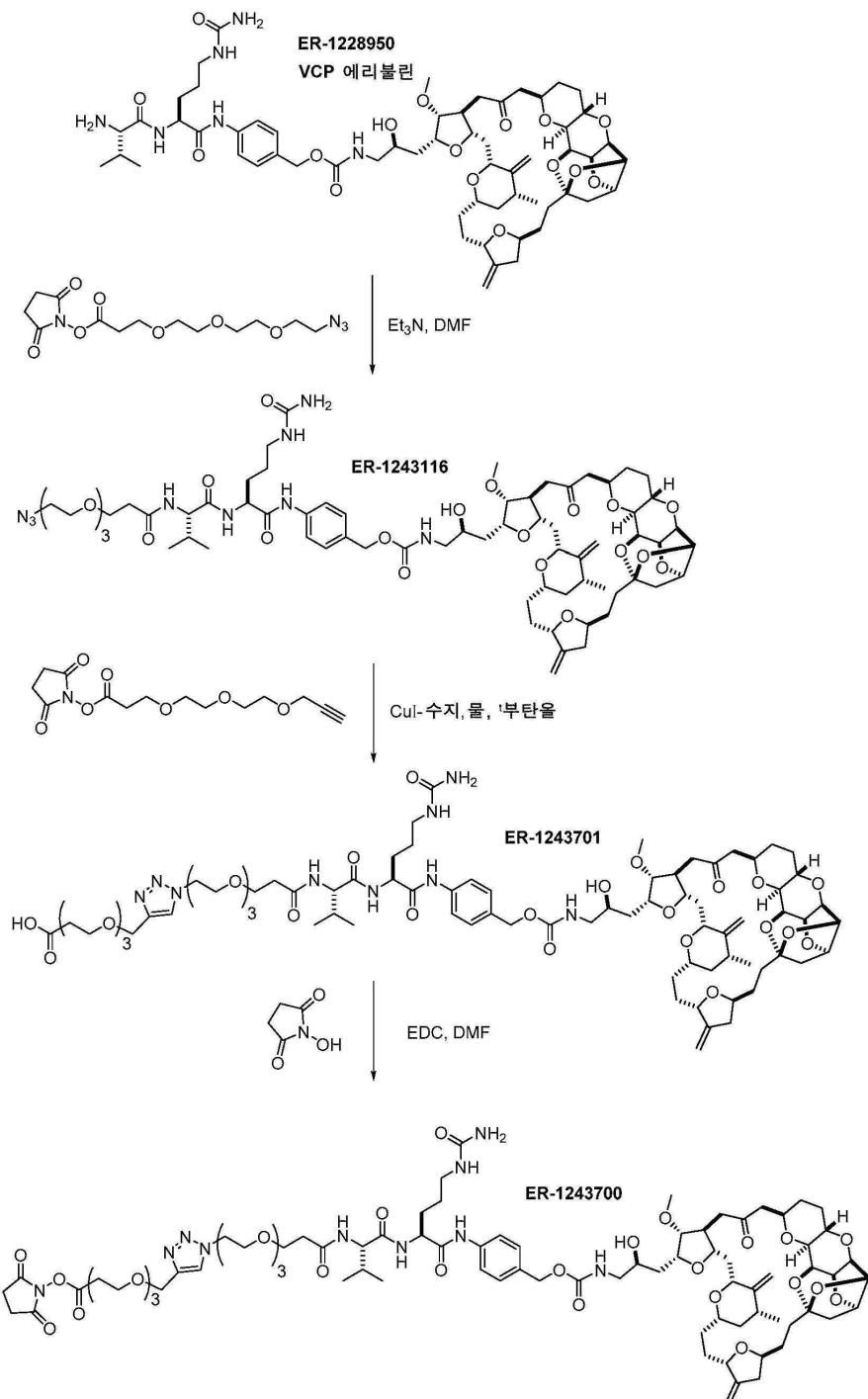


[0531]

[0532]

NHS-PEG9-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242288)은 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 VCP-에리불린 (ER-001228950) 및 BisNHS-PEG9로부터 제조되었다 (13 mg, 85% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.61 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.16 (s, 1H), 5.06 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 5.00 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.71 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.52-4.45 (m, 2H), 4.34-4.26 (m, 2H), 4.20-4.19 (m, 1H), 4.14-4.06 (m, 2H), 3.98 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.80 (m, 3H), 3.76-3.70 (m, 4H), 3.66-3.58 (m, 37H), 3.38 (s, 3H), 3.24-3.10 (m, 3H), 2.93 (dd, *J* = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.84 (s, 4H), 2.76-2.64 (m, 2H), 2.58-2.50 (m, 4H), 2.46-2.28 (m, 5H), 2.22-1.96 (m, 8H), 1.91-1.82 (m, 3H), 1.79-1.68 (m, 5H), 1.64-1.24 (m, 8H), 1.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.08-0.96 (m, 1H), 0.99 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1729.7.

[0533] 1.7 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243700)의 제조



[0534]

[0535]

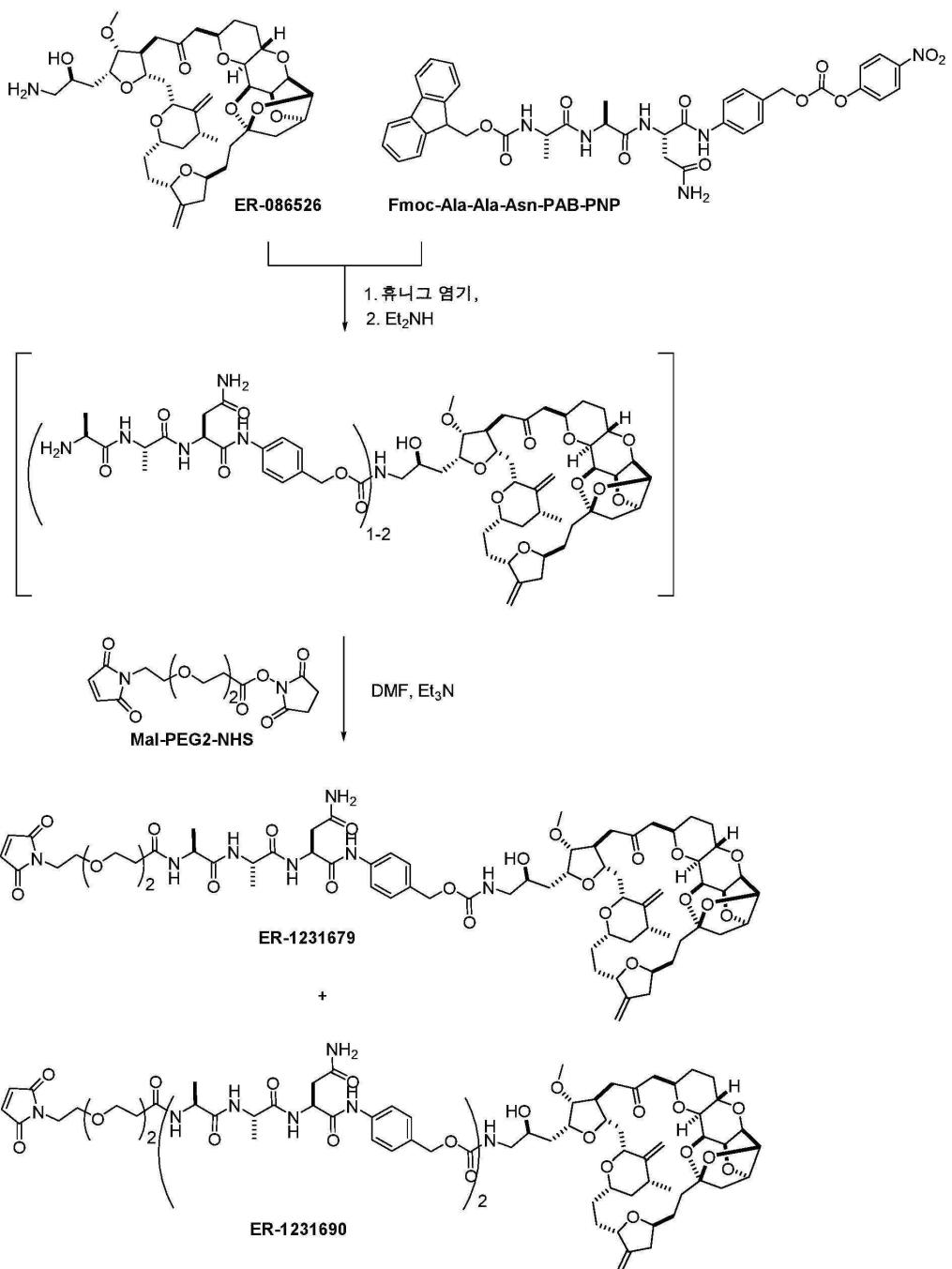
VCP-에리불린 (ER-001228950) (25 mg, 0.022 mmol)은 DMF (2.5 mL)에 용해되었고, 그 다음 Et₃N (24.55 μl, 0.176 mmol) 및 아자이드-PEG3-NHS (8.34 mg, 0.024 mmol)과 혼합되었다. 혼합물은 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 혼합물은 진공 하에 농축되었고, 잔기는 분취형-HPLC (MeCN 그리고 0.1% 포름산이 있는 물)로 정제되었다. 아자이드-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린을 함유하는 분획은 하고 디클로로메탄 (CH₂Cl₂) (3 x 20 mL)로 추출되었고, CH₂Cl₂는 증발되어 아자이드-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243116)을 백색 고체로서 수득하였다 (18.9 mg, 63% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.04 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.70 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.52-4.48 (m, 2H), 4.31-4.25 (m, 2H), 4.20-4.15 (m, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.99 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.84-3.79 (m, 3H), 3.77-3.65 (m, 4H), 3.64-3.56 (m, 13H), 3.38 (s, 3H), 3.20-3.05 (m, 3H), 2.95-2.80

(m, 2H), 2.75–2.60 (m, 2H), 2.55–2.50 (m, 2H), 2.43–2.25 (m, 5H), 2.21–1.97 (m, 8H), 1.93–1.83 (m, 3H), 1.79–1.72 (m, 5H), 1.68–1.29 (m, 10H), 1.08 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.05–0.95 (m, 1H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.95 (d, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1365.1.

[0536] 아자이드-PEG3-VCP-에리불린 (ER-001243116) (9.6 mg, 7.035 μmol) 및 2,5-디옥소페롤리딘-1-일 3-(2-(프로프-2-인-1-일옥시)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (6.61 mg, 0.021 mmol)은 물 (0.6 mL) 및 t-부탄올 (1.8 mL)에서 혼합되었다. 혼합물은 45 분 동안 N_2 로 거품화되었다. 엠버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 10 mg)은 혼합물에 첨가되었고 N_2 는 혼합물을 통해 또 다른 30 분 동안 거품화되었다. 반응 혼합물은 그 다음 개시 물질의 완전한 소비까지 72 시간 동안 실온에서 교반되었다. 원하는 NHS 에스테르 생성물은 LCMS 분석으로 판측되지 않았고, 가수분해된 카복실산 뿐이었다. 혼합물은 얇은 셀라이트 패드를 통해 여과되어 CuI 수지를 제거하였다. 여과물은 진공에서 농축되었고, 수득한 잔기는 분취형 박층 크로마토그래피 (prep-TLC) (20% MeOH/CH₂Cl₂)로 정제되어 산-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243701)을 백색 고체로서 수득하였다 (3.7 mg, 33% 수율). LCMS (ES) (M+H)=1581.2.

[0537] 산-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243701) (3.0 mg, 1.898 μmol)은 DMF (200 μL)에 용해되었고 1-하이드록시페롤리딘-2,5-디온 (0.437 mg, 3.796 μmol)은 첨가되었고, 이어서 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC) (0.728 mg, 3.796 μmol)이 첨가되었다. 반응은 실온에서 18 시간 동안 교반 후 대략 50% 완료되었다. EDC (1.46 mg, 7.8 μmol)은 첨가되었고, 혼합물은 HPLC 분석이 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린으로 >95% 전환율을 명시한 때까지 또 다른 18 시간 동안 교반되었다. 혼합물은 진공에서 농축되었고, 잔기는 분취형-TLC (15% MeOH/CH₂Cl₂)로 정제되어 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243700)을 백색 고체로서 수득하였다 (2.2 mg, 69% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 8.00 (s, 1H), 7.59 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.00 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.57–4.55 (m, 2H), 4.51–4.45 (m, 1H), 4.32–4.28 (m, 2H), 4.21–4.17 (m, 2H), 4.13–4.10 (m, 2H), 3.98 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 3.88–3.80 (m, 5H), 3.75–3.70 (m, 4H), 3.68–3.55 (m, 18H), 3.45–3.40 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.20–3.08 (m, 4H), 2.93–2.80 (m, 2H), 2.75–2.50 (m, 2H), 2.68 (s, 4H), 2.48–2.30 (m, 7H), 2.28–1.92 (m, 10H), 1.90–1.68 (m, 8H), 1.65–1.27 (m, 8H), 1.11 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.05–0.95 (m, 1H), 0.99 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 6.8 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1678.3.

[0538] 1.8 Ma1-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231679) 및 Ma1-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-에리불린 (ER-001231690)의 제조



[0539]

[0540]

에리불린 (ER-000086526) (10 mg, 0.014 mmol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 휘니그 염기 (3.59 μ L, 0.021 mmol)와 혼합되었다. (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-1-(((S)-1-(((S)-4-아미노-1-((4-((4-나트로페녹시)카보닐)옥시)메틸)페닐)아미노)-1,4-디옥소부탄-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트 (15.76 mg, 0.021 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 수득한 황색 용액은 HPLC 분석이 개시 물질의 완전한 소비를 명시한 때까지 3 일 동안 실온에서 교반되었다. 디에틸아민 (14.23 μ L, 0.137 mmol)은 반응 혼합물에 첨가되었고, 이것은 그 다음 Fmoc 보호의 100% 절단이 있었던 때까지 추가의 2 시간 동안 실온에서 교반되었다. 반응 혼합물은 농축되어 디에틸아민을 제거하였고, 잔기는 DMF (1.5 mL)에 재용해되었다. Et₃N (0.015 mL, 0.11 mmol)은 실온에서 첨가되었고, 이어서 2,5-디옥소페롤리딘-1-일 3-(2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (9.71 mg, 0.027 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은, LCMS 분석으로 결정된 경우, 반응이 완료된 때까지 16 시간 동안 실온에서 교반되었다. 혼합물은 고진공 하에서 농축되었고, 플래시 크로마토그래피로 정제되어 Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231679) (9.2 mg, 49% 수율) 및 Mal-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-에리불린 (ER-001231690) (6.0 mg, 18% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

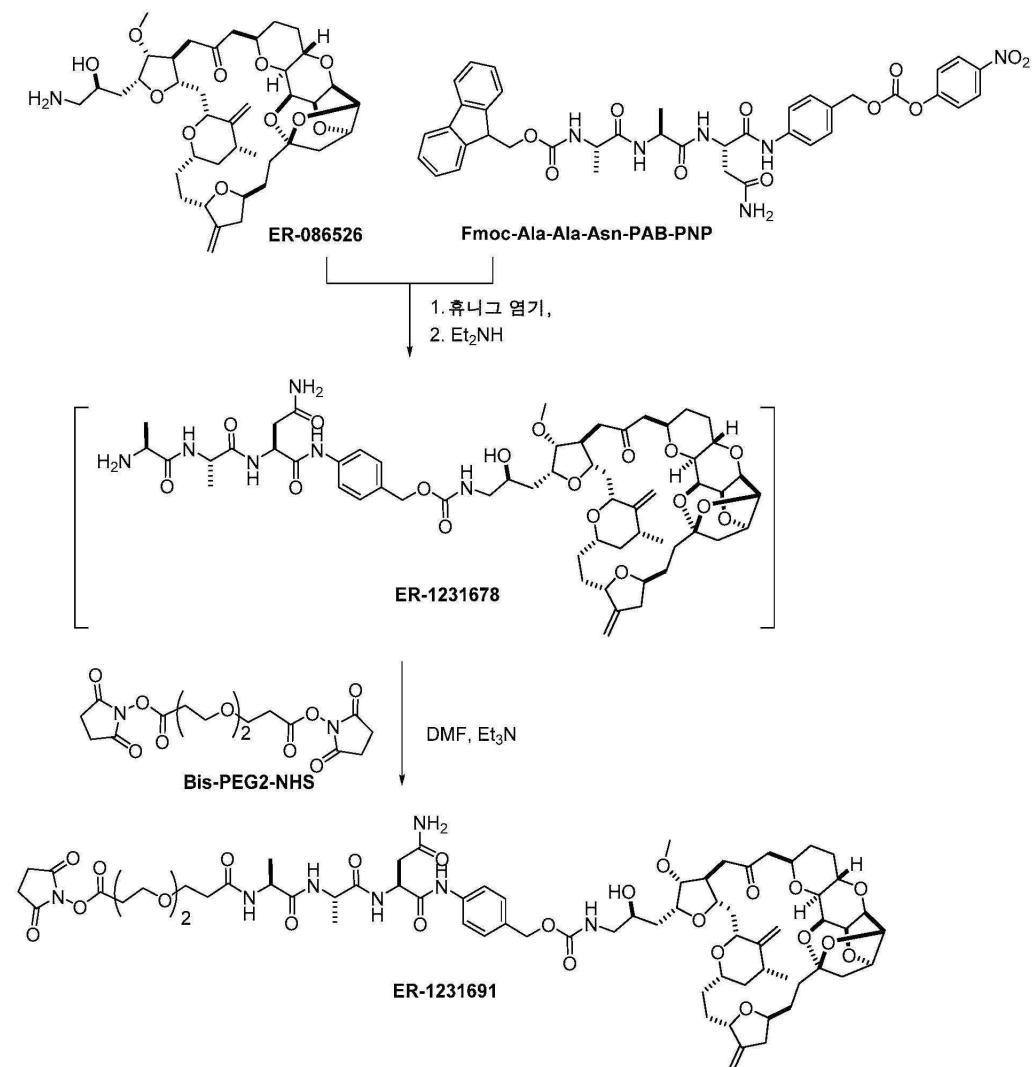
[0541]

Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231679): 1 HNMR (400 MHz) ppm 9.23 (s, 1H), 8.00 (d, J = 7.6 Hz,

1H), 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.30 (br s, 1H), 6.04-6.00 (m, 1H), 5.77 (br s, 1H), 5.42 (br s, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.06-4.98 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.90-4.82 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.49-4.42 (m, 1H), 4.38-4.25 (m, 4H), 4.19 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.15-4.08 (m, 1H), 4.03 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.97-3.85 (m, 3H), 3.83-3.50 (m, 12H), 3.41 (s, 3H), 3.50-3.10 (m, 3H), 3.02-2.64 (m, 6H), 2.52-2.30 (m, 7H), 2.30-1.65 (m, 14H), 1.65-1.20 (m, 12H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.13-1.05 (m, 1H). LCMS (M+Na)=1396.6.

[0542] Ma1-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-에리불린 (ER-001231690): ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.65 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.79 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.06-4.98 (m, 4H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.85-4.72 (m, 2H), 4.71 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 4.30-4.06 (m, 9H), 3.97 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.89-3.80 (m, 3H), 3.75-3.48 (m, 12H), 3.38 (s, 3H), 3.17 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 2.94-2.62 (m, 8H), 2.50-2.28 (m, 7H), 2.22-1.65 (m, 14H), 1.58-1.30 (m, 18H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.06-0.97 (m, 1H). LCMS (M+Na)=1802.8.

[0543] 1.9 NHS-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231691)의 제조



[0544]

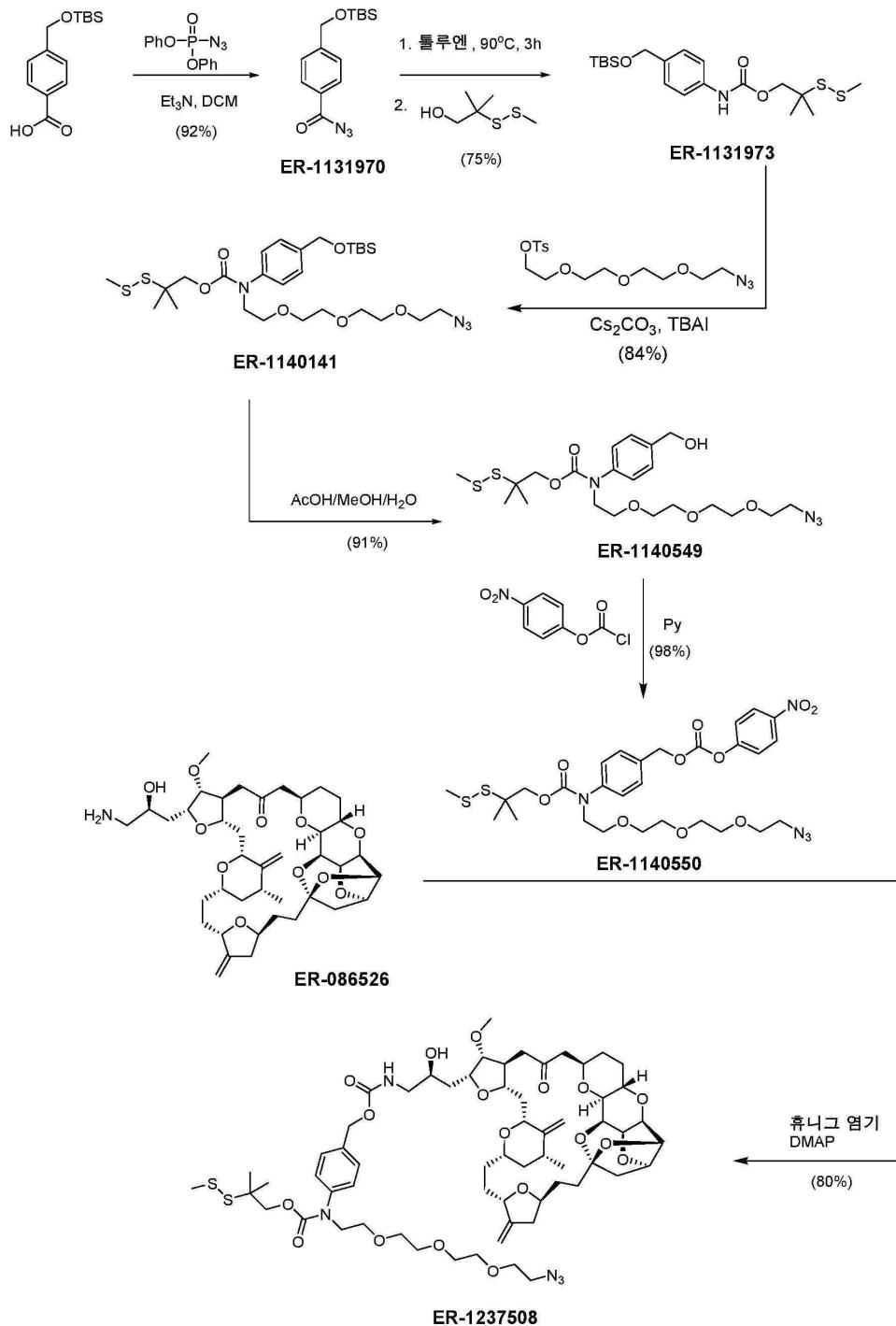
[0545] Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231678)은 Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950)의 제조에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 에리불린 (ER-000086526) 및 Fmoc-Ala-Ala-Asn-PAB-PNP로부터 제조되었다 (15 mg, 정량적 수율). LCMS (M+H)=1135.5.

[0546] NHS-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231691)은 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조

에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231678) 및 BisNHS-PEG2로부터 제조되었다 (12.4 mg, 64% 수율). ^1H NMR (400 MHz) ppm 9.21 (s, 1H), 7.95 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.58-7.52 (m, 1H), 7.28 (br s, 1H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.10 (br s, 1H), 6.29 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.83 (br s, 1H), 5.38 (br s, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.05-4.95 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.90-4.83 (m, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.46-4.41 (m, 1H), 4.36-4.25 (m, 4H), 4.19 (dd, J = 4.8, 6.0 Hz, 1H), 4.15-4.09 (m, 1H), 4.03 (dd, J = 4.8, 6.0 Hz, 1H), 3.99-3.89 (m, 3H), 3.85-3.50 (m, 10H), 3.41 (s, 3H), 3.40-3.10 (m, 3H), 3.01-2.60 (m, 10H), 2.60-2.35 (m, 7H), 2.35-1.65 (m, 14H), 1.65-1.20 (m, 14H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.15-1.03 (m, 1H). LCMS (ES) (M+H)=1442.7.

[0547]

1.10 아자이드-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237508)의 제조



[0548]

4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조산 (1.0 g, 3.754 mmol)은 0 °C로 냉각된 디클로로메탄 (DCM) (25

mL)에서 용해되었다. 트리에틸아민 (0.549 mL, 3.941 mmol)은 그 다음, 이어서 디페닐 포스포르아지레이트 (1.085 mg, 3.941 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물을 실온으로 느리게 가온되었고 14 시간 동안 교반되었다. 미정제 혼합물은 에틸 아세테이트 (EtOAc)/Hep (1:1, 100 mL)로 희석되었고, EtOAc/Hep (50%)로 용출하는 짧은 실리카 플러그를 통해 통과되었다. 용매는 진공 하에 제거되어 1.10 g의 4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조일 아자이드 (ER-001131970)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.98 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.40 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.79 (s, 2 H), 0.94 (s, 9 H), 0.10 (s, 6 H).

[0550] 톨루엔 (20 mL)에 용해된, 4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조일 아자이드 (ER-001131970) (1.1 g, 3.775 mmol)은 110 °C에서 3 시간 동안 가열되었다. 생성물이 단일 스팟으로서 보여주지 않았어도, 박층 크로마토그래피 (TLC) 분석은 개시 물질이 소비되었다는 것을 명시하였다. 반응 혼합물은 그 다음 실온으로 냉각되었고, 질소 하에 밀봉된 바이알에 전달되었고 -20 °C에서 톨루엔내 용액 (1 mL = 32.6 mg)으로서 저장되었다.

[0551] 트리에틸아민 (0.099 mL, 0.709 mmol)은 톨루엔 (5 mL)내 tert-부틸((4-이소시아나토벤질)옥시)디메틸실란 (165 mg, 0.626 mmol)의 용액에 첨가되었고, 이어서 알코올 (90.0 mg, 0.591 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 6 시간 동안 36 °C에서 교반되었다. 반응의 진행은 UPLC/MS로 모니터링되었다. 탄산 수소 나트륨 (NaHCO_3)의 포화된 용액 (10 mL)는 그 다음 첨가되었고, EtOAc/Hep (1:1, 60 mL)로 추출되었고, 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 및 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 10% 내지 40%)로 정제되어 215 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001131973)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.34 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.26 (d, 2 H, J = 7.6 Hz), 6.63 (br s, 1 H), 4.69 (s, 2 H), 4.17 (s, 2 H), 2.42 (s, 3 H), 1.35 (s, 6 H), 0.93 (s, 9 H), 0.08 (s, 6 H).

[0552] 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001131973) (198 mg, 0.476 mmol) 및 2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸 4-메틸벤젠설포네이트 (325 mg, 0.87 mmol)은 DMF (6.6 mL)에 용해되었다. 탄산세슘 (621 mg, 1.905 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 테트라부틸암모늄아이오다이드 (45 mg, 0.122 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 15 시간 동안 36 °C에서 교반되었다. 반응의 진행은 UPLC/MS로 모니터링되었다. NH_4Cl 의 포화된 용액 (30 mL)는 그 다음 첨가되었고, EtOAc/Hep (2:1, 150 mL)로 추출되었고, 염수 (10 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 20% 내지 50%)로 정제되어 248 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140141)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.28 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.20 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.73 (s, 2 H), 4.06 (br s, 2 H), 3.83 (dd, 2 H, J = 6.4, 5.6 Hz), 3.68-3.56 (m, 12 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.6, 5.2 Hz), 2.33 (s, 3 H), 1.14 (br s, 6 H), 0.93 (s, 9 H), 0.09 (s, 6 H).

2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필

(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140141) (81 mg, 0.131 mmol)은 메탄올 (5 mL) 및 물 (0.5 mL)의 혼합물에 용해되었다. 아세트산 (0.5 mL, 8.734 mmol)은 그 다음 반응 혼합물에 첨가되었고, 14 시간 동안 36 °C에서 교반되었다. 반응 혼합물은 실온으로 냉각되었고, 용매는 진공 하에 제거되었다. 잔기는 EtOAc (30 mL)로 희석되었고, 물 (2 X 5 mL), NaHCO_3 , 및 염수 (3 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 30% 내지 90%)로 정제되어 61.0 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)(4-((하이드록시메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140549)를 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.34 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.26 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.69 (d, 2 H, J = 4.4 Hz), 4.06 (br s, 2 H), 3.84 (dd, 2 H, J = 6.2, 6.2 Hz), 3.66-3.56 (m, 12 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 2.33 (s, 3 H), 1.74 (br s, 1 H), 1.14 (br s, 6 H).

[0554] 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)(4-(하이드록시메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140549) (60 mg, 0.119 mmol)은 0 °C로 냉각된 DCM (2 mL) 및 Py (0.019 mL, 0.239 mmol)에 용해되었다. DCM (2 mL)내 4-니트로페닐 카보노클로리데이트 (38.5 mg, 0.191 mmol) 및 디메틸아미노페리딘 (DMAP) (2.9 mg, 0.024 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 반응 혼합물은 30분 동안 0 °C에서 교반되었다. 반응 혼합물은 실온으로 느리게 가온되었고, 개시 물질이 소비된 때까지 (대략 2.5 시간) 교반되었다. 용매는 그 다음 진공 하에

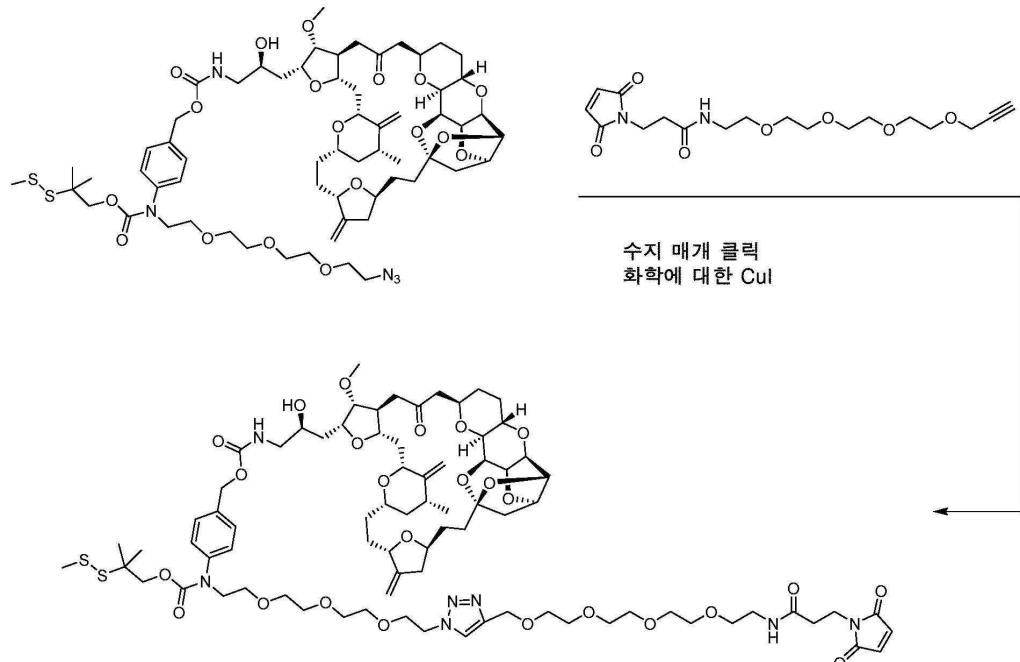
제거되었고, 잔기는 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 10% 내지 35%)로 정제되어 78 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸(4-(((4-나트로페녹시)카보닐)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140550)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 8.27 (dd, 2 H, J = 6.8, 2.4 Hz), 7.41 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.37 (dd, 2 H, J = 7.2, 2.4 Hz), 7.33 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 5.27 (s, 2 H), 4.08 (br s, 2 H), 3.85 (dd, 2 H, J = 5.8, 5.8 Hz), 3.66-3.57 (m, 12 H), 3.36 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 2.33 (br s, 3 H), 1.19 (br s, 6 H).

[0555]

DCM (3 mL, 46.625 mmol)내 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸(4-(((4-나트로페녹시)카보닐)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140550) (30 mg, 0.045 mmol)은 질소 하에 25-mL 플라스크에서 배치되었고, 0 °C로 냉각되었다. DCM (2 mL)내 아민 (40.8 mg, 0.049 mmol) 및 휘니그 염기 (0.024 mL, 0.135 mmol)는 첨가되었고, 이어서 DMAP (1.4 mg, 0.011 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 그 다음 실온으로 느리게 가온되었고, 3 시간 동안 교반되었고, 진공 하에 농축되었고, 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 50% 내지 100%, 이어서 MeOH/EtOAc 3% 내지 8%)로 정제되어 45.0 mg의 순수한 아자이드-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237508)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.32 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.25 (d, 2 H, J = 7.2 Hz), 5.28 (dd, 1 H, J = 5.6, 5.6 Hz), 5.11-5.04 (m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.88 (s, 1 H), 4.81 (s, 1 H), 4.69 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.60 (dd, 1 H, J = 4.2, 4.2 Hz), 4.36 (br s, 1 H), 4.33 (dd, 1 H, J = 4.0, 2.0), 4.29 (ddd, 1 H, J = 9.6, 4.4, 4.4 Hz), 4.18 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz), 4.14-4.04 (m, 3 H), 4.03 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz), 3.97-3.89 (m, 3 H), 3.84-3.78 (m, 3 H), 3.67-3.56 (m, 14 H), 3.42 (s, 3 H), 3.40-3.35 (m, 1 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 3.27 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 3.20 (ddd, 1 H, J = 12.8, 6.0, 6.0 Hz), 2.91-2.83 (m, 2 H), 2.70 (dd, 1 H, J = 16.0, 10.0 Hz), 2.52-2.40 (m, 3 H), 2.35-2.13 (m, 9 H), 2.10-2.06 (m, 1 H), 2.01-1.89 (m, 4 H), 1.78-1.64 (m, 4 H), 1.60-1.52 (m, 4 H), 1.49-1.28 (m, 5 H), 1.22-1.07 (m, 6 H), 1.09 (d, 3 H, J = 6.0 Hz).

[0556]

1.11 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237504)의 제조



[0557]

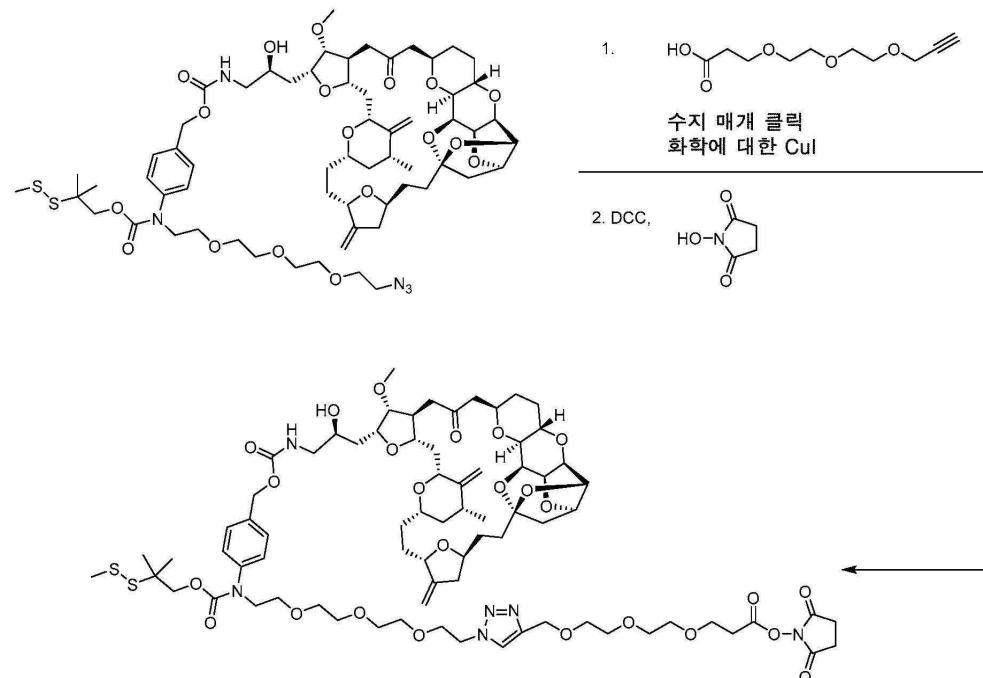
[0558]

tert-부탄올 (1.5 mL) 및 물 (0.5 mL)내 아자이드 (9.0 mg, 7.151 μmol) 및 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)-N-(3,6,9,12-테트라옥사펜타텍-14-인-1-일)프로판아미드 (6.8 mg, 0.018 mmol)의 A 혼합물은 45 분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 10 mg)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30 분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었고, UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 혼합물은 그 다음 수지로부터 분리되었고, HPLC (0.05 % 포름산이 있는 아세토니트릴/물)에서 정제되어 1.5 mg의 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237504)를 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.74 (s, 1 H), 7.32 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.27-7.25 (m, 2 H), 6.69 (br s, 2 H), 5.43 (dd, 1 H, J = 5.6, 5.6 Hz), 5.14-5.06 (m, 3

H), 4.95 (s, 1 H), 4.89 (s, 1 H), 4.82 (s, 1 H), 4.70 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.66 (s, 2 H), 4.62 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.52 (dd, 1 H, $J = 5.2, 5.2$ Hz), 4.38-4.31 (m, 2 H), 4.30 (ddd, 1 H, $J = 10.4, 4.0, 4.0$ Hz), 4.20 (dd, 1 H, $J = 6.4, 4.4$ Hz), 4.16-4.05 (m, 3 H), 4.04 (dd, 1 H, $J = 6.4, 4.4$ Hz), 3.99-3.91 (m, 3 H), 3.87-3.80 (m, 6 H), 3.70-3.59 (m, 22 H), 3.53 (dd, 2 H, $J = 5.2, 5.2$ Hz), 3.44 (s, 3 H), 3.43-3.36 (m, 3 H), 3.29 (d, 1 H, $J = 2.8$ Hz), 3.18 (ddd, 1 H, $J = 12.9, 6.2, 6.2$ Hz), 2.92-2.84 (m, 2 H), 2.72 (dd, 1 H, $J = 16.0, 10.0$ Hz), 2.54-2.42 (m, 5 H), 2.37-1.90 (m, 19 H), 1.78-1.52 (m, 3 H), 1.50-1.14 (m, 16 H), 1.10 (d, 3 H, $J = 6.0$ Hz). LCMS (M+H)=1642.1.

[0559]

1.12 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001244129)의 제조

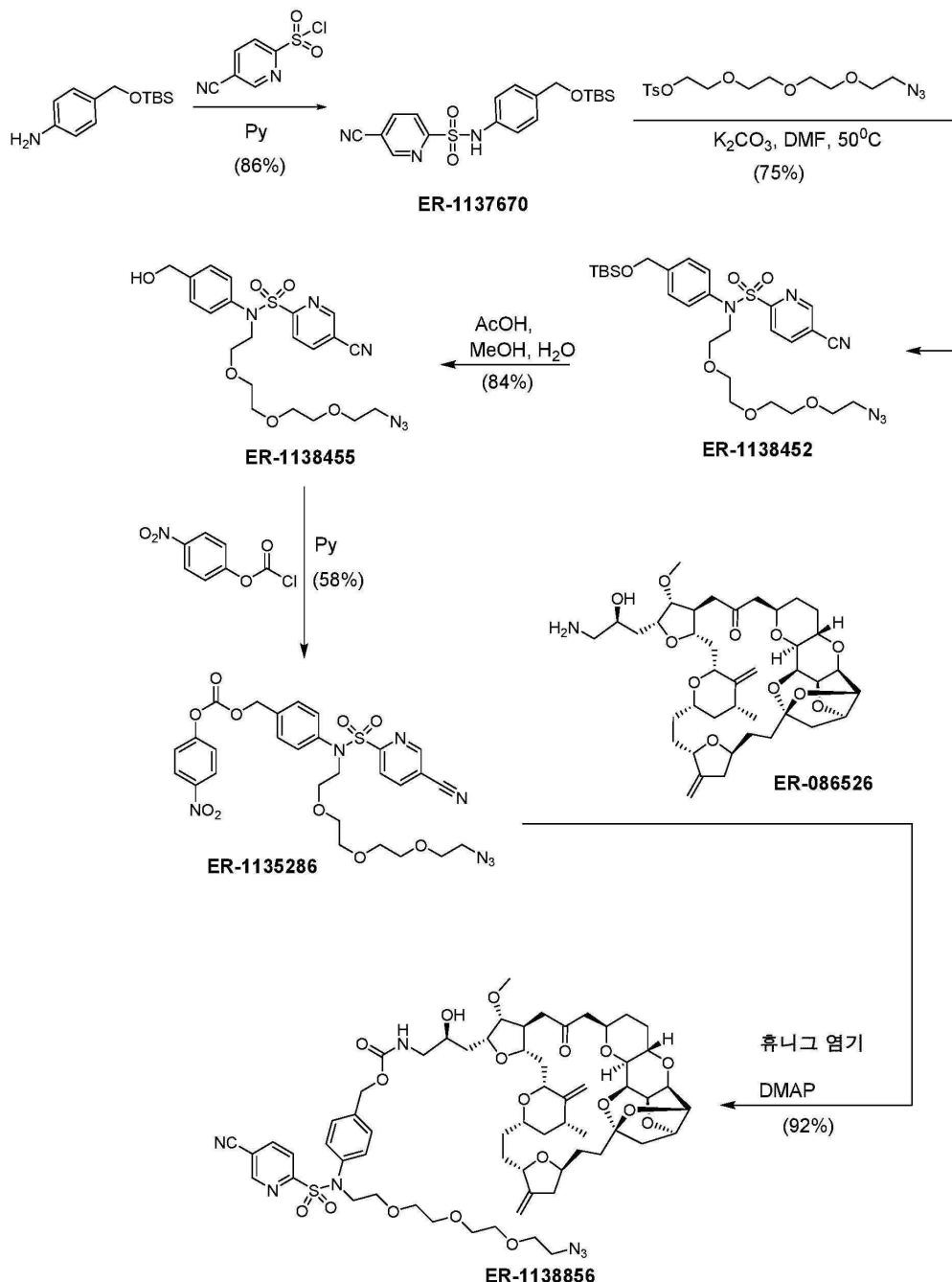


[0560]

[0561]

tert-부탄올 (1 mL) 및 물 (0.5 mL)내 아자이드 (9 mg, 7.151 μmol) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 3-(2-(프로프-2-인-1-일옥시)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (4.5 mg, 14.30 μmol)의 혼합물은 45 분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 10 mg, 7.151 μmol)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30 분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 18 시간 동안 실온 교반되었고, UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 혼합물은 그 다음 여과로 수지로부터 분리되었고, DCM (15 mL)로 추출되었고, 염수 (3 X 3 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되었다. 잔기 (5 mg, 3.39 μmol)은 톨루엔으로 공비중류되었고, THF (1 mL)에 용해되었고, 0 $^{\circ}\text{C}$ 로 냉각되었다. DCC (4.2 mg, 0.02 mmol)은 첨가되었고, 이어서 1-하이드록시피롤리딘-2,5-디온 (2.2 mg, 0.019 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은, UPLC/MS에 의해 결정된 경우, 주요 피크로서 보여주었다. 반응 혼합물은 그 다음 농축되었고 분취형 TLC (DCM/ *i*-프로판올, 8%)로 정제되어 2.5 mg의 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001244129)를 무색 오일로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ ppm 7.72 (s, 1 H), 7.32 (d, 2 H, $J = 8.8$ Hz), 7.25 (d, 2 H, $J = 8.8$ Hz), 5.08-5.04 (m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.85 (s, 1 H), 4.78 (s, 1 H), 4.64 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.58 (s, 2 H), 4.55 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.48 (dd, 2 H, $J = 5.0, 5.0$ Hz), 4.32 (d, 1 H, $J = 6.6$ Hz), 4.27-4.22 (m, 2 H), 4.14 (dd, 1 H, $J = 6.6, 4.8$ Hz), 4.10-4.01 (m, 3 H), 4.00 (dd, 1 H, $J = 6.8, 4.4$ Hz), 3.92-3.78 (m, 9 H), 3.65-3.53 (m, 19 H), 3.44-3.39 (m, 4 H), 3.37 (s, 3 H), 3.26 (d, 1 H, $J = 3.2$ Hz), 3.13 (ddd, 1 H, $J = 12.4, 6.0, 6.0$ Hz), 2.91-2.73 (m, 11 H), 2.70-2.64 (m, 2 H), 2.54-2.41 (m, 3 H), 2.38-1.80 (m, 16 H), 1.74-1.52 (m, 3 H), 1.41-1.13 (m, 10 H), 1.07 (d, 3 H, $J = 6.4$ Hz). LCMS (M+H)=1572.3.

[0562] 1.13 아자이드-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001138856)의 제조



[0563]

4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)아닐린 (315 mg, 1.327 mmol)은 0°C로 냉각된 DCM (10 mL)에 용해되었다. 피리딘 (0.268 mL, 3.317 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 15 분 동안 DCM (10 mL)내 5-시아노피리딘-2-설포닐 클로라이드 (365 mg, 1.801 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 1 시간 동안 실온으로 느리게 가온되었고, 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 EtOAc (50 mL)로 희석되었고, 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되어 610 mg (103%)의 N-4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-5-시아노피리딘-2-설폰아미드 (ER-001137670)을 수득하였다. 조 생성물은, 착색되었어도, 적당히 순수하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 8.94 (dd, 1 H, J = 1.8, 0.6 Hz), 8.10 (dd, 1 H, J = 8.4, 2.0 Hz), 7.99 (dd, 1 H, J = 8.0, 0.8 Hz), 7.18 (d, 2 H, J = 8.2 Hz), 7.15 (br s, 1 H), 7.11 (dd, 2 H, J = 6.8, 0.8 Hz), 4.64 (s, 2 H), 0.90 (s, 9 H), 0.05 (s, 6 H).

[0565]

N-4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-5-시아노피리딘-2-설폰아미드 (ER-001137670) (105.0 mg, 0.26 mmol) 및 2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸 4-메틸벤젠설포네이트 (143 mg, 0.383 mmol)은 DMF (4 mL)에 용해되었다. 탄산칼륨 (K_2CO_3) (144 mg, 1.041 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 테트라부틸암모늄 아

이오다이드 (19.2 mg, 0.052 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 36 시간 동안 50 °C에서 교반되었다. 반응의 진행은 UPLC/MS로 모니터링되었다. NH₄Cl (10 mL)의 포화된 용액은 첨가되었고, EtOAc/Hep (2:1, 30 mL)로 추출되었고, 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 25% 내지 80%)로 정제되어 118.0 mg의 N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)-N-(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)-5-시아노페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138452) (75%)를 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (dd, 1 H, *J* = 1.8, 0.6 Hz), 8.08 (dd, 1 H, *J* = 8.2, 2.2 Hz), 7.86 (dd, 1 H, *J* = 8.0, 0.8 Hz), 7.24 (d, 2 H, *J* = 10 Hz), 7.09 (d, 2 H, *J* = 8.8 Hz), 4.69 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, *J* = 6.0, 6.0 Hz), 3.67 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz), 3.65 – 3.62 (m, 4 H), 3.58 (dd, 2 H, *J* = 6.2, 6.2 Hz), 3.56 – 3.53 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz), 0.93 (s, 9 H), 0.08 (s, 6 H).

[0566]

N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)-N-(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)-5-시아노페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138452) (150 mg, 0.248 mmol)은 메탄올 (6 mL)에 용해되었다. 물 (0.60 mL)는 그 다음 첨가되었고, 이어서 아세트산 (AcOH) (0.60 mL, 10.481 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 38 °C로 느리게 가온되었고, 14 시간 동안 교반되었다. 다수의 용매는 전공 하에 제거되었다. 잔기는 EtOAc (30 mL)로 희석되었고, 물 (2 X 5 mL), NaHCO₃, 및 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 및 전공 하에 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 35% 내지 90%)로 정제되어 105.0 mg의 N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노-N-(4-(하이드록시메틸)페닐)페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138455) (84%)를 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (d, 1 H, *J* = 1.2 Hz), 8.09 (dd, 1 H, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 7.88 (dd, 1 H, *J* = 8.4, 0.8 Hz), 7.30 (d, 2 H, *J* = 8.8 Hz), 7.15 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 4.67 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, *J* = 6.2, 6.2 Hz), 3.66 (dd, 2 H, *J* = 5.0, 5.0 Hz), 3.65 – 3.58 (m, 6 H), 3.55 – 3.51 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz).

[0567]

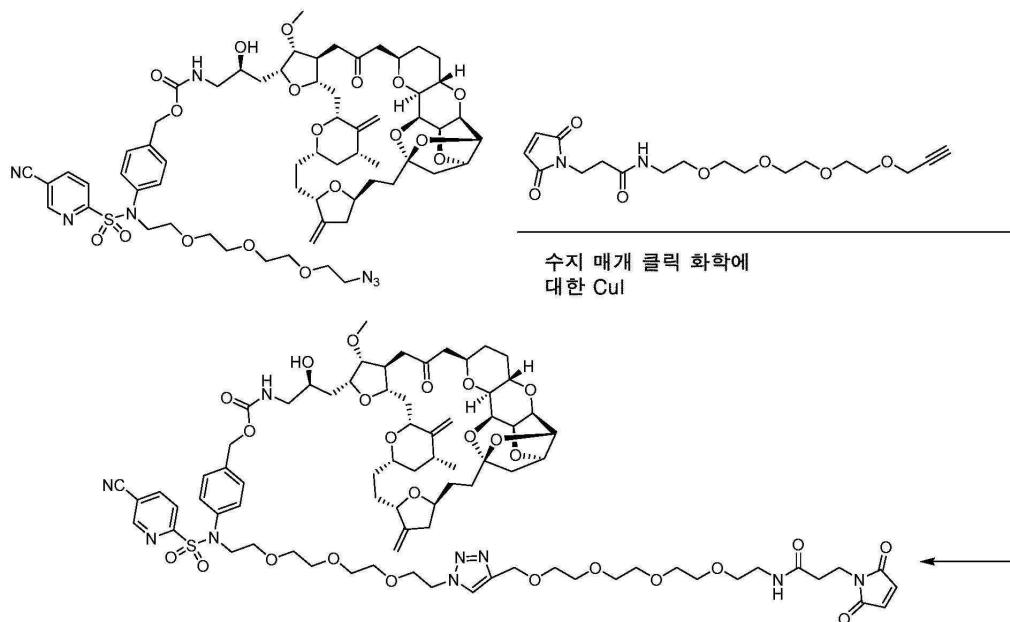
N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노-N-(4-(하이드록시메틸)페닐)페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138455) (45 mg, 0.092 mmol)은 DCM (3 mL)에 용해되었고, 페리딘 (0.015 mL, 0.183 mmol)의 첨가 이후 0 °C로 냉각되었다. DCM (2 mL) 및 DMAP (2.3 mg, 0.018 mmol)내 4-나트로페닐 카보노클로리테이트 (20.3 mg, 0.101 mmol)은 그 다음 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온으로 느리게 가온되었고 2 시간 동안 교반되었다. UPLC/MS는 일부 개시 물질이 남아있다는 것을 명시하였다. 반응 혼합물은 그 다음 전공 하에 농축되었고, 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 12% 내지 40%)로 정제되어 35 mg의 4-((N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노페리딘)-2-설폰아미도)벤질 (4-나트로페닐) 카보네이트 (ER-001235286) (58%), 및 20 mg의 개시 물질을 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (d, 1 H, *J* = 0.8 Hz), 8.27 (dd, 2 H, *J* = 9.2, 2.0 Hz), 8.12 (dd, 1 H, *J* = 7.6, 2.0 Hz), 7.92 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.38 (d, 4 H, *J* = 9.6 Hz), 7.26 (d, 2 H, *J* = 8.8 Hz), 5.45 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, *J* = 5.8, 5.8 Hz), 3.67 – 3.58 (m, 8 H), 3.58 – 3.50 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, *J* = 6.1, 6.1 Hz).

[0568]

4-(N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노페리딘-2-설폰아미도)벤질 (4-나트로페닐) 카보네이트 (ER-001235286) (35.0 mg, 0.053 mmol)은 25-mL 플라스크에서 질소 하에 배치되었고, 0 °C로 냉각되었다. DCM (3 mL, 46.625 mmol) 및 휘니그 염기 (0.037 mL, 0.214 mmol)내 아민 (48.5 mg, 0.059 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 DMAP (2.61 mg, 0.021 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 30분 동안 0 °C에서 교반되었고, 그 다음 추가의 6 시간 동안 실온에서 교반되었다. 반응 혼합물은 전공 하에 농축되었고, 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 50% 내지 100%, 이어서 MeOH/EtOAc 3% 내지 8%)로 정제되어 61.0 mg의 순수한 아자이드-PEG3-설폰아미드-PAB-에리볼린 (ER-001138856)을 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.98 (d, 1 H, *J* = 1.2 Hz), 8.10 (dd, 1 H, *J* = 8.2, 1.8 Hz), 7.87 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz), 7.26 (d, 2 H, *J* = 6.8 Hz), 7.13 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 5.29 (dd, 1 H, *J* = 5.6, 5.6 Hz), 5.08–5.00 (m, 3 H), 4.92 (s, 1 H), 4.87 (s, 1 H), 4.80 (s, 1 H), 4.68 (dd, 1 H, *J* = 4.6, 4.6 Hz), 4.59 (dd, 1 H, *J* = 4.6, 4.6 Hz), 4.38–4.30 (m, 2 H), 4.28 (ddd, 1 H, *J* = 10.4, 4.0, 4.0, Hz), 4.17 (dd, 1 H, *J* = 6.2, 4.6 Hz), 4.13–4.01 (m, 4 H), 3.97–3.88 (m, 3 H), 3.82–3.78 (m, 1 H), 3.67–3.50 (m, 15 H), 3.41 (s, 3 H), 3.40–3.33 (m, 1 H), 3.37 (dd, 2 H, *J* = 4.8, 4.8 Hz), 3.27 (d, 1 H, *J* = 3.2 Hz), 3.15 (ddd, 1 H, *J* = 12.8, 6.4, 6.4 Hz), 2.90–2.82 (m, 2 H), 2.70 (dd, 1 H, *J* = 16.0, 10.0 Hz), 2.51–2.40 (m, 3 H), 2.34–2.13 (m, 7 H), 2.10–2.05 (m, 1 H), 1.99–1.88 (m, 4 H), 1.78–1.64 (m, 5 H), 1.62–1.52 (m, 2 H), 1.50–1.29 (m, 4 H), 1.08 (d, 3 H, *J* = 6.8 Hz).

[0569]

1.14 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001237505)의 제조

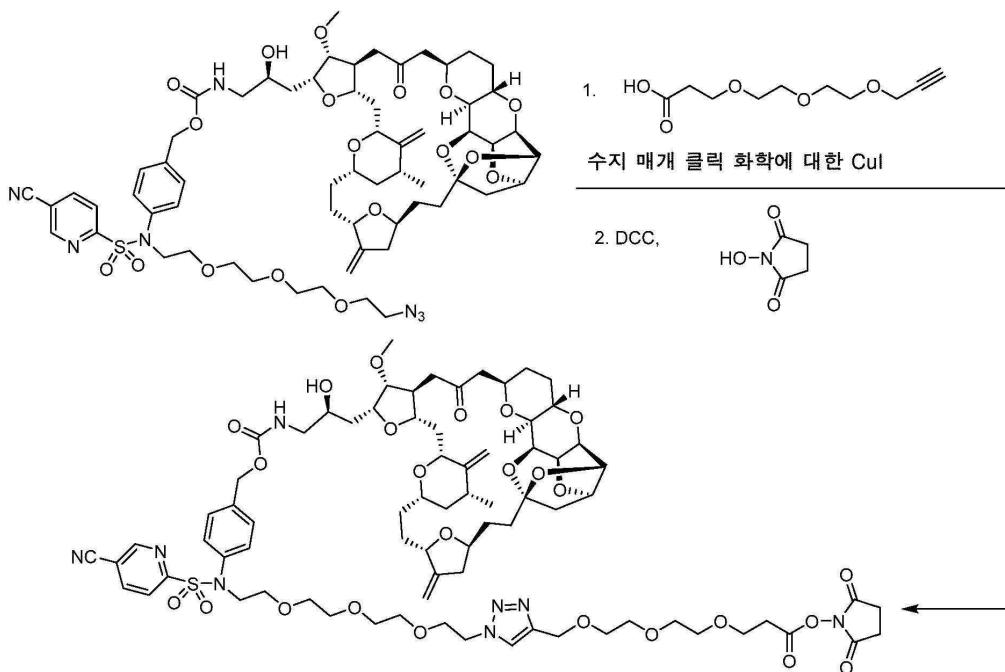


[0570]

[0571]

tert-부탄올 (2.1 mL) 및 물 (0.7 mL)내에 아자이드 (10 mg, 8.023 μ mol) 및 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)-N-(3,6,9,12-테트라옥사펜타텍-14-인-1-일)프로판아미드 (9.20 mg, 0.024 mmol)의 혼합물은 45분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 15 mg)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18시간 동안 교반되었고, UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 반응 혼합물은 그 다음 수지로부터 분리되었고 분취형 TLC (DCM/메탄올, 7%)로 정제되어 5.5 mg의 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001237505)를 수득하였다. 1 H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 9.01 (s, 1 H), 8.15 (dd, 1 H, *J* = 8.0, 1.8 Hz), 7.87 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz), 7.75 (s, 1 H), 7.28 (d, 2 H, *J* = 8.0 Hz), 7.14 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 6.68 (s, 2 H), 6.47 (br s, 1 H), 5.44 (br s, 1 H), 5.10-5.02 (m, 3 H), 4.94 (s, 1 H), 4.86 (s, 1 H), 4.80 (s, 1 H), 4.68 (dd, 1 H, *J* = 4.4, 4.4 Hz), 4.59 (s, 2 H), 4.56 (dd, 1 H, *J* = 4.4, 4.4 Hz), 4.51 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz), 4.34 (d, 1 H, *J* = 7.6, Hz), 4.30-4.23 (m, 2 H), 4.19 - 4.14 (m, 2 H), 4.08 (dd, 1 H, *J* = 4.0, 4.0 Hz), 4.03 - 3.98 (m, 2 H), 3.94 - 3.72 (m, 8 H), 3.68 - 3.46 (m, 28 H), 3.38 (s, 3 H), 3.38 - 3.33 (m, 3 H), 3.27 (d, 1 H, *J* = 3.2 Hz), 3.16 - 3.02 (m, 2 H), 2.90 - 2.81 (m, 2 H), 2.68 (dd, 1 H, *J* = 16.2, 9.8 Hz), 2.54-2.40 (m, 7H), 2.40-1.8 (m, 11 H), 1.80-1.50 (m, 3 H), 1.48-1.25 (m, 3 H), 1.09 (d, 3 H, *J* = 6.4 Hz). LCMS (M+H)=1630.0.

[0572] 1.15 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001244623)의 제조



[0573]

[0574]

tert-부탄올 (2 mL) 및 물 (1 mL)내 아자이드 (14 mg, 0.011 mmol) 및 2,5-디옥소파롤리딘-1-일 3-(2-(프로프-2-인-1-일옥시)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (8.80 mg, 0.028 mmol)의 A 혼합물은 45 분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 20 mg)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30 분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었다. UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 반응 혼합물은 그 다음 수지로부터 DCM (2 x 10 mL)로 추출에 의해 분리되었다. DCM 층은 염수 (4 x 5 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, (다음 단계에서 임의의 추가 정제없이 사용되었던) 원하는 생성물로 농축되었다.

[0575]

미정제 산 (15.0 mg, 10.255 μ mol)은 THF (1.5 mL)에 용해되었고, 0 °C로 냉각되었다. DCC (15.2 mg, 0.074 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 1-하이드록시파롤리딘-2,5-디온 (8.3 mg, 0.072 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었다. UPLC/MS는 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물이 주요 피크로서 보여주었다는 것을 명시하였다. 반응 혼합물은 농축되었고, 분취형 TLC (DCM / i-프로판올, 8%)로 정제되어 2.5 mg의 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001244623)을 수득하였다. 1 H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ ppm 9.00 (s, 1 H), 8.12 (d, 1 H, J = 8.4 Hz), 8.00 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.72 (s, 1 H), 7.26 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.12 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 5.37 (br s, 1 H), 5.08-5.02 (m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.85 (s, 1 H), 4.78 (s, 1 H), 4.66-4.62 (m, 1 H), 4.58-4.56 (m, 4 H), 4.33 (d, 1 H, J = 10.8 Hz), 4.29-4.21 (m, 2 H), 4.10-3.96 (m, 4 H), 3.93-3.76 (m, 6 H), 3.74-3.44 (m, 27 H), 3.36 (s, 3 H), 3.34-3.24 (m, 2 H), 3.15-3.06 (m, 1 H), 2.97 (br s, 1 H), 2.90-2.78 (m, 8 H), 2.74-2.08 (m, 13 H), 2.05-1.78 (m, 5 H), 1.73-1.50 (m, 2 H), 1.41-1.25 (m, 4 H), 1.07 (d, 3 H, J = 6.0 Hz). LCMS ($M+H$)=1560.0.

[0576]

1.16 Mal-PEG2-에리불린의 제조

[0577]

에리불린 (5 mg, 7 μ mol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 말레이미도-PEG2-NHS (5 mg, 14 μ mol; Broadpharm, Cat No. BP-21680) 및 휘니그 염기 (2.4 μ L, 14 μ mol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로 정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 3.7 mg (3.8 μ mol, 54%)이었다. 예상된 정확한 질량은 968.5 Da이었다. 측정된 질량은 969.6 Da [$M+H$]이었다.

[0578]

1.17 Mal-PEG4-에리불린의 제조

[0579]

에리불린 (5 mg, 7 μ mol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 말레이미도-PEG4-NHS (6.2 mg, 14 μ mol; Broadpharm, Cat No. BP-20554) 및 휘니그 염기 (2.4 μ L, 14 μ mol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로

정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 3.7 mg (3.5 μmol , 50%)이었다. 예상된 정확한 질량은 1056.5 Da이었다. 측정된 질량은 1057.7 Da [M+H]이었다.

[0580] 1.18 아지도-PEG2-에리불린의 제조

에리불린 (5 mg, 7 μmol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 아지도-PEG2-NHS (4.2 mg, 14 μmol ; Broadpharm, Cat No. BP-20524) 및 휘니그 염기 (2.4 μL , 14 μmol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로 정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 2.2 mg (2.4 μmol , 34%)이었다. 예상된 정확한 질량은 914.5 Da이었다. 측정된 질량은 915.7 Da [M+H]이었다.

[0582] 1.19 아지도-PEG4-에리불린의 제조

에리불린 (5 mg, 7 μmol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 아지도-PEG4-NHS (5.5 mg, 14 μmol ; Broadpharm, Cat No. BP-20518) 및 휘니그 염기 (2.4 μL , 14 μmol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로 정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 3.0 mg (3.0 μmol , 43%)이었다. 예상된 정확한 질량은 1002.5 Da이었다. 측정된 질량은 1003.7 Da [M+H]이었다.

[0584] 1.20 아지도-PEG4-Val-Cit-PAB-에리불린의 제조

에리불린 (15 mg, 21 μmol)은 DMF (1.5 mL)에 용해되었고, 양호하게 혼합되었다. 휘니그 염기 (5.5 μL , 32 μmol) 및 Fmoc-VCP-PNP (24 mg, 22 μmol ; Levena Biopharma, Cat No. VC1003)은 그 다음 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 밤새 (16 시간) 교반되었다. 반응의 완료시, 디에틸아민 (20 μL , 0.21 mmol)은 반응 혼합물에 첨가되었고, 2 시간 동안 실온에서 교반되어 Fmoc 보호기를 제거하였다. 탈보호 반응은 Waters SQD 질량 분광분석기를 사용하여 모니터링되었다. 반응의 완료시, 반응 혼합물은 사전-칭량된 1.5mL 마이크로원심관에 전달되었다. 용매는 30 °C에서 셋팅된 온도를 가진 냉장된 Centrivap 농축기를 사용하여 진공 하에 증발되었다. 수율은 16 mg (14 μmol)의 미정제 NH2-Val-Cit-pAB-에리불린 (정확한 질량 1134.6 Da, 67% 수율)이었다.

[0586] NH2-Val-Cit-pAB-에리불린 (16 mg, 14.1 μmol)은 DMF (1.5 mL)에 용해되었다. 휘니그 염기 (7.2 μL , 41 μmol) 및 아지도-PEG4-NHS (11 mg, 28.2 μmol)은 그 다음 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 3 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 48-72%)로 정제되었다. 용출물은 *m/z* 1409에서 수집되었고, 동결건조되어 아지도-PEG4-Val-Cit-PAB-에리불린 (정확한 질량 1407.7 Da)를 제공하였다. 13 mg (9.2 μmol)의 아지도-PEG4-Val-Cit-PAB-에리불린은 수득되었다 (65% 단계 수율, 44% 전체).

[0587] 실시예 4

[0588] 1. 물질 및 방법

[0589] 사용된 모든 시약은, 달리 나타내지 않는 한, 연구-등급 이상에서 상업적 공급자로부터 수득되었다.

[0590] 1.1 항체

[0591] 하기 연구에서 사용된 MORAb-003 (인간화된 항-인간 폴레이트 수용체 알파, 25 mg/mL) 및 MORAb-009 (마우스-인간 키메라 항-인간 메소텔린, 25 mg/mL)은 Lot #NB02962-19 및 Lot #030A14, 각각 출신이었다. 트라스투주맙은 상업적으로 수득되었고 (Clingen), 및 Lot #503345 출신이었다.

[0592] LCcys80 (표 1)에서 짹짓기되지 않은 시스테인을 갖는 토키-인간 키메라 및 인간화된 항-인간 메소텔린 항체는 일시적으로 293F 세포에서 또는 안정적으로-선택된 풀로서 발현되었다. 조건화된 배지는 정제되었고 섹션 1.4.1.2.1에서 기재된 바와 같이 테시스테이닐화되었다.

[0593] 1.2 세포독소

[0594] 콘주게이션가능한 에리불린 화합물은 실시예 3에서 기재된 바와 같이 합성되었다 (표 46). 스톡 (10 mM)은 DMSO에서 제조되었고 사용까지 -20 °C에서 저장되었다.

[0595] 1.3 종양 세포주

[0596] 말레이이미도/석신이미드 (OSu)/아지도-링커-에리불린 화합물로 제조된 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙

ADCs의 분석에서 사용된 인간 종양 세포주 (표 46)은 하기를 포함한다: IGROV1 (인간 난소 암종, FR^{hi}, MSLN^{neg}), NCI-H2110 (인간 비-소 세포 폐 암종, FR^{med}, MSLN^{med}), A431 (FR^{neg}, MSLN^{neg}), NCI-N87-luc (인간 위 암종, FR^{lo}, MSLN^{med}, her2^{hi}), NUGC3 (인간 위 선암종, FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{neg}), ZR75 (인간 유방 관 암종, FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{med}), 및 BT-474 (인간 유방 관 암종, FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{hi}). MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)로 콘주게이션된 토끼-인간 키메라 및 인간화된 항-인간 메소텔린 LCcys80 항체의 분석에서 사용된 인간 종양 세포주는 하기이었다: A3 (인간 메소텔린, MSLN^{hi}로 안정적으로 형질감염된 A431), OVCAR3 (인간 난소 암종, MSLN^{hi}), HEC-251 (인간 자궁내막, MSLN^{med}), H226 (인간 폐 편평상피 세포 종피종, MSLN^{lo}), 및 A431 친계 (MSLN^{neg}). 사용된 모든 세포주는 미국 종균 협회 (ATCC)로부터 직접적으로 수득되었고, (허가 받은, 국립 암 연구소로부터 수득된) IGROV1 및 (친계 A431로부터 Morphotek에서 생성된) A3은 예외이었다.

- [0597] **1.4항체-약물 콘주게이션**
- [0598] **1.4.1말레이미드를 사용하는 시스테인-기반된 콘주게이션**
- [0599] **1.4.1.1 쇄간 디설파이드에 대한 콘주게이션**
- [0600] **1.4.1.1.1부분적인 환원**
- [0601] MORAb-003 및 MORAb-009는 둘째코 포스페이트-완충 식염수 (DPBS)에 완충액-교환되었고, 그 다음 원심 농축을 사용하여 20 mg/mL로 농축되었다. 2 mM EDTA와 1X DPBS내 270 μ M 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)의 동일 용적은 첨가되었고, 환원은 80 분 동안 실온에서 부드러운 혼합에 의해 수행되었다. 트라스투주맙은, 환원이 40 분 동안 실온에서 부드러운 혼합에 의해 수행되는 것을 제외하고, 유사한 방식으로 부분적으로-환원되었다.
- [0602] **1.4.1.1.2콘주게이션**
- [0603] (DMSO내) 말레이미도-링커-에리불린 화합물은 1:6 (mAb:화합물)의 몰비로 부분적으로 환원된 항체에 콘주게이션되었다. 화합물은 DPBS내 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 양호하게 혼합되었다. 부분적으로-환원된 항체의 동일 용적은 그 다음 첨가되었고, 및 부드럽게 혼합되었다 (최종 프로필렌 글리콜 농도 25%). 콘주게이션은 3.5 내지 4 시간 동안 실온에서 진행되었다.
- [0604] **1.4.1.2 LCcys80에 대한 콘주게이션**
- [0605] **1.4.1.2.1 데시스테이닐화**
- [0606] AKTA Explorer (GE Healthcare)를 사용하여, 단백질 A 칼럼 (GE Healthcare)은 10 칼럼 용적 (CV)의 20 mM 인산나트륨, 10 mM EDTA, pH 7.2 (평형 완충액)으로 평형화되었다. 조건화된 배지는 그 다음 장입되었고, 이어서 10 CV의 평형 완충액으로 미결합된 물질이 세정되었다. 칼럼은 16 시간 동안 0.5 mL/min에서 16 CV의 20 mM 인산나트륨, 10 mM EDTA, 5 mM 시스테인, pH 7.2로 세정되어 캡핑 기를 제거하였다. 칼럼은 그 다음 60 시간 동안 0.5 mL/min에서 60 CV의 20 mM Tris, pH 7.5로 세정되었다. 데시스테이닐화된 항체는 5 CV의 0.1 M 글리신, pH 2.9를 사용하여 용출되었고 5% 용적의 2 M Tris, pH 9.0을 사용하여 즉시 중화되었다. 항체를 함유하는 분획은 풀링되었고 MWCO 20K Slide-A-Lyzer (Thermo Fisher)를 사용하여 DPBS에서 투석되었다.
- [0607] **1.4.1.2.2콘주게이션**
- [0608] 데시스테이닐화된 항체는 DPBS, 1 mM EDTA내 5.0 mg/mL가 되었고, 50% 프로필렌 글리콜은 DPBS, 1mM EDTA에서 제조되었다. MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569) (DMSO내 12 mM)은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 데시스테이닐화된 항체의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 첨가되었고, 부드럽게 혼합되었다. 콘주게이션은 3.5 내지 4 시간 동안 실온에서 진행되었다.
- [0609] **1.4.2석신이미드를 사용하는 아민-기반 콘주게이션**
- [0610] **1.4.2.1 콘주게이션**
- [0611] 항체 (MORAb-003 또는 MORAb-009, 비-환원됨)은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3내 10.0 mg/mL가 되었다. 50% 프로필렌 글리콜은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3에서 제조되었다. (DMSO내) 석신이미드 (OSu)-링커-에리불린은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 항체의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 첨가되었고, 철저하게 혼합되었다. 콘주게이션은 1 시간 동안 실온에서 진행되었다. 콘주게이션 반응은 1 M

Tris, pH 8.0의 1:20 용적의 첨가로 켄칭되었고, ADC는 섹션 1.4.4에서 기재된 바와 같이 정제되었다.

[0612] 1.4.3균주-촉진된 알긴-아자이드 화학 (SPAAC)를 사용하는 2-단계 아민-기반 콘주게이션

[0613] 1.4.3.1 디벤질사이클로옥坦 (DBCO) 유도체화

항체 (MORAb-003 또는 MORAb-009, 비-환원됨)은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3내 10.0 mg/mL가 되었다. 50% 프로필렌 글리콜은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3에서 제조되었다. NHS-PEG₄-DBCO (Click Chemistry Tools, DMSO내 50 mM)은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 항체의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 첨가되었고, 철저하게 혼합되었다. 콘주게이션은 1 시간 동안 실온에서 진행되었다. 미반응된 NHS-PEG₄-DBCO는, 섹션 1.4.4에서 기재된 바와 같이, 제거되었다.

[0615] 1.4.3.2 콘주게이션

[0616] 50% 프로필렌 글리콜은 DPBS에서 제조되었다. 아지도-링커-에리불린 화합물은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. DBCO-변형된 MORAb-003 또는 MORAb-009의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 혼합물에 첨가되었고, 철저하게 혼합되었다. SPAAC 콘주게이션은 실온에서 밤새 진행하게 되었다. 미반응된 NHS-PEG₄-DBCO는, 섹션 1.4.4에서 기재된 바와 같이, 제거되었다.

[0617] 1.1.4정제

[0618] 콘주게이션된 항체는 HiTrap 탈염 칼럼(들) (GE Healthcare)를 사용하여 정제되었다. 크로마토그래피는, 말레이미도/OSu/아지도-링커-에리불린 및 프로필렌 글리콜을 제거하기 위해, 작동 완충제로서 1X DPBS를 사용하여, 고속 단백질 액체 크로마토가피 (FPLC) (GE Healthcare)에서 수행되었다. 최종 단백질 함량은, 실시에 1의 섹션 1.3.1에서 기재된 바와 같이, BCA 검정에 의해 결정되었다.

[0619] 1.5생체물리학적 특성규명

[0620] 1.5.1SEC-HPLC 분석

[0621] ADCs의 응집은 Agilent 1260 HPLC를 사용하여 크기-배제, 고-성능 액체 크로마토그래피 (SEC-HPLC)로 분석되었다. ADC는 DPBS내 1 mg/mL로 희석되었다. ADC (10 μL)는 그 다음 Advanced SEC 300A 가드 칼럼 (4.6 mm x 3.5 cm, 2.7 μm 기공 크기, Agilent), 이어서 AdvancedBio 300A 칼럼 (4.6 mm x 30 cm, 2.7 μm 기공 크기)에 주사되었다. ADC는 28 분 동안 0.25 mL/min의 유량에서 0.15 M NaCl 및 5% IPA, pH 7.4를 함유하는 0.1 M 인산나트륨을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 모든 데이터는 Agilent ChemStation 소프트웨어를 사용하여 분석되었다. 퍼센트 응집은 하기로서 계산되었다: [PA_{응집물}/PA_총]*100, 여기에서 PA = 통합된 피크 면적.

[0622] 1.5.2약물-대-항체 비 (DAR)의 HIC-HPLC 분석

[0623] DAR은 소수성 상호작용 HPLC (HIC-HPLC)를 사용하여 분석되었다. 샘플은 TSKgel® 부틸-NP5, 4.6 mm ID x 3.5 cm, 2.5 μM 비다공성 크기 칼럼 (Tosoh Bioscience)에 주사되었고, 이동상 A의 100%에서 3 분 평형, 15 분 구배 (0-100% B), 100% B에서 5 분 유지, 100% A로 1 분 변화, 및 0.7 mL/min에서 이동상 A의 100%에서 5 분 재평형으로 용출되었다. 이동상 A는 25 mM 인산나트륨, 1.5 M 황산암모늄, pH 7.0이었다. 이동상 B는 25 mM 인산나트륨, 25% 이소프로판올, pH 7.0이었다. 검출은 280 nm (참조 320 nm)에서 수행되었다. DAR은 하기 식에 의해 결정되었다:

$$[\text{AUC}_{+1} + 2(\text{AUC}_{+2}) + 3(\text{AUC}_{+3}) + \dots + n(\text{AUC}_{+n})] / \Sigma \text{AUC}_{\text{tot}}$$

[0625] 여기에서 AUC₊₁은 1 세포독소로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 항체 피크에 대하여 곡선하 면적이고, AUC₊₂는 2 세포독소, 등으로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 항체 피크에 대하여 곡선하 면적이다. ΣAUC_{tot}는 모든 피크에 대하여 조합된 곡선하 면적이다.

[0626] 1.5.3LC-MS DAR 분석

[0627] DAR은 SQD/PDA 검출과 Waters Alliance HPLC를 가진 LC-MS 방법을 사용하여 또한 분석되었다. 샘플은 65° C에서 Proteomix RP-1000 칼럼 (5 μM, 1000A, 4.6 mm x 15 cm, Sepax)에 주사되었고, 25%B에서 3 분 평형, 25%-55%B로부터 27 분 선형 구배, 55%B에서 5 분 유지, 90%B로 1 분 변화, 90%B에서 5 분 유지, 25%B로 1 분 역 변화, 및 25%B에서 5 분 재평형으로 용출되었다. 이동상 A는 물내 0.1% TFA이었고, 이동상 B는 아세토니트릴내

0.1% TFA이었다. 용출물은 그 다음 PDA 및 SQD 검출기 속으로 갈라졌다(10:1). SQD 검출기는 ES 양성, 3.2 kV에서 모세관 전압, 40 V에서 콘 전압, 3 V에서 추출기, 및 0.2 V에서 RF 렌즈, 150 °C에서 공급원 온도, 및 250 °C에서 탈용매화 온도로서 셋업되었다. 질량 데이터는 40 분 동안 연속체 방식, 스캔 시간 1 초로 200-2000m/z에서 획득되었다. 데이터는 분석되었고 MassLynx 및 MaxEnt 1을 사용하여 오프라인 디콘볼류션되었다. DAR은 하기 식을 사용하여 계산되었다:

$$[0628] 2[\text{AUC}_{\text{LC}+1} + 2(\text{AUC}_{\text{LC}+2}) + 3(\text{AUC}_{\text{LC}+3}) + \dots + n(\text{AUC}_{\text{LC}+n})] / \sum \text{I}_{\text{LCtot}}] +$$

$$[0629] 2[\text{AUC}_{\text{HC}+1} + 2(\text{AUC}_{\text{HC}+2}) + 3(\text{AUC}_{\text{HC}+3}) + \dots + n(\text{AUC}_{\text{HC}+n})] / \sum \text{AUC}_{\text{HCtot}}]$$

[0630] 여기에서 $\text{AUC}_{\text{LC}+1}$ 은 1 세포독소로 콘주게이션된 경쇄 피크의 곡선하 면적이고, $\text{AUC}_{\text{LC}+2}$ 는 2 세포독소, 등으로 콘주게이션된 경쇄 피크의 곡선하 면적이다. AUC_{HC} 는 상응하는 중쇄의 곡선하 면적이고, $\sum \text{AUC}_{\text{LCtot}}$ 및 $\sum \text{AUC}_{\text{HCtot}}$ 는 모든 미콘주게이션된 및 콘주게이션된 경쇄 및 중쇄, 각각의 조합된 곡선하 면적이다.

1.5.4 LCcys80 ADCs의 UPLC/ESI-MS DAR 분석

[0632] ADC (1 mg/mL)는 20 mM의 최종 농도로 DTT 첨가, 이어서 60 °C에서 3 분 동안 인큐베이션에 의해 환원되었다. 샘플은 그 다음 Waters Acquity 초고성능 액체 크로마토그래피 및 Q-Tof Premier 질량 분광분석기를 사용하여 분석되었다. 샘플 (0.5-2 μg 각각)은, 0.05 mL/min에서, 이동상 A의 95%에서 5 분 평형, 10 분 구배 (5-90% B), 및 이동상 A의 95%에서 10 분 재-평형을 가진 칼럼으로부터 용출된, 65° C에서 MassPrep 마이크로 탈염 칼럼에 주사되었다. 이동상 A는 물내 0.1% 포름산이었다. 이동상 B는 아세토니트릴내 0.1% 포름산이었다. Q-Tof 질량 분광분석기는 500-4000 m/z의 범위에서 검출하는 양이온, V-방식에서 운영되었다. 공급원 파라미터는 아래와 같았다: 모세관 전압, 2.25 kV (온전한 항체)-2.50 kV (환원된 항체); 샘플링 콘 전압, 65.0 V (온전한 항체) 또는 50.0 V (환원된 항체); 공급원 온도, 105° C; 탈용매화 온도, 250 °C; 탈용매화 가스 흐름, 550 L/hr. 경쇄 단백질 피크는 MassLynx MaxEnt 1 기능을 사용하여 디콘볼류션되었다. 미콘주게이션된 및 단독으로-콘주게이션된 경쇄 질량의 상대 강도는 하기 식을 사용하여 전반적인 DAR을 계산하는데 사용되었다:

$$[0633] 2[\text{LC}_{+1} / \sum \text{LC}_{\text{tot}}]$$

[0634] 여기에서 LC_{+1} 은 1 세포독소로 콘주게이션된 경쇄의 질량 강도이고, $\sum \text{LC}_{\text{tot}}$ 는 미콘주게이션된 및 콘주게이션된 경쇄의 조합된 강도이다.

1.6 결합 특성규명

1.6.1 BIACore

[0635] 항체 농도는 HBS-P+ 완충액 (GE Healthcare)에서 2 μg/mL로 조정되었다. 미변형된 항체, 또는 ADCs는 10 μL/min의 유량에서 1 분 동안 BIACore T100 (GE Healthcare)에서 항-인간 IgG 센서에 대해 주사되었다. 포착된 항체에 항원 회합을 기록하기 위해, 항원의 일련의 증가하는 농도는 30 μL/min의 유량에서 300 초 동안 주사되었다. 항-메소텔린 항체에 대하여, 농도의 범위는 10 nM - 0.041 nM이었다. MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs에 대하여, 농도의 범위는 100 nM - 0.41 nM이었다. 항원의 해리는 30분 동안 동일한 유량에서 모니터링되었다. 센서 표면은 30 μL/min의 유량에서 2 x 30 초 동안 3 M MgCl₂ 주사에 의해 재생되었다. Sensogram은 1:1 랑류어 결합 모델을 사용하여 Biacore T100 평가 소프트웨어로 분석되었다.

1.6.2 ELISA - 플레이트 수용체 알파

[0636] 재조합 인간 플레이트 수용체 알파는 코팅 완충액 (50 mM 카보네이트-바이카보네이트 완충액, pH 9.6)에서 115 ng/mL로 희석되었고, 4° C에서, 밤새 96-웰 Maxisorp 흑색 플레이트 (Thermo, Cat No. 43711, 100 μL/웰)에 코팅되었다. 코팅 용액은 폐기되었고 플레이트는 0.05% Tween-20 (PBST) 완충액과 1X PBS를 사용하여 3회 세정되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 동안 실온에서 300 μL 차단 완충액 (PBST내 1% BSA)에서 차단되었다. MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs는 차단 완충액에서 1000 ng/mL로 희석되었고, 그 다음 2-배 연속으로-희석되어 1000 ng/mL 내지 0.98 ng/mL의 범위를 수득하였다. 차단 완충액은 폐기되었고 100 μL/웰의 희석된 항체는 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 실온에서 인큐베이션되었다. 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μL/웰의 염소-항-인간 IgG (H+L)-HRP (차단 완충액내 1:10,000 희석) 용액은 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 회전식 진탕기에서 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 2차 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μL/웰의 Quantablu

플루오로제닉 페록시다아제 기질 작업 용액 (Thermo, Cat No. 15169)는 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 30분 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 형광은 SpectraMax M5 (Molecular Devices)를 사용하여 여기 325 nm/방출 420 nm에서 판독되었다. 데이터는 4-파라미터 적합화를 가진 SoftMaxPro 5.4.2 소프트웨어를 사용하여 분석되었다.

[0640] 1.6.3ELISA - 메소텔린

[0641] 재조합 인간 메소텔린은 코팅 완충액 (50 mM 카보네이트-바이카보네이트 완충액, pH 9.6)에서 1 μ g/mL로 희석되었고, 4 ° C에서, 밤새 96-웰 Maxisorp 흑색 플레이트 (Thermo, Cat No. 43711, 100 μ L/웰)에 코팅되었다. 코팅 용액은 폐기되었고 플레이트는 0.05% Tween-20 (PBST) 완충액과 1X PBS를 사용하여 3회 세정되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 동안 실온에서 300 μ L 차단 완충액 (PBST내 1% BSA)에서 차단되었다. MORAb009 및 MORAb-009 ADCs는 차단 완충액에서 1000 ng/mL로 희석되었고, 그 다음 2.5-배 연속으로-희석되어 1000 ng/mL 내지 0.105 ng/mL의 범위를 수득하였다. 차단 완충액은 폐기되었고 100 μ L/웰의 희석된 항체는 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 실온에서 인큐베이션되었다. 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μ L/웰의 염소-항-인간 IgG (H+L)-HRP (차단 완충액내 1:10,000 희석) 용액은 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 회전식 진탕기에서 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 2차 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μ L/웰의 QuantaBlu 플루오로제닉 페록시다아제 기질 작업 용액 (Thermo, Cat No. 15169)는 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 30분 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 형광은 SpectraMax M5 (Molecular Devices)를 사용하여 여기 325 nm/방출 420 nm에서 판독되었다. 데이터는 4-파라미터 적합화를 가진 SoftMaxPro 5.4.2 소프트웨어를 사용하여 분석되었다.

[0642] 1.7세포독성 분석

[0643] 1.7.1크리스탈 바이올렛 검정

[0644] IGROV1 (FR^{hi} , $MSLN^{neg}$), NCI-H2110 (FR^{med} , $MSLN^{med}$), 및 A431 (FR^{neg} , $MSLN^{neg}$) 세포는, 37 ° C, 5% CO_2 에서 밤새 (16 시간) 인큐베이션된, 96 웰 조직 배양 플레이트내 완전한 성장 배지에서 5,000 세포/웰로 씨딩되었고 하위-배양되었다. 시험 시약은, 200 nM (10 희석 총)에서 시작하는, 2 mL 딥-웰 희석 플레이트에서 1:3 연속 희석되었다. 희석된 샘플 (100 μ L)는 (100 nM에서 시험 샘플의 농도를 시작하는) 세포 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 37 ° C, 5% CO_2 에서 추가의 5 일 동안 인큐베이션되었다. 배지는 그 다음 폐기되었다. 플레이트는 200 μ L DPBS로 1회 세정되었고, 15 분 동안 실온에서 50 μ L의 0.2% 크리스탈 바이올렛 용액으로 염색되었고, 그 다음 수돗물로 광범위하게 세정되었다. 플레이트는 공기-건조되었고, 크리스탈 바이올렛은 200 μ L의 1% SDS 용액으로 용해되었다. 플레이트는 570 nm에서 판독되었다. 데이터는 GraphPad Prism 6을 사용하여 분석되었다.

[0645] 2.결과

[0646] 2.1MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs의 생체물리학적 특성규명

[0647] MORAb-003 (인간화된 항-인간 플레이트 수용체 알파), MORAb-009 (마우스-인간 키메라 항-인간 메소텔린), 및 트라스투주맙 (인간화된 항-인간 her2) ADCs는, 하기를 포함하는, 3 콘주게이션 방법 중 하나에 따라 표 46에서 열거된 콘주게이션 가능한 에리불린 화합물을 사용하여 제조되었고:(1) 비-티올 환원제 TCEP를 사용하는 항체 쇄간 디설파이드의 부분적인 환원, 이어서 티올-반응성 말레이미드-스페이서-링커-에리불린 작제물을 사용하는 콘주게이션; (2) 석신이미드 (OSu)-스페이서-링커-에리불린 작제물을 사용하는 항체 리신 잔기에 대한 직접적인 콘주게이션; 및 (3) 2-단계 접근법을 사용하여 항체 리신 잔기에 대한 콘주게이션, 이로써 OSu-PEG4-디벤질사이클로옥틴은 리신 잔기에 먼저 콘주게이션되었고, 그 다음 아지도-스페이서-링커-에리불린 작제물의 직교 콘주게이션은 SPAAC를 사용하여 수행되었다.

[0648] 정제 이후, 모든 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs에 대하여 응집 수준은 SEC-HPLC로 결정되었고 약물-대-항체 비 (DAR)은 역상 LC-MS 및/또는 HIC-HPLC를 사용하여 분석되었다. 모든 말레이미드-기반 ADCs에 대하여 DAR은 양쪽 역상 LC-MS 및 HIC-HPLC를 사용하여 분석되었다. 0.3 미만의 DAR 값에서 차이는 2 방법 사이 전형적으로 관측되었다. 그에 반해서, 리신 잔기를 통한 콘주게이션을 통해 제조된 모든 ADCs에 대하여 DAR이 LC-MS에 의해서만 분석되었던 것은, 이들 ADCs의 고도의 불균질성이 HIC-HPLC에 의해 개별 DAR 종의 해상도를 예방하기 때문이다. 표적 항원에 대한 결합은 또한 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs에 대하여 ELISA를 사용하여 분석되었다. DAR 및 응집 분석의 결과는 각각의 ADC와 나란히 표 47에서 나타난다.

표 47. MORAb-003, MORAb-009, 및 트리스투주맙 ADCs 의 성체물리학적 분석

ADCs	형체	코주제이신 화학	스페이서	질단화학	DAR 분석		SEC-HPLC 분석		항원 결합	
					DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- LC- HPLC)	% Aggr.	% D- Frag.	% EC _{50b} ng/mL	ELISA, EC _{50b} nM
MORAb-003		N/A	N/A	N/A			3.62	96.38	0	6.29 0.04
MORAb-009		N/A	N/A	N/A			0	100	0	42.60 0.28
트리스투주맙		N/A	N/A	N/A			3.52	96.48	0	N/A N/A
MORAb-003- ER1159569(로트 NB3073- 88L)	MORAb-003	발레이미드	PEG2	발-cit-pAB	3.58	3.91	3.12	96.88	0	22.60 0.15
MORAb-009- ER1159569(로트 NB3073- 88F)	MORAb-009	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	3.63	3.93	3.23	96.77	0	43.70 0.29
MORAb-003- ER1159569(로트 NB3142- 62A)	MORAb-003	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	4.80	4.88	3.21	96.79	0	18.20 0.12
MORAb-009- ER1159569(로트 NB3142- 62D)	MORAb-009	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	4.68	4.57	0.90	99.10	0	33.10 0.22
트리스투주맙-ER1159569		발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	3.10	3.11	1.26	98.74	0	N/A N/A
MORAb-003-ER1242287	MORAb-003	발레이미드	PEG8	val-cit-pAB	2.31	2.35	18.63	81.37	0	21.50 0.14
MORAb-009-ER1242287	MORAb-009	발레이미드	PEG8	val-cit-pAB	1.13	2.00	11.24	88.76	0	58.60 0.39
MORAb-003-ER1235638	MORAb-003	발레이미드	발레이미드	val-cit-pAB	3.65	3.89	3.95	96.05	0	15.30 0.10
MORAb-009-ER1235638	MORAb-009	발레이미드	발레이미드	val-cit-pAB	3.99	4.10	4.5	95.5	0	65.60 0.44
MORAb-003-ER1231679	MORAb-003	발레이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	3.60	3.83	3.09	96.91	0	18.30 0.12
MORAb-009-ER1231679	MORAb-009	발레이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	3.27	3.94	4.39	95.61	0	41.40 0.28
MORAb-003-ER1231690	MORAb-003	발레이미드	PEG2	ala-ala-asn- pAB-ala-ala- asn-pAB	3.02	3.23	4.44	95.56	0	8.92 0.06

표 47. MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs 의 세체물리학적 분석

ADCs	형체	코주개이션 화학	스페이셔	SEC-HPLC 분석			SEC-HPLC 분석			형체 분석	
				DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- C- HPLC)	% Aggr.	% Elas- tic	% Frag.	ELISA, EC ₅₀ ng/mL		
MORAb009-ER1231690	MORAb-009	밀레이미드	PEG2	ala-ala-ala- pAB-ala-ala- asn-pAB	2.36	3.17	6.22	93.78	0	58.70	0.39
MORAb003-ER1237504	MORAb-003	밀레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	디실파릴- 디메틸-pAB	0.52	1.61	13.73	86.27	0	29.80	0.20
MORAb009-ER1237504	MORAb-009	밀레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	디실파릴- 디메틸-pAB	0.72	1.03	9.78	90.22	0	55.90	0.37
MORAb003-ER1237505	MORAb-003	밀레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	설휠아이미드	1.85	3.88	5.72	94.28	0	18.30	0.12
MORAb009-ER1237505	MORAb-009	밀레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	설휠아이미드	2.33	3.91	5.44	94.56	0	61.00	0.41
MORAb003-PEG2-에리불린	MORAb-003	밀레이미드	PEG2	비-질단기능한	4.15	4.49	3.97	96.03	0	6.96	0.05
MORAb009-PEG2-에리불린	MORAb-009	밀레이미드	PEG2	비-질단기능한	4.55	4.30	1.15	97.11	1.74	8.84	0.06
MORAb003-PEG4-에리불린	MORAb-003	밀레이미드	PEG4	비-질단기능한	4.70	4.79	9.84	89.76	0	9.31	0.06
MORAb009-PEG4-에리불린	MORAb-009	밀레이미드	PEG4	비-질단기능한	4.48	4.57	1.03	97.13	1.84	11.60	0.08
MORAb003-ER1236940	MORAb-003	석신이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.72		3.65	96.35	0	17.00	0.11
MORAb009-ER1236940	MORAb-009	석신이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.89		2.75	97.25	0	66.30	0.44
MORAb003-ER1242288	MORAb-003	석신이미드	PEG9	val-cit-pAB	0.00		2.85	97.15	0	14.40	0.10
MORAb009-ER1242288	MORAb-009	석신이미드	PEG9	val-cit-pAB	0.21		1.69	98.31	0	15.30	0.10
MORAb003-ER1236941	MORAb-003	석신이미드	펩타이	val-cit-pAB	0.77		3.13	96.87	0	13.00	0.09
MORAb009-ER1236941	MORAb-009	석신이미드	펩타이	val-cit-pAB	0.93		3.04	96.96	0	44.60	0.30
MORAb003-ER1243700	MORAb-003	석신이미드	PEG3-트리아울- PEG3	val-cit-pAB	0.00		3.92	96.08	0	6.22	0.04

표 47. MORAb-003, MORAb-009, 및 트리스투주맙 ADCs 의 체계별 학적 분석

ADCs	형체	근주개이션 화학	스페이셔	절단화학	DAR분석		SEC-HPLC 분석		항원 결합	
					DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- C- HPLC)	% Aggr.	% F-N. 비	% Frag.	ELISA, EC ₅₀ ng/mL
MORAb009-ER1243700	MORAb-009	석신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	val-citr-pAB	0.06	1.97	98.03	0	46.70	0.31
MORAb003-ER1231691	MORAb-003	석신이미드	PEG2	ala-ala-ast-pAB	0.37	3.46	96.54	0	11.50	0.08
MORAb009-ER1231691	MORAb-009	석신이미드	PEG2	ala-ala-ast-pAB	0.29	2.45	97.55	0	43.30	0.29
MORAb003-ER1244129	MORAb-003	석신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	0.24	10.87	89.13	0	14.30	0.10
MORAb009-ER1244129	MORAb-009	석신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	0.47	12.79	87.21	0	57.70	0.38
MORAb003-ER1244623	MORAb-003	석신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	실론아미드	0.55	5.21	94.79	0	4.54	0.03
MORAb009-ER1244623	MORAb-009	석신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	실론아미드	1.14	0	100	0	39.00	0.26
MORAb003-DBCO- ER1237508	MORAb-003	석신이미드 / 클립	다벤질사이아를 옥렌-트리아콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	2.19	4.1	95.9	0	24.10	0.16
MORAb009-DBCO- ER1237508	MORAb-009	석신이미드 / 클립	다벤질사이아를 옥렌-트리아콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	2.33	0	100	0	53.80	0.36
MORAb003-DBCO- ER1138856	MORAb-003	석신이미드 / 클립	다벤질사이아콜 옥렌-트리아콜- PEG3	실론아미드	1.82	3.49	96.51	0	15.00	0.10
MORAb009-DBCO- ER1138856	MORAb-009	석신이미드 / 클립	다벤질사이아콜 옥렌-트리아콜- PEG3	실론아미드	1.59	0	100	0	44.70	0.30
MORAb003-DBCO-PEG4 VCP 에리클립	MORAb-003	석신이미드 / 클립	다벤질사이아콜 옥렌-트리아콜- PEG4	val-citr-pAB	3.09	2.87	97.13	0	16.00	0.11

ADCs	형체	DAR 분석				SFC-HPLC 분석				형질 결합	
		콘주체이션 화학	스페이서	절단 회화	DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- C- HPLC)	% Aggr.	% 모노- 화	% Frag.	ELISA, EC ₅₀ , ng/mL	ELISA, EC ₅₀ , ng/mL
MORAb009-DBCO-PEG4 VCP 예리불린	신이미드 / 클릭	콘주체이션 화학 다-렌-트리아졸- PEG4	스페이서 다-렌-트리아졸- PEG4	절단 회화 val-cit-pAB	2.91	0.22	99.78	0	33.70	0.22	0.22
MORAb003-DBCO-PEG2 예리불린	신이미드 / 클릭	콘주체이션 화학 다-렌-트리아졸- PEG2	스페이서 다-렌-트리아졸- PEG2	비-절단 가능화 비-절단 가능화	3.43	3.88	96.12	0	19.10	0.13	0.13
MORAb009-DBCO-PEG2 예리불린	신이미드 / 클릭	콘주체이션 화학 다-렌-트리아졸- PEG2	스페이서 다-렌-트리아졸- PEG2	비-절단 가능화 비-절단 가능화	3.07	1.15	98.85	0	23.30	0.16	0.16
MORAb003-DBCO-PEG4 예리불린	신이미드 / 클릭	콘주체이션 화학 다-렌-트리아졸- PEG4	스페이서 다-렌-트리아졸- PEG4	비-절단 가능화 비-절단 가능화	2.96	3.64	96.36	0	13.30	0.09	0.09
MORAb009-DBCO-PEG4 예리불린	신이미드 / 클릭	콘주체이션 화학 다-렌-트리아졸- PEG4	스페이서 다-렌-트리아졸- PEG4	비-절단 가능화 비-절단 가능화	2.8	1.12	98.88	0	45.20	0.30	0.30

약어: % Aggr., % 응집, % Frag., % 단편화.

[0652]

표 47. MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs 의 생체물리학적 분석

2.1.1 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs

MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 사이 유의차는, 양쪽 콘주체이션 효율 및 생체물리학적 파라미터에 관하여, 관측되지 않았다. 모든 ADCs는 응집물 형성의 수준 및 유사한 DAR 값을 실증하였다.

2.1.2 말레이미드-기반 ADCs

말레이미드-기반 ADCs에 대하여, 양쪽 펜틸 그리고 val-cit-pAB 절단 부위와 쌍으로 된 PEG₂ 스페이서, 및 ala-ala-asn-pAB 절단 부위와 쌍으로 된 PEG₂ 스페이서는, 낮은 (<5%) 응집물 수준에 더하여, 역상 LC-MS 및 HIC-HPLC에 의해 3.5와 4.0 사이 DAR 값을 제공하였다. 그러나, 스페이서가 (val-cit-pAB 절단 부위와 쌍으로 된) PEG₈로 늘어난 경우, 응집물 수준은 증가하였고 (11-18%) 콘주체이션 효율은 감소되어, 1.1과 2.3 사이 DAR 값을 초래하였다. 참조, 예를 들면, 표 47에서 MORAb003/MORAb009-ER-001159569 (짧은 PEG 링커) 및 MORAb003/MORAb009-1242287 (긴 PEG 링커)의 퍼센트 응집 및 DAR 값.

디설피딜-pAB 절단 부위로 제조된 ADCs에 대하여, 낮은 DAR 값을, 상대적으로 높은 응집물 수준 (10-14%)와 함

께, 관측되었다 (1.0-1.6). 상당히 더 낮은 DAR 값은 이들 ADCs가 HIC-HPLC보다 LC-MS에 의해 분석된 경우 관측되었다 (참조, 예를 들면, 표 47에서 MORAb003/MORAb009-ER1237504 및 MORAb003/MORAb009-ER1237505에 대하여 LC-MS/HIC-HPLC DAR 값). 이 결과는, LC-MS 분석의 이동상이 대략 3.0임에 따라, 링커 절단 부위가 pH 불안정을 나타내고, 반면에 HIC-HPLC 분석의 이동상이 중성이라는 것을 시사한다.

[0658] 설폰아미드 절단 부위로 제조된 ADCs에 대하여 낮은 (< 5%) 응집물 수준은 관측되었다. 디설피딜-pAB ADCs과 유사하게, 더 낮은 DAR 값은 HIC-HPLC (3.9)보다 LC-MS (1.8-2.3)에 의해 분석된 경우 관측되었고, 이는 재차 링커 절단 부위가 pH 불안정을 나타낸다는 것을 명시한다.

[0659] PEG₂ 및 PEG₄ 비-절단가능한 링커에 대하여, 효율적인 콘주게이션은 관측되어, 4.0과 4.7 사이 DAR 값을 초래하였다. 이들 비-절단가능한 링커를 가진 MORAb-009 ADCs는 또한 낮은 응집 수준 (< 2%)를 실증하였고, 반면 약간 더 높은 응집 수준은 상응하는 MORAb-003 ADCs에 대하여 관측되었다 (PEG₂ 및 PEG₄, 각각에 대하여 4% 및 10%).

2.1.3 석신이미드-기반 ADCs

[0661] 스페이서-링커-에리불린과 커플링된 석신이미드를 사용하여 제조된 모든 ADCs는 DAR 값 < 1.0을 초래하였다. (말레이이미드에 비해) 이러한 더 낮은 콘주게이션 효율이 콘주게이션 절차 자체의 결과가 아니었음을 확인하기 위해, 이들 ADCs는 더 높은 화합물:항체 비를 사용하여 다시 만들어졌고 동일한 DAR 분석 방법을 사용하여 다시 분석되었다. 유사한 결과는 수득되었고, 이는, 이론에 의한 구속됨 없이, 더 낮은 DAR 값이 석신이미드 및 에리불린의 조합의 고유한 특성이라는 것, 그리고 말레이이미드가 더욱 효율적으로 콘주게이션될 수 있다는 것을 시사한다. 석신이미드 콘주게이션의 효율은 2-단계 방법의 사용을 통해 증가되었고, 이로써 DBCO는 NHS-DBCO를 사용하여 항체에 먼저 첨가되었고, 이어서 아지도 화합물이 첨가되었다. 이러한 접근법은, 역상 HPLC 분석에 의해 측정된 경우, 항체 리신 잔기에 직접적으로 콘주게이션에 비교하여, 더 높은 DAR 값을 초래한다. 설폰아미드 (절단가능한), val-cit-PAB (절단가능한), 또는 PEG₂/PEG₄ (비-절단가능한) 링커를 갖는 석신이미드-기반 ADCs에 대하여, 2-단계 콘주게이션에서 비롯하는 DAR 값은 설폰아미드 절단 부위를 갖는 말레이이미드-기반 ADCs에 대하여 결정된 것과 유사하였다. 이론에 의한 구속됨 없이, 이러한 결과는 재차 석신이미드-스페이서-링커-에리불린 콘주게이션 반응에 대하여 더 낮은 DAR 값이 석신이미드 및 에리불린의 조합의 고유한 특성이라는 것을 시사한다.

2.2 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs의 결합 특성규명

[0663] MORAb-003 ADCs에 대하여, 표적 항원 결합에 관하여 비-절단가능한 말레이이미드-기반 링커-에리불린 ADCs 및 친계 MORAb-003 사이 유의차는 관측되지 않았다. 다른 말레이이미드-기반 링커-에리불린 MORAb-003 ADCs에 대하여, 친계 MORAb-003에 비해 표적 항원 결합에서 2- 내지 3-배 손실은 ELISA 분석에 의해 전형적으로 관측되었다. 그러나, 링커 길이 또는 링커 조성물과 더 낮은 EC₅₀ 값 사이 분명한 상관관계는 없었다. 유사하게, 석신이미드-기반 링커-에리불린 MORAb-003 ADCs에 대하여, 미콘주게이션된 MORAb-003에 비해 표적 항원 결합에서 0- 내지 3-배 손실은 일반적으로 관측되었다. 재차, 링커 길이 또는 링커 조성물과 더 낮은 EC₅₀ 값 사이 상관관계는 분명하지 않았다. MORAb-009 ADCs에 대하여, 모든 ADCs는, 친계 MORAb-009에 비해, EC₅₀ 값에서 2-배수 감소 미만이었다.

2.3 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs의 시험관내 세포독성 분석

[0665] 제조된 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs의 시험관내 효력은 크리스탈 바이올렛 세포-기반 세포독성 검정을 사용하여 평가되었다. MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs 스크리닝을 위하여 선택된 세포주는 IGROV1, NCI-H2110, 및 A431이었다. IGROV1 세포는 인간 난소 상피성 암종 기원이고, 메소텔린 (즉, MORAb-003-반응성)이 아닌, 폴레이트 수용체 알파의 높은 수준을 발현시킨다. NCI-H2110 세포는 인간 비-소 세포 폐 암종 기원이고 양쪽 폴레이트 수용체 알파 및 메소텔린 (즉, MORAb-003- 및 MORAb-009-반응성)의 중간 정도 수준을 발현시킨다. A431 대조군 세포는 인간 표피 암종 기원이고 어느 한쪽 표적 항원을 발현시키지 않는다. 이러한 스크리닝의 결과는 표 48에서 나타난다. 링커-독소 말레이이미드-PEG2-val-cit-pAB-에리불린 (VCP-에리불린)을 포함하는 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs는, NCI-N87 (FR^{lo}, MSLN^{med}, her2^{hi}), BT-474 (FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{hi}), ZR-75 (FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{med}), 및 NUGC3 (FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{neg})를 포함하는, 추가의 위 및 유방 암 세포주에서 또한 평가되었다. 이러한 스크리닝의 결과는 표 49에서 나타난다.

표 48. IGRov1, NCI-H2110, 및 A431 세포에 서 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs 의 세포독성 (IC₅₀) 스크리닝

ADCs	형태	글루게이션 액체	스페이서	절단 회수	IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{neg})		NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})		A431 (FR ^{neg} , MSLN ^{neg})	
					IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD
MORAb-003		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
MORAb-009		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
트리스투주맙		N/A	N/A	N/A						
에리볼린	N/A	N/A	N/A	N/A	0.320	0.212	0.199	0.034	0.653	0.159
MORAb003-ER1159569 (로트 NB3073-88L)	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.155	0.064	3.685	0.417	>100	
MORAb009-ER1159569 (로트 NB3073-88F)	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	9.450	2.093	14.945	1.747	>100	
MORAb003-ER1159569 (로트 NB3142-62A)	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.020		1.550		>100	
MORAb009-ER1159569 (로트 NB3142-62D)	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	5.687		6.784		>100	
트리스투주맙-ER1159569	트리스투주맙	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB						
MORAb003-ER1242287	MORAb-003	말레이이미드	PEG8	val-cit-pAB	0.115	0.035	7.065	0.417	85.960	
MORAb009-ER1242287	MORAb-009	말레이이미드	PEG8	val-cit-pAB	25.765	8.478	34.455	3.033	>100	
MORAb003-ER1235638	MORAb-003	말레이이미드	펩타이	val-cit-pAB	0.105	0.092	3.920	1.032	>100	
MORAb009-ER1235638	MORAb-009	말레이이미드	펩타이	val-cit-pAB	6.830	0.962	13.965	6.611	>100	
MORAb003-ER1231679	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	0.080	0.028	3.800	0.566	31.630	1.202
MORAb009-ER1231679	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	8.890	0.976	7.080	1.867	34.390	3.536
MORAb003-ER1231690	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	0.125	0.021	4.745	2.114	38.555	0.403
MORAb009-ER1231690	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	16.980	5.176	12.310	3.422	54.960	5.360

표 48. IC₅₀, NCI-H2110, 및 A431 세포에 대한 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs의 세포독성 분석

ADCs	형태	관주계이션	스페이시	IC ₅₀ (nM)		IC ₅₀ (nM)		IC ₅₀ (nM)		IC ₅₀ (nM)	
				IC ₅₀ (nM) (FR ^{hi} , MSLN ^{neg})	SD	IC ₅₀ (nM) (FR ^{med} , MSLN ^{med})	SD	IC ₅₀ (nM) (FR ^{neg} , MSLN ^{neg})	SD	IC ₅₀ (nM)	SD
MORAb-003-ER1237504	MORAb-003	말레이미드	PEG4-트리아울-PEG3	0.265	0.092	0.845	0.177	7.005	0.290		
MORAb-009-ER1237504	MORAb-009	말레이미드	PEG4-트리아울-PEG3	6.375	2.751	1.220	0.325	8.130	0.608		
MORAb-003-ER1237505	MORAb-003	말레이미드	PEG4-트리아울-PEG3	0.370	0.269	0.690	0.283	6.800	0.834		
MORAb-009-ER1237505	MORAb-009	말레이미드	PEG4-트리아울-PEG3	6.370	3.012	0.990	0.453	9.030	1.527		
MORAb-003-PEG2-에리불린	MORAb-003	말레이미드	PEG2	비-질단기능형	0.330	38.300		>100			
MORAb-009-PEG2-에리불린	MORAb-009	말레이미드	PEG2	비-질단기능형	42.770		50.040		>100		
MORAb-003-PEG4-에리불린	MORAb-003	말레이미드	PEG4	비-질단기능형	0.277	21.630		>100			
MORAb-009-PEG4-에리불린	MORAb-009	말레이미드	PEG4	비-질단기능형	76.320	31.600		>100			
MORAb-003-ER1236940	MORAb-003	석산이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.325	0.106	30.545	3.132	>100		
MORAb-009-ER1236940	MORAb-009	석산이미드	PEG2	val-cit-pAB	31.915	2.510	36.500	11.031	90.060		
MORAb-003-ER1242288	MORAb-003	석산이미드	PEG9	val-cit-pAB	38.105	45.601	64.010	8.075	>100		
MORAb-009-ER1242288	MORAb-009	석산이미드	PEG9	val-cit-pAB	>100		>100		>100		
MORAb-003-ER1236941	MORAb-003	석산이미드	트립	val-cit-pAB	0.330	0.071	42.105	12.594	>100		
MORAb-009-ER1236941	MORAb-009	석산이미드	트립	val-cit-pAB	>100		49.485	13.569	>100		
MORAb-003-ER1243700	MORAb-003	석산이미드	PEG3-	val-cit-pAB	1.150	>100	>100	>100	>100		

표 48. IGR0V1, NCI-H2110, 및 A431 세포에 서 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs 의 세포독성 (IC₅₀) 스크리닝

ADCs	형태	글주제이션 화학	스페이서	절단 화학-	IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{neg})		NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})		A431 (FR ^{neg} , MSLN ^{neg})	
					IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD
MORAb-009-ER1243700	MORAb-009	석선이미드	트리아이콜-PEG3	트리아이콜-PEG3	>100		>100		>100	
MORAb-003-ER1231691	MORAb-003	석선이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	12.320		31.795	4.448	>100	
MORAb-009-ER1231691	MORAb-009	석선이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	>100		20,000	5,954	>100	
MORAb-003-ER1244129	MORAb-003	석선이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	디설파민-디메틸-pAB	0.370	0.184	0.750	0.071	12,005	1,534
MORAb-009-ER1244129	MORAb-009	석선이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	디설파민-디메틸-pAB	6.595	4.052	0.840	0.057	9,230	0.014
MORAb-003-ER1244623	MORAb-003	석선이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	설풀아미드	0.980	0.396	1.820	0.410	37,235	15,733
MORAb-009-ER1244623	MORAb-009	석선이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	설풀아미드	24.505	4.702	2.235	0.629	36,665	14,206
MORAb-003-DBCO-ER1237508	MORAb-003	석선이미드/클록	다변질사이 클로옥렌-트리아이콜-PEG3	다설파민-디메틸-pAB	0.545	0.389	0.900	0.071	9,670	0.382
MORAb-009-DBCO-ER1237508	MORAb-009	석선이미드/클록	다변질사이 클로옥렌-트리아이콜-PEG3	다설파민-디메틸-pAB	10.245	3.486	1.040	0.297	11,280	2,277

표 48. IGROV1, NCI-H2110, 및 A431 세포에서 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs의 세포독성 (IC₅₀) 스크리닝

ADCs	항체	단주기 이션 화학	스페이서	IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{reg})		NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})		A431 (FR ^{reg} , MSLN ^{neg})		
				IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	
MORAb003-DBCO-ER1138856	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG3	설포아미드- 설포아미드-	1.775	1.421	1.655	0.007	24.990	2.022
MORAb009-DBCO-ER1138856	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG3	설포아미드- 설포아미드-	19.155	5.438	1.960	0.113	28.070	0.636
MORAb003-DBCO-PEG4 VCP 예리클린	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG4	val-cit-pAB	0.038		4.281		>100	
MORAb009-DBCO-PEG4 VCP 예리클린	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG4	val-cit-pAB	12.960		31.400		>100	
MORAb003-DBCO-PEG2 예리클린	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG2	비-질단가능한 비-질단가능한	4.250		38.070		>100	
MORAb009-DBCO-PEG2 예리클린	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG2	비-질단가능한 비-질단가능한	75.680		85.680		>100	
MORAb003-DBCO-PEG4 예리클린	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸-	비-질단가능한	1.323		46.280		>100	

ADCs	형태	글루카이신 화학	스페이서	질단화학	세포독성 분석	
					IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{reg})	NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})
MORAb009-DBCO-PEG4 에리불린	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디벤질사이 클로우렌- 트리아졸- PEG4	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
				SD	SD	SD

모든 IC₅₀ 값은 nM이고, 복제 실험의 평균 값을 나타낸다. SD – 표준 편차.

제표독성 분석						
ADCs	형-체	콜주-체-이-선 화-학	스-체-이-서	절단-화-학	NCI-N87-Luc (FR ^{lo} , MSLN ^{med} , her2 ^{hi})	ZR-75-1 (FR ^{neg} , MSLN ^{neg} , her2 ^{med})
				IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
MORAb-003	N/A	N/A	N/A	N/A		
MORAb-009	N/A	N/A	N/A	N/A		
트리스투주-맙 (로트 NB3073-88L)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.78	0.641
에리불린	N/A	N/A	N/A	N/A	0.257	0.151
MORAb-003-ER1159569 (로트 NB3073-88F)	MORAb-003	말-레-이-미-드	PEG2	val-cit-pAB		
MORAb-009-ER1159569 (로트 NB3073-88F)	MORAb-009	말-레-이-미-드	PEG2	val-cit-pAB		
MORAb-003-ER1159569 (로트 NB3142-62A)	MORAb-003	말-레-이-미-드	PEG2	val-cit-pAB	4.528	11.46
MORAb-009-ER1159569 (로트 NB3142-62D)	MORAb-009	말-레-이-미-드	PEG2	val-cit-pAB	0.013	10.21
트리스투주-맙-ER1159569	트리스투주-맙	말-레-이-미-드	PEG2	val-cit-pAB	0.006	0.003

모든 IC₅₀ 값은 nM 이고, 별-체 실험의 평균 값을 나타낸다. SD – 표준 편차.

[0671]

2.3.1 말레이미드-기반 ADCs의 세포독성

모든 말레이미드-기반 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs는, 항체 사이 관측된 효력에서 2-3 자릿수 차이로, IGROV1 세포에서 특이적 세포독성을 표시하였다. val-cit-pAB-에리불린 MORAb-003 ADCs는 PEG₂ 또는 PEG₄ 비-절단가능한 MORAb-003 ADCs보다 IGROV1 세포주에서 더 높은 효력을 실증하였지만, 폴드-특이성은 변함없었다. 유사한 추세는 MORAb-009 ADCs에 대하여 관측되었고, 비-절단가능한 MORAb-009 ADCs는 val-cit-pAB-에리불린 MORAb-009 ADCs보다 IGROV1 세포에서 더 낮은 세포독성을 실증하였다.

디설피딜- 및 설폰아미드-기반 링커를 가진 말레이미드-기반 MORAb-009 ADCs는 IGROV1 세포주보다 NCI-H2110 세포주에서 더 높은 효력을 실증하였다. 이것은, 아래 기재된 바와 같이, 배양액내 링커의 잠재적인 불안정 때문일 것이다. 강력한 세포독성은 상응하는 MORAb-003 ADCs로 또한 관측되었다. 그에 반해서, 비-절단가능한 링커를 가진 말레이미드-기반 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs는 NCI-H2110 세포에서 상대적으로 낮은 효력을 실증하였다. 이론에 의한 구속됨 없이, 이러한 결과는 더 낮은 표적 발현으로, 적재물의 효율적인 절단 및 방출이 세포

독성을 개선할 수 있다는 것을 시사한다.

[0675] val-cit-pAB 효소-절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커를 가진 ADCs는 A431 대조군 세포에서 부정확한 사멸의 낮은 수준 ($IC_{50} > 100$ nM)을 실증하였고, 반면에 ala-ala-asn-pAB 효소-절단가능한 링커를 가진 ADCs는 이들 대조군 세포의 약하지만 검출가능한 사멸을 표시하였다. 이것은 val-cit-pAB 효소-절단가능한 링커가 배양 ala-ala-asn-pAB 효소-절단가능한 링커에서 더욱 안정적일 수 있다는 것을 명시한다. 게다가, 더 짧은 PEG₂ 스페이서를 가진 MORAb-009 ADCs는 더 긴 PEG₈ 스페이서를 가진 상응하는 ADCs보다 IGROV1 세포에서 더 높은 세포 독성을 실증하였다. 이러한 동일한 추세는 NCI-H2110 세포에서 양쪽 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs에 대하여 관측되었고, 더 짧은 스페이서 길이는 더 높은 세포독성을 초래하였다.

[0676] 설폰아미드-기반 링커를 가진 ADCs는 디설파딜-기반 링커를 가진 상응하는 ADCs보다 더 높은 DAR 값 및 더 낮은 응집물 수준을 일반적으로 실증하였다. 그러나, A431 대조군 세포의 nM-수준 사멸은 ADCs의 이들 카테고리의 양쪽에서 관측되었고, 디설파딜- 및 설폰아미드-기반 링커가 검사된 검정 조건 하에 효소-절단가능한 링커보다 배양액에서 덜 안정적이었다는 것을 시사하였다.

[0677] 특이적 링커-독소 말레이이미도-PEG₂-val-cit-pAB-에리불린 (VCP-에리불린)은 상이한 위 및 유방 암 세포주에서 특이성 및 효력에 대하여 추가로 검사되었다. VCP-에리불린은, 항-인간 her2 항체 트라스투주맙에 더하여, MORAb-003 및 MORAb-009에 콘주게이션되었다. MORAb-003-VCP-에리불린은, 폴레이트 수용체 알파 (FR)의 낮은 수준, 및 잔존 3 FR-음성 세포주에서 거의 사멸 없음을 발현시키는, NCI-N87 세포에서 약하지만 특이적 사멸을 실증하였다. MORAb-009-VCP-에리불린은, 메소텔린의 중간 정도 수준을 발현시키는, NCI-N87 세포에서 강력한 세포독성을 또한 실증하였다. 트라스투주맙-VCP-에리불린은, her2의 높은 수준을 발현시키는 2 세포주인, NCI-N87 및 BT-474 세포에서 매우 강력하였고 ($3 - 6$ pM, IC_{50}), her2를 중간 정도로만 발현시키는, ZR-75 유방 암 세포에서 또한 강력하였다. MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 VCP-에리불린 ADCs는 모두 NUGC3 세포에서 낮은 세포독성을 실증하였고, FR, 메소텔린, 또는 her2, 각각의 표적 항원을 발현시키지 않는다.

2.3.2 석신이미드-기반 ADCs의 세포독성

[0679] 석신이미드-기반 ADCs의 세포독성에서 추세는 IGROV1 세포에 대하여 말레이이미드-기반 ADCs와 유사하였고, PEG₈ 스페이서 ADCs는 낮은 DAR 값에 더하여 낮은 세포독성을 실증하였다. 양쪽 IGROV1 및 NCI-H2110 세포에서 더 낮은 세포독성은 상응하는 말레이이미드-기반 ADCs와 비교하여 효소-절단가능한 링커를 가진 석신이미드-기반 ADCs에 대하여 일반적으로 관측되었고, 이것은 아마도 그것의 더 낮은 DAR 값 때문이었다. A431 세포의 부정확한 사멸은, 상응하는 말레이이미드-기반 ADCs와 유사하게, 디설파딜- 및 설폰아미드-기반 링커로 또한 관측되었다. 이것은, 콘주게이션 화학 보다, 절단 부위에서 잠재적으로 일어나는 증가된 불안정을 지적한다.

[0680] 2-단계 콘주게이션이 수행된 경우, 더 높은 DAR 값은 직접적인 석신이미드 콘주게이션 접근법으로 수득된 것에 비해 관측되었다. 이들 더 높은 DAR 값은 더 높은 효력과 상관하였다. VCP-에리불린 MORAb-003 ADC에 대하여, 양쪽 IGROV1 및 NCI-H2110 세포에서 강력한 세포독성을 관측되었다. 비-절단가능한 MORAb-003 ADCs가 IGROV1 세포 ($1 - 4$ nM)에서 효력을 실증하였던 동안, DAR 값이 비교할만하였어도, 이들은 여전히 이러한 방법 (38 pM)으로 제조된 VCP-에리불린 MORAb-003 ADC보다 덜 강력하였다. 게다가, 2-단계 방법을 사용하여 제조된 비-절단가능한 MORAb-003 ADCs는 IGROV1 세포주에서 상응하는 말레이이미드-기반 ADCs보다 약간 덜 강력하였고, 이는 그것의 더 낮은 DAR 값 때문일 수 있다. 그것의 말레이이미드-기반 대응물과 유사하게, 2-단계 방법을 사용하여 제조된 비-절단가능한 ADCs는 NCI-2110 세포에서 거의 모든 세포독성을 또한 상실하였다.

2.4 항-인간 메소텔린 (LCcys80) ADCs의 생체물리학적 특성규명

[0682] MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)는 8 상이한 항-인간 메소텔린 항체에 콘주게이션되었다 (표 1). 친계 항체의 결합 친화성은, 섹션 1.6.1에서 상기 기재된 바와 같이, BIACore 분석에 의해 결정되었다. 모든 항-인간 메소텔린 ADCs에 대하여 응집 수준은 SEC-HPLC에 의해 결정되었고 DAR은 HIC-HPLC를 사용하여 분석되었다. 시험관내 효력은 하기에서 크리스탈 바이올렛 세포-기반 세포독성 검정을 사용하여 평가되었다: A3 (인간 메소텔린 (MSLN)으로 안정적으로 형질감염된 A431, MSLN^{hi}), OVCAR3 (인간 난소, MSLN^{hi}), HEC-251 (인간 자궁내막, MSLN^{med}), H226 (인간 폐 편평상피 세포 중피종, MSLN^{lo}), 및 A431 친계 (MSLN^{neg}) 세포.DAR, 응집, 및 세포독성 분석의 결과는 표 50에서 나타난다.

표 50. 항-인간 메소텔린 (LCcys80) ADCs 의 생체물리학적 특성규명

	천개 Mab			ADC										
	천화도			적재 물	HIC	SEC-HPLC		세포 기반 세포독성 검정, EC50, nM						
	k_a (10^3 M $^{-1}$ sec $^{-1}$)	k_d (10^3 sec $^{-1}$)	K_d (10^3 M)			약물-링크	DAR	% 응집물	% 모노머	A431	OVCAR3	HEC-251	H226	A3
33011	xd			ER-001159569-000	1.92	8.97	91.03	40.67	0.038	3.950	>100	0.14		
	zu	2.2	0.65	3.4	ER-001159569-000	1.69	1.42	98.58	~100	0.064	26.500	>100	0.28	
111B10	xd	6.5	3.9	6.3	ER-001159569-000	1.90	4.25	95.75	38.10	0.034	13.960	<100	0.05	
	zu	5.1	3	6.5	ER-001159569-000	1.81	3.64	96.36	68.92	0.014	27.42	>100	0.12	
201C15	xd	2.4	0.26	1.1	ER-001159569-000	1.85	1.62	98.38	48.50	0.034	14.82	<100	0.27	
	zu	3.1	1.1	4.2	ER-001159569-000	1.80	5.84	94.16	68.88	0.290	23.42	>100	0.41	
346C6	xd	3.8	0.49	1.4	ER-001159569-000	1.56	5.28	94.72	34.49	0.087	5.73	<100	0.11	
	zu	133	93	8.9	ER-001159569-000	1.63	4.48	95.52	72.86	1.180	32.54	>100	0.55	

약어: xi – 카메라; zu – 인간화된.

[0683]

모든 항-인간 메소텔린 ADCs는 낮은 응집 수준 (< 10% 응집물)을 유지하였고 표적 세포주에서 높은 효력을 실증하였다. 높은 효력은 A3 및 OVCAR3에서 관측되었고, 반면에 HEC-251 및 H226 세포는 ADC 세포독성에 상대적으로 저항성이었다.

[0685]

선택된 서열:

[0686]

서열 식별 번호:1 (MORAb-003 중쇄 (HC))

1 EVQLVESGGG VVQPGRLRL SCSASGFTFS GYGLSWVRQA PGKGLEWVAM
 51 ISSGGSYTYY ADSVKGRFAI SRDNAKNTLF LQMDSLRPED TGVYFCARHG
 101 DDPAWFAYWG QGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
 151 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY
 201 ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK
 251 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNK TKPREEQYNS
 301 TYRVSVSLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
 351 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPVVL
 401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

[0687]

서열 식별 번호:2 (MORAb-003 HC CDR1; 카밧): GYGLS

[0688]

서열 식별 번호:3 (MORAb-003 HC CDR2; 카밧): MISSGGSYTYYADSVKG

[0689]

서열 식별 번호:4 (MORAb-003 HC CDR3; 카밧): HGDDPAWFAY

[0690]

서열 식별 번호:5 (MORAb-003 중쇄 전장 전-단백질 아미노산 서열; 리더 서열 밑줄친)

1 MGWSCIILFL VATATGVHSE VQLVESGGGV VQPGRLRLS CSASGFTFSG
 51 YGLSWVRQAP GKGLEWVAMI SSGGSYTYA DSVKGRFAIS RDNAKNTLFL
 101 QMDSLRPEDT GVYFCARHGD DPAWFAYWGQ GTPVTVSSAS TKGPSVFPLA
 151 PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL
 201 YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC
 251 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVVDVSHE DPEVKFNWYV
 301 DGVEVHNKTPREEQYNS T YRVVSVLTQL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
 351 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
 401 EWESNGQOPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
 451 EALHNHYTQK SLSLSPGK

[0691]

서열 식별 번호:6 (MORAb-003 경쇄 (LC))

1 DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSVSSSIS SNNLHWYQQK PGKAPKPWIY
 51 GTSNLASGVP SRFSGSGSGT DYTFTISSLQ PEDIATYYCQ QWSSYPYMYT
 101 FGQGTTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
 151 WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TTLTLSKADYE KHKVYACEVT
 201 HQGLSSPVTK SFNRGEC

[0692]

서열 식별 번호:7 (MORAb-003 LC CDR1; 카밧): SVSSSISSNNLH

- [0696] 서열 식별 번호:8 (MORAb-003 LC CDR2:카밧): GTSNLAS
- [0697] 서열 식별 번호:9 (MORAb-003 LC CDR3: 카밧): QQWSSYPYMYT
- [0698] 서열 식별 번호:10 MORAb-003 경쇄 전장 전-단백질 아미노산 서열 (리더 서열 밑줄친)
- [0699]
- ```

1 MGWSCIILFL VATATGVHSD IQLTQSPSSL SASVGDRVTI TCSVSSSISS
51 NNLHWYQQKP GKAPKPWIYG TSNLASGVPS RFSGSGSGTD YTFTISSLQP
101 EDIATYYCQQ WSSYPYMYTF GQGTTKVEIKR TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG
151 TASVVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYSLSS

```
- [0700]
- ```

201 LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC

```
- [0701] 서열 식별 번호:11 (MORAb-003 HC nt)
- ```

1 ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
51 CCACTCCGAG GTCCAACCTGG TGGAGAGCGG TGGAGGTGTT GTGCAACCTG
101 GCCGGTCCCT GCGCCTGTCC TGCTCCGCAT CTGGCTTCAC CTTCAGCGGC
151 TATGGGTTGT CTTGGGTGAG ACAGGCACCT GGAAAAGGTC TTGAGTGGGT
201 TGCAATGATT AGTAGTGGTG GTAGTTATAC CTACTATGCA GACAGTGTGA
251 AGGGTAGATT TGCAATATCG CGAGACACAG CCAAGAACAC ATTGTTCTTG
301 CAAATGGACA GCCTGAGACC CGAAGACACC GGGGTCTATT TTTGTGCAAG
351 ACATGGGGAC GATCCCACCT GGTTGCGCTTA TTGGGGCCAA GGGACCCCGG
401 TCACCGTCTC CTCAGCCTCC ACCAAGGGCC CATCGGTCTT CCCCCTGGCA
451 CCCTCCTCCA AGAGCACCTC TGGGGGCACA GCGGCCCTGG GCTGCCTGGT
501 CAAGGACTAC TTCCCCGAAC CGGTGACGGT GTCGTGGAAC TCAGGCGCCC
551 TGACCAGCGG CGTGCACACC TTCCCGGCTG TCCTACAGTC CTCAGGACTC
601 TACTCCCTCA GCAGCGTGGT GACCGTGCC TCCAGCAGCT TGGGCACCCA
651 GACCTACATC TGCAACGTGA ATCACAAGCC CAGCAACACC AAGGTGGACA
701 AGAAAGTTGA GCCCAAATCT TGTGACAAAA CTCACACATG CCCACCGTGC
751 CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCCAAA
801 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
851 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCGTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
901 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
951 CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAAGGACT
1001 GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
1051 GCCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAAC
1101 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCT CATCCGGGA TGAGCTGACC AAGAACCAAGG
1151 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATGCCGTG
1201 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
1251 CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTCTT ATATTCAAAG CTCACCGTGG
1301 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
1351 GAGGCTCTGC ACAACCACCA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCCGG
1401 GAAATGA

```
- [0702]

[0703]

서열 식별 번호:12 (MORab-003 LC nt)

```

1 ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
51 CCACTCCGAC ATCCAGCTGA CCCAGAGCCC AAGCAGCCTG AGGCCAGCG
101 TGGGTGACAG AGTGACCAC ACCTGTAGTG TCAGCTCAAG TATAAGTTCC
151 AACAACTTGC ACTGGTACCA GCAGAAGCCA GGTAAAGGCTC CAAAGCCATG
201 GATCTACGGC ACATCCAACC TGGCTTCTGG TGTGCCAAGC AGATTCAGCG
251 GTAGCGGTAG CGGTACCGAC TACACCTTCA CCATCAGCAG CCTCCAGCCA
301 GAGGACATCG CCACCTACTA CTGCCAACAG TGGAGTAGTT ACCCGTACAT
351 GTACACGTTG GCCAAGGGGA CCAAGGTGGA AATCAAACGA ACTGTGGCTG
401 CACCATCTGT CTTCATCTTC CCGCCATCTG ATGAGCAGTT GAAATCTGGA
451 ACTGCCTCTG TTGTGTGCCT GCTGAATAAC TTCTATCCA GAGAGGCCAA
501 AGTACAGTGG AAGGTGGATA ACGCCCTCCA ATCAGGTAAC TCCCAGGAGA
551 GTGTCACAGA GCAGGACAGC AAGGACAGCA CCTACAGCCT CAGCAGCACC
601 CTGACGCTGA GCAAAGCAGA CTACGAGAAA CACAAAGTCT ACGCCTGCGA
651 AGTCACCCAT CAGGGCCTGA GCTCGCCCGT CACAAAGAGC TTCAACAGGG
701 GAGAGTGTAA A

```

[0704]

[0705] 서열 식별 번호:13 (MORab-003 HC CDR1; IMGT): GFTFSGYG

[0706] 서열 식별 번호:14 (MORab-003 HC CDR2; IMGT): ISSGGSYT

[0707] 서열 식별 번호:15 (MORab-003 HC CDR3; IMGT): ARHGDDPAWFAY

[0708] 서열 식별 번호:16 (MORab-003 LC CDR1; IMGT): SSISSNN

[0709] 서열 식별 번호:17 (MORab-003 LC CDR2; IMGT): GTS

[0710] 서열 식별 번호:18 (MORab-003 LC CDR3; IMGT): QQWSSYPYMT

[0711] 서열 식별 번호:19 (인간 FRA)

```

1 maqrmttqll lllvvvavvg eaqtria war tellnvcnma khhkekpgpe dklheqcrpw
61 rknaccstnt sqeahkdvsy lyrfnwnhcg emapackrhf iqdtclyecs pnlgpwiqqv
121 dqswrkerl nvlckedce qwwedcrtsy tcksnwhkgw nwtsgfnkca vgaacqpfhf
181 yfpptptvlcn eiwthsykvs nysrgsgrci qmwfdpaqgn pneevarfy aamsgagpwa
241 awpfllsial mllwlls

```

[0712]

[0713] 서열 식별 번호:20 (인간 FRA 뉴클레오파이드)

```

1 cattccctgg tgccactgac cacagcttt tcttcaggga cagacatggc tcagcggatg
61 acaacacaga tgctgctcct tctagtgtgg gtggctgt taggggaggc tcagacaagg
121 attgcattggg ccaggactga gcttctcaat gtctgcattga acgccaagca ccacaaggaa
181 aagccaggcc ccgaggacaa gttgcattgag cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc
241 tggcttacca acaccagcca ggaagcccat aaggatgttt cctacccata tagattcaac
301 tggaccact gtggagagat ggcacccgtcc tgccaaacggc atttcattca ggacacccgtc
361 ctctacagggt gctcccccaa cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc
421 aaagagcggg tactgaacgt gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtgggaagat
481 tggcgcaccc cctacccactg caagacaac tggcacaagg gctggactg gacttcagg
541 tttaacaagt ggcgcgtggg agctgcctgc caaccccttcc atttctactt ccccacaccc
601 actgttctgt gcaatgaaat ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgagg
661 agtggccgct gcatccagat gtggttcgac ccagcccaagg gcaaccccaa tgaggaggtg
721 ggcgcgtggg atgctgcagc catgagtggg gctggccct gggcgcctg gcctttcctg
781 cttagcctgg ccctaattgtc gctgtggctg ctcagctgac ctcccttac ctctgtatac
841 ctggaaatcc ctggccctgtt cagcccaaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg
901 tcgggcctct gacagccact ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat
961 ttggaaaaaa aaaaaaaaaaa aa

```

[0714]

[0715] 서열 식별 번호:21 (인간 her2)

1 melaalcrwg lllallppga astqvctgtd mklrlpaspe thldmlrhly  
qgcqvvqgnl

61 eltylptnas lsflqdqev qgyvliahq vrqvlqrlr ivrgtqlfed  
nyalavldng

121 dplnnntpvt gaspgglrel qlrlsteilk ggvliqrnpq lcyqdtiwlk  
difhknnqla

181 ltlidtnrsr achpcspmck gsrcwgesse dcqsltrtvc aggcarckgp  
lptdccheqc

241 aagctgpkhs dclaclhfnh sgicelhcpa lvynttdfe smpnpegryt  
fgascvtacp

301 ynylstdvgs ctlvcplhng evtaedgtqr cekcskpcar vcyglgmehl  
revravtsan

[0716]

361 iqefagckki fgslaflpes fdgdpasnta plqpeqlqvf etleeitgyl  
yisawpdslp

421 dlsvfqnlqv irgrilhnga ysltlqqlgi swlglrlsre lsgslalihh  
nthlcfvhtv

481 pwdqlfrnph qallhtanrp edecvgegla chqlcarghc wgpqptqcvn  
csqflrgqec

541 veecrvlqgl preyvnarhc lpchpecqpq ngsvtcfgpe adqcvacahy  
kdppfcvarc

601 psgvkpdlsy mpiwkfpdee gacqpcpinc thscvdlddk gcpaeqrasp  
ltsiisavvg

661 illvvvlgvv fgilikrrqq kirkymrrl lqetelvepl tpsgampnqa  
qmrilketel

721 rkvkvlgsga fgtvykgiwi pdgenvkipp aikvlrents pkankeilde  
ayvmagvgsp

781 yvsrllgic1 tstvqlvtql mpygcldhv renrgrlgsq dllnwcmqia  
kgmsyledvr

841 lvhrdlaarn vlvkspnhvk itdfglarll dideteyhad ggkvpikwma  
lesilrrrft

901 hqsdvwsysgv twelmtfga kpydgipare ipdillekger lpqppictid  
vymimvkcm

961 idsecrprfr elvsefsrma rdpqrfvviq nedlgpaspl dstfyrsll  
dddmgdlvda

1021 eeylvpqqgf fcpdpapgag gmvhhrhrss strsgggdlt lglepseeee  
prsplapseg

1081 agsdvfdgdl gmgaakglqs lpthdpsplq rysedptvpl psetdgyvap  
ltcspqpeyv

1141 nqpdvrvpp spregplaa rpagatlerp ktlspgkngv vkdvfafgga  
venpeyltpq

1201 ggaapqphpp pafspafdn1 yywdqdpper gappstfkgt ptaenpeylg ldvpv

[0717]

[0718]

서열 식별 번호:22 (인간 her2 뉴클레오타이드)

```

1 ATGGAGCTGG CGGCCTTGTG CCGCTGGGG CTCCCTCCTCG CCCTCTTGCC
CCCCGGAGCC
61 GCGAGCACCC AAGTGTGCAC CGGCACAGAC ATGAAGCTGC GGCTCCCTGC
CAGTCCCCAG
121 ACCCACCTGG ACATGCTCCG CCACCTCTAC CAGGGCTGCC AGGTGGTGCA
GGGAAACCTG
181 GAACTCACCT ACCTGCCAAC CAATGCCAGC CTGTCCTTCC TGCAGGATAT
CCAGGAGGTG

```

[0719]

```

241 CAGGGCTACG TGCTCATCGC TCACAACCAA GTGAGGCAGG TCCCCTGCA
GAGGCTGCGG
301 ATTGTGCGAG GCACCCAGCT CTTTGAGGAC AACTATGCC TGGCCGTGCT
AGACAATGGA
361 GACCCGCTGA ACAATAACCAC CCCTGTACA GGGGCCTCCC CAGGAGGCCT
GCAGGGAGCTG
421 CAGCTTCGAA GCCTCACAGA GATCTTGAAA GGAGGGGTCT TGATCCAGCG
GAACCCCCAG
481 CTCTGCTACC AGGACACGAT TTTGTGGAAG GACATCTTCC ACAAGAACAA
CCAGCTGGCT
541 CTCACACTGA TAGACACCAA CCGCTCTCGG GCCTGCCACC CCTGTTCTCC
GATGTGTAAG
601 GGCTCCCGCT GCTGGGGAGA GAGTTCTGAG GATTGTCAGA GCCTGACGCG
CACTGTCGT
661 GCCGGTGGCT GTGCCCGCTG CAAGGGCCA CTGCCCACTG ACTGCTGCCA
TGAGCAGTGT
721 GCTGCCGGCT GCACGGGCC CAAGCACTCT GACTGCCTGG CCTGCCTCCA
CTTCACACCAC
781 AGTGGCATCT GTGAGCTGCA CTGCCAGCC CTGGTCACCT ACAACACAGA
CACGTTTGAG
841 TCCATGCCCA ATCCCGAGGG CCGGTATACA TTCGGCGCCA GCTGTGTGAC
TGCCTGTCCTC
901 TACAACTACC TTTCTACGGA CGTGGGATCC TGCACCCCTCG TCTGCCCTCT
GCACAACCAA
961 GAGGTGACAG CAGAGGATGG AACACAGCGG TGTGAGAAGT GCAGCAAGCC
CTGTGCCCGA
1021 GTGTGCTATG GTCTGGCAT GGAGCACTTG CGAGAGGTGA GGGCAGTTAC
CAGTGCCAAT
1081 ATCCAGGAGT TTGCTGGCTG CAAGAAGATC TTTGGGAGCC TGGCATTCT
GCCGGAGAGC
1141 TTTGATGGGG ACCCAGCCTC CAACACTGCC CCGCTCCAGC CAGAGCAGCT
CCAAGTGTGTT
1201 GAGACTCTGG AAGAGATCAC AGGTTACCTA TACATCTCAG CATGGCCGGA
CAGCCTGCCCT
1261 GACCTCAGCG TCTTCAGAA CCTGCAAGTA ATCCGGGGAC GAATTCTGCA
CAATGGCGCC
1321 TACTCGCTGA CCCTGCAAGG GCTGGGCATC AGCTGGCTGG GGCTGCGCTC
ACTGAGGGAA
1381 CTGGGCAGTG GACTGGCCCT CATCCACCAT AACACCCACC TCTGCTTCGT
GCACACGGTG

```

[0720]

1441 CCCTGGGACC AGCTTTTCG GAACCCGCAC CAAGCTCTGC TCCACACTGC  
 CAACCGGCCA  
 1501 GAGGACGAGT GTGTGGCGA GGGCCTGGCC TGCCACCAGC TGTGCGCCCG  
 AGGGCACTGC  
 1561 TGGGGTCCAG GGCCCACCCA GTGTGTCAAC TGCAGCCAGT TCCTTCGGGG  
 CCAGGAGTGC  
 1621 GTGGAGGAAT GCCGAGTACT GCAGGGGCTC CCCAGGGAGT ATGTGAATGC  
 CAGGCAGTGT  
 1681 TTGCCGTGCC ACCCTGAGTG TCAGCCCCAG AATGGCTCAG TGACCTGTT  
 TGGACCGGAG  
 1741 GCTGACCAGT GTGTGGCTG TGCCCCTAT AAGGACCCTC CCTTCTGCCT  
 GGCCGCTGC  
 1801 CCCAGGGTG TGAAACCTGA CCTCTCCTAC ATGCCCATCT GGAAGTTCC  
 AGATGAGGAG  
 1861 GGCGCATGCC AGCCTTCCCC CATCAACTGC ACCCACTCCT GTGTGGACCT  
 GGATGACAAG  
 1921 GGCTGCCCG CCGAGCAGAG AGCCAGCCCT CTGACGTCCA TCATCTCTGC  
 GGTGGTTGGC  
 1981 ATTCTGCTGG TCGTGGTCTT GGGGGTGGTC TTTGGGATCC TCATCAAGCG  
 ACGGCAGCAG  
 2041 AAGATCCGGA AGTACACGAT GCGGAGACTG CTGCAGGAAA CGGAGCTGGT  
 GGAGCCGCTG  
 2101 ACACCTAGCG GAGCGATGCC CAACCAGGCG CAGATGCGGA TCCTGAAAGA  
 GACGGAGCTG  
 2161 AGGAAGGTGA AGGTGCTTGG ATCTGGCGCT TTTGGCACAG TCTACAAGGG  
 CATCTGGATC  
 2221 CCTGATGGGG AGAATGTGAA ATTCCAGTG GCCATCAAAG TGTTGAGGGA  
 AACACATCC  
 2281 CCCAAAGCCA ACAAAAGAAAT CTTAGACGAA GCATACGTGA TGGCTGGTGT  
 GGGCTCCCCA  
 2341 TATGTCTCCC GCCTTCTGGG CATCTGCCTG ACATCCACGG TGCAGCTGGT  
 GACACAGCTT  
 2401 ATGCCCTATG GCTGCCTCTT AGACCATGTC CGGGAAAACC GCGGACGCCT  
 GGGCTCCCAG  
 2461 GACCTGCTGA ACTGGTGTAT GCAGATTGCC AAGGGGATGA GCTACCTGGA  
 GGATGTGCGG  
 2521 CTCGTACACA GGGACTTGGC CGCTCGGAAC GTGCTGGTCA AGAGTCCCAA  
 CCATGTCAA  
 2581 ATTACAGACT TCGGGCTGGC TCGGCTGCTG GACATTGACG AGACAGAGTA  
 CCATGCAGAT

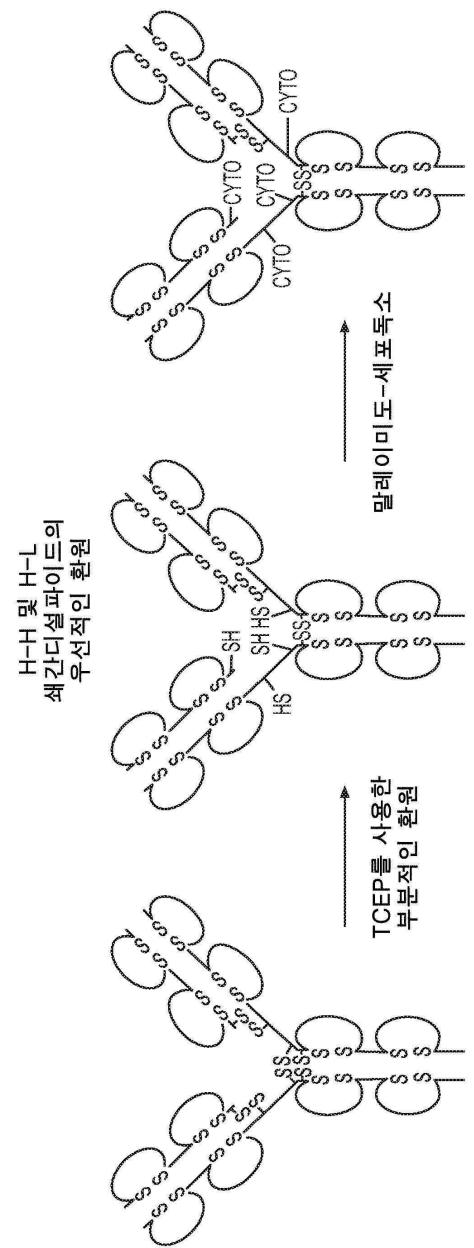
[0721]

2641 GGGGGCAAGG TGCCCATCAA GTGGATGGCG CTGGAGTCCA TTCTCCGCCG  
 GCGGTTCA  
 2701 CACCAAGAGTG ATGTGTGGAG TTATGGTGTG ACTGTGTGGG AGCTGATGAC  
 TTTTGGGGCC  
 2761 AAACCTTACG ATGGGATCCC AGCCCGGGAG ATCCCTGACC TGCTGGAAAA  
 GGGGGAGCGG  
 2821 CTGCCCCAGC CCCCCATCTG CACCATTGAT GTCTACATGA TCATGGTCAA  
 ATGTTGGATG  
 2881 ATTGACTCTG AATGTCGGCC AAGATTCCGG GAGTTGGTGT CTGAATTCTC  
 CCGCATGGCC  
 2941 AGGGACCCCC AGCGCTTGT GGTCACTCCAG AATGAGGACT TGGGCCAGC  
 CAGTCCCTTG  
 3001 GACAGCACCT TCTACCGCTC ACTGCTGGAG GACGATGACA TGGGGGACCT  
 GGTGGATGCT  
 3061 GAGGAGTATC TGGTACCCCCA GCAGGGCTTC TTCTGTCCAG ACCCTGCC  
 GGGCGCTGGG  
 3121 GGCATGGTCC ACCACAGGCA CCGCAGCTCA TCTACCAGGA GTGGCGGTGG  
 GGACCTGACA  
 3181 CTAGGGCTGG AGCCCTCTGA AGAGGAGGCC CCCAGGTCTC CACTGGCACC  
 CTCCGAAGGG  
 3241 GCTGGCTCCG ATGTATTGTA TGGTGACCTG GGAATGGGGG CAGCCAAGGG  
 GCTGCAAAGC  
 3301 CTCCCCACAC ATGACCCCCAG CCCTCTACAG CGGTACAGTG AGGACCCCAC  
 AGTACCCCTG  
 3361 CCCTCTGAGA CTGATGGCTA CGTTGCCCGG CTGACCTGCA GCCCCCAGCC  
 TGAATATGTG  
 3421 AACCAGCCAG ATGTCGGCC CCAGCCCCCT TCGCCCCGAG AGGGCCCTCT  
 GCCTGCTGCC  
 3481 CGACCTGCTG GTGCCACTCT GGAAAGGCC AAGACTCTCT CCCCAGGGAA  
 GAATGGGGTC  
 3541 GTCAAAGACG TTTTGCCTT TGGGGGTGCC GTGGAGAACCC CCGAGTACTT  
 GACACCCCCAG  
 3601 GGAGGAGCTG CCCCTCAGCC CCACCCCTCT CCTGCCTTCA GCCCAGCCTT  
 CGACAACCTC  
 3661 TATTACTGGG ACCAGGACCC ACCAGAGCGG GGGGCTCCAC CCAGCACCTT  
 CAAAGGGACA  
 3721 CCTACGGCAG AGAACCCAGA GTACCTGGGT CTGGACGTGC CAGTGTGA

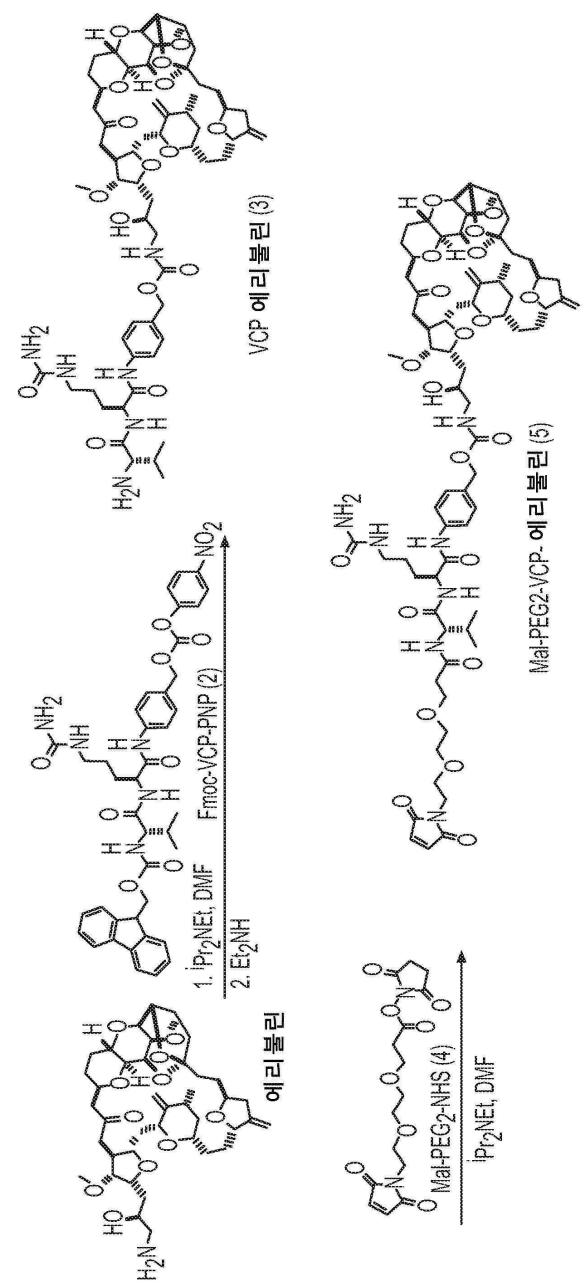
[0722]

## 도면

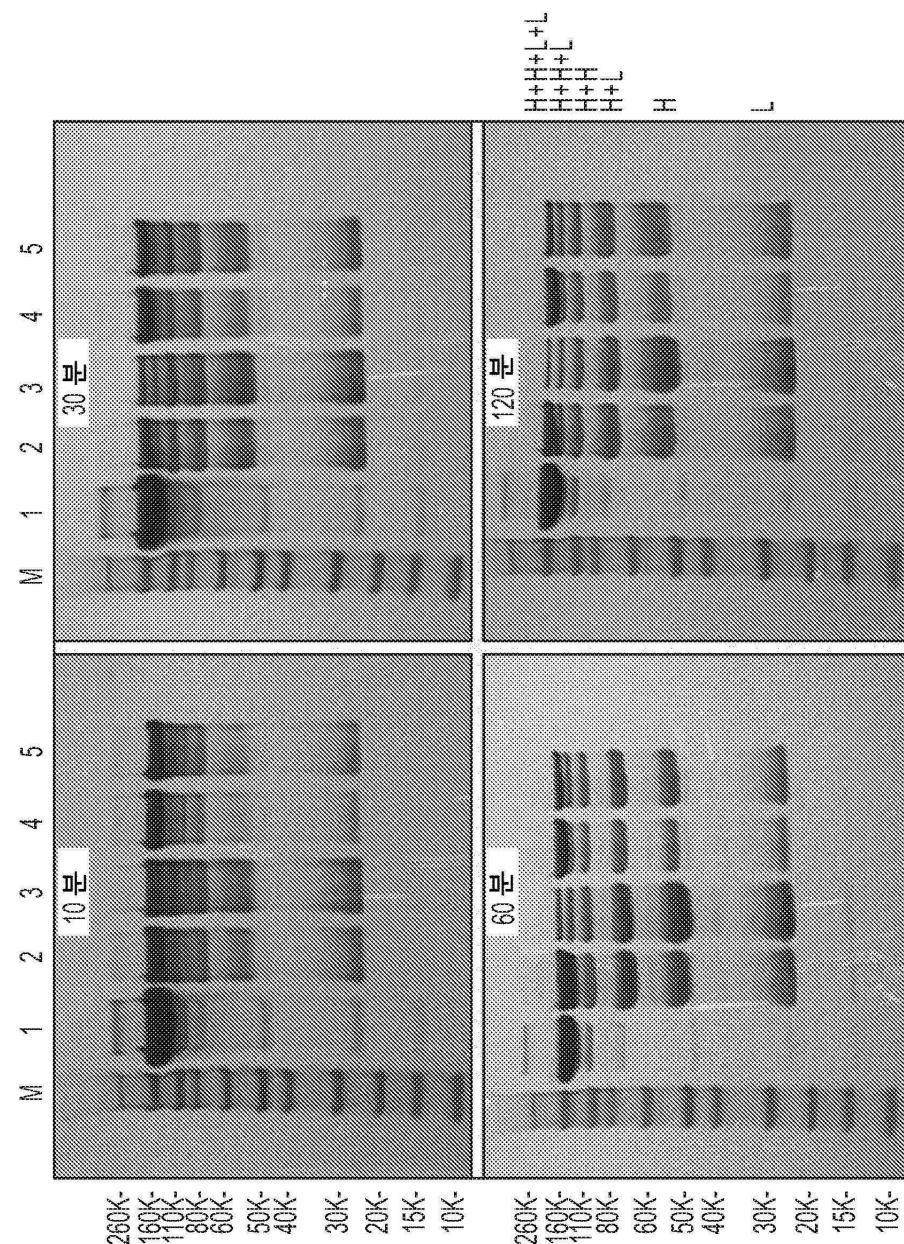
## 도면1



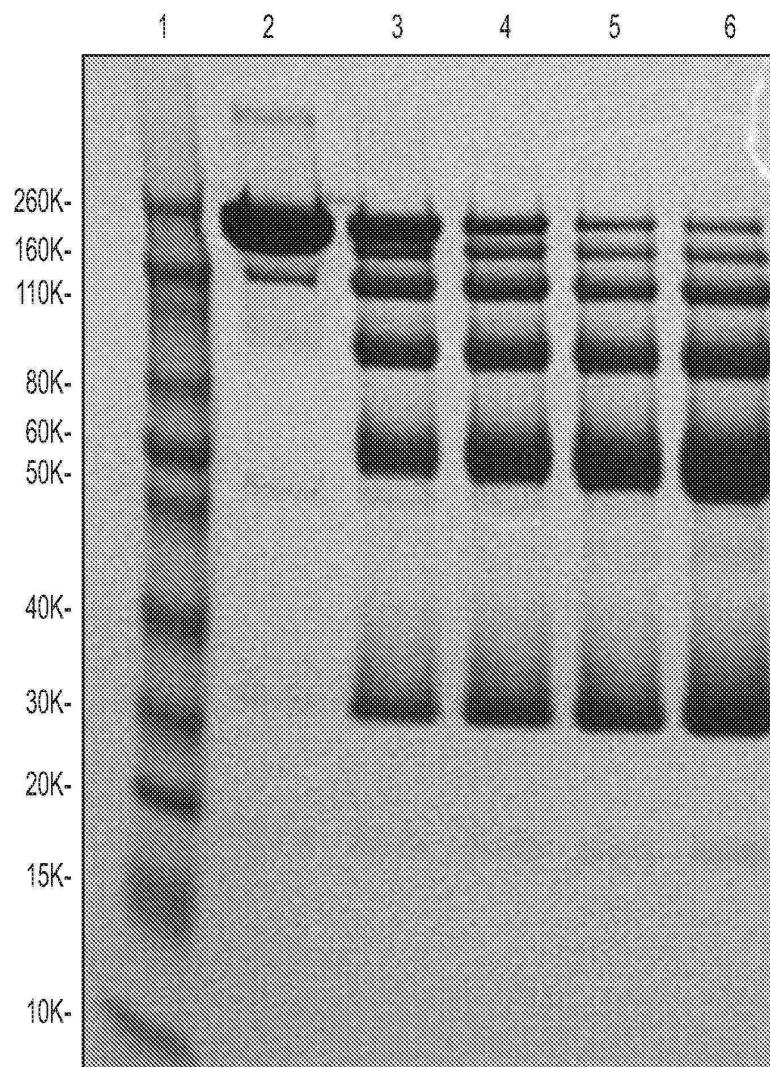
## 도면2



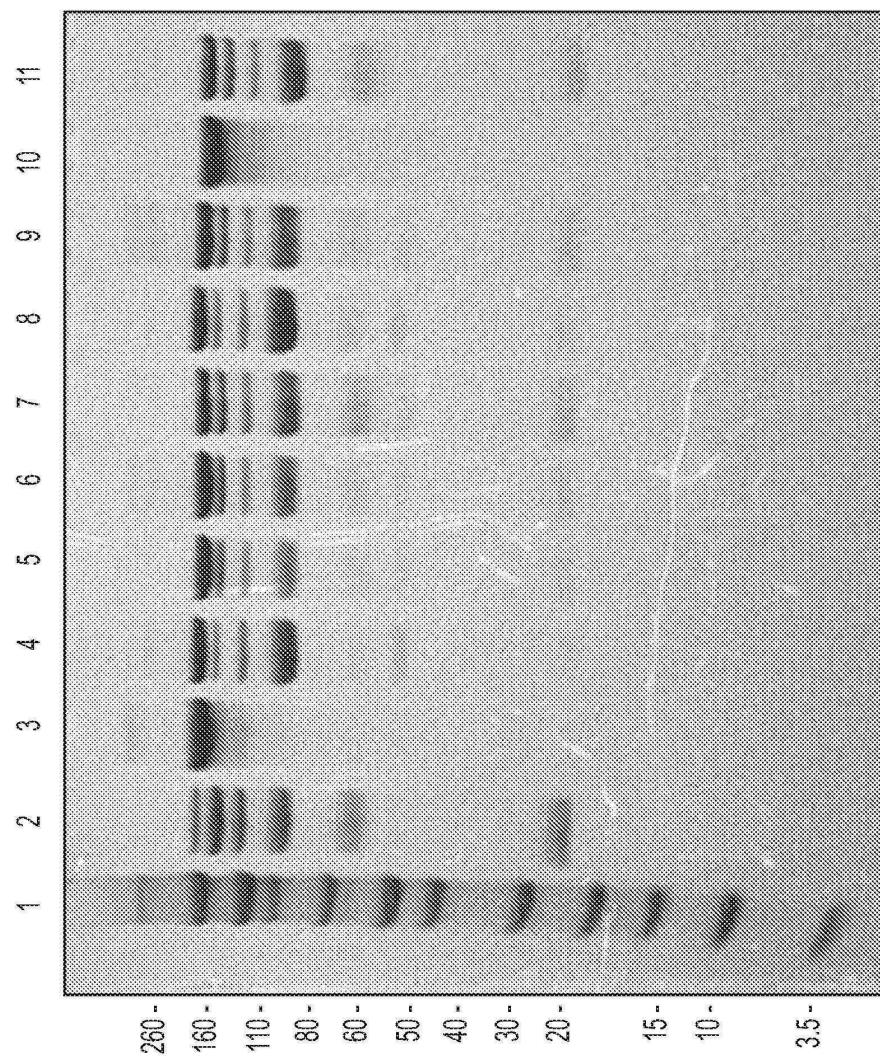
## 도면3



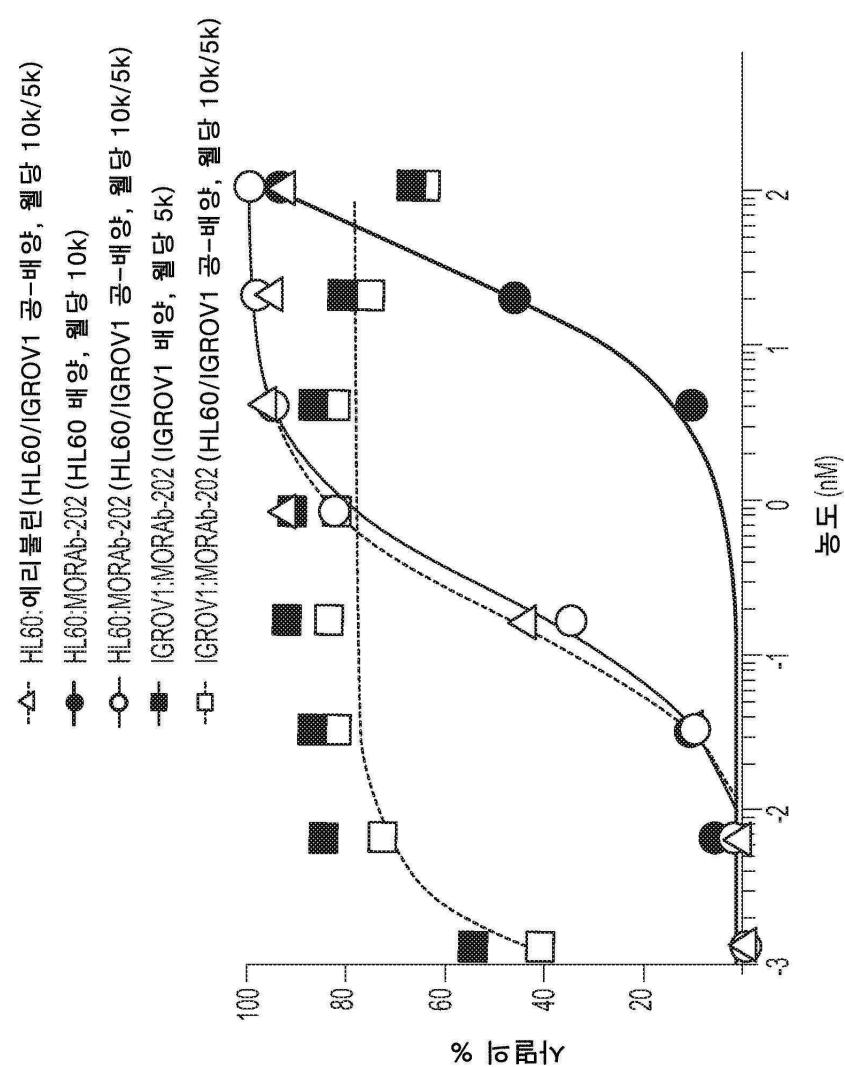
도면4



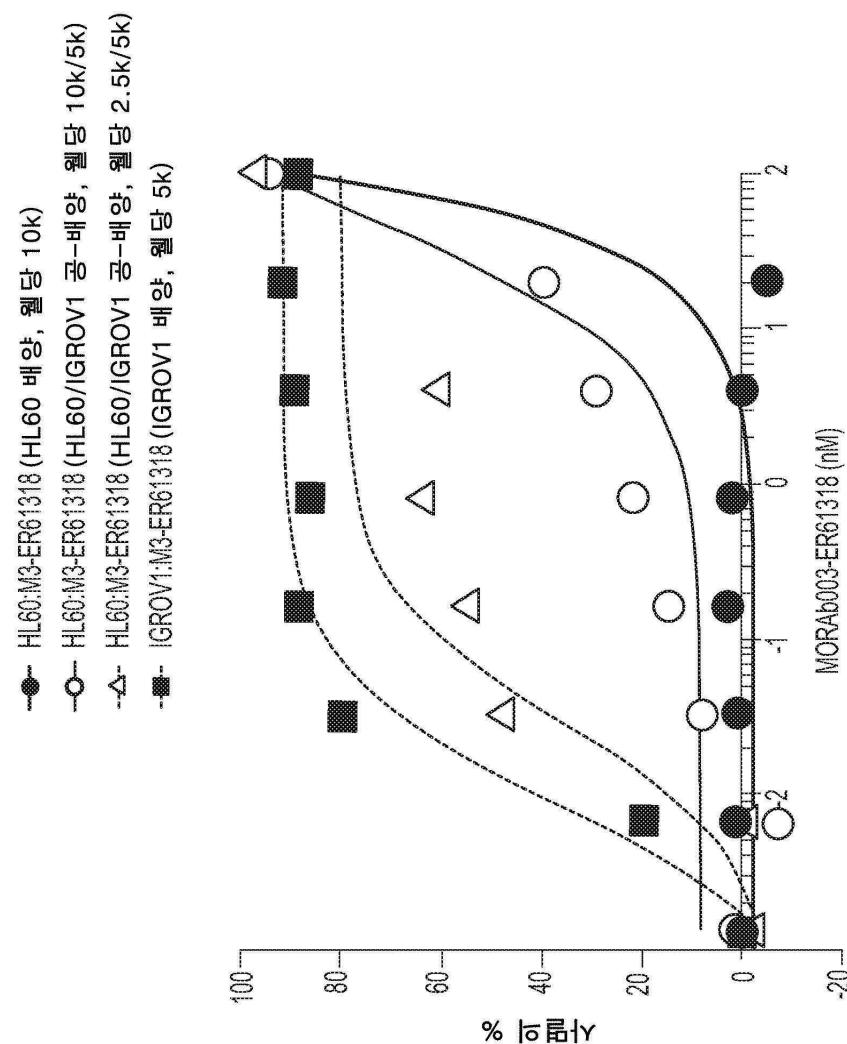
도면5



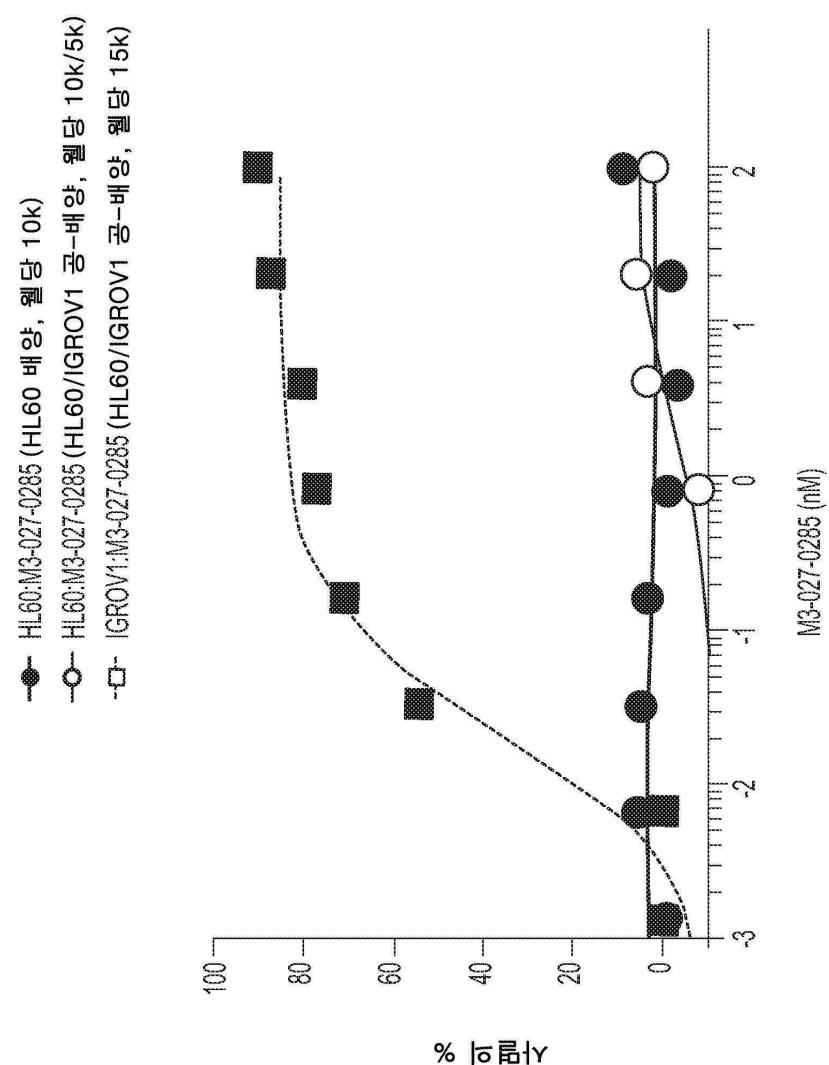
## 도면6a



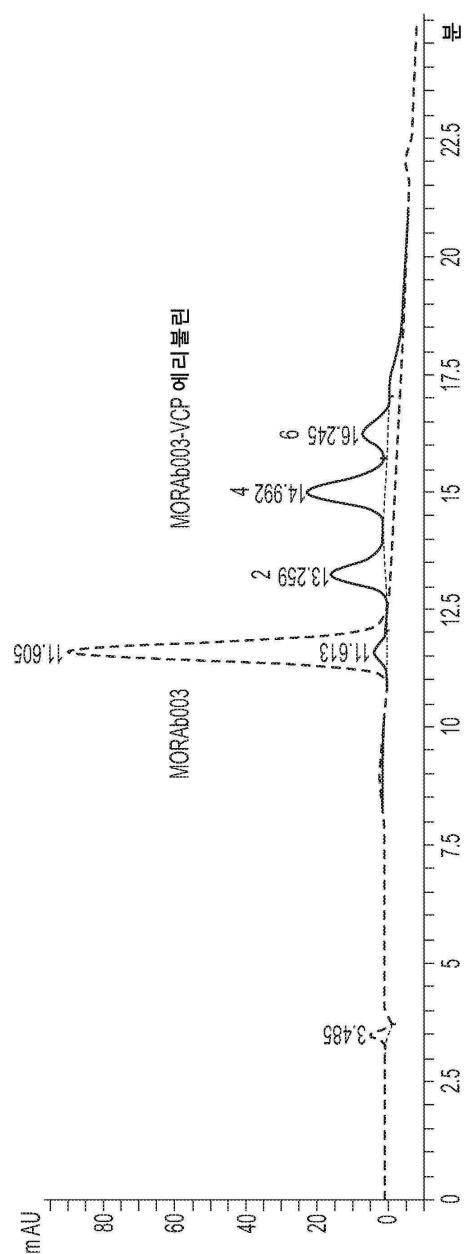
도면6b



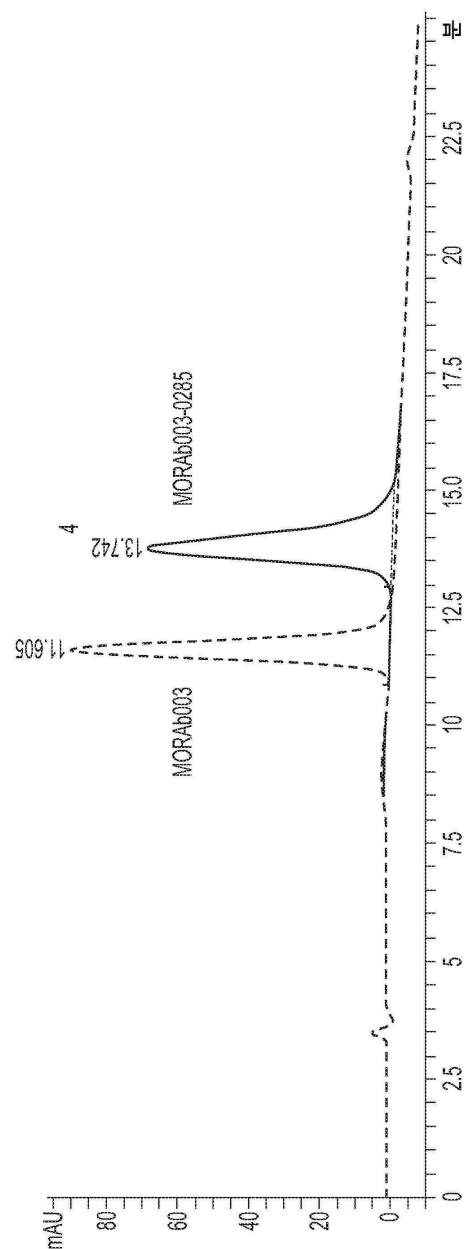
## 도면6c



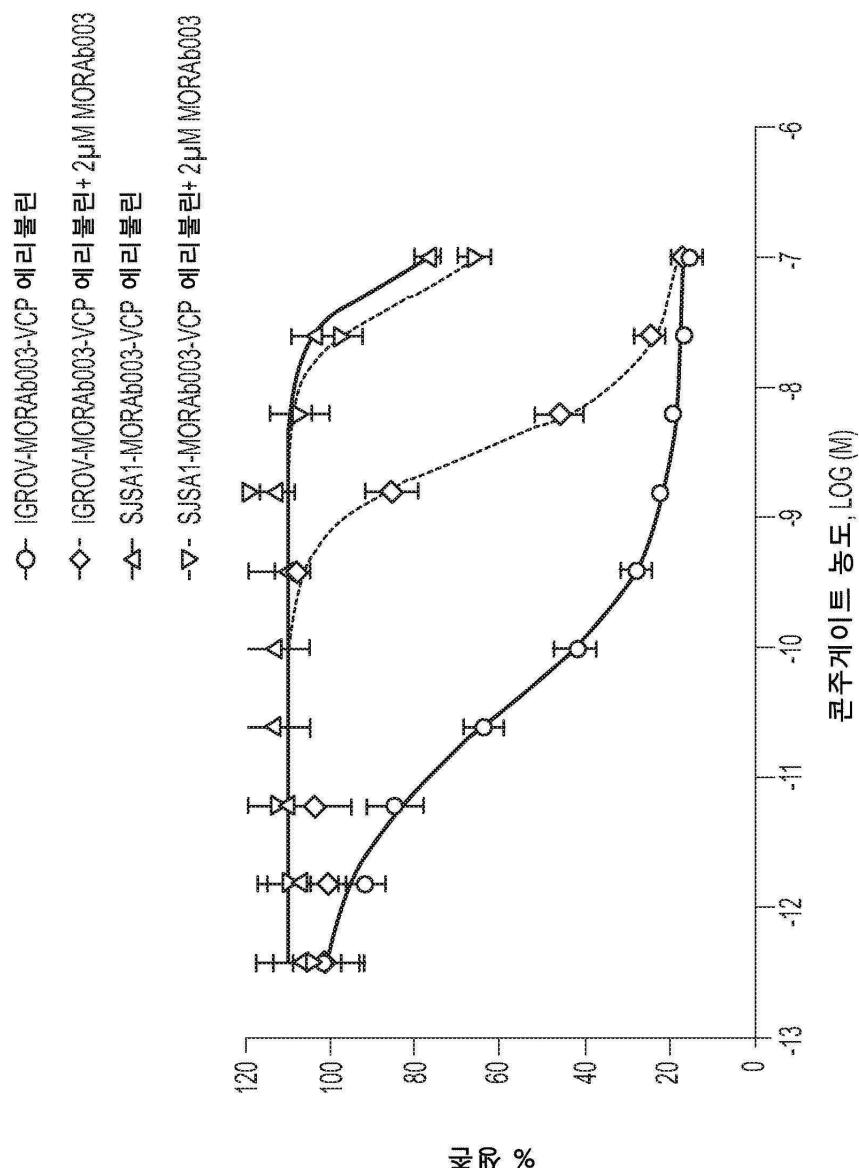
도면7a



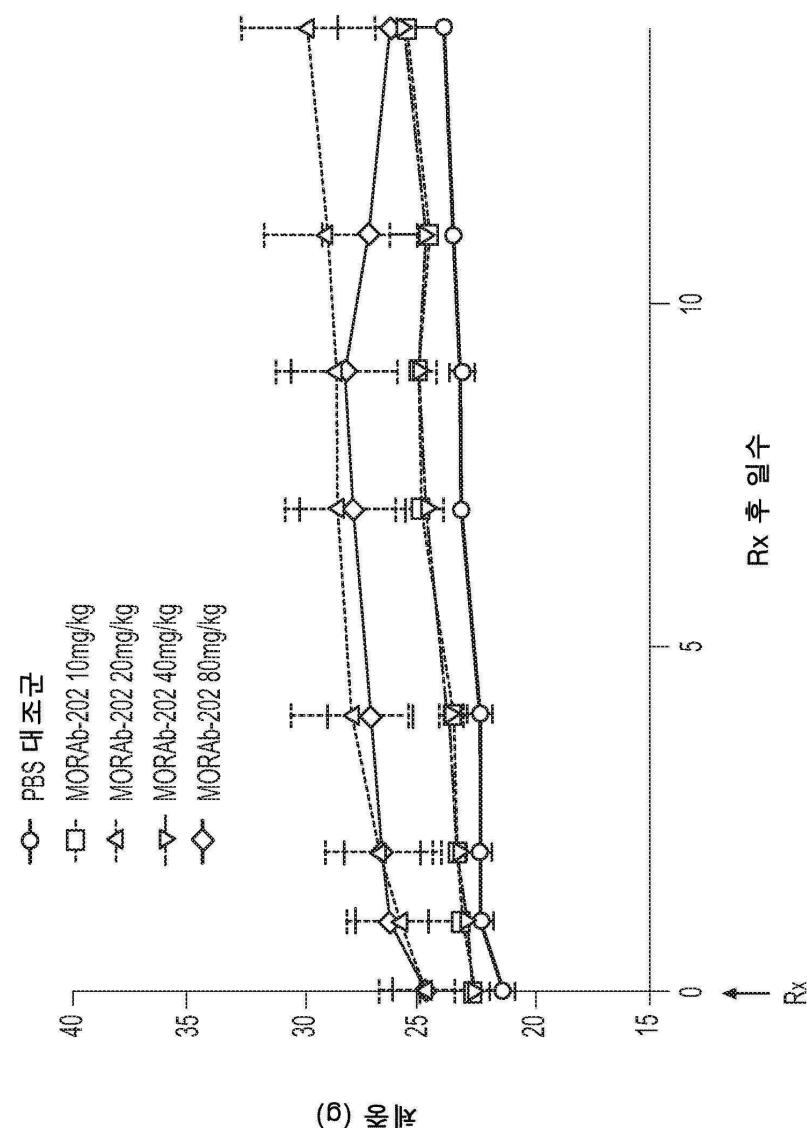
도면7b



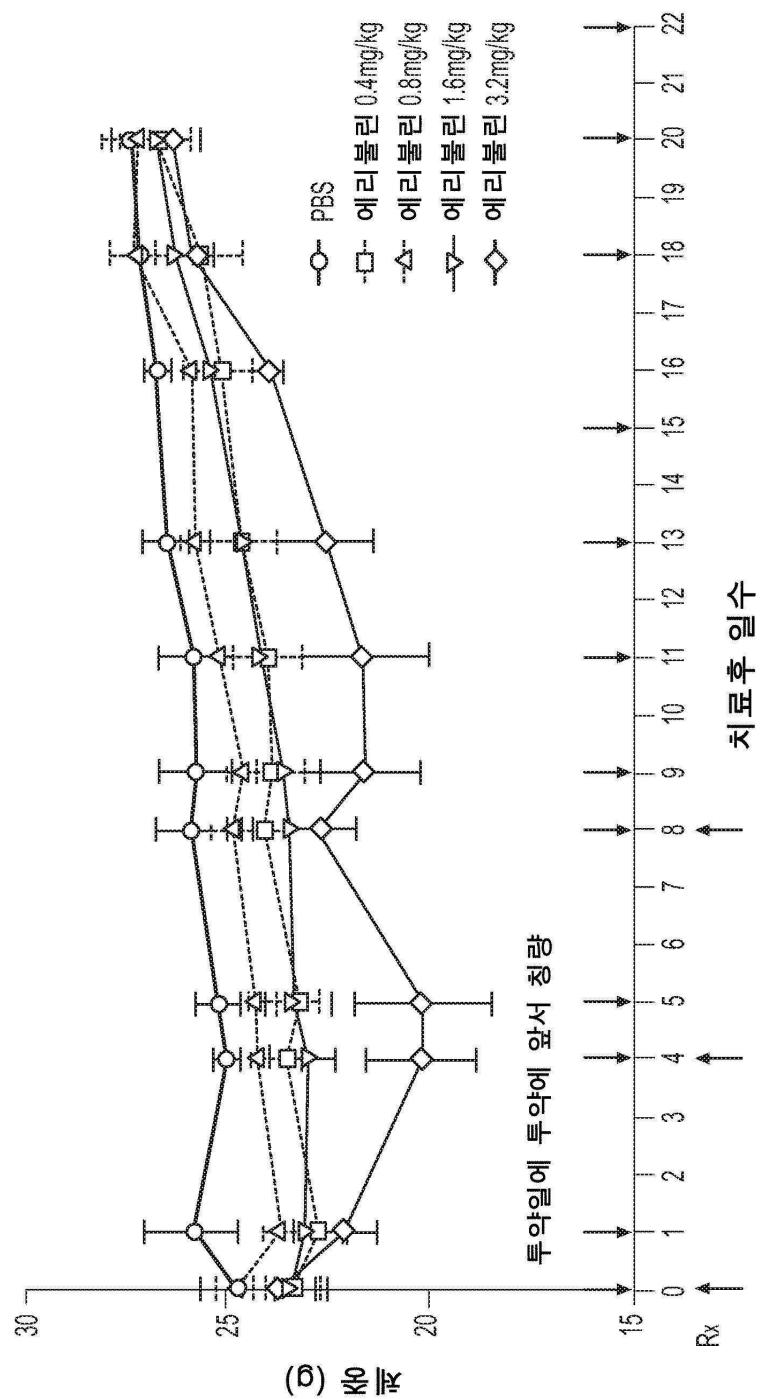
## 도면8



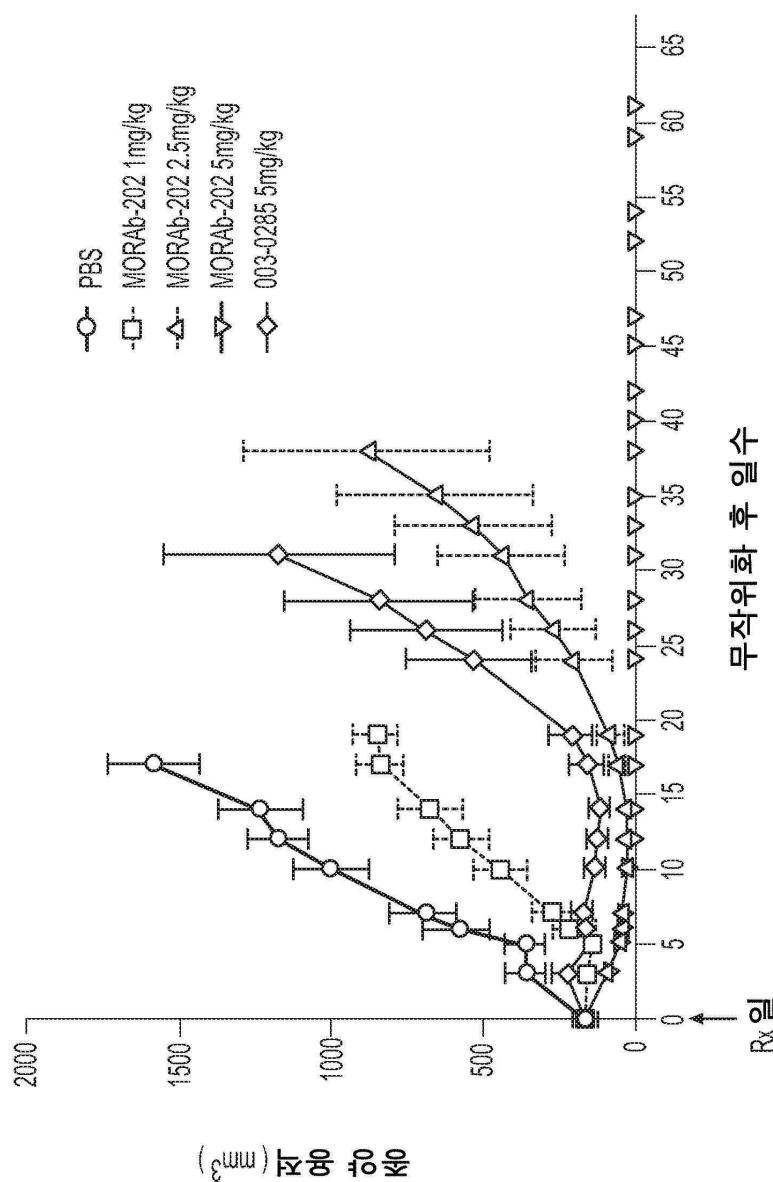
도면9



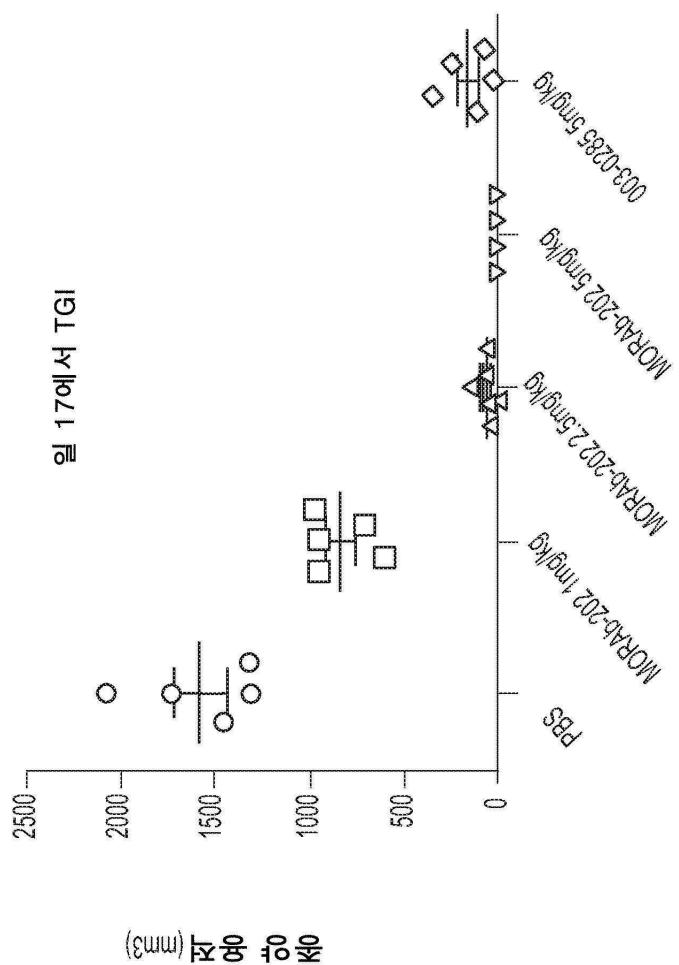
도면10



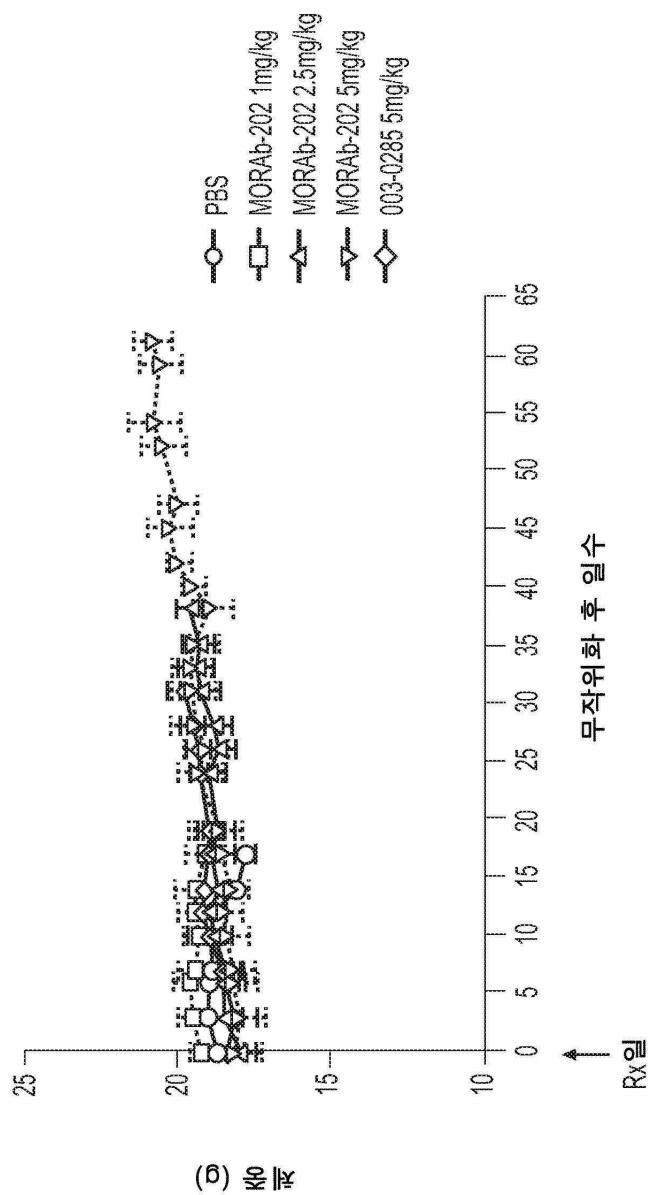
도면11



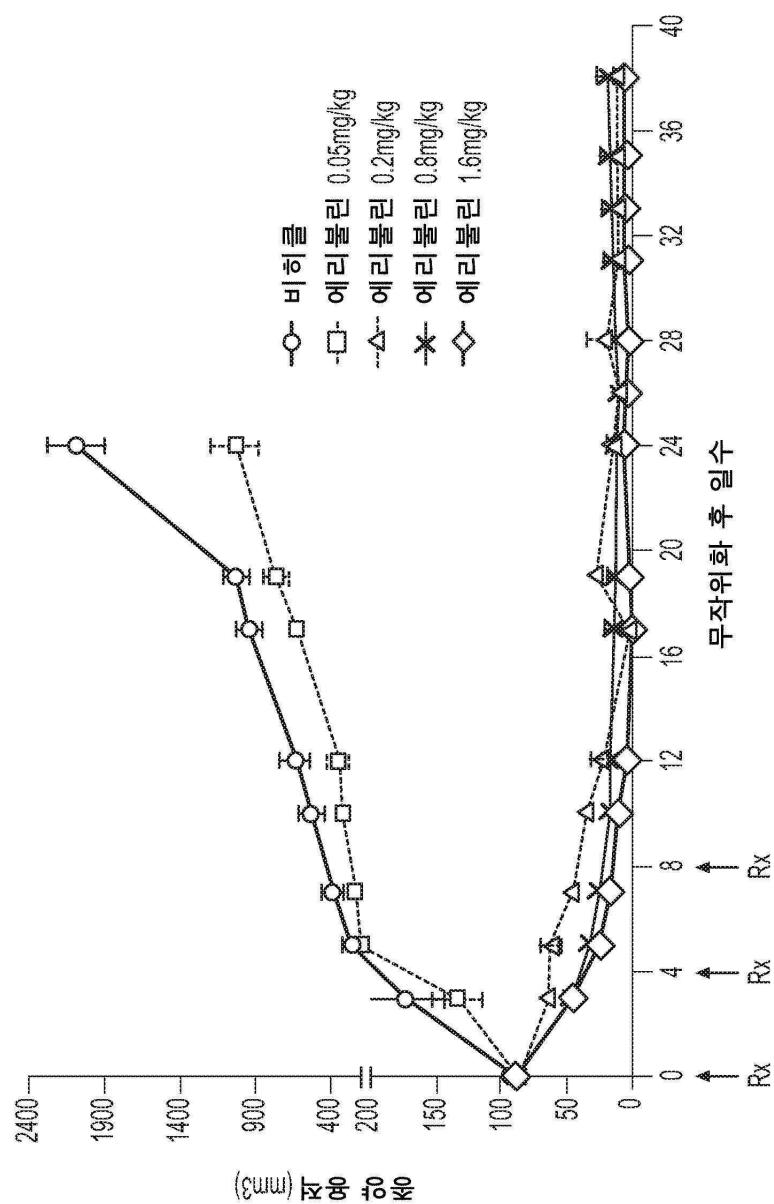
도면12



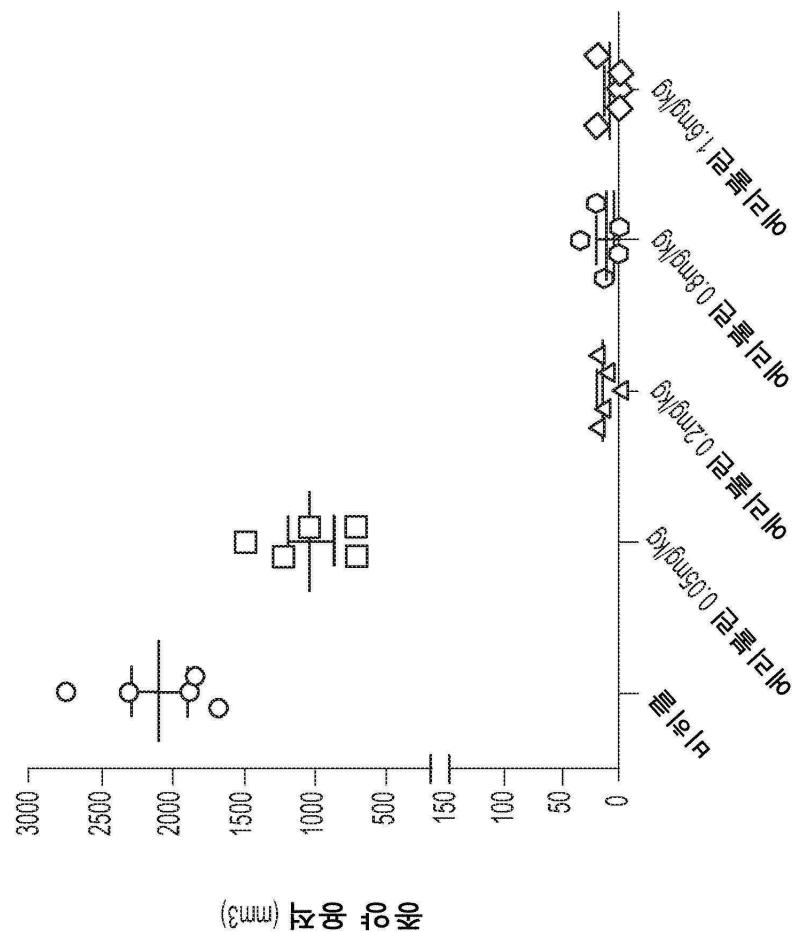
## 도면13



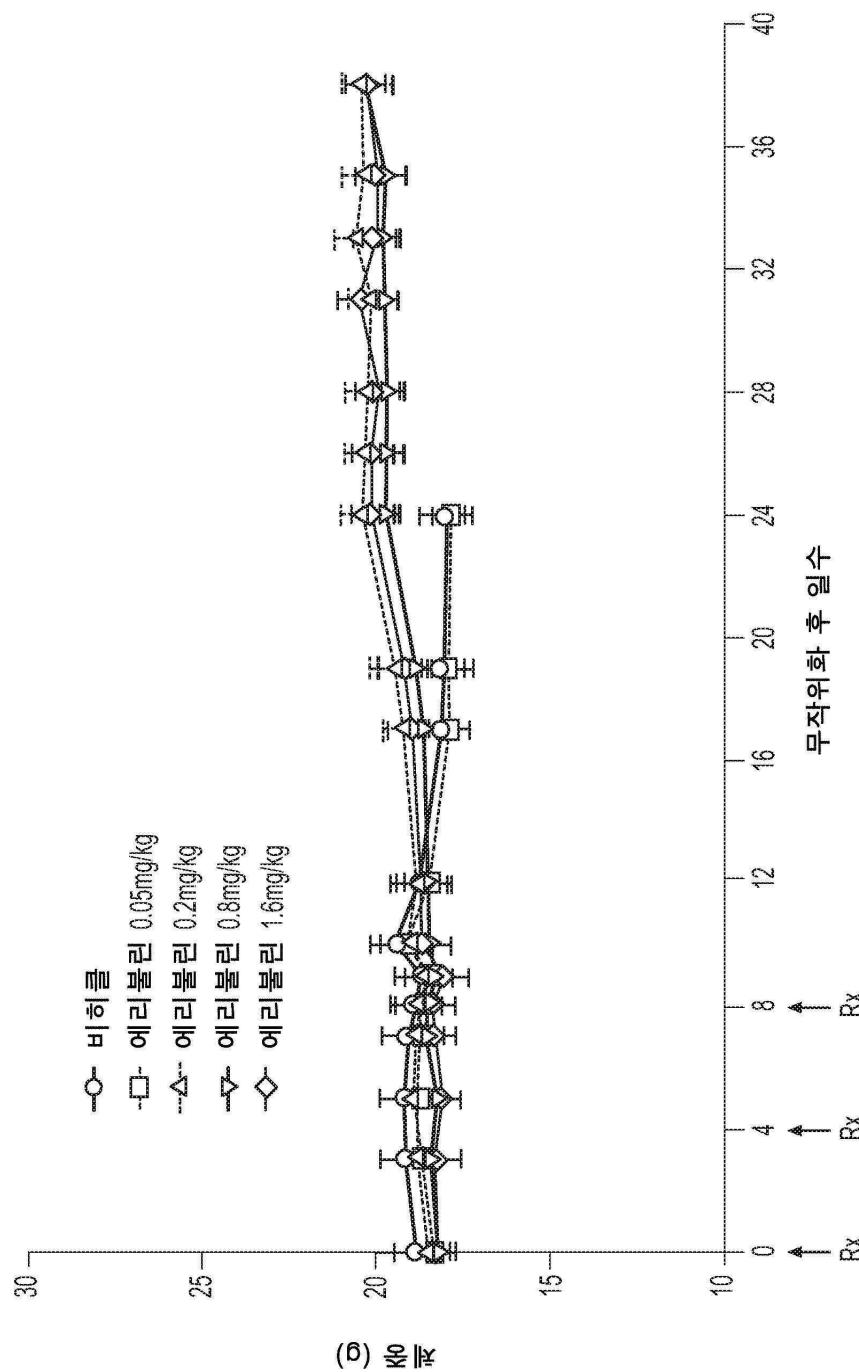
도면14



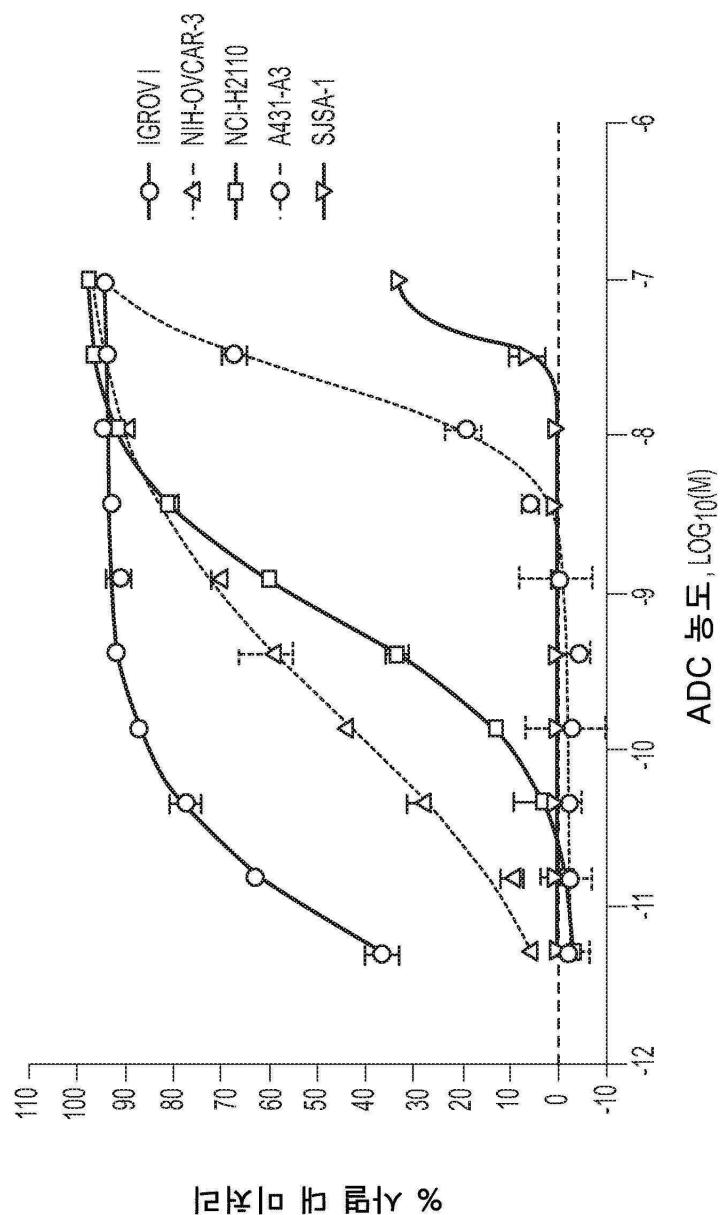
도면15



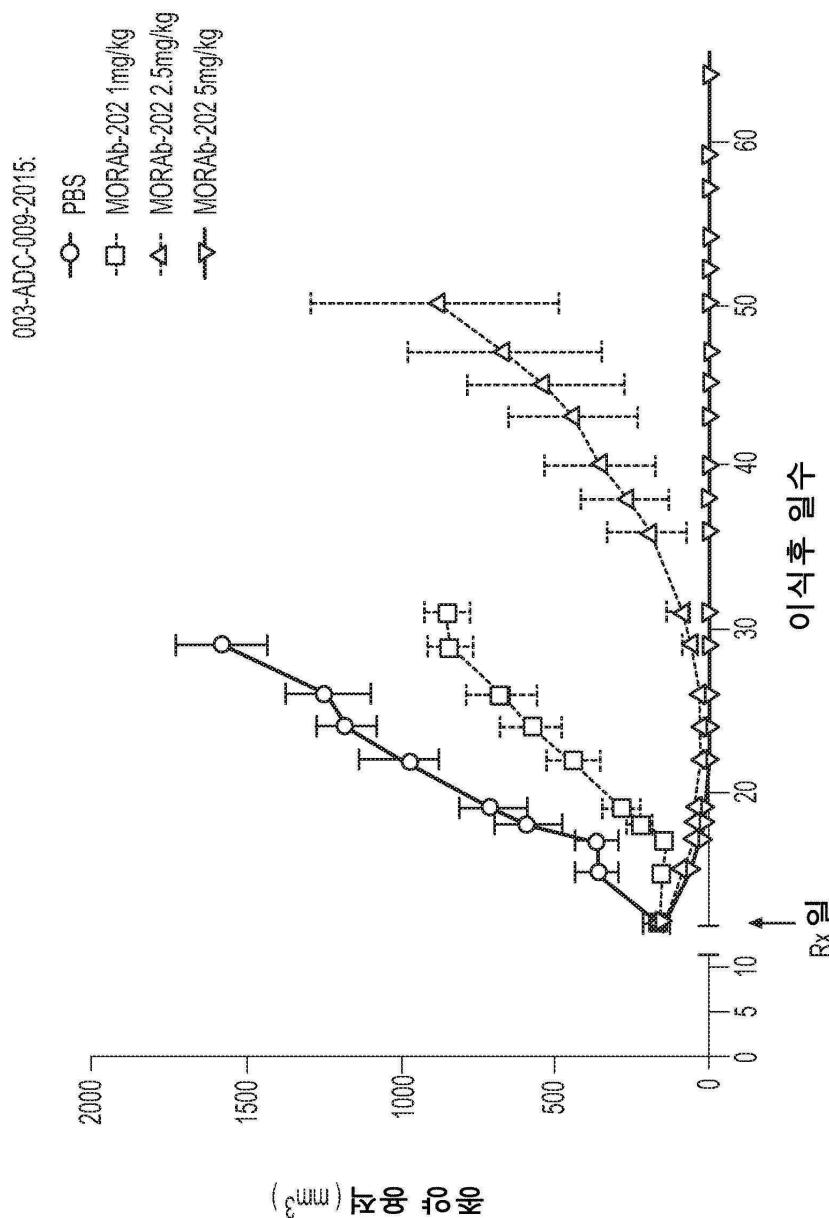
도면16



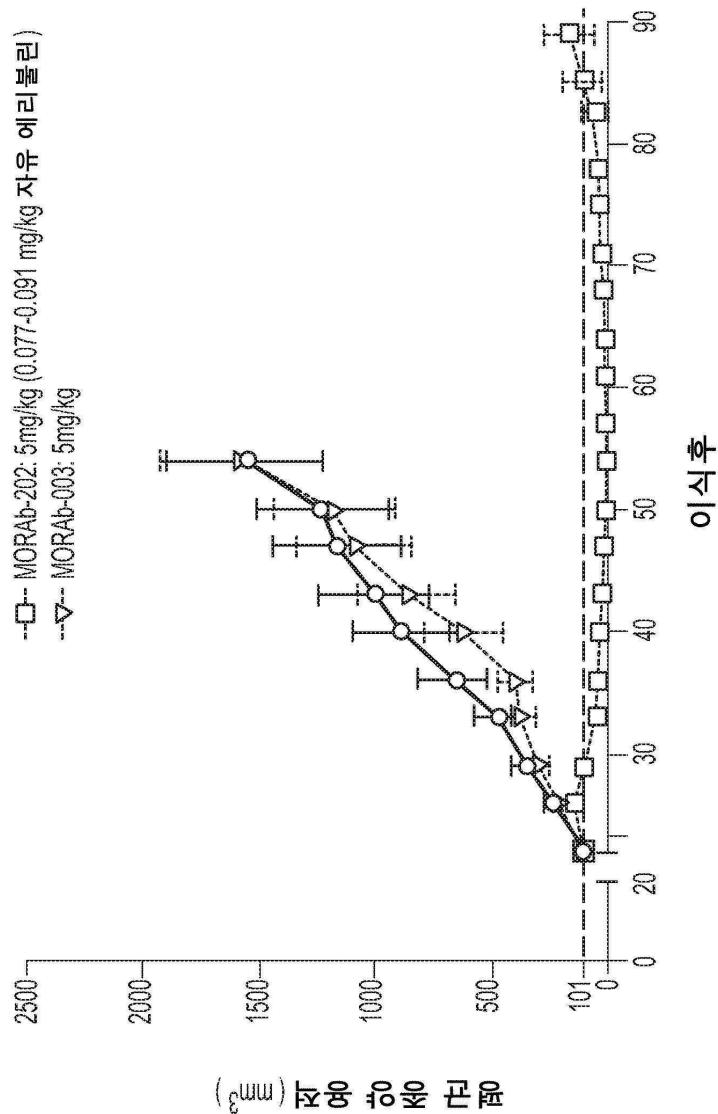
도면17



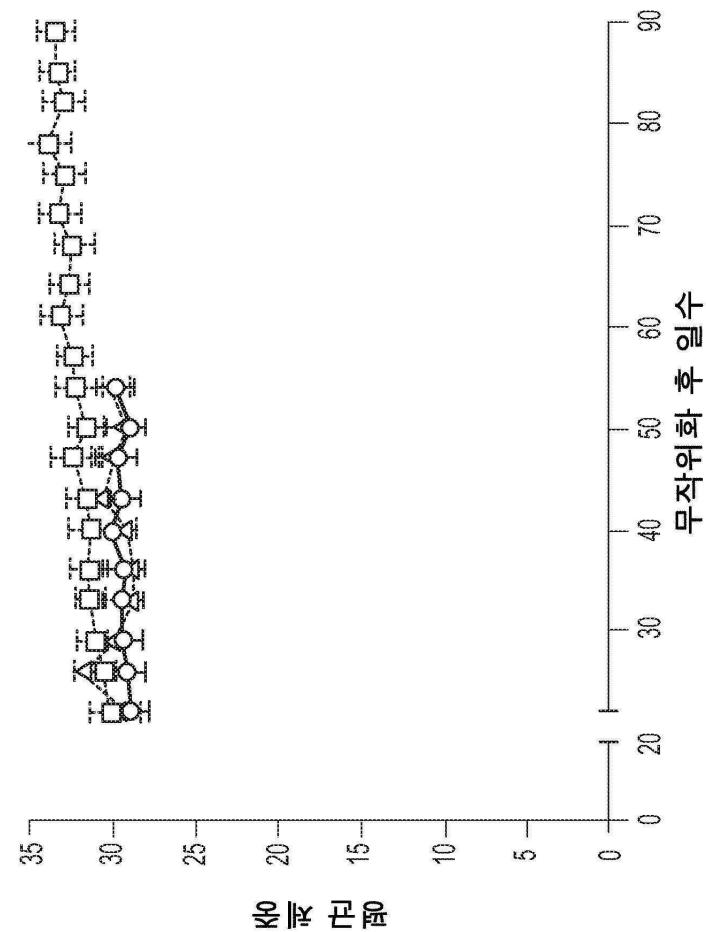
도면18



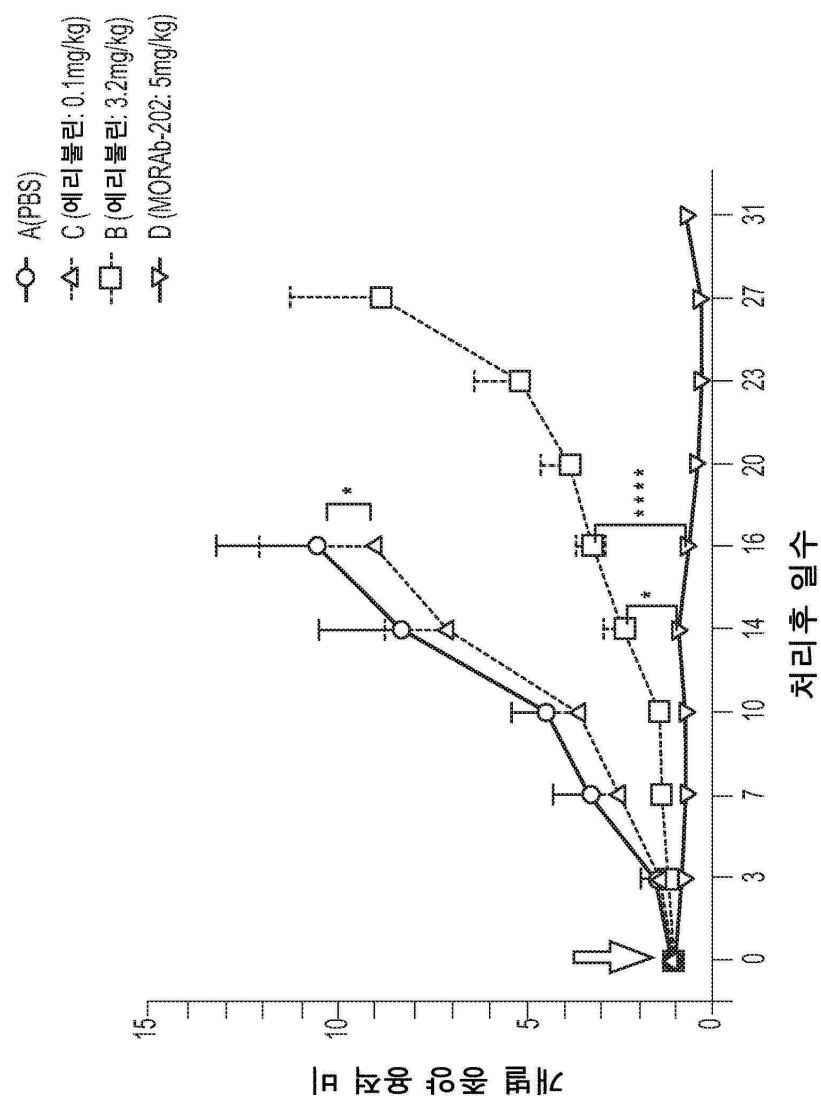
도면 19a



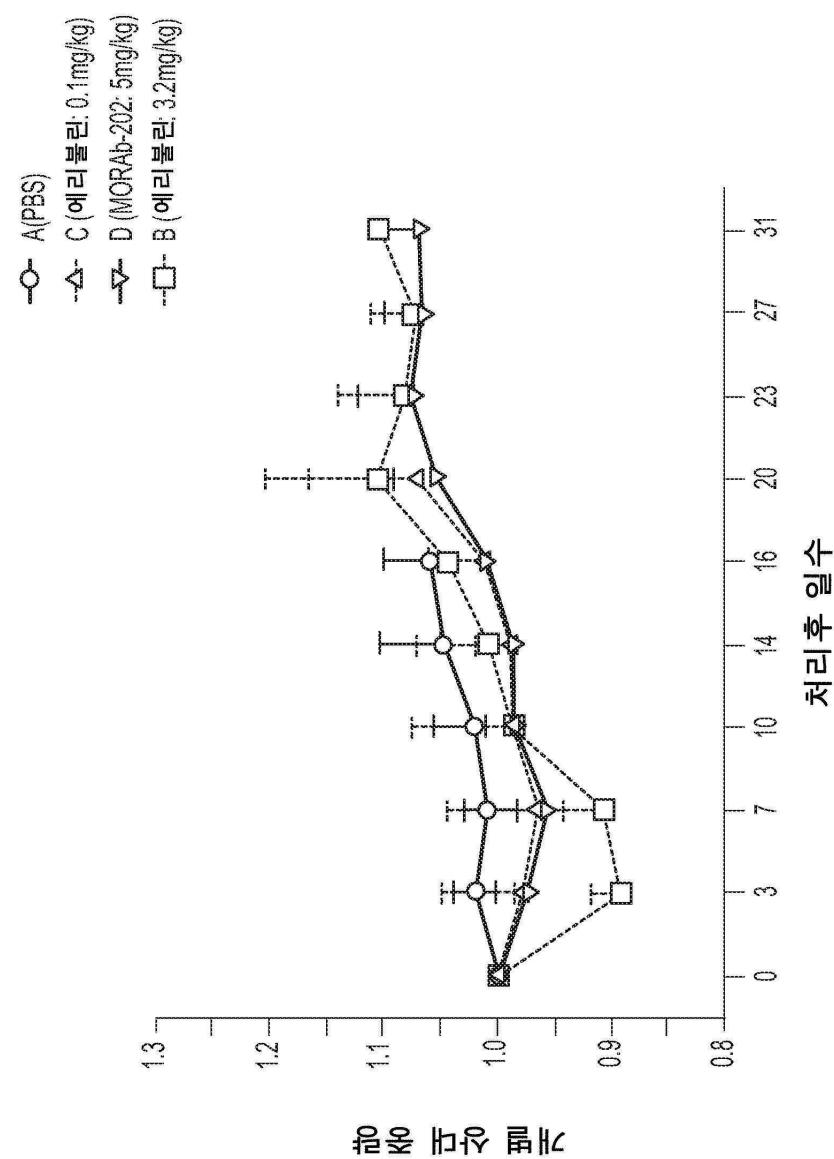
도면 19b



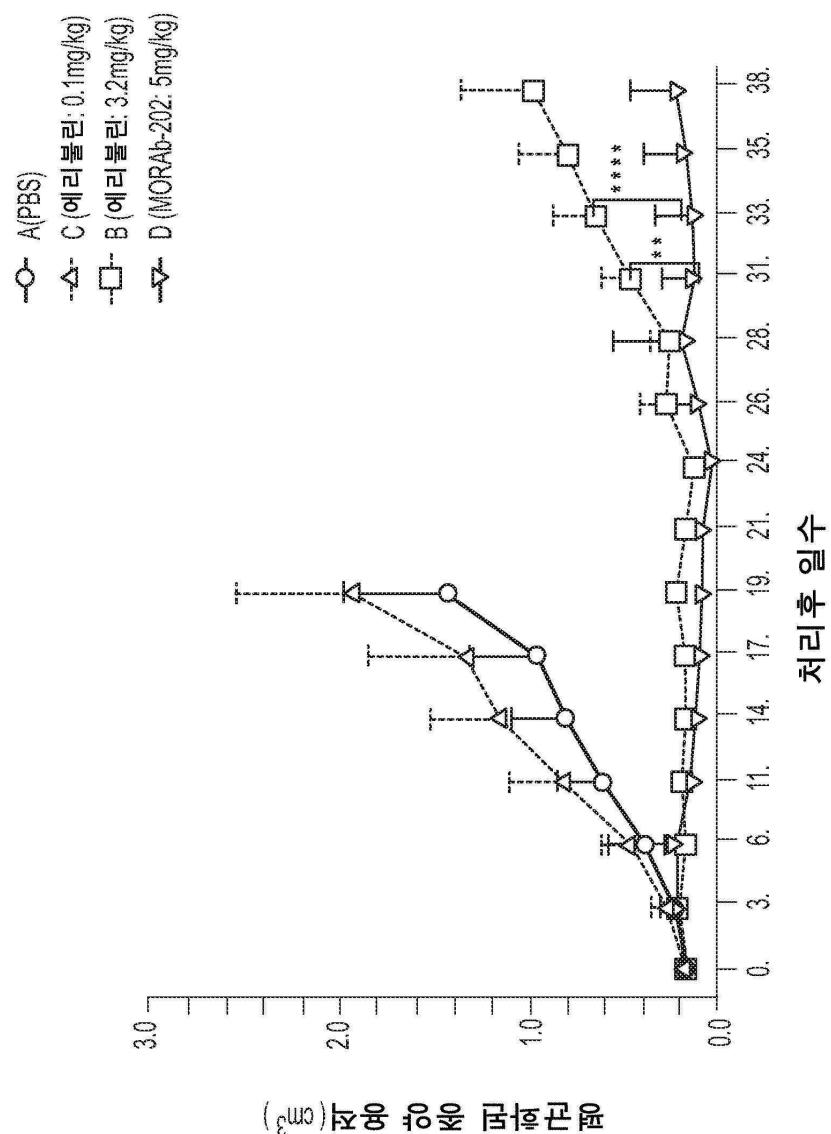
도면20a



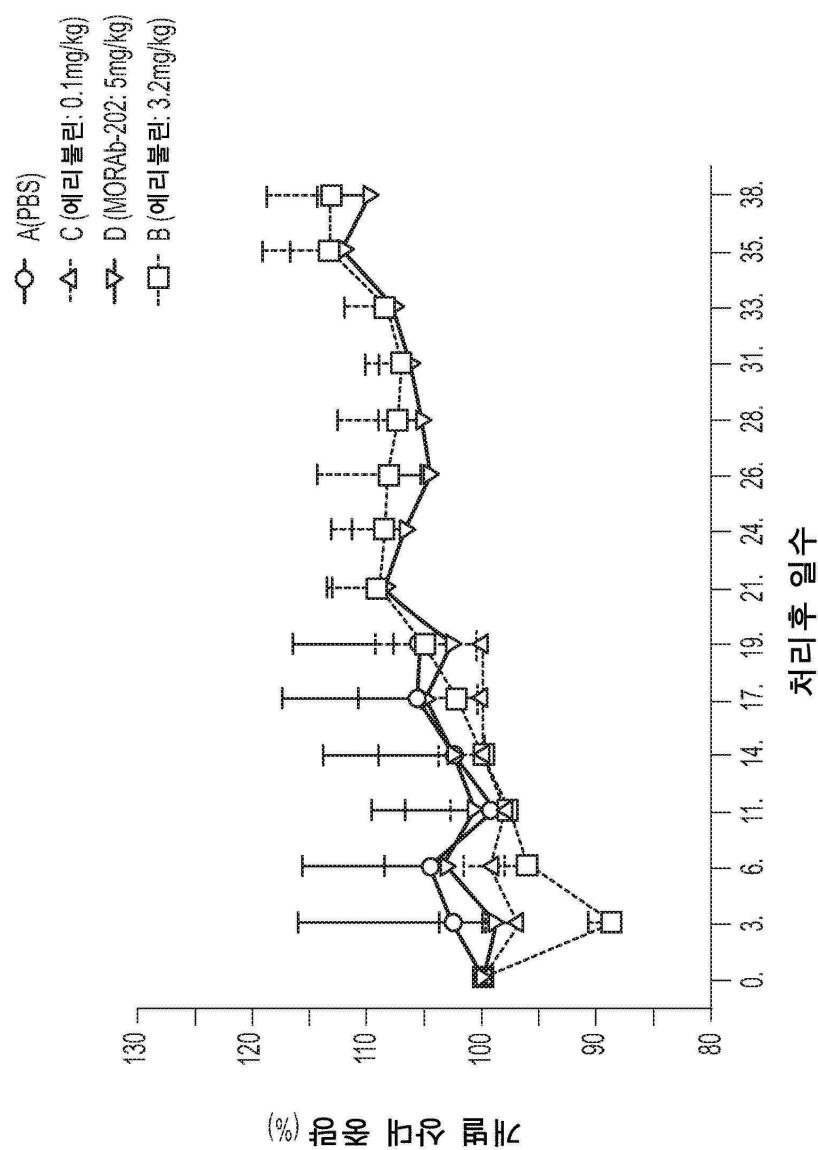
## 도면20b



## 도면20c

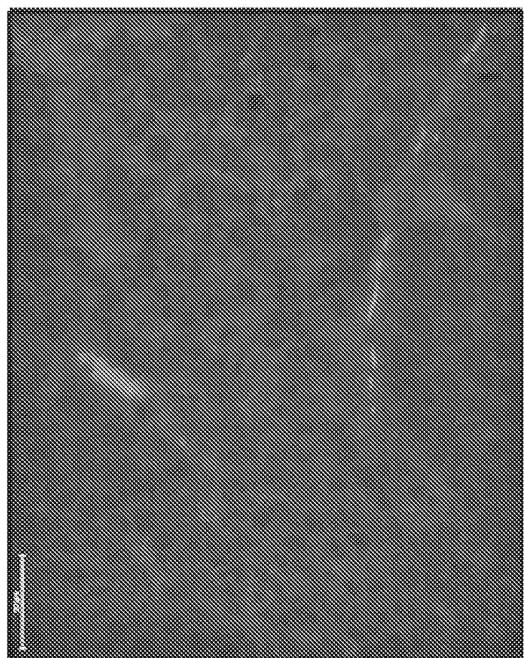


도면20d

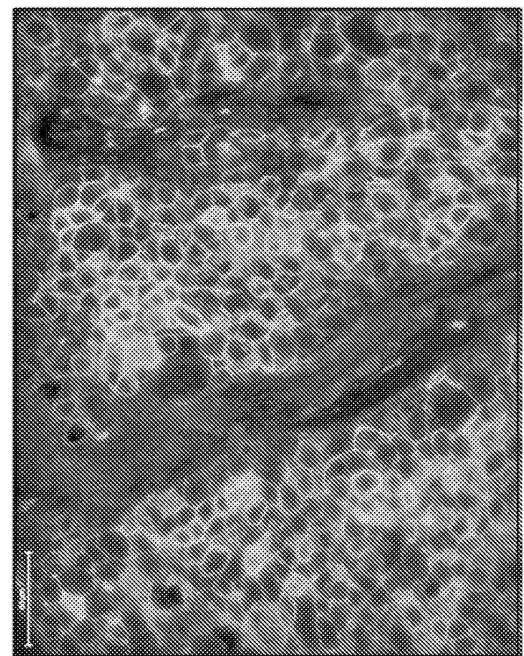


도면21a

비히클

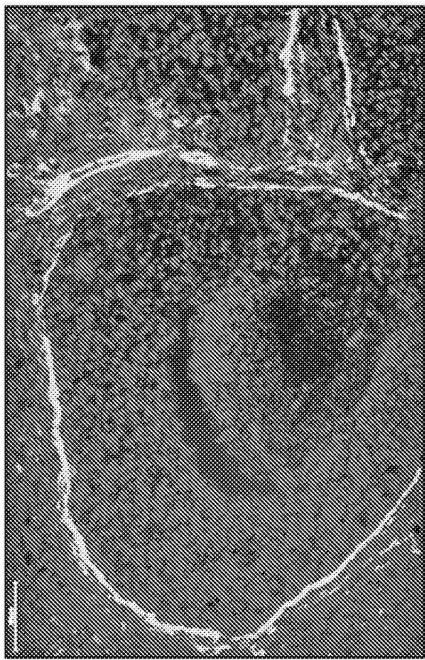


MORAb-202 (5 mg/kg)

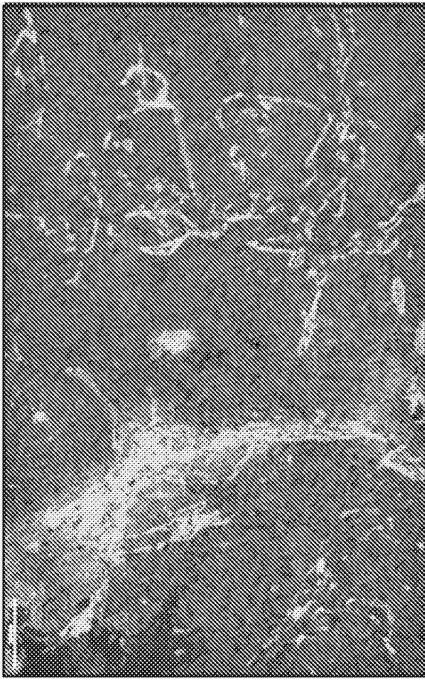


도면21b

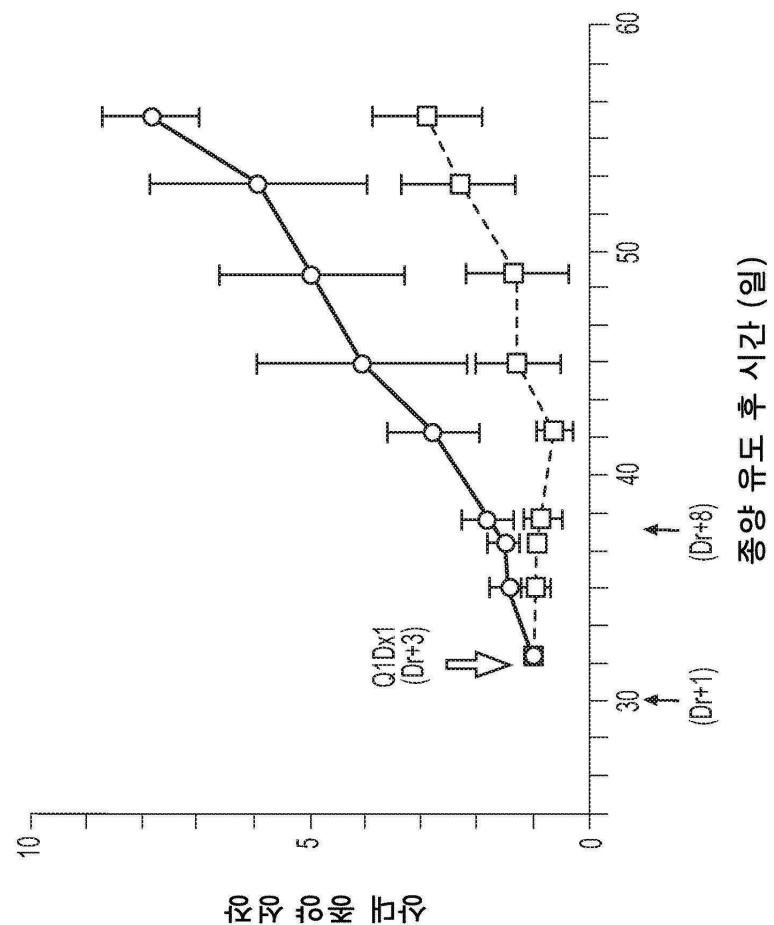
MORAb-202 (5 mg/kg)



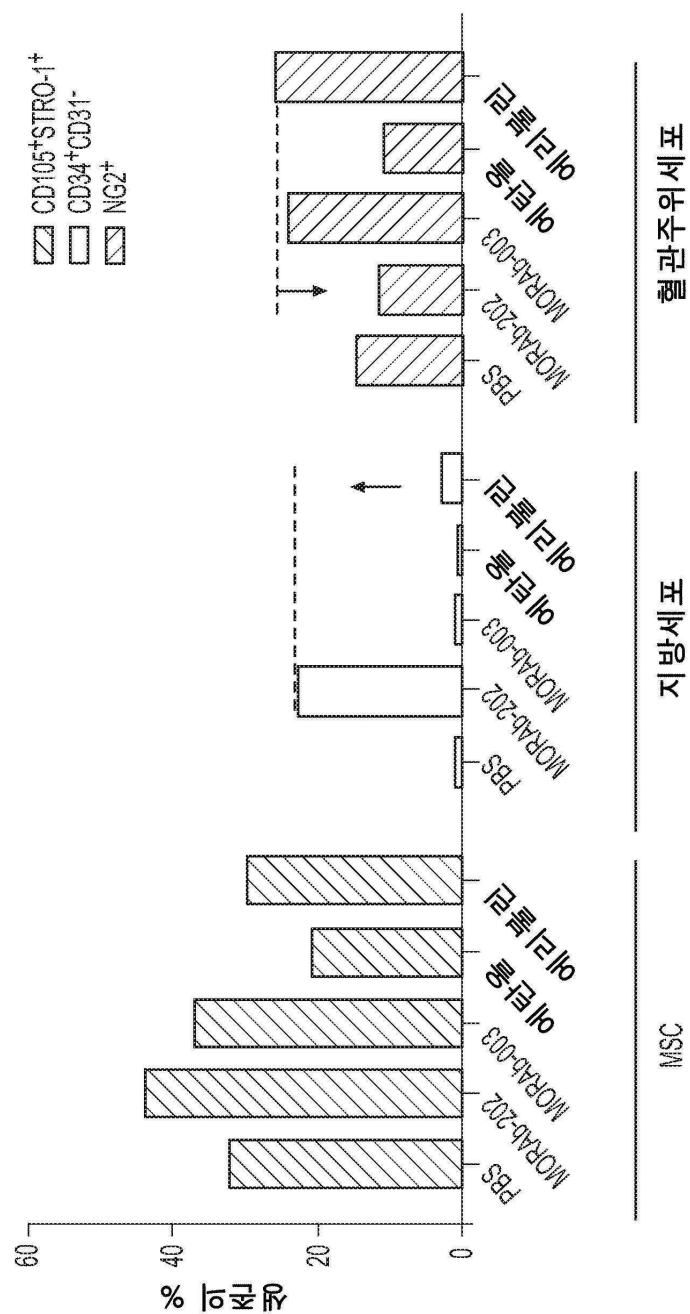
미처리



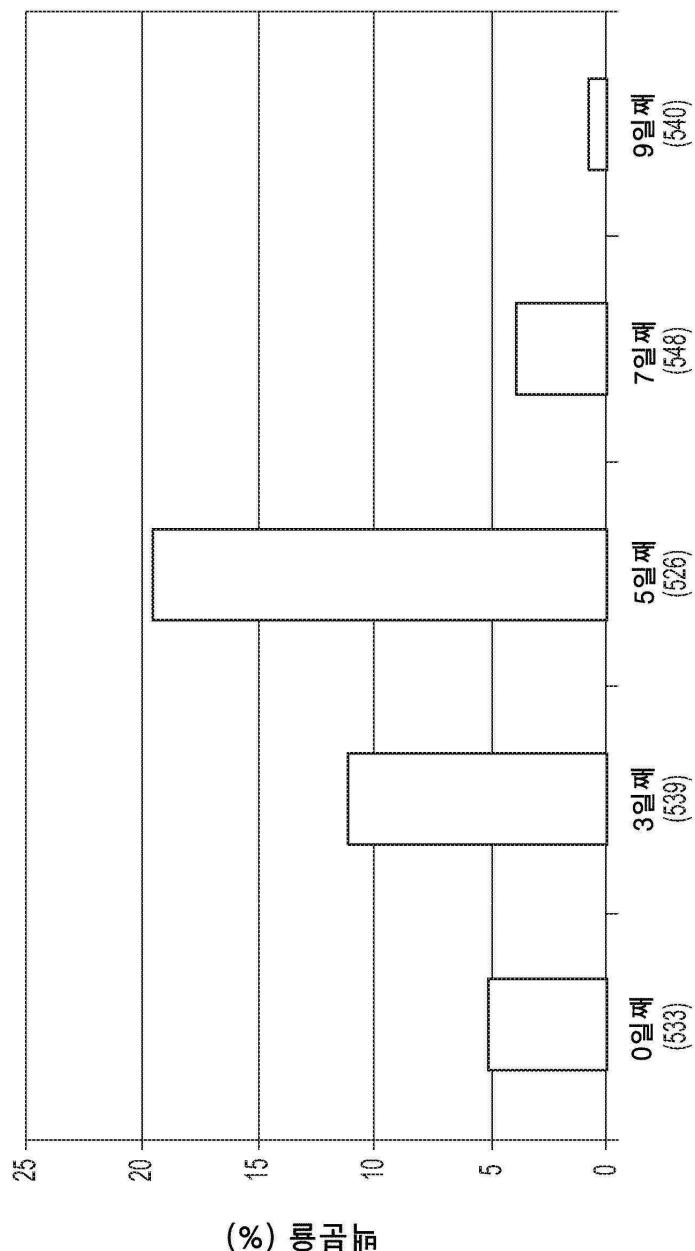
도면21c



도면22



## 도면23



## 서 열 목 록

- <110> EISAI CO., LTD.  
 EISAI INC.  
 MORPHOTEK, INC.
- <120> ERIBULIN-BASED ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND METHODS OF USE
- <130> 08061.0024-00304
- <140> PCT/US2017/020529
- <141> 2017-03-02
- <150> 62/302,562
- <151> 2016-03-02

<160> 368

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 1

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 Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
 195 200 205  
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 210 215 220  
  
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 225 230 235 240  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 245 250 255  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 260 265 270  
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 275 280 285  
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
  
 290 295 300  
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 305 310 315 320  
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335  
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350  
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365  
  
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380  
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400  
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415  
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430  
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435

440

445

Lys

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 2

Gly Tyr Gly Leu Ser

1 5

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 3

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

1 5 10 15

Gly

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 4

His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 468

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Tyr Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Val Ala Met Ile Ser Ser Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val

100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Ser Pro Gly Lys

465

<210> 6

<211> 217

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 6

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro

85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

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

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 7  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 7  
 Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn Asn Leu His

1 5 10

<210> 8  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 8

Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 9  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 9

Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 10  
 <211> 236  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400> 10

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 20                                                              | 25  | 30  |
| Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 35                                                              | 40  | 45  |
| Ser Ser Asn Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro |     |     |
| 50                                                              | 55  | 60  |
| Lys Pro Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  |
| Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |
| Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser |     |     |
| 100                                                             | 105 | 110 |
|                                                                 |     |     |
| Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile |     |     |
| 115                                                             | 120 | 125 |
| Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |
| Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn |     |     |
| 145                                                             | 150 | 155 |
| Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu |     |     |
| 165                                                             | 170 | 175 |
| Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 180                                                             | 185 | 190 |
| Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr |     |     |
| 195                                                             | 200 | 205 |
| Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser |     |     |
| 210                                                             | 215 | 220 |
| Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys                 |     |     |
| 225                                                             | 230 | 235 |
| <210> 11                                                        |     |     |
| <211> 1407                                                      |     |     |
| <212> DNA                                                       |     |     |
| <213> Artificial Sequence                                       |     |     |

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

&lt;400&gt; 11

atggatgga gctgtatcat cctttctt gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgag 60

gtccaaactgg tggagagcgg tggaggtgtt gtgcaacctg gccggtccct ggcctgtcc 120

tgctccgcat ctggcttcac cttcagcggc tatgggttgt ctgggttag acaggcacct 180

ggaaaaggct ttgagtggt tgcaatgatt agtagtggt gttagttatac ctactatgca 240

gacagtgtga agggtagatt tgcaatatcg cgagacaacg ccaagaacac attttctg 300

caaattggaca gcctgagacc cgaagacacc gggcttattttgtcaag acatgggac 360

gatccgcct gttcgctta ttggggccaa gggacccgg tcaccgtctc ctcagcctcc 420

accaagggcc catcggtctt cccctggca ccctcctcca agagcacctc tggggcaca 480

gcggccctgg gctgcgttgtt caaggactac ttcccccgaac cggtgacgggt gtcgtggac 540

tcagggcccc ttgaccagcgg cgtgcacacc ttccggctg tcctacagtc ctcaggactc 600

tactccctca gcagcgttgtt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagtta gcccataatct 720

tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactccctggg gggaccgtca 780

gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac ccctgaggtc 840

acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtagctg 900

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960

taccgtgtgg tcagcgtctt caccgtctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtag 1020

aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1080

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccggga tgagctgacc 1140

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1200

gagtgggaga gcaatggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260

tccgacggct cttttttttt atattcaaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380

aggctctccc tgtctccgg gaaatga 1407

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 711

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

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

<400> 12

atggatgga gcgttatcat cctttcttg gtagcaacag ctacagggtt ccactccgac 60

atccagctga cccagagccc aagcagcctg agcgcgcagcg tgggtgacag agtgcaccat 120  
 acctgtatgt tcagctcaag tataagttcc aacaacttgc actggatcca gcagaagcca 180  
 gttaaggctc caaagccatg gatctacggc acatccaacc tggcttctgg tgtccaaaggc 240  
 agattcagcg gtacggtag cggtaccgac tacacccatca ccatcagcag cctccagcca 300  
 gaggacatcg ccacctaacta ctgccaacag tggatgtt acccgatcat gtacacgttc 360  
 ggccaaggga ccaagggtgga aatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420  
 ccgcacatcg atgacgatgtt gaaatctggaa actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aagggtggata acgcctcca atcggtaac 540  
 tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600  
 ctgacgtgtga gcaaaggcaga ctacgagaaa cacaaggct acgcctgcga agtcacccat 660  
 cagggcctga gctcgccgt cacaaggcgttcaacaggaggg gagatgttta a 711

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Gly

1 5

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 14

Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr

1 5

<210> 15

<211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 15

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 16  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 16

Ser Ser Ile Ser Ser Asn Asn

1 5

<210> 17  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 17

Gly Thr Ser

1

<210> 18  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 18

Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 19  
 <211> 257

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 19

Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Val Trp Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly

35 40 45

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala

50 55 60

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr

65 70 75 80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys

85 90 95

Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn

100 105 110

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

115 120 125

Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu

130 135 140

Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile

180 185 190

Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg

195 200 205

Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu

210 215 220

Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala

225 230 235 240

Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu

245 250 255

Ser

<210>

20

<211> 982

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| cattccttgg tgcactgac cacagcttt tcttcaggga cagacatggc tcagcggatg    | 60  |
| acaacacagc tgctgctcct tctagtgtgg gtggctgttag taggggaggc tcagacaagg | 120 |
| attgcattgg ccaggactga gcttctcaat gtctgcatac acgccaagca ccacaaggaa  | 180 |
| aagccaggcc ccgaggacaa gttgcatac cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc   | 240 |
| tgttctacca acaccagcca ggaagccat aaggatgtt cttaccata tagattcaac     | 300 |
| tggaaccact gtggagagat ggcacctgcc tgcaaacggc atttcatcca ggacacctgc  | 360 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| ctctacgagt gctcccaa cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc   | 420 |
| aaagagcggg tactgaacgt gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtggaaagat | 480 |
| tgtcgacct cctacacctg caagagcaac tggcacaagg gctggactg gacttcagg    | 540 |
| ttaacaagt ggcgcgtggg agctgcctgc caaccttcc atttctactt ccccacaccc   | 600 |
| actgttctgt gcaatgaaat ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgaggg | 660 |
| agtggccgct gcatccagat gtggttcgac ccagccagg gcaacccaa tgaggaggtg   | 720 |
| gcgagggtct atgctgcagc catgagtggg gctggccct gggcagcctg gccttcctg   | 780 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| cttagcctgg ccctaattgt gctgtggctg ctcaatgtac ctcttttac cttctgatac  | 840 |
| ctggaaatcc ctgcctgtt cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg  | 900 |
| tccggccctt gacagccact ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat | 960 |
| ttggaaaaaa aaaaaaaaaa aa                                          | 982 |

<210> 21

<211> 1255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His

35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr

50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val

65 70 75 80

Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu

85 90 95

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr

100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro

115 120 125

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

130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln

145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn

165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys

180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser

195 200 205

Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 245                                                             | 250 | 255 |
| His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val |     |     |
| 260                                                             | 265 | 270 |
| Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg |     |     |
| 275                                                             | 280 | 285 |
| Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu |     |     |
| 290                                                             | 295 | 300 |
| Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln |     |     |
| 305                                                             | 310 | 315 |
| Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys |     |     |
| 325                                                             | 330 | 335 |
| Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu |     |     |
| 340                                                             | 345 | 350 |
| Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys |     |     |
| 355                                                             | 360 | 365 |
| Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp |     |     |
| 370                                                             | 375 | 380 |
| Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe |     |     |
| 385                                                             | 390 | 395 |
| Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro |     |     |
| 405                                                             | 410 | 415 |
| Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg |     |     |
| 420                                                             | 425 | 430 |
| Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu |     |     |
| 435                                                             | 440 | 445 |
| Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly |     |     |
| 450                                                             | 455 | 460 |
| Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val |     |     |
| 465                                                             | 470 | 475 |
| Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr |     |     |
| 485                                                             | 490 | 495 |
| Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His |     |     |

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 500                                                             | 505 | 510 |
| Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 515                                                             | 520 | 525 |
| Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 530                                                             | 535 | 540 |
| Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 545                                                             | 550 | 555 |
| Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 565                                                             | 570 | 575 |
| Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 580                                                             | 585 | 590 |
| Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 595                                                             | 600 | 605 |
| Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 610                                                             | 615 | 620 |
| Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 625                                                             | 630 | 635 |
| 640                                                             |     |     |
| Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 645                                                             | 650 | 655 |
| Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 660                                                             | 665 | 670 |
| Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 675                                                             | 680 | 685 |
| Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 690                                                             | 695 | 700 |
| Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 705                                                             | 710 | 715 |
| 720                                                             |     |     |
| Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 725                                                             | 730 | 735 |
| Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile |     |     |
|                                                                 |     |     |
| 740                                                             | 745 | 750 |

Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu  
 755 760 765  
 Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg  
 770 775 780  
 Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu  
 785 790 795 800  
 Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg  
  
 805 810 815  
 Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly  
 820 825 830  
 Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala  
 835 840 845  
 Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe  
 850 855 860  
 Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp  
 865 870 875 880  
  
 Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg  
 885 890 895  
 Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val  
 900 905 910  
 Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala  
 915 920 925  
 Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro  
 930 935 940  
 Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met  
  
 945 950 955 960  
 Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe  
 965 970 975  
 Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu  
 980 985 990  
 Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu  
 995 1000 1005

Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr Leu

1010 1015 1020

Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly Ala Gly

1025 1030 1035 1040

Gly Met Val His His Arg His Ser Ser Ser Thr Arg Ser Gly Gly

1045 1050 1055

Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu Ala Pro Arg

1060 1065 1070

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

1075 1080 1085

Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu Gln Ser Leu Pro Thr His

1090 1095 1100

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

1105 1110 1115 1120

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

1125 1130 1135

Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro

1140 1145 1150

Arg Glu Gly Pro Leu Pro Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu

1155 1160 1165

Arg Pro Lys Thr Leu Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val

1170 1175 1180

Phe Ala Phe Gly Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr Pro Gln

1185 1190 1195 1200

Gly Gly Ala Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala

1205 1210 1215

Phe Asp Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala

1220 1225 1230

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

1235 1240 1245

Leu Gly Leu Asp Val Pro Val

|              |              |            |            |             |             |      |
|--------------|--------------|------------|------------|-------------|-------------|------|
| 1250         | 1255         |            |            |             |             |      |
| <210>        | 22           |            |            |             |             |      |
| <211>        | 3768         |            |            |             |             |      |
| <212>        | DNA          |            |            |             |             |      |
| <213>        | Homo sapiens |            |            |             |             |      |
| <400>        | 22           |            |            |             |             |      |
| atggagctgg   | cgcccttgg    | ccgctgggg  | ctcctcctcg | ccctcttgcc  | ccccggagcc  | 60   |
| gcgagcaccc   | aagtgtgcac   | cggcacagac | atgaagctgc | ggctccctgc  | cagtcccag   | 120  |
| acccacacctgg | acatgctccg   | ccacctctac | cagggctgcc | aggtggtgca  | gggaaacctg  | 180  |
| gaactcacct   | acctgcccac   | caatgccagc | ctgtccccc  | tgcaggatat  | ccaggaggtg  | 240  |
| cagggctacg   | tgtctatgc    | tcacaaccaa | gtgaggcagg | tcccactgca  | gaggctgcgg  | 300  |
| attgtgcgag   | gcacccagct   | cttgaggac  | aactatgcc  | tggccgtgct  | agacaatgga  | 360  |
| gaccgcgtga   | acaataccac   | ccctgtcaca | ggggcctccc | caggaggcct  | gccccggctg  | 420  |
| cagcttcgaa   | gcctcacaga   | gatttgaaa  | ggaggggtct | tgcgtccagc  | gaaccccccag | 480  |
| ctctgcgtacc  | aggacacgat   | tttggaaag  | gacatcttcc | acaagaacaa  | ccagctggct  | 540  |
| ctcacactga   | tagacaccaa   | ccgctctcg  | gcctgccacc | cctgttctcc  | gatgtgtaa   | 600  |
| ggctcccgct   | gctggggaga   | gagttctgag | gattgtcaga | gcctgacgct  | cactgtctgt  | 660  |
| gccgggtggct  | gtgcccgtg    | caagggcca  | ctgcccactg | actgctgcc   | tgaggcagtgt | 720  |
| gctggccgct   | gcacggcc     | caagcactct | gactgcctgg | cctgcctcca  | cttcaaccac  | 780  |
| agtggcatct   | gtgagctgca   | ctgcccagcc | ctggcacct  | acaacacaga  | cacgtttgag  | 840  |
| tccatgcca    | atcccgaggg   | ccggatata  | ttcggccca  | gctgtgtgac  | tgcctgtccc  | 900  |
| tacaactacc   | tttctacgga   | cgtggatcc  | tgcaccctcg | tctgccccct  | gcacaaccaa  | 960  |
| gaggtgacag   | cagaggatgg   | aacacagcgg | tgtgagaagt | gcagcaagcc  | ctgtgcccg   | 1020 |
| gtgtgctatg   | gtctggcat    | ggagcacttg | cgagaggta  | ggcagttac   | cagtgcctat  | 1080 |
| atccaggagt   | ttgtggctg    | caagaagatc | tttgggagcc | tggcatttct  | gccggagagc  | 1140 |
| tttggatgggg  | acccagcctc   | caacactgcc | ccgctccagc | cagaggcagct | ccaagtgttt  | 1200 |
| gagactctgg   | aagagatcac   | aggtaacca  | tacatctcg  | catggccgga  | cagcctgcct  | 1260 |
| gacctcagcg   | tctccagaa    | cctgcaagta | atccgggac  | gaattctgca  | caatggcc    | 1320 |
| tactcgctga   | ccctgcaagg   | gctggcattc | agctggctgg | ggctgcgtc   | actgaggaa   | 1380 |
| ctggcagtg    | gactggccct   | catccacca  | aacacccacc | tctgctcg    | gcacacgg    | 1440 |
| ccctgggacc   | agctttcg     | gaacccgcac | caagctctgc | tccacactgc  | caacccggca  | 1500 |

|                                                                      |      |
|----------------------------------------------------------------------|------|
| gaggacgagt gtgtggcga gggcctggcc tgccaccagc tgtgcgccc agggcactgc      | 1560 |
| tgggtccag gccccaccca gtgtgtcaac tgcagccagt tcctcgggg ccaggagtgc      | 1620 |
| gtggaggaat gccgagtaact gcaggggctc cccagggagt atgtaatgc caggcactgt    | 1680 |
| ttgccgtgcc accctgagtg tcagccccag aatggctcag tgacctgttt tggaccggag    | 1740 |
| gctgaccagt gtgtggcctg tgcccactat aaggaccctc cttctgcgt gccccgtgc      | 1800 |
| cccgccgtg taaaacctga cctctctac atgcccacatc ggaagttcc agatgaggag      | 1860 |
| ggcgcacatgcc agccttgcac catcaactgc acccactcct gtgtggaccc ggtatgacaag | 1920 |
|                                                                      |      |
| ggctgccccg ccgagcagag agccagccct ctgacgtcca tcatctctgc ggtgggtggc    | 1980 |
| attctgttgtt tcgtggtctt ggggggtggc tttggatcc tcatcaagcg acggcagcag    | 2040 |
| aagatccgga agtacacatgc gcgagactg ctgcaggaaa cggagctggt ggagccgtg     | 2100 |
| acacactagcg gagegatgcc caaccaggcg cagatgcggta tcctgaaaga gacggagctg  | 2160 |
| aggaaggta aggtgcttgg atctggcgct tttggcacag tctacaaggg catctggatc     | 2220 |
| cctgtatgggg agaatgtgaa aattccagtg gccatcaaag tggtagggaa aaacacatcc   | 2280 |
| cccaaagcca acaaagaaat ctttagacgaa gcatacgtga tggctgggtgt gggctcccc   | 2340 |
|                                                                      |      |
| tatgtctccc gccttctggg catctgcctg acatccacgg tgcagctggt gacacagctt    | 2400 |
| atgcctatg gtcgcctt agaccatgtc cggaaacc gggacgcct gggctccag           | 2460 |
| gacctgctga actgggtat gcagattgcc aaggggatga gctacctggta ggtatgtgcgg   | 2520 |
| ctcgatcaca gggacttggc cgctcggAAC gtgcggta agagtccaa ccatgtcaaa       | 2580 |
| attacagact tcgggctggc tcggctgcgt gacattgacg agacagagta ccatgcagat    | 2640 |
| ggggcagg tggccatcaa gtggatggcg ctggagtcctt ttcggccgg ggggttcacc      | 2700 |
| caccagagtg atgtgtggag ttatgggtgtg actgtgtggg agctgtatgac ttttggggcc  | 2760 |
|                                                                      |      |
| aaacacctacg atggatccc agcccgaggatccctgacc tgctggaaaa gggggagcgg      | 2820 |
| ctgccccagc ccccatctg caccattgtat gtctacatga tcatggtaaa atgttggatg    | 2880 |
| attgactctg aatgtcgcc aagattccgg gagttgggtgt ctgaattctc ccgcattggcc   | 2940 |
| agggacccccc agcgctttgt ggtcatccag aatgaggact tggggccagc cagtccctg    | 3000 |
| gacagcacct tctaccgctc actgctggag gacatgaca tggggaccc ggtggatgct      | 3060 |
| gaggagtagtgc tggtagccca gcaggcttc ttctgtccag accctgcccc gggcgctgg    | 3120 |
| ggcatggtcc accacaggca ccgcagctca tctaccagga gtggcggtgg ggacctgaca    | 3180 |
|                                                                      |      |
| ctagggctgg agccctctga agaggaggcc cccaggtctc cactggcacc ctccgaaggg    | 3240 |
| gctggctccg atgtatttga tggtgacctg ggaatggggg cagccaaagg gctgcaaagc    | 3300 |
| ctccccacac atgacccag ccctctacag cggtacagtg aggacccac agtacccctg      | 3360 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ccctctgaga ctgatggcta cgttgcccc ctgacctgca gccccagcc tgaatatgtg    | 3420 |
| aaccagccag atgttccggcc ccagccccct tcgccccgag agggccctct gcctgctgcc | 3480 |
| cgacacctgctg gtgccactct ggaaaggccc aagactctct ccccaggaa gaatgggtc  | 3540 |
| gtcaaagacg ttttgcctt tgggggtgcc gtggagaacc ccgagtaactt gacacccag   | 3600 |

|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| ggaggagctg cccctcagcc ccaccctct cctgccttca gcccagcctt cgacaacctc | 3660 |
| tattactggg accaggaccc accagagcgg ggggctccac ccagcacctt caaaggaca | 3720 |
| cctacggcag agaaccaga gtacctgggt ctggacgtgc cagtgtga              | 3768 |

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 23

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 Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 110

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 24

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ile Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro

85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

&lt;400&gt; 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 28

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

|                                                                 |     |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|-----|----|----|
| 65                                                              | 70  | 75 | 80 |
| Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro |     |    |    |
| 85                                                              | 90  | 95 |    |
| Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                     |     |    |    |
| 100                                                             | 105 |    |    |

|            |                                                                   |
|------------|-------------------------------------------------------------------|
| <210>      | 29                                                                |
| <211>      | 123                                                               |
| <212>      | PRT                                                               |
| <213>      | Artificial Sequence                                               |
| <220><223> | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |
| <400>      | 29                                                                |

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

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

|            |                                                                   |  |
|------------|-------------------------------------------------------------------|--|
| 115        | 120                                                               |  |
| <210>      | 30                                                                |  |
| <211>      | 112                                                               |  |
| <212>      | PRT                                                               |  |
| <213>      | Artificial Sequence                                               |  |
| <220><223> | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |  |

&lt;400&gt; 30

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

1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser

85 90 95

Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 126

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 31

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

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

115 120 125

<210> 32

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Cys

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser

85 90 95

Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 33

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 33

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

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

|                                                                              |    |    |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|----|----|
| 115                                                                          |    |    |    |
| <210> 34                                                                     |    |    |    |
| <211> 108                                                                    |    |    |    |
| <212> PRT                                                                    |    |    |    |
| <213> Artificial Sequence                                                    |    |    |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |    |    |    |
| <400> 34                                                                     |    |    |    |
| Ala Phe Glu Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Glu Ala Ala Val Gly              |    |    |    |
| 1                                                                            | 5  | 10 | 15 |
| Gly Thr Ile Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr              |    |    |    |
| 20                                                                           | 25 | 30 |    |
| Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile              |    |    |    |

|                                                                 |    |    |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|----|----|
| 35                                                              | 40 | 45 |    |
| Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly |    |    |    |
| 50                                                              | 55 | 60 |    |
| Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys |    |    |    |
| 65                                                              | 70 | 75 | 80 |
| Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr |    |    |    |

85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105

<210> 35

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 35

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asn Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 36

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

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

<210> 37

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 37

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

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

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

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

Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly

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

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

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

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

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

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

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

Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110  
Ser Leu

<210> 38  
<211> 110  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
<400> 38

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val

20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Cys  
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser  
85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 39  
<211> 117

<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
<400> 39

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

1 5 10 15

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

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

|                                                                              |  |  |
|------------------------------------------------------------------------------|--|--|
| 115                                                                          |  |  |
| <210> 40                                                                     |  |  |
| <211> 110                                                                    |  |  |
| <212> PRT                                                                    |  |  |
| <213> Artificial Sequence                                                    |  |  |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |  |  |
| <400> 40                                                                     |  |  |

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

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

100 105 110

<210> 41

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly

85 90 95

Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 42

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 42

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn

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

<210> 43  
 <211> 125  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400> 43

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

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

Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 44

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 44

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 45

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 45

gagggtccaac tgggtggagag cgggtggaggt gttgtgcaac ctggccggtc cctgcgcctg 60

tcctgctccg catctggctt caccttcagc ggctatgggt tgtcttgggt gagacaggca 120

cctggaaaag gtcttgagtg gggttgcaatg attagtagtg gtggtagtta tacctactat 180

|                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----|
| gcagacagt g tgaaggtag atttgcata tcgcgagaca acgccaagaa cacatttttc                | 240 |
| ctgcaaatgg acagcctgag acccgaagac accggggctt attttgtgc aagacatggg                | 300 |
|                                                                                 |     |
| gacgatcccg cctggtcgc ttattgggc caagggaccc cggtcaccgt ctcctca                    | 357 |
| <210> 46                                                                        |     |
| <211> 330                                                                       |     |
| <212> DNA                                                                       |     |
| <213> Artificial Sequence                                                       |     |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |     |
| <400> 46                                                                        |     |
| gacatccagc tgacccagag cccaaggcagc ctgagcgcca gctgggtga cagagtgacc               | 60  |
| atcacctgta gtgtcagctc aagtataagt tccaaacaact tgcactggta ccagcagaag              | 120 |
| ccaggttaagg ctccaaagcc atggatctac ggcacatcca acctggcttc tgggtgtCCA              | 180 |
| agcagattca gcggtagcgg tagcggtacc gactacacct tcaccatcag cagcctccag               | 240 |
|                                                                                 |     |
| ccagaggaca tcgcccccta ctactgcca cagtgagta gttaccgta catgtacacg                  | 300 |
| ttcgcccaag ggaccaaggt ggaaatcaaa                                                | 330 |
| <210> 47                                                                        |     |
| <211> 357                                                                       |     |
| <212> DNA                                                                       |     |
| <213> Artificial Sequence                                                       |     |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |     |
| <400> 47                                                                        |     |
| caggtaaac tgcagcagtc tgggccttag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata                | 60  |
| tcctgcaagg ctctggta ctcatctact ggctacacca tgaactgggt gaaggcagagc                | 120 |
| catgaaaga gcttgagtg gattggactt attactcctt acaatggtgc ttctagctac                 | 180 |
|                                                                                 |     |
| aaccagaagt tcagggcaa ggccacatta actgttagaca agtcatccag cacagcctac               | 240 |
| atggacctcc tcagtctgac atctgaagac tctgcgtct atttctgtgc aaggggggt                 | 300 |
| tacgacggga ggggtttga ctactggga tccgggaccc cggtcaccgt ctcctca                    | 357 |
| <210> 48                                                                        |     |
| <211> 318                                                                       |     |
| <212> DNA                                                                       |     |

<213> Artificial Sequence

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

<400> 48

gacatcgagc tcactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgttaatg tacatgcaact ggtaccagca gaagttaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg ctctggagt cccaggtcg 180

ttcagtggca gtgggtctgg aaactttac tctctacaa tcagcagcgt ggaggctgaa 240

gatgtatgaa ctatattactg ccagcagtgg agtaaggacc ctctcacgtt cggatccgg 300

accaagggtgg aaatcaaa 318

<210> 49

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 49

cagtcgggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcacccgtct ctggaatctc cctcagtagc gatgcaataa gctgggtccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tcaatacat cggaaatcatt aatgggtggtg gtaacacata ctacgcgagc 180

tggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgatct gaaaatcacc 240

agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggattca acatgggtgg 300

ggtaatagtg attattatta ttacggcatg gacctctggg gcccaggcac cctggtcact 360

gtctcttca 369

<210> 50

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 50

gaagtgttga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtacc 60

atcaagtgcc aggccagtca gagcattagt agtgtttgt cctggtatca gcagaaacca 120  
gggcagcctc ccaagctcct gatctatctg gcatccactc tggcatctgg ggtcccatcg 180  
cggttcagcg gcagtagatc tggcacagag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240  
gacgatgctg ccacttacta ctgtcaaacc aattatggta ctagtagtag taattatggt 300  
  
tttgcttcg gcggaggagc cgagggtggc gtcaaa 336  
<210> 51  
<211> 378  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"  
<400> 51  
  
gaagtccaac tggtgaaag cgggggagga ctggtgacgc cggcggatc cctccggctg 60  
tcatgtgctg catcggaat ttccctctcc tccgacgcga ttagctgggt cagacaggcc 120  
cccgaaagg ggctggagta catcggtatc atcaacggcg gcgaaacac ctactacgcc 180  
tcctggcca agggccgtt caccatctcg cggcataatt ccaagaacac tctgtacttg 240  
  
  
caaatgaact ccctgagggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcgcg cggcatccag 300  
cacggtggtg gaaacagcga ctactactac tatggatgg atctgtgggg ccagggaaact 360  
cttgtgaccg tgtcgta 378  
<210> 52  
<211> 336  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"  
<400> 52  
  
gacattcaga tgacccagtc cccaagctcg ctgtccgcct ccgtggcgaa ccgcgtgacc 60  
atcacgtgcc aggcgtccca gtcaattagc agcgtgctct cctggatcca acagaagccg 120  
  
  
gggaaagcac ccaagctgct gatctacttg gcctccactc tggcctcggt agtgccttc 180  
cggttctccg gatcggtgcgt tggtagatgtt caccctca ccatctcgag ccttcgtgtc 240  
gaggacatcg ctacttacta ttgtcaaacc aactacggaa cctccagctc caactacggc 300  
tttgcttcg gtggcgggac caaggctgaa atcaaa 336

<210> 53

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 53

|                                              |            |             |            |            |            |     |
|----------------------------------------------|------------|-------------|------------|------------|------------|-----|
| cagtcgggtgg                                  | aggagtccgg | gggtcgccctg | gtcacgcctg | ggacacccct | gacactcacc | 60  |
| tgcacacgtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga |            |             |            |            |            | 120 |
| gtgggtccg ccaggctcca                         |            |             |            |            |            |     |
| gggaaggggc tggaaatggat cggatccatt agtactggtg |            |             |            |            |            | 180 |
| gtctcgatt ctacgcgaac                         |            |             |            |            |            |     |
| tggcCAAAG gccgattcac catctccaga acctcgacca   |            |             |            |            |            | 240 |
| cggtggatct gaaaatgacc                        |            |             |            |            |            |     |
| agtctgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtggca  |            |             |            |            |            | 300 |
| gaaatggtg ggtagttat                          |            |             |            |            |            |     |
| atttctatt atttgactt gtggggccaa ggcaccctcg    |            |             |            |            |            | 354 |
| tcactgtctc ttca                              |            |             |            |            |            |     |

<210> 54

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 54

|             |            |             |            |             |            |     |
|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-----|
| gcattcgaat  | tgacccagac | tccatcctcc  | gtggaggcag | ctgtgggagg  | cacaatcacc | 60  |
| atcaagtgcc  | aggccagtca | gagcatttagt | agttacttat | cctggtatca  | gcagaaacca | 120 |
| gggcagcctc  | ccaagctct  | gatctattct  | gcatccactc | tggcatctgg  | ggtctcatcg | 180 |
| cggttcaaag  | gcagtggatc | tgggacagag  | tacactctca | ccatcagcga  | cctggagtgt | 240 |
| gccgatgctg  | ccacttactt | ctgtcaaagc  | tattatgata | ttggtaactag | tacttgcgc  | 300 |
| ggagggacccg | agggtggcgt | caaa        |            |             |            | 324 |

<210> 55

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

&lt;400&gt; 55

|                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------|-----|
| gaagtgcagc tgggtggaaatc tggcgccgga ctgggtgcagc ctggcgatc tctgagactg  | 60  |
| tcttgcgcg cctccggctt ctccctgaac aactacgcca tgtcctgggt gcgcacaggcc    | 120 |
| cctggcaaaag gcctggaaatg gatcggtcctt atcagcacag gggccgtggc cttctacccc | 180 |
| aattgggcca agggccgggtt caccatcagc cgggacaact ccaagaacac cctgtaccc    | 240 |
| cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc ggcgtgtact actgtgccag aaacggcgga    | 300 |

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| ggctcctaca tcttctacta cttcgacctg tggggccagg gcaccctcgat gacagtgtca | 360 |
| tct                                                                | 363 |

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

|                                                                                 |  |
|---------------------------------------------------------------------------------|--|
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |  |
|---------------------------------------------------------------------------------|--|

&lt;400&gt; 56

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtgggcga cagagtgacc | 60  |
| atcacctgtc aggcctccca gtccatctcc tcctacctgt cctggtatca gcagaagccc | 120 |
| ggcaaggccc ccaagctgct gatctactct gcctccacac tggcctccgg cgtccctct  | 180 |

|                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------|-----|
| agattctccg gctctggctc tggcacccgac tttaccctga ccatcagctc cctccagtg   | 240 |
| gaggatgccg ccacctacta ctgccatgtcc tactacgaca tggcacccctc caccttcggc | 300 |
| ggaggcacca aggtggaaat caaa                                          | 324 |

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 342

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

|                                                                                 |  |
|---------------------------------------------------------------------------------|--|
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |  |
|---------------------------------------------------------------------------------|--|

&lt;400&gt; 57

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| cagtcagtga aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc | 60  |
| tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatgg gctggatccg ccaggctcca | 120 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gggaaggggc tggaaatacat cggaaccatt aatattggtg gtgcgtata ttacgcgagc | 180 |
| tggcggaaatg gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtgatct gaaagcgccc | 240 |

agtctgacag ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcc a gatattataa tggtggtatg 300  
 tatgacatct gggccagg caccctggc accgtcttt ta 342  
 <210> 58  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polynucleotide"  
 <400> 58  
 gatgttgtga tgaccagac tccagcctcc gcgtctgaac ctgtggagg cacagtacc 60  
  
 atcaagtgcc aggccagtga gaggcattat cgcttattgg cctggatca gcagaaacca 120  
 gggcagcctc ccaagctct gatctatgtt acatccactc tggcatctgg ggcccccattcg 180  
 cggtaaag gcagtggata tggacagag ttcaactctca ccatcagcgg cgtgcagtgt 240  
 gaagatctg ccacttacta ctgtcaaggc gtttattatg ctgatagttt tggattgct 300  
 ttccggggag ggaccgagggt ggtggtcaaa 330  
 <210> 59  
 <211> 351  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polynucleotide"  
 <400> 59  
 cagggtgcgc tgggtgaatc tggcggaggat ctgggtgcgc ctggcggctc tctgagactg 60  
 tcctgttccg cctccggat cgcacgttcc tcctacgcta tggctgggt ggcacaggct 120  
 cctggcaagg ggcgtggatc catcgccacc atcaacatcg ggcgcaggat gtactacgcc 180  
 tcctggccca agggccgggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtacctc 240  
 cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc ggcgtgtact actgcgcgg gtactacaac 300  
 ggccgcctt acgatatctg gggccagggc acactcgtga ccgtgtcctc t 351  
  
 <210> 60  
 <211> 330  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 60

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| gatatccaga tgacctcacc cccctccacc ctgtctgcct ctgtggcgaa cagatgtacc  | 60  |
| atcacctgtc aggccctccga gtccatctac cgggtgctgg cctggatca gcagaaggct  | 120 |
| ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgac accagcacac tggcctccgg cgtccctct   | 180 |
| agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccatctccag cctccagtgc  | 240 |
| gacgacgccc ccacctaata ttgtcaggcg ggctactacg ccgactccta cggaaatcgct | 300 |

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| ttcggcggag gcaccaaggt ggaaatcaaa | 330 |
|----------------------------------|-----|

<210> 61

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 61

|                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------|-----|
| cagtcgggtgg aggagtccgg cggtcgcctg gtaaaggctg acgaatccct gacactcacc  | 60  |
| tgcacagcct ctggattctc cctcagtagt tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca   | 120 |
| ggggaggggc tggaaatggat cggaaaccatt agtactggtg gtatcacata ctacgcgagc | 180 |
| tggcgaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgatct gaaaatcacc      | 240 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| agtccgacaa ccgaggacac ggccacccat ttctgtgcga gagggggata tgctgctagt | 300 |
| agtgcattt atctcccgta ctactttgac ttgtggggcc aagggaccct ggtcaccgtc  | 360 |
| tcctca                                                            | 366 |

<210> 62

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 62

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gcagccgtgc tgacctcagac accatcaccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtacc | 60  |
| atcagttgcc agtccagtca gagtgatata aataataaca acttagcctg gtttcagcag | 120 |

|             |                                                                      |              |             |             |             |     |
|-------------|----------------------------------------------------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-----|
| aaaccggc    | agcctccaa                                                            | gcttctgatc   | tatctggcat  | ccactctggc  | atctgggtc   | 180 |
| ccatcacgt   | tcagcggcag                                                           | tggatctggg   | acacagttca  | ctctcaccat  | cagcggcgtg  | 240 |
| cagtgacg    | atgctgccac                                                           | ttattactgt   | ctagtggtt   | gtgatgatga  | tgctgatact  | 300 |
| tttgcttcg   | gcccgggac                                                            | tgagggtggt   | gtcaaa      |             |             | 336 |
| <210>       | 63                                                                   |              |             |             |             |     |
| <211>       | 375                                                                  |              |             |             |             |     |
| <212>       | DNA                                                                  |              |             |             |             |     |
| <213>       | Artificial Sequence                                                  |              |             |             |             |     |
| <220><223>  | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |              |             |             |             |     |
| <400>       | 63                                                                   |              |             |             |             |     |
| gaagtgccgc  | tgggtggaaatc                                                         | tggccgggaa   | ctgggtgcagc | ctggccgatc  | tctgagactg  | 60  |
| tcttggccgc  | cctccggcgtt                                                          | ctccctgtcc   | tcctacgcta  | tgtatctgggt | gcgcacaggcc | 120 |
| cctggcaagg  | gcctggaaatg                                                          | gatcggcacc   | atctctaccg  | gcggaaattac | ctactacgcc  | 180 |
| tcctggccca  | aggggccggtt                                                          | caccatctcc   | agagacaact  | ccaagaacac  | cctgtaccc   | 240 |
| cagatgaact  | ccctgccccgc                                                          | cgaggacacc   | gccgtgtact  | attgtgctag  | aggcggctac  | 300 |
| gccgccagct  | ccgcttacta                                                           | cctccctac    | tacttcgacc  | tgtggggcca  | gggcaccctc  | 360 |
| gtgacagttgt | catct                                                                |              |             |             |             | 375 |
| <210>       | 64                                                                   |              |             |             |             |     |
| <211>       | 336                                                                  |              |             |             |             |     |
| <212>       | DNA                                                                  |              |             |             |             |     |
| <213>       | Artificial Sequence                                                  |              |             |             |             |     |
| <220><223>  | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |              |             |             |             |     |
| <400>       | 64                                                                   |              |             |             |             |     |
| gatattcaga  | tgacccagtc                                                           | cccccctccagc | ctgtccgctt  | ctgtgggcga  | cagagtgacc  | 60  |
| atcacctgtc  | agtccctccca                                                          | gtccgtgtat   | aacaacaaca  | acctggcctg  | gtatcagcag  | 120 |
| aaaccggca   | aggtgccccaa                                                          | gctgtgtatc   | tacctggcct  | ccacactggc  | ctctggcgtg  | 180 |
| ccctctagat  | tctccggctc                                                           | tggctctggc   | accgacttta  | ccctgaccat  | cagctccctc  | 240 |
| cagtgcgagg  | atgccggcac                                                           | ctactattgc   | ctggccggct  | gcgacgacga  | cgccgatacc  | 300 |
| tttgctttg   | gcccgggac                                                            | caagggtggaa  | atcaaa      |             |             | 336 |
| <210>       | 65                                                                   |              |             |             |             |     |

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 65

Gly Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 66

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

1 5 10 15

Gly

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 67

Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 68

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 69  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 69

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 70  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 70

Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr

1 5

<210>  
 71  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 71

Asp Thr Tyr Ile His

1 5

<210> 72  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 72

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

1 5 10 15

Gly

&lt;210

&gt; 73

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 73

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 74

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala

1 5 10

&lt;

210&gt; 75

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 75

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 76

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

&lt;210&gt; 77

<211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 77

Ser Asp Ala Ile Ser

1 5

<210> 78

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 78

Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 79

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

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

<400> 79

Gly Ile Gln His Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Leu

<210> 80  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 80

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val Leu Ser

1 5 10

<210> 81

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 81

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 82

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 82

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

1 5 10

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 83

Ser Asp Ala Ile Ser

1 5

<210> 84

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 84

Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 85

<211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 85  
 Gly Ile Gln His Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met  
 1 5 10 15  
 Asp Leu

<210> 86  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 86

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val Leu Ser  
 1 5 10

<210> 87  
 <  
 211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 87

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser  
 1 5

<210> 88  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 88

Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala  
 1 5 10

<210> 89

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 89

Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 90

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 90

Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 91

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 91

Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 92

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 92

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 93

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 93

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

&lt;210&gt; 94

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 94

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 95

Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

&lt;210&gt; 96

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 96

Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

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

<400> 97

Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 98

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 99

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 100

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 101

Ser Tyr Ala Met Gly

1 5

<210> 102

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 102

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 103

Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5

<210> 104

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 104

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val Leu Ala

1 5 10

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 105

Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 106

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 106

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1 5 10

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 107

Ser Tyr Ala Met Gly

1 5

<210>

> 108

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 108

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 109

Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 110

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val Leu Ala

1 5 10

<210> 111

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 111

Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 112

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 112

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1 5 10

<210> 113

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 113

Ser Tyr Ala Met Ile

1 5

<210> 114

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 114

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 115

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 115

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

1 5 10 15

Leu

<210> 116

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 116

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

&lt;400&gt; 117

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

&lt;210&gt; 118

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 118

Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala

1 5 10

&lt;210&gt; 119

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 119

Ser Tyr Ala Met Ile

1 5

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt;

PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 120

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

&lt;400&gt; 121

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

1 5 10 15

Leu

<210> 122

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 122

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 123

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 124

Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala

1 5 10

<210> 125

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 125

ggctatgggt tgtct 15

<210> 126

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 126

atgattagta gtggtagttatacctac tatgcagaca gtgtgaagg 51 t

<210> 127

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 127

catggggacg atccgcctg gttcgctt 30 at

<210> 128

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 128

agtgtcagct caagtataag ttccaacaac ttgcac 36

<210> 129

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 129

ggcacatcca acctggcttc t

21

&lt;210&gt; 130

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 130

caacagtgga gtagttaccc gtacatgtac acg

33

&lt;210&gt; 131

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 131

ggctacacca tgaac

15

&lt;210&gt; 132

&lt;211&gt; 51

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 132

cttattactc cttaaatgg tgcttctagc tacaaccaga agttcagggg c

51

&lt;210&gt; 133

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 133

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| gggggttacg acgggagggg ttttactac                                                  | 30 |
|                                                                                  |    |
| <210> 134                                                                        |    |
| <211> 30                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 134                                                                        |    |
| agtccagct caagtgttaag ttacatgcac                                                 | 30 |
|                                                                                  |    |
| <210> 135                                                                        |    |
| <211> 21                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 135                                                                        |    |
| gacacatcca aactggcttc t                                                          | 21 |
|                                                                                  |    |
| <210> 136                                                                        |    |
| <211> 27                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 136                                                                        |    |
| cagcagtggaa gtaaggcaccc tctcacg                                                  | 27 |
|                                                                                  |    |
| <210> 137                                                                        |    |
| <211> 15                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 137                                                                        |    |

agcgatgcaa taagc

15

&lt;210&gt; 138

&lt;211&gt; 48

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 138

atcattaatg gtgggtgtaa cacatactac gcgagctggg cgaaaggc

48

&lt;210&gt; 139

&lt;211&gt; 54

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 139

ggcattcaac atgggtggtaatagtgtat tattattatt acggcatgga cctc

54

&lt;210&gt; 140

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 140

caggccagtc agagcattag tagtgtcttg tcc

33

&lt;210&gt; 141

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 141

ctggcatcca ctctggcatc t

21

&lt;210&gt; 142

&lt;211&gt; 42

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 142

caaaccattt atggtaactat tagtagtaat tatggtttg ct

42

&lt;210&gt; 143

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 143

tccgacgcga tttagc

15

&lt;210&gt; 144

&lt;211&gt; 48

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 144

atcatcaacg gccccggaaa cacctactac gcctcctggg ccaaggcc

48

&lt;210&gt; 145

&lt;211&gt; 54

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 145

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| ggcatccagc acggtggtgg aaacagcgac tactactact atggatgga tctg                       | 54 |
|                                                                                  |    |
| <210> 146                                                                        |    |
| <211> 33                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 146                                                                        |    |
| caggcgtccc agtcaattag cagcgtgctc tcc                                             | 33 |
|                                                                                  |    |
| <210> 147                                                                        |    |
| <211> 21                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 147                                                                        |    |
| ttggcctcca ctctggcctc g                                                          | 21 |
|                                                                                  |    |
| <210> 148                                                                        |    |
| <211> 42                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 148                                                                        |    |
| caaaccaact acggaacctc cagctcaac tacggcttg cc                                     | 42 |
|                                                                                  |    |
| <210> 149                                                                        |    |
| <211> 15                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 149                                                                        |    |

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| aactatgcaa tgagc                                                                 | 15 |
|                                                                                  |    |
| <210> 150                                                                        |    |
| <211> 48                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 150                                                                        |    |
| tccatttagta ctgggtgtc cgcatttac gcgaactggg caaaaggc                              | 48 |
| <210> 151                                                                        |    |
| <211> 39                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 151                                                                        |    |
| aatgggtgtg gtatgtat tttctattat tttgacttg                                         | 39 |
|                                                                                  |    |
| <210> 152                                                                        |    |
| <211> 33                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 152                                                                        |    |
| caggccagtc agagcattag tagttactta tcc                                             | 33 |
| <210> 153                                                                        |    |
| <211> 21                                                                         |    |
| <212> DNA                                                                        |    |
| <213> Artificial Sequence                                                        |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |    |
| <400> 153                                                                        |    |

tctgcatcca ctctggcata t

21

&lt;210&gt; 154

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 154

caaagctatt atgatattgg tactagtact

30

&lt;210&gt; 155

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 155

aactacgcca tgtcc

15

&lt;210&gt; 156

&lt;211&gt; 48

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 156

tccatcagca caggcggcct ggccttctac gccaattggg ccaaggc

48

&lt;210&gt; 157

&lt;211&gt; 39

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 157

aacggcggag gctctacat cttctactac ttgcacctg

39

&lt;210&gt; 158

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 158

caggcctccc agtccatctc ctcctacctg tcc

33

&lt;210&gt; 159

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 159

tctgcctcca cactggcctc c

21

&lt;210&gt; 160

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 160

cagtcctact acgacatcg cacctccacc

30

&lt;210&gt; 161

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 161

agctatgcaa tggc

15

&lt;210&gt; 162

&lt;211&gt; 48

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 162

accattaata ttgggtgtcg cgtatattac gcgagctggg caaaaggc

48

&lt;210&gt; 163

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 163

tattataatg gtggtagtta tgacatc

27

&lt;210&gt; 164

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 164

caggccagtg agagcattta tcgcgtattg gcc

33

&lt;210&gt; 165

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 165

gatacatcca ctctggcata t

21

&lt;210&gt; 166

&lt;211&gt; 36

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 166

caagcgggtt attatgctga tagttatggt attgct

36

&lt;210&gt; 167

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 167

tcctacgcta tggc

15

&lt;210&gt; 168

&lt;211&gt; 48

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 168

accatcaaca tcggcggcag agtgtactac gcctcctggg ccaaggc

48

&lt;210&gt; 169

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 169

tactacaacg gcggctccta cgatata

27

&lt;210&gt; 170

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 170

caggcctccg agtccatcta ccgggtgctg gcc

33

&lt;210&gt; 171

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 171

gacaccagca cactggcctc c

21

&lt;210&gt; 172

&lt;211&gt; 36

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 172

cagggcggct actacgccga ctcctacgga atcgct

36

&lt;210&gt; 173

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 173

agttagcaa tgatc

15

&lt;210&gt; 174

&lt;211&gt; 48

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 174

accatttagta ctggtggtat cacatactac gcgagctggg cgaaaggc

48

&lt;210&gt; 175

&lt;211&gt; 51

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 175

ggggatatg ctgttagtag tgcttattat ctccgtact acttgactt g

51

&lt;210&gt; 176

&lt;211&gt; 39

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 176

cagtcctccc agtccgtgta taacaacaac aacctggcc

39

&lt;210&gt; 177

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

&lt;400&gt; 177

ctggcatcca ctctggcatc t 21

|            |                                                                       |            |            |          |
|------------|-----------------------------------------------------------------------|------------|------------|----------|
| <210>      | 178                                                                   |            |            |          |
| <211>      | 36                                                                    |            |            |          |
| <212>      | DNA                                                                   |            |            |          |
| <213>      | Artificial Sequence                                                   |            |            |          |
| <220><223> | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" | 36         |            |          |
| <400>      | 178                                                                   |            |            |          |
| ctaggtggtt | gtgatgatga                                                            | tgctgatact | tttgct     |          |
| <210>      | 179                                                                   |            |            |          |
| <211>      | 15                                                                    |            |            |          |
| <212>      | DNA                                                                   |            |            |          |
| <213>      | Artificial Sequence                                                   |            |            |          |
| <220><223> | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" | 15         |            |          |
| <400>      | 179                                                                   |            |            |          |
| tcctacgcta | tgatc                                                                 |            |            |          |
| <210>      | 180                                                                   |            |            |          |
| <211>      | 48                                                                    |            |            |          |
| <212>      | DNA                                                                   |            |            |          |
| <213>      | Artificial Sequence                                                   |            |            |          |
| <220><223> | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" | 48         |            |          |
| <400>      | 180                                                                   |            |            |          |
| accatctcta | ccggcggaat                                                            | tacctactac | gcctcctggg | ccaagggc |
| <210>      | 181                                                                   |            |            |          |
| <211>      | 51                                                                    |            |            |          |
| <212>      | DNA                                                                   |            |            |          |
| <213>      | Artificial Sequence                                                   |            |            |          |
| <220><223> | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |            |            |          |
| <400>      | 181                                                                   |            |            |          |

ggcggtacg ccgcagctc cgcttactac ctgcctact acttcgacct g 51

<210> 182  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 182  
 cagtcctccc agtccgtgta taacaacaac aacctggcc 39  
 <210> 183  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 183  
 ctggcctcca cactggcctc t 21

<210> 184  
 <211> 36  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 184  
 ctggcggct gcgacgacga cgccgatacc tttgct 36

<210> 185  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"  
 <400> 185

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr

<210> 186

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 186

Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser

1 5

<210> 187

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 187

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

1 5 10

<210> 188

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 188

Ser Ser Val Ser Tyr

1 5

<210> 189

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 189

Asp Thr Ser

1

<210> 190

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 190

Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr

1 5

<210> 191

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 191

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 192

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 192

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 193

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 193

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

1 5 10

<210> 194

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 194

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 195

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 195

Ser Ala Ser

1

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 196

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

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

<400> 197

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala

1 5

<210> 198

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 198

Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr

1 5

<210> 199

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 199

Ala Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Leu

20

<210> 200

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 200

Gln Ser Ile Ser Ser Val

1 5

<210> 201

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 201

Leu Ala Ser

1

<210> 202

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 202

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

1 5 10

<210> 203

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 203

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala

1 5

<210> 204

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 204

Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr

1 5

<210> 205

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 205

Ala Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Leu

20

<210> 206

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 206

Gln Ser Ile Ser Ser Val

1 5

<210> 207

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 207

Leu Ala Ser

1

<210> 208

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 208

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

1 5 10

<210> 209

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 209

Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala

1 5

<210> 210

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 210

Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala

1 5

<210> 211

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 211

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

1 5 10 15

<210> 212

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 212

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 213

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 213

Ser Ala Ser

1

<210> 214

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 214

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

<210> 215

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 215

Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala

1 5

<210> 216

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 216

Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala

1 5

<210> 217

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 217

Ala Arg Asn Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu

1 5 10 15

<210> 218

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 218

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 219

<211

> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 219

Ser Ala Ser

1

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 220

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

<210> 221

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 221

Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 222

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 222

Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val

1 5

<210> 223

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 223

Ala Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5 10

<210> 224

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 224

Glu Ser Ile Tyr Arg Val

1 5

<210> 225

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 225

Asp Thr Ser

1

<210> 226

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 226

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1 5 10

<210> 227

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 227

Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 228

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 228

Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val

1 5

<210> 229

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 229

Ala Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5 10

<210> 230

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 230

Glu Ser Ile Tyr Arg Val

1 5

<210> 231

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 231

Asp Thr Ser

1

<210> 232

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 232

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1

5

10

<210> 233

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 233

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 234

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 234

Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr

1

5

<210> 235

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

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

<400> 235

Ala Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Leu

<210> 236

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 236

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn

1 5

<210> 237

<211> 3

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 237

Leu Ala Ser

1

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 238

Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala

1 5 10

<210> 239

<211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223>

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

<400> 239

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 240

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 240

Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr

1 5

<210> 241

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 241

Ala Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Leu

<210> 242  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 242

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn

1 5

<210> 243  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 243  
 Leu Ala Ser  
 1  
 <210> 244  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 244  
 Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala  
 1 5 10  
 <210> 245  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 245  
 ggcttcacct tcagcggcta tggg 24

<210> 246  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 246  
 attagtagtg gtggtagtta tacc 24  
 <210> 247

|                                                                                  |                     |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----|
| <211>                                                                            | 36                  |    |
| <212>                                                                            | DNA                 |    |
| <213>                                                                            | Artificial Sequence |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |                     |    |
| <400>                                                                            | 247                 |    |
| gcaagacatg gggacgatcc cgcctggtc gcttat                                           |                     | 36 |
|                                                                                  |                     |    |
| <210>                                                                            | 248                 |    |
| <211>                                                                            | 21                  |    |
| <212>                                                                            | DNA                 |    |
| <213>                                                                            | Artificial Sequence |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |                     |    |
| <400>                                                                            | 248                 |    |
| tcaagtataa gttccaacaa c                                                          |                     | 21 |
| <210>                                                                            | 249                 |    |
| <211>                                                                            | 9                   |    |
| <212>                                                                            | DNA                 |    |
| <213>                                                                            | Artificial Sequence |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |                     |    |
| <400>                                                                            | 249                 |    |
| ggcacatcc                                                                        |                     | 9  |
|                                                                                  |                     |    |
| <210>                                                                            | 250                 |    |
| <211>                                                                            | 33                  |    |
| <212>                                                                            | DNA                 |    |
| <213>                                                                            | Artificial Sequence |    |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide" |                     |    |
| <400>                                                                            | 250                 |    |
| caacagtgga gtagttaccc gtacatgtac acg                                             |                     | 33 |
| <210>                                                                            | 251                 |    |
| <211>                                                                            | 24                  |    |

|                                        |                                                                          |    |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----|
| <212>                                  | DNA                                                                      |    |
| <213>                                  | Artificial Sequence                                                      |    |
| <220><223>                             | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic<br>oligonucleotide" |    |
| <400>                                  | 251                                                                      |    |
| ggttactcat tcactggcta cacc             |                                                                          | 24 |
| <210>                                  | 252                                                                      |    |
| <211>                                  | 24                                                                       |    |
| <212>                                  | DNA                                                                      |    |
| <213>                                  | Artificial Sequence                                                      |    |
| <220><223>                             | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic<br>oligonucleotide" |    |
| <400>                                  | 252                                                                      |    |
| attactcctt acaatggc ttct               |                                                                          | 24 |
| <210>                                  | 253                                                                      |    |
| <211>                                  | 36                                                                       |    |
| <212>                                  | DNA                                                                      |    |
| <213>                                  | Artificial Sequence                                                      |    |
| <220><223>                             | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic<br>oligonucleotide" |    |
| <400>                                  | 253                                                                      |    |
| gcaagggggg gttacgacgg gaggggttt gactac |                                                                          | 36 |
| <210>                                  | 254                                                                      |    |
| <211>                                  | 15                                                                       |    |
| <212>                                  | DNA                                                                      |    |
| <213>                                  | Artificial Sequence                                                      |    |
| <220><223>                             | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic<br>oligonucleotide" |    |
| <400>                                  | 254                                                                      |    |
| tcaagtgtaa gttac                       |                                                                          | 15 |
| <210>                                  | 255                                                                      |    |
| <211>                                  | 9                                                                        |    |
| <212>                                  | DNA                                                                      |    |

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 255

gacacatcc 9

<210> 256

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 256

cagcagt gga gtaaggcaccc tctcacg 27

<210> 257

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 257

ggaatctccc tcagtagcga tgca 24

<210> 258

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 oligonucleotide"

<400> 258

attaatggtg gtggtaaacac a 21

<210> 259

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 259

gccagaggca ttcaacatgg tggtgtaat agtgattatt attattacgg catggaccc 60

60

<210> 260

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 260

cagagcatta gtagtgtc 18

<210> 261

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 261

ctggcatct 9

<210> 262

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 262

caaaccatt atggtaactat tagtagtaat tatggtttg ct 42

<210> 263

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 263

ggaatttccc tctcctccga cgcg 24

<210> 264

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 264

atcaacggcg gcgaaacac c 21

<210> 265

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 265

gcgcgccgca tccagcacgg tggtgaaac agcgactact actactatgg gatggatctg 60

60

<210> 266

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 266

cagtcatttgcacgttgc 18

<210> 267

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 267

ttggcctcc 9

<210> 268

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 268

caaaccac act acggaacctc cagctccaac tacggcttg cc 42

<210> 269

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 269

ggattctccc tcaataacta tgca 24

<210> 270

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 270

attagtactg gtggctcg a 21

<210> 271

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 271

ggcagaaatg tgggtggtag ttatatttc tattatttg acttg 45

<210> 272

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 272

cagagcatttta gtagttac 18

<210> 273

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 273

tctgcattcc 9

<210> 274

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 274

caaagctatt atgatattgg tactagta 30

<210> 275

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 275

ggcttctccc tgaacaacta cgcc 24

<210> 276

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 276

atcagcacag gccgcctggc c 21

<210> 277

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 277

gccagaaacg gcgaggctc ctacatctc tactacttcg acctg 45

<210> 278

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 278

cagtcatct cctctac 18

<210> 279

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide"

<400> 279

tctgcctcc 9

<210> 280

<400> 280

000

<210> 281

<400> 281

000

<210> 282

<400> 282

000

<210> 283

<400> 283

000

<210> 284

<400> 284

000

<210> 285

<400> 285

000

<210> 286

<400> 286

000

<210> 287

<400> 287

000

<210> 288

<400> 288

000

<210> 289

<400> 289  
000  
<210> 290  
<400> 290  
000  
<210> 291  
<400> 291  
000  
<210> 292  
<400> 292  
000  
<210> 293  
<400> 293  
000  
<210> 294  
<400> 294  
000  
<210> 295  
<400> 295  
000  
<210> 296  
<400> 296  
000  
<210> 297  
<400> 297  
000  
<210> 298  
<400> 298  
000  
<210> 299  
<400> 299  
000  
<210> 300  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 300

cagtcctact acgacatcg cacctccacc 30

<210> 301

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 301

ggaatcgacc tcagtagcta tgca 24

<210> 302

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 302

attaatattg gtggtcgcgt a 21

<210> 303

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 303

gccagatatt ataatggtgg tagttatgac atc 33

<210> 304

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 304

gagagcattt atcgcgta 18

<210> 305

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 305

gatacatcc 9

<210> 306

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 306

caaggcggtt attatgctga tagttatggt attgct 36

<210> 307

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 307

ggaatcgacc tgtcctccta cgct 24

<210> 308

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 308

atcaacatcg gcggcagagt g

21

<210> 309

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 309

gccccgtact acaacggcgg ctcctacgt atc

33

<210> 310

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 310

gagtccatct accgggtg

18

<210> 311

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 311

gacaccagc

9

<210> 312

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 312

caggcgccgt actacgccga ctcctacgga atcgct 36

<210> 313

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 313

ggattctccc tcagtagtta tgca 24

<210> 314

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 314

attagtactg gtggtatcac a 21

<210> 315

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 315

gccagagggg gatatgctgc tagtagtgc tattatctcc cgtactactt tgacttg 57

<210> 316

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 316

cagagtgttt ataataataa caac

24

<210> 317

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 317

ctggcatcc

9

<210> 318

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 318

ctaggtggtt gtgatgatga tgctgatact tttgct

36

<210> 319

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 319

ggcttctccc tgtcctccta cgct

24

<210> 320

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 320

atctctaccg gcggaaattac c

21

<210> 321

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 321

gctagaggcg gctacgcccgc cagctccgct tactacctgc cctactactt cgacctg

57

<210> 322

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 322

cagtcgtgtataacaacaa caac

24

<210> 323

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 323

ctggcctcc

9

<210> 324

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide"

<400> 324

ctggcggct gcgacgacga cgccgatacc tttgct 36

<210> 325

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 325

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430  
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445  
 Lys

<210> 326  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><233> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 326  
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
 20 25 30  
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr  
 35 40 45  
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60  
 Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu  
 65 70 75 80  
 Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro  
 100 105 110  
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
 115 120 125

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

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser

165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe

195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 327

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 327

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145 150 155 160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
 165 170 175  
  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
 195 200 205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235 240  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
  
 245 250 255  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320  
  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350  
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385                    390                    395                    400  
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 405                    410                    415  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420                    425                    430  
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435                    440                    445  
 Pro Gly Lys  
 450  
 <210>    328  
 <211>    214  
 <212>    PRT  
 <213  
 >    Artificial Sequence  
 <220><223>    /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400>    328  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala  
 20                    25                    30  
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35                    40                    45  
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
  
 50                    55                    60  
 Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                    70                    75                    80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro  
 85                    90                    95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100                    105                    110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115                    120                    125  
  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

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

195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 329  
 <211> 453  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400> 329  
 Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro  
 1 5 10 15  
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala  
 20 25 30

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

100 105 110  
 Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

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

|                                                                 |                                                                   |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 370                                                             | 375                                                               | 380 |     |
| Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr |                                                                   |     |     |
| 385                                                             | 390                                                               | 395 | 400 |
| Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu |                                                                   |     |     |
| 405                                                             | 410                                                               | 415 |     |
| Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser |                                                                   |     |     |
| 420                                                             | 425                                                               | 430 |     |
| Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser |                                                                   |     |     |
| 435                                                             | 440                                                               | 445 |     |
| Leu Ser Pro Gly Lys                                             |                                                                   |     |     |
| 450                                                             |                                                                   |     |     |
| <210>                                                           | 330                                                               |     |     |
| <211>                                                           | 219                                                               |     |     |
| <                                                               |                                                                   |     |     |
| 212>                                                            | PRT                                                               |     |     |
| <213>                                                           | Artificial Sequence                                               |     |     |
| <220><223>                                                      | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |     |     |
| <400>                                                           | 330                                                               |     |     |
| Glu Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly |                                                                   |     |     |
| 1                                                               | 5                                                                 | 10  | 15  |
| Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val |                                                                   |     |     |
| 20                                                              | 25                                                                | 30  |     |
| Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile |                                                                   |     |     |
| 35                                                              | 40                                                                | 45  |     |
| Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly |                                                                   |     |     |
| 50                                                              | 55                                                                | 60  |     |
| Ser Arg Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys |                                                                   |     |     |
| 65                                                              | 70                                                                | 75  | 80  |
| Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser |                                                                   |     |     |
| 85                                                              | 90                                                                | 95  |     |
| Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys     |                                                                   |     |     |
| 100                                                             | 105                                                               | 110 |     |

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

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 115                                                             | 120 | 125 |     |
| Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe |     |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |     |
| Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln |     |     |     |
| 145                                                             | 150 | 155 | 160 |
| Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser |     |     |     |
| 165                                                             | 170 | 175 |     |
| Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu |     |     |     |
| 180                                                             | 185 | 190 |     |

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

|       |                     |  |
|-------|---------------------|--|
| 210   | 215                 |  |
| <210> | 331                 |  |
| <211> | 456                 |  |
| <212> | PRT                 |  |
| <213> | Artificial Sequence |  |

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

<400> 331

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

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp

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

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

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

Gly Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

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

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

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

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

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

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

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

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

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

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

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

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

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

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

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

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

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

|                                                             |  |  |
|-------------------------------------------------------------|--|--|
| Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile |  |  |
|-------------------------------------------------------------|--|--|

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

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

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

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

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

|                                                             |  |  |
|-------------------------------------------------------------|--|--|
| Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro |  |  |
|-------------------------------------------------------------|--|--|

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| 245 | 250 | 255 |
|-----|-----|-----|

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

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
|-----|-----|-----|

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| 275 | 280 | 285 |
|-----|-----|-----|

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 |
|-----|-----|-----|

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

|     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|
| 305 | 310 | 315 | 320 |
|-----|-----|-----|-----|

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| 325 | 330 | 335 |
|-----|-----|-----|

|                                                                 |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|
| Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro |  |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|--|

|                                                                              |     |     |
|------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 340                                                                          | 345 | 350 |
| Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr              |     |     |
| 355                                                                          | 360 | 365 |
| Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser              |     |     |
|                                                                              |     |     |
| 370                                                                          | 375 | 380 |
| Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr              |     |     |
| 385                                                                          | 390 | 395 |
| Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr              |     |     |
| 405                                                                          | 410 | 415 |
| Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe              |     |     |
| 420                                                                          | 425 | 430 |
| Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys              |     |     |
| 435                                                                          | 440 | 445 |
|                                                                              |     |     |
| Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys                                              |     |     |
| 450                                                                          | 455 |     |
| <210> 332                                                                    |     |     |
| <211> 219                                                                    |     |     |
| <212> PRT                                                                    |     |     |
| <213> Artificial Sequence                                                    |     |     |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |     |     |
| <400> 332                                                                    |     |     |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly              |     |     |
| 1                                                                            | 5   | 10  |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val              |     |     |
| 20                                                                           | 25  | 30  |
| Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile              |     |     |
|                                                                              |     |     |
| 35                                                                           | 40  | 45  |
| Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly              |     |     |
| 50                                                                           | 55  | 60  |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Cys              |     |     |
| 65                                                                           | 70  | 75  |
| Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser              |     |     |

|                                                                              |                     |     |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----|
| 85                                                                           | 90                  | 95  |
| Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys                  |                     |     |
| 100                                                                          | 105                 | 110 |
| Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu              |                     |     |
| 115                                                                          | 120                 | 125 |
| Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe              |                     |     |
| 130                                                                          | 135                 | 140 |
| Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln              |                     |     |
| 145                                                                          | 150                 | 155 |
| Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser              |                     |     |
| 165                                                                          | 170                 | 175 |
| Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu              |                     |     |
| 180                                                                          | 185                 | 190 |
| Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser              |                     |     |
| 195                                                                          | 200                 | 205 |
| Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys                                  |                     |     |
| 210                                                                          | 215                 |     |
| <210>                                                                        | 333                 |     |
| <211>                                                                        | 448                 |     |
| <212>                                                                        | PRT                 |     |
| <213>                                                                        | Artificial Sequence |     |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |                     |     |
| <400>                                                                        | 333                 |     |
| Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro              |                     |     |
| 1                                                                            | 5                   | 10  |
| 15                                                                           |                     |     |
| Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala              |                     |     |
| 20                                                                           | 25                  | 30  |
| Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly              |                     |     |
| 35                                                                           | 40                  | 45  |
| Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly              |                     |     |
| 50                                                                           | 55                  | 60  |
| Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met Thr              |                     |     |

|                                                                 |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Asn Gly |     |     |     |
|                                                                 |     |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |     |
| Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu 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 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

385 390 395 400

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> 334

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 334

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

1 5 10 15

Gly Thr Ile Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr

85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 335

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 335

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
  
 Arg Asn Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly  
 100 105 110  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
  
 165 170 175  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235 240  
  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350  
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380  
  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400  
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430  
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445  
 Pro Gly Lys  
  
 450  
 <210> 336  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400> 336  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
  
 Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Cys  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr  
 85 90 95  
 Ser Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110  
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
  
 115 120 125  
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140  
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175  
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190  
  
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205  
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215  
 <210> 337  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400> 337  
 Gln Ser Val Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro  
 1 5 10 15  
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala  
  
 20 25 30  
 Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 35                                                              | 40  | 45  |
| Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly |     |     |
| 50                                                              | 55  | 60  |
| Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ala Pro |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  |
| Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr |     |     |
| 85                                                              | 90  | 95  |
| Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val |     |     |
| 100                                                             | 105 | 110 |
| Ser Leu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser |     |     |
| 115                                                             | 120 | 125 |
| Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys |     |     |
| 130                                                             | 135 | 140 |
| Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu |     |     |
| 145                                                             | 150 | 155 |
| Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu |     |     |
| 165                                                             | 170 | 175 |
| Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr |     |     |
| 180                                                             | 185 | 190 |
| Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val |     |     |
| 195                                                             | 200 | 205 |
| Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro |     |     |
| 210                                                             | 215 | 220 |
| Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe |     |     |
| 225                                                             | 230 | 235 |
| Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val |     |     |
| 245                                                             | 250 | 255 |
| Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe |     |     |
| 260                                                             | 265 | 270 |
| Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro |     |     |
| 275                                                             | 280 | 285 |
| Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr |     |     |

|                                                                              |     |     |     |
|------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 290                                                                          | 295 | 300 |     |
| Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr Lys Cys Lys Val                  |     |     |     |
| 305                                                                          | 310 | 315 | 320 |
| Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala              |     |     |     |
| 325                                                                          | 330 | 335 |     |
| Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg              |     |     |     |
| 340                                                                          | 345 | 350 |     |
| Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly              |     |     |     |
| 355                                                                          | 360 | 365 |     |
| Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro              |     |     |     |
| 370                                                                          | 375 | 380 |     |
| Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser              |     |     |     |
| 385                                                                          | 390 | 395 | 400 |
| Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln              |     |     |     |
| 405                                                                          | 410 | 415 |     |
| Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His              |     |     |     |
| 420                                                                          | 425 | 430 |     |
| Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gly Lys                                      |     |     |     |
| 435                                                                          | 440 |     |     |
| <210>                                                                        | 338 |     |     |
| <211>                                                                        | 217 |     |     |
| <212> PRT                                                                    |     |     |     |
| <213> Artificial Sequence                                                    |     |     |     |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |     |     |     |
| <400> 338                                                                    |     |     |     |
| Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Ala Ser Glu Pro Val Gly              |     |     |     |
| 1                                                                            | 5   | 10  | 15  |
| Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val              |     |     |     |
| 20                                                                           | 25  | 30  |     |
| Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile              |     |     |     |
| 35                                                                           | 40  | 45  |     |

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Lys Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Cys  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser  
 85 90 95  
 Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr  
 100 105 110  
 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu  
 115 120 125  
 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro  
 130 135 140  
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr  
 165 170 175  
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His  
 180 185 190  
 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val  
 195 200 205  
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215  
 <210> 339  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"  
 <400> 339  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile  
 35 40 45  
 Gly Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
  
 Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220  
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 340

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 340

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser

85 90 95

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

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

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

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

&lt;210&gt; 341

&lt;211&gt; 452

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 341

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly

85 90 95

Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

|                                                                              |     |     |
|------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 260                                                                          | 265 | 270 |
| His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu              |     |     |
| 275                                                                          | 280 | 285 |
| Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr              |     |     |
| 290                                                                          | 295 | 300 |
| Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn              |     |     |
|                                                                              |     |     |
| 305                                                                          | 310 | 315 |
| Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro              |     |     |
| 325                                                                          | 330 | 335 |
| Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln              |     |     |
| 340                                                                          | 345 | 350 |
| Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val              |     |     |
| 355                                                                          | 360 | 365 |
| Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val              |     |     |
| 370                                                                          | 375 | 380 |
|                                                                              |     |     |
| Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro              |     |     |
| 385                                                                          | 390 | 395 |
| Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr              |     |     |
| 405                                                                          | 410 | 415 |
| Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val              |     |     |
| 420                                                                          | 425 | 430 |
| Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu              |     |     |
| 435                                                                          | 440 | 445 |
| Ser Pro Gly Lys                                                              |     |     |
|                                                                              |     |     |
| 450                                                                          |     |     |
| <210> 342                                                                    |     |     |
| <211> 219                                                                    |     |     |
| <212> PRT                                                                    |     |     |
| <213> Artificial Sequence                                                    |     |     |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |     |     |
| <400> 342                                                                    |     |     |
| Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly              |     |     |

|                                                                 |                                                                   |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 1                                                               | 5                                                                 | 10  | 15  |
| Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn |                                                                   |     |     |
| 20                                                              | 25                                                                | 30  |     |
| Asn Asn Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu |                                                                   |     |     |
| 35                                                              | 40                                                                | 45  |     |
| Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe |                                                                   |     |     |
| 50                                                              | 55                                                                | 60  |     |
| Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val |                                                                   |     |     |
| 65                                                              | 70                                                                | 75  | 80  |
| Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp |                                                                   |     |     |
| 85                                                              | 90                                                                | 95  |     |
| Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys     |                                                                   |     |     |
| 100                                                             | 105                                                               | 110 |     |
| Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu |                                                                   |     |     |
| 115                                                             | 120                                                               | 125 |     |
| Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe |                                                                   |     |     |
| 130                                                             | 135                                                               | 140 |     |
| Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln |                                                                   |     |     |
| 145                                                             | 150                                                               | 155 | 160 |
| Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser |                                                                   |     |     |
| 165                                                             | 170                                                               | 175 |     |
| Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu |                                                                   |     |     |
| 180                                                             | 185                                                               | 190 |     |
| Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser |                                                                   |     |     |
| 195                                                             | 200                                                               | 205 |     |
| Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys                     |                                                                   |     |     |
| 210                                                             | 215                                                               |     |     |
| <210>                                                           | 343                                                               |     |     |
| <211>                                                           | 455                                                               |     |     |
| <212>                                                           | PRT                                                               |     |     |
| <213>                                                           | Artificial Sequence                                               |     |     |
| <220><223>                                                      | /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide" |     |     |

&lt;400&gt; 343

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe

100 105 110

Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230 235 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 344

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

&lt;400&gt; 344

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

&lt;210&gt; 345

&lt;211&gt; 1350

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

&lt;400&gt; 345

gaggtc当地 60  
tggtgagag cggtaggt gttgtcaac ctggccgtc cctgcgc当地tcctgctccg catctggctt caccttc当地 ggctatgggt tgtcttgggt gagacaggca 120  
cctgaaaag gtcttgatg gttgtcaatg attagtagtg gtggtagtta tacctactat 180  
gcagacatg tgaaggtag atttgcaata tcgc当地 gagaca acgccaagaa cacatgttc 240  
ctgcaaatgg acagcctgag acccgaagac accggggctt attttgc当地 aagacatggg 300  
gacgatcccg cttgggtcgc ttattgggc当地 caagggaccc cggtaccgt ctc当地 cagcc 360  
tccaccaagg gccc当地 atcggttgc当地 cttccctg gcaccctc当地 ccaagagcac ctctggggc当地 420  
acagcggccc tgggtgc当地 ggtcaaggac tacttcccg aaccggtgac ggtgtc当地 tgg 480aactcaggcg cc当地 tggaccag cggcgtc当地 accttcccg ctgtc当地 taca gtc当地 cttagga 540  
ctctactccc tc当地 agcagcgt ggtgaccgtg cc当地 tccagca gcttggc当地 ac cc当地 gagacctac 600  
atctgcaacg tgaatcacaa gccc当地 agcaac accaaggtagg acaagaaagt tgagcccaa 660  
tcttgaca aactcacac atgccc当地 accg tgccc当地 agc当地 ctgactc当地 tgggggaccg 720  
tc当地 agtcttcc tcttcccccc aaaacccaaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag 780  
gtc当地 acatgca tggtaggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggta 840  
gtggacggcg tggaggtgca taatgcaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900acgtaccgtg tggtagcgt cctcaccgtc ctgc当地 caccagg actggctgaa tggcaaggag 960  
tacaagt gca aggtctccaa caaaggccctc cc当地 agccccca tc当地 gagaaaac catctccaa 1020  
gccaaggc当地 agccccgaga accacaggtag tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1080  
accaagaacc aggtcagcct gacctgc当地 gtcaaaaggct tctatcccg cgacatcgcc 1140  
gtggagtaggg agagcaatgg gc当地 agccggag aacaactaca agaccacgca tccc当地 gtctg 1200  
gactccgacg gtc当地 ctttctt cttatattca aagctcaccg tggacaagag caggtggc当地 1260  
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggc当地 tgc当地 cacaacca ctacacgca 1320

aagaggctct cc当地 tgc当地 tcc cgggaaatga 1350

&lt;210&gt; 346

&lt;211&gt; 654

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

&lt;400&gt; 346

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| gacatccagc tgacccagag cccaaagcagc ctgagcgcca gcgtgggtga cagagtgacc | 60  |
| atcacctgta gtgtcagctc aagtataagt tccaaacaact tgcactggta ccagcagaag | 120 |
| ccaggttaagg ctccaaagcc atggatctac ggcacatcca acctggcttc tggtgtgcc  | 180 |
| agcagattca gcggtagcgg tagcggtacc gactacacct tcaccatcag cagcctccag  | 240 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| ccagaggaca tcgcccaccta ctactgccaa cagtggagta gtaccgta catgtacacg  | 300 |
| ttcgccaag ggaccaaggt ggaatcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc   | 360 |
| ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat  | 420 |
| aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaagggtgg ataacgcctt ccaatcggt | 480 |
| aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc | 540 |
| accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc | 600 |
| catcaggccc tgagtcgccc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttaa       | 654 |

&lt;210&gt; 347

&lt;211&gt; 1350

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| caggtacaac tgcatcgatc tgggcctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata  | 60  |
| tcctgcaagg ctctggta ctcattcaact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc   | 120 |
| catgaaaga gccttgagtg gattggactt attactcctt acaatggtc ttctagctac    | 180 |
| aaccagaagt tcagggcaa ggccacatta actgttagaca agtcatccag cacagctac   | 240 |
| atggacacctc tcagtctgac atctgaagac tctgcagttt atttctgtgc aagggggggt | 300 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| tacgacggga ggggtttga ctactggga tccgggaccc cggtcaccgt ctcctcagcc   | 360 |
| tccaccaagg gcccattcggt ctccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctggggc  | 420 |
| acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttcccg aaccggtgac ggtgtcggt   | 480 |
| aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccgg ctgtcctaca gtcctcagga  | 540 |
| ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttggcac ccagacccatc | 600 |

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaagggtgg acaagaaaagt tgagccaaa              | 660  |
| tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccc tgcccagcac ctgaactcct ggggggacccg              | 720  |
|                                                                                 |      |
| tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tcatctcccg gaccctgag                | 780  |
| gtcacatgct tgggtggta cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggta                 | 840  |
| gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc               | 900  |
| acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag               | 960  |
| tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaa                | 1020 |
| gccaaaggc acccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg                | 1080 |
| accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatccag cgacatcgcc                | 1140 |
|                                                                                 |      |
| gtggagtgg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tccctgtctg                | 1200 |
| gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag               | 1260 |
| cagggaaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag               | 1320 |
| aagagcctct ccctgtctcc cggaaatga                                                 | 1350 |
| <210> 348                                                                       |      |
| <211> 642                                                                       |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
| <400> 348                                                                       |      |
| gacatcgagc tcactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccaggggaa gaaggtcacc              | 60   |
|                                                                                 |      |
| atgacctgca gtgccagctc aagtgttaatg tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc              | 120  |
| acctccccca aaatggat ttatgacaca tccaaactgg ctctggatg cccaggtcgc                  | 180  |
| ttcagtggca gtgggtctgg aaactttac tctctacaa tcagcagcgt ggaggctgaa                 | 240  |
| gatgatgcaa ctattactg ccagcagtgg agtaaggacc ctctcacgtt cggatccggg                | 300  |
| accaagggtgg aaatcaaacg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgcatct               | 360  |
| gatgagcgt tggaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa ctatccc                  | 420  |
| agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcggtaa ctcccaggag                | 480  |
|                                                                                 |      |
| agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg               | 540  |
| agcaaaggcag actacgagaa acacaaagtgc tacgcctgctg aagtccacca tcaggcctg             | 600  |
| agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt aa                                  | 642  |

&lt;210&gt; 349

&lt;211&gt; 1362

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

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

&lt;400&gt; 349

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc | 60  |
| tgcaccgtct ctggaatctc cctcagtagc gatgcaataa gctgggtccg ccaggctcca | 120 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gggaaggggc tcgaatacat cgaaatcatt aatggtggtg gtaacacata ctacgcgagc | 180 |
| tggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgatct gaaaatcacc   | 240 |
| agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggcattca acatggtggt | 300 |
| ggtaatagt attattatta ttacggcatg gacctctggg gcccaggcac cctggtaact  | 360 |
| gtctcttcag catccaccaa gggccatcg gtctccccc tggcacccct ctccaagagc   | 420 |
| acctctgggg gcacagcggc cttggctgc ctggtaagg actacttccc cgaaccgggt   | 480 |
| acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta | 540 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| cagtcctcag gactctactc ctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttggc   | 600 |
| acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac aagccagca acaccaaggt ggacaagaaa  | 660 |
| gtttagccca aatcttgta caaaactcac acatgeccac cgtgccagc acctgaactc   | 720 |
| ctggggggac cgtcgtctt ctcctccccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc  | 780 |
| cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag | 840 |
| ttcaacttgt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaagcc gcgggaggag  | 900 |
| cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg | 960 |

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa | 1020 |
| accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc  | 1080 |
| cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacccctc tggtaaagg cttctatccc  | 1140 |
| agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg | 1200 |
| cctccgtgc tggactccga cggctccttc ttcttatatt caaagctcac cgtggacaag  | 1260 |
| agcaggtggc agcagggaa cgtctctca tgctccgtga tgcattggc tctgcacaac    | 1320 |
| cactacacgc agaagagcct ctccctgtct cccggaaat ga                     | 1362 |

&lt;210&gt; 350

&lt;211&gt; 660

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

&lt;400&gt; 350

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gaagtgttga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtacc  | 60  |
| atcaagtgcc aggccagtca gaggcattagt agtgtcttgt cctggatca gcagaaacca | 120 |
| gggcagcctc ccaagctcct gatctatctg gcatccactc tggcatctgg ggtcccatcg | 180 |
| cggttcagcg gcagtagatc tggcacagag ttcaactctca ccatcagcga cctggagtg | 240 |
| gacgatgctg ccacttacta ctgtcaaacc aattatggta ctagtagtag taattatggt | 300 |

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| tttgcttcg gggggggac cgaggtggc gtcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc     | 360 |
| ttcatcttcc cgccatctga tggcgtttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg   | 420 |
| ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggaa aggtggataa cgcctccaa  | 480 |
| tcgggtaact cccaggagag tggcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc  | 540 |
| agcagcaccc tgacgctgag caaaggcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa | 600 |
| gtcacccatc agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga  | 660 |
|                                                                    | 660 |

&lt;210&gt; 351

&lt;211&gt; 1371

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

&lt;400&gt; 351

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gaagtccaaac tggtgaaag cgggggagga ctgggtcagc cggggggatc cctccggctg | 60  |
| tcatgtgctg catcgaaat ttccctctcc tccgacgcga ttagctgggt cagacaggcc  | 120 |
| cccgaaagg ggctggagta catcggtatc atcaacggcg gcgaaacac ctactacgcc   | 180 |
| tcctggcca agggccgtt caccatctcg cggcataatt ccaagaacac tctgtacttg   | 240 |
| caaataact ccctgaggc cgaggacacc ggcgtgtact actgcgcgcg cggcatccag   | 300 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| cacgggtggta gaaacagcga ctactactac tatggatgg atctgtgggg ccaggaaact | 360 |
| cttgcgtaccg tgcgtcagc atccaccaag ggcccatcg tcttccctt ggcaccctcc   | 420 |

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttccc                 | 480  |
| gaaccggta cgggtcggtg gaactcaggc gccctgacca gccggctgca caccttccc                 | 540  |
| gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtaaccgt gccctccagc               | 600  |
| agcttggca cccagaccta catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaggta                 | 660  |
| gacaagaaag ttgagccaa atcttgtac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca                 | 720  |
|                                                                                 |      |
| cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc                | 780  |
| atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc gtgggtgggg acgtgagcca cgaagaccct                | 840  |
| gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggagggtgc ataatgcca gacaaagccg               | 900  |
| cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggcagcg tcctcaccgt cctgcaccag                | 960  |
| gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggcttcca acaaagccct cccagcccc                | 1020 |
| atcgagaaaa ccataccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg                | 1080 |
| cccccatccc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc               | 1140 |
|                                                                                 |      |
| ttctatccca ggcacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac               | 1200 |
| aagaccacgc ctcccggtct ggactccgac ggctccttct tcttatattc aaagcttacc               | 1260 |
| gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaaac gtcttctcat gctccgtat gcatgaggct               | 1320 |
| ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc ccggaaatg a                         | 1371 |
| <210> 352                                                                       |      |
| <211> 660                                                                       |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
| <400> 352                                                                       |      |
| gacattcaga tgaccaggc cccaaatcg cttgtccgcct ccgtggcga ccgcgtgacc                 | 60   |
|                                                                                 |      |
| atcacgtgcc aggcgtccca gtcaatttgc agcgtgtctt cctggtaacca acagaagccg              | 120  |
| gggaaagcac ccaagctgtctt gatctacttgc gcctccactc tggcctcggtt agtgccttca           | 180  |
| cggttctcg gatcggtatc tggtaactgtat ttccatctca ccatctcgat ctttcgtgc               | 240  |
| gaggacatcg ctacttacta ttgtcaaacc aactacggaa cttccagctc caactacggc               | 300  |
| tttgccttcg gtggcgggac caaggtcgaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc               | 360  |
| tttcatcttc cggccatctga tgacgttttgc aatctggaa ctgcctctgt tttgtgcctg              | 420  |
| ctgaataact tctatccca agaggccaa gtacagtggaa aggtggataa cggccctccaa               | 480  |

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| tcggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc                | 540  |
| agcagcaccc tgacgctgag caaaggagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa               | 600  |
| gtcacccatc agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga               | 660  |
|                                                                                 | 660  |
| <210> 353                                                                       |      |
| <211> 1347                                                                      |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
| <400> 353                                                                       |      |
| cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacaccct gacactcacc                | 60   |
| tgcacagtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga gctgggtccg ccaggctcca               | 120  |
| ggaaagggc tggaaatggat cgatccatt agtactggtg gtctcgatt ctacgcgaac                 | 180  |
| tggccaaaag gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtgatct gaaaatgacc                | 240  |
| agtctgacaa ccgaggacac ggccacccat ttctgtggca gaaatggtg tgtagttat                 | 300  |
| attttctatt attttgactt gtggggccaa ggcaccctcg tcactgtctc ttcagcatcc               | 360  |
| accaagggcc catcggttt cccctggca ccctctcca agacaccc tggggcaca                     | 420  |
| gcggccctgg gtcgcctggt caaggactac ttcccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac              | 480  |
| tcagggcccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccggctg tcctacagtc ctcaggactc                | 540  |
| tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc                | 600  |
| tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agaaagttaa gcccaaatct              | 660  |
| tgtgacaaaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca                | 720  |
| gtctccctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac ccctgaggtc                | 780  |
| acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtagtgc                | 840  |
| gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg               | 900  |
| taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagttac              | 960  |
| aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc                 | 1020 |
| aaagggcagg cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccggga tgagctgacc                | 1080 |
| aagaaccagg tcagcgtgac ctgcctggc aaaggcttct atcccagcga catgcgtgg                 | 1140 |
| gagtgggaga gcaatggca gcccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgtggac                | 1200 |
| tccgacggct cttttttttt atattcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag                | 1260 |

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag               | 1320 |
|                                                                                 |      |
| agcctctccc tgtctcccg gaaatga                                                    | 1347 |
| <210> 354                                                                       |      |
| <211> 648                                                                       |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
| <400> 354                                                                       |      |
| gcattcaat tgacccagac tccatcctcc gtggaggcag ctgtgggagg cacaatcacc                | 60   |
| atcaagtgcc aggccagtca gaggcattag agttacttat cctggatca gcagaaacca                | 120  |
| gggcagcctc ccaagctct gatctattct gcatccactc tggcatctgg ggtctcatcg                | 180  |
| cggtaaaag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcga cctggagtgt                | 240  |
|                                                                                 |      |
| gccgatgctg ccacttactt ctgtcaaagc tattatgata ttggacttag tacttcggc                | 300  |
| ggagggaccg aggtggcgt caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catctcccg                 | 360  |
| ccatctgatg acgagttgaa atctggaact gcctctgtg tgtgcctgt gaataacttc                 | 420  |
| tatcccagag aggccaaagt acagtggaaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc              | 480  |
| caggagagtgc acacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg             | 540  |
| acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag                | 600  |
| ggcctgagct cccccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttga                            | 648  |
|                                                                                 |      |
| <210> 355                                                                       |      |
| <211> 1356                                                                      |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
| <400> 355                                                                       |      |
| gaagtgcagc tgggtgaatc tggcgccgga ctgggtcagc ctggcgatc tctgagactg                | 60   |
| tcttgtcccg cctccggctt ctccctgaac aactaegcca tgtcctgggt gcgacaggcc               | 120  |
| cctggcaag gcctggaaatg gatcggtcc atcagcacag gcccgcgtgc cttctacgcc                | 180  |
| aattggcca agggccgggtt caccatcagc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctc               | 240  |

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| cagatgaact ccctcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccag aaacggcggaa               | 300  |
|                                                                                 |      |
| ggctcctaca tcttctacta cttcgacctg tggggccagg gcaccctcg gacagtgtca                | 360  |
| tctgcattca ccaagggccc atcggtttc cccctggcac ctcctccaa gagcacctct                 | 420  |
| ggggcacag cggccctggg ctgcctggc aaggactact tccccgaaacc ggtgacggtg                | 480  |
| tcgttggact caggccctt gaccagcggc gtgcacacct tcccgctgt ctcacagtcc                 | 540  |
| tcaggactct actcccttag cagcgtggt accgtgcctt ccagcagctt gggcacccag                | 600  |
| acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttag                | 660  |
| ccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccacgtgcc cagcacctga actcctgggg                 | 720  |
|                                                                                 |      |
| ggaccgtcag tttcccttt cccccaaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctccggacc                 | 780  |
| cctgaggta catcgcttgt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttaac                 | 840  |
| tgttacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcgtac                | 900  |
| aacagcacgt accgtgttgt cagcgtcctc accgtctgc accaggactg gctaatggc                 | 960  |
| aaggagtaca atgcaaggt ctccaacaaa gcccctccag ccccatcga gaaaaccatc                 | 1020 |
| tccaaaggca aaggccagcc cgagaaccca caggttaca ccctcccccc atccggat                  | 1080 |
| gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggta aaggcttcta tccagcgcac                | 1140 |
|                                                                                 |      |
| atcgccgtgg agtggagag caatggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc                 | 1200 |
| gtgcgtggact ccgacggctc cttttctta tattcaaaac tcaccgtgga caagagcagg               | 1260 |
| tggcagcagg ggaacgttctt ctcatgtcc gtgtatgcg aggctctgca caaccactac                | 1320 |
| acgcagaaga gcctctccct gtctccggg aaatga                                          | 1356 |
| <210> 356                                                                       |      |
| <211> 648                                                                       |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
| <400> 356                                                                       |      |
| gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgtt ctgtggcga cagagtgacc                 | 60   |
|                                                                                 |      |
| atcacctgtc aggctccca gtccatctcc tccatctgt cctggatca gcagaagccc                  | 120  |
| ggcaaggccc ccaagctgct gatctactct gcctccacac tggcctccgg cgtccctct                | 180  |
| agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga ccatcagctc cctccagtgc               | 240  |
| gaggatgccg ccacctacta ctgccagtcc tactacgaca tcggcacctc caccttcggc               | 300  |

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| ggaggcacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg               | 360  |
| ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgtg tgtgcctgct gaataacttc                | 420  |
| tatcccagag aggccaaagt acagtggaaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc              | 480  |
|                                                                                 |      |
| caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg               | 540  |
| acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag                | 600  |
| ggcctgagct cggcgtcac aaagagctc aacaggggag agtgttga                              | 648  |
| <210> 357                                                                       |      |
| <211> 1335                                                                      |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
| <400> 357                                                                       |      |
| cagtcagtga aggagtccgg gggtcgcctg gtcaacgcctg ggacacccct gacactcacc              | 60   |
| tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatgg gctgggtccg ccaggctcca               | 120  |
|                                                                                 |      |
| gggaaggggc tggaaatacat cggaaccatt aatattggtg gtgcgtata ttacgcgagc               | 180  |
| tggcaaaag gccgattcac catctccaga acctcgtacca cggtgatct gaaagcgccc                | 240  |
| agtctgacag cggaggacac ggccacccat ttctgtgcca gatattataa tgggttagt                | 300  |
| tatgacatct gggcccccagg caccctggtc accgtctt tagcatccac caagggccca                | 360  |
| tcggcttcc ccctggcacc ctccctcaag agcacctctg ggggcacagc ggccctggc                 | 420  |
| tgcctggtca aggactactt ccccgaaaccg gtgacggtgt cgtgaaactc aggcgcctg               | 480  |
| accagcggcgc tgcacacctt cccggctgtc ctacagtct caggactcta ctccctcagc               | 540  |
|                                                                                 |      |
| agcgtggtga ccgtgcctc cagcagctt ggcacccaga cttacatctg caacgtgaaat                | 600  |
| cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc ccaaatttt tgacaaaact                | 660  |
| cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctccctgggg gaccgtcagt cttcccttcc               | 720  |
| cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccgaccc ctgaggtcac atgcgtggtg                | 780  |
| gtggacgtga gcccacgaaga ccctgaggta aagtcaact ggtacgtgga cggcgtggag               | 840  |
| gtgcataatg ccaagacaaa gcccgggag gagcagtaca acagcacgtc ccgtgtggtc                | 900  |
| agcgtccctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc              | 960  |
|                                                                                 |      |
| tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc               | 1020 |
| cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccggtatg agctgaccaa gaaccaggtc               | 1080 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcggccgtgga gtgggagagc | 1140 |
| aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc  | 1200 |
| ttcttcttat attcaaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtttc   | 1260 |
| tcatgctccg tcatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg  | 1320 |
| tctccggga aatga                                                    | 1335 |

<210> 358

<211> 654

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 358

|                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------|-----|
| gatgttgtga tgacccagac tccagcctcc gcgtctgaac ctgtgggagg cacagtacc    | 60  |
| atcaagtgcc aggccagtga gaggcattat cgcgtattgg cctggatca gcagaaacca    | 120 |
| ggcgcgcctc ccaagctcct gatctatgt acatccactc tggcatctgg ggcgcgcctc    | 180 |
| cgggtcaaaag gcagtggata tgggacagag ttcaactctca ccatcagcgg cgtgcagtgt | 240 |
| gaagatgctg ccactacta ctgtcaaggc ggttattatg ctgatagtttta tggtattgt   | 300 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| ttcggcggag ggacccgaggt ggtggtcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtttcatc | 360 |
| ttccgcctat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat | 420 |
| aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaagggtgg ataacgcctt ccaatcggt | 480 |
| aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcgc  | 540 |
| accctgacgc ttagcaaaagc agactacgaa aacacaaaag tctacgcctg cgaagtacc | 600 |
| catcaggccc ttagctcgcc cgtcacaaag agctcaaca gggagagtg ttga         | 654 |

<210> 359

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 359

|                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------|-----|
| cagggtgcagc tgggtggaaatc tggcgaggaa ctgggtgcagc ctggcggtc tctgagactg | 60  |
| tcctgttccg cctccggaaat cgcacgtgtcc tcctacgcta tgggctgggt ggcacaggct  | 120 |

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| cctggcaagg gcctggagta catggcacc atcaacatcg gggcagagt gtactaccc                  | 180  |
| tcctggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtaccc                 | 240  |
| cagatgaact ccctgcggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcccg gtactacaac                | 300  |
|                                                                                 |      |
| ggcggtcct acgatatctg gggccaggc acactcgtga ccgtgtcctc tgcatccacc                 | 360  |
| aaggcccat cggtttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg                 | 420  |
| gccctggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggactca                 | 480  |
| ggcgcctga ccagcggcgt gcacacccctc ccggctgtcc tacagtccctc aggactctac              | 540  |
| tccctcagca gcgtggtgac cgtgcctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc                | 600  |
| aacgtgaatc acaagccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt                | 660  |
| gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc                | 720  |
|                                                                                 |      |
| ttcctttcc cccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca                 | 780  |
| tgcgtggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggta agttcaactg gtacgtggac                 | 840  |
| ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac               | 900  |
| cgtgtggta gcgtcctcac cgtcctgac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag                 | 960  |
| tgcaaggta ccaacaaagc cctccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaa                  | 1020 |
| gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccggatga gctgaccaag                 | 1080 |
| aaccaggta gcctgaccc cctggtaaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag                 | 1140 |
|                                                                                 |      |
| tgggagagca atggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcccccgt gctggactcc                 | 1200 |
| gacggctcct tcttcttata ttcaaagtc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg                | 1260 |
| aacgtttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc                | 1320 |
| ctctccctgt ctccggaa atga                                                        | 1344 |
|                                                                                 |      |
| <210> 360                                                                       |      |
| <211> 654                                                                       |      |
| <212> DNA                                                                       |      |
| <213> Artificial Sequence                                                       |      |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |      |
|                                                                                 |      |
| <400> 360                                                                       |      |
| gatatccaga tgaccaggc cccctccacc ctgtctgcct ctgtggcgaa cagagtgacc                | 60   |
|                                                                                 |      |
| atcacctgtc aggccctcga gtccatctac cgggtgtgg cctggatca gcagaaggct                 | 120  |
| ggcaaggccc ccaagctgtc gatctacgac accagcacac tggcctccgg cgtccctct                | 180  |

|                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----|
| agattctcg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccatctccag cctccagtgc                | 240 |
| gacgacgccc ccacctacta ttgtcaggc ggctactacg ccgactccta cggaatcgct                | 300 |
| ttcggcggag gcaccaaggt ggaaatcaa cgaactgtgg ctgcaccate tgtttcatc                 | 360 |
| ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgt cctgcigaat                | 420 |
| aactctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgcct ccaatcggt                  | 480 |
| <br>                                                                            |     |
| aactccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc                | 540 |
| accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtacc                | 600 |
| catcaggccc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca gggagagtg ttga                      | 654 |
| <210> 361                                                                       |     |
| <211> 1359                                                                      |     |
| <212> DNA                                                                       |     |
| <213> Artificial Sequence                                                       |     |
| <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide" |     |
| <400> 361                                                                       |     |
| cagtcggtgg aggagtccgg cggtcgcctg gtaaaagcctg acgaatccct gacactcacc              | 60  |
| tgcacagcct ctggattctc cctcagtagt tatgcaatga tctgggtccg ccaggtcca                | 120 |
| <br>                                                                            |     |
| ggggaggggc tggaatggat cggaaccatt agtactggtg gtatcacata ctacgcgagc               | 180 |
| tggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgatct gaaaatcacc                 | 240 |
| agtccgacaa ccgaggacac ggccacccat ttctgtgcca gagggggata tgctgctagt               | 300 |
| agtgcattt atctcccgta ctactttgac ttgtggggcc aaggaccct ggtcaccgtc                 | 360 |
| tcctcagcat ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctccctc caagagcacc              | 420 |
| tctggggca cagcgccct gggctgcctg gtcaaggact actccccga accggtgacg                  | 480 |
| gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccaggc ggcgtgcaca cttccggc tgtcctacag                | 540 |
| <br>                                                                            |     |
| tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cttccagcag cttggcacc                | 600 |
| cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt               | 660 |
| gagcccaaat ctgtgacaa aactcacaca tgcccacgt gcccagcacc tgaactcctg                 | 720 |
| gggggaccgt cagtcttcct cttccccc aaacccaagg acaccctcat gatctccgg                  | 780 |
| acccctgagg tcacatgcgt ggtggtgac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc                | 840 |
| aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag               | 900 |
| tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat               | 960 |

|                                                                      |      |
|----------------------------------------------------------------------|------|
| ggcaaggagt acaagtgc aa ggtctccaa ac aaaggccctcc cagccccat cgagaaaacc | 1020 |
| atctccaaag ccaaaggc gccccgagaa ccacagggtt acaccctgcc cccatcccg       | 1080 |
| gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc    | 1140 |
| gacatcgccg tggagtgggagagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct     | 1200 |
| cccggtctgg actccgacgg ctccttcttc ttatattcaa agtcaccgt ggacaagagc     | 1260 |
| aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac    | 1320 |
| tacacgcaga agagcctctc cctgtctccc gggaaatga                           | 1359 |

<210> 362

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 362

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gcagccgtgc tgaccagac accatcaccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtccacc | 60  |
| atcagttgcc agtccagtca gagtgtttat aataataaca acttagcctg gtttcagcag | 120 |
| aaacccgggc agcctccaa gcttctgatc tatctggcat ccactctggc atctgggtc   | 180 |
| ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagtca ctctcaccat cagcggcgtg  | 240 |
| cagtgtgacg atgctgccac ttattactgt ctaggtggtt gtgatgatga tgctgatact | 300 |

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| tttgcttcg ggggggac tgaggtggtg gtcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc     | 360 |
| ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttt aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg  | 420 |
| ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggaa aggtggataa cgccctccaa | 480 |
| tcggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc   | 540 |
| agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa  | 600 |
| gtcacccatc agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga  | 660 |
|                                                                    | 660 |

<210> 363

<211> 1368

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

&lt;400&gt; 363

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| gaagtgcagc tggtgaatc tggcgccgga ctggcgcagc ctggcgatc tctgagactg   | 60  |
| tcttgtccg cctccggctt ctccctgtcc tcctacgcta tgcacgggt gcgacaggcc   | 120 |
| cctggcaagg gcctggaaatg gatcggcacc atcttacccg gcgaaattac ctactaccc | 180 |
| tcctgggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtaccc  | 240 |
| cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtcttag aggccgtac  | 300 |

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| gccgccagct ccgttacta cctgccctac tacttcgacc tggggccca gggcacccctc | 360 |
| gtgacagtgt catctgcac caccaaggcc ccatcggtct tccccctggc accctctcc  | 420 |
| aagagcacct ctggggcac agcgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttcccgaa   | 480 |
| ccggtgacgg tgcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccgct  | 540 |
| gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcgc | 600 |
| ttggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac | 660 |
| aagaaagttt agccaaatc ttgtgacaaa actcacat gcccaccgtg cccagcacct   | 720 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| gaactctgg gggaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga caccctcatg     | 780  |
| atctccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag  | 840  |
| gtcaagttca actggtaacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgccc | 900  |
| gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtct gcaccaggac   | 960  |
| tggctgaatg gcaaggagta caagtgcac agtctccaaca aagccctccc agcccccattc | 1020 |
| gagaaaacca tctccaaagc caaaggccag ccccgagaac cacaggtgtt caccctgccc  | 1080 |
| ccatcccggtt atgagctgac caagaaccag gtcagcgtt cctgcctgtt caaaggcttc  | 1140 |

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| tatcccacgc acatcgccgt ggagtggag agcaatggc agccggagaa caactacaag   | 1200 |
| accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttct tatattcaaa gctcaccgtg | 1260 |
| gacaagagca ggtggcagca gggaaacgtc ttctcatgtt ccgtgtatgc tgaggcttg  | 1320 |
| cacaaccact acacgcagaa gaggctctcc ctgtctccgg gaaatgtt              | 1368 |

&lt;210&gt; 364

&lt;211&gt; 660

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

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

&lt;400&gt; 364

gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc agtcctccca gtccgtgtat aacaacaaca acctggctg gtatcagcag 120  
 aaacccggca aggtgccaa gctgctgatc tacctggctt ccacactggc ctctggcgtg 180  
 ccctctagat tctccggctc tggctctggc accgacttta ccctgaccat cagctccctc 240  
 cagtgcgagg atgcccac ctactattgc ctggcggct gcgacgacga cgccgatacc 300  
 tttgctttg gcgaggcac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360  
 ttcatcttcc cccatctga tgacgatggaa atcaaacgaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggaa aggtggataa cgccctccaa 480

tcggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540  
 agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtctt cgcctgcgaa 600  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcctgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga 660  
 660

<210> 365

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 365

Ala His Lys Asp

1

<210> 366

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 366

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

1 5 10

<210> 367

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 367

Gly Phe Leu Gly

1

<210> 368

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 368

Ala Leu Ala Leu

1