

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2025-0044762
(43) 공개일자 2025년04월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/28 (2013.01)
A61K 47/6803 (2023.08)
- (21) 출원번호 10-2025-7007047(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2020년07월17일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2022-7004165
원출원일자(국제) 2020년07월17일
심사청구일자 2023년07월17일
- (85) 번역문제출일자 2025년03월04일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/042573
- (87) 국제공개번호 WO 2021/011885
국제공개일자 2021년01월21일
- (30) 우선권주장
62/875,416 2019년07월17일 미국(US)
- (71) 출원인
더 리전트 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아
미국 94607-5200 캘리포니아주 오클랜드 플랭크린 스트리트 1111 12층
- (72) 발명자
콘클린, 딜런
미국, 캘리포니아 90095-7191, 로스앤젤레스, 스위트 920, 월셔 블러바드 10889
맥터모트, 마티나, 에스.
미국, 캘리포니아 90095-7191, 로스앤젤레스, 스위트 920, 월셔 블러바드 10889
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 아이피에스

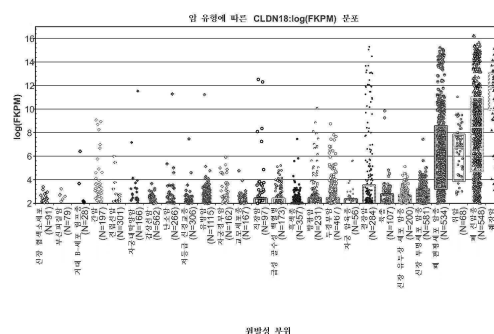
전체 청구항 수 : 총 84 항

(54) 발명의 명칭 CLAUDIN18 항체 및 암 치료 방법

(57) 요약

본 개시내용은 Claudin-18.2(CLDN18.2)에 결합하는 항원-결합 단백질; CLDN18.2 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항원-결합 단백질; 및 이들의 접합체를 제공한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 CLDN18.2의 세포외도메인의 세포외 루프 1(EL1)에 결합한다. 관련된 폴리펩타이드, 핵산, 벡터, 숙주 세포 및 접합체가 본 명세서에 추가로 제공된다. 이러한 독립체를 포함하는 키트 및 약제학적 조성물이 추가로 제공된다. 또한 항원-결합 단백질의 제조 방법 및 암을 갖는 대상체의 치료 방법이 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 47/6851 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2809 (2013.01)
G01N 33/57484 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/41 (2013.01)

(72) 발명자

오브라이언, 네일, 에이.

미국, 캘리포니아 90095-7191, 로스앤젤레스, 스위트 920, 월셔 블러바드 10889

팔라줄로, 마이클, 제이.

미국, 캘리포니아 90095-7191, 로스앤젤레스, 스위트 920, 월셔 블러바드 10889

슬라몬, 데니스

미국, 캘리포니아 90095-7191, 로스앤젤레스, 스위트 920, 월셔 블러바드 10889

명세서

청구범위

청구항 1

인간 Claudin18.2(CLDN18.2) 단백질(서열번호 1)에 결합하는 항원-결합 단백질로서,

a. 상기 항원-결합 단백질은 CLDN18.2의 세포외 도메인(ECD)의 세포외 루프 1(EL1)에 결합하고, CLDN18.2의 ECD의 세포외 루프 2(EL2)에 결합하지 않거나; 또는

b. Claudin18.1(CLDN18.1)에 결합하지 않고, 기준 항체의 친화도보다 1.5배 더 큰 친화도로 HUPT4 세포에 의해 내인성으로 발현되는 CLDN18.2에 결합하거나; 또는

c. 이들의 조합

인, 항원-결합 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, CLDN18.2의 잔기 28 내지 74의 아미노산 서열(서열번호 1) 내의 에피토프에 결합하는, 항원-결합 단백질.

청구항 3

제2항에 있어서, CLDN 18.2의 GLWRSCVRESSGFTECRFYFTL(서열번호 4), QGLWRSCVRESSGFTECRGYFTLK(서열번호 5), DQWSTQDLYNNPVTAVFNYQG LWRSC(서열번호 6) 또는 CRGYFTLLFLPAMLQAVR(서열번호 7)의 아미노산 서열에 결합하는, 항원-결합 단백질.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 항체는 서열번호 58의 경쇄 가변 서열 및 서열번호 59의 중쇄 가변 서열, 서열번호 60의 경쇄 가변 서열 및 서열번호 61의 중쇄 가변 서열, 또는 서열번호 62의 경쇄 가변 서열 및 서열번호 63의 중쇄 가변 서열을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 표 A에 제시된 중쇄(CDR) 1 아미노산 서열 또는 서열번호 64, 88, 69, 89, 72, 75, 91, 94, 95, 97, 99, 101, 103, 106, 109로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열;

b. 표 A에 제시된 HC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 65, 67, 70, 90, 73, 76, 92, 73, 96, 98, 100, 102, 104, 107, 110으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열;

c. 표 A에 제시된 HC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 66, 68, 71, 77, 74, 77, 93, 74, 105, 108, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열;

d. 표 A에 제시된 경쇄(LC) CDR1 아미노산 서열 또는 서열번호 78, 81, 82, 86, 114, 120, 123, 126으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열;

e. 표 A에 제시된 LC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 79, 112, 79, 84, 116, 118, 119, 129, 121, 124, 127

로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열;

f. 표 A에 제시된 LC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 80, 83, 113, 85, 87, 115, 117, 122, 125, 128로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 및

g. (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합

을 포함하는 항원-결합 단백질.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 80% 또는 적어도 또는 약 85%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 90%의 서열 동일성 또는 적어도 또는 약 95%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 8

제5항에 있어서, 표 A에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 경쇄 CDR2 아미노산 서열 및 경쇄 CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 중쇄 CDR 아미노산 서열 중 1 또는 2개를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 9

제5항에 있어서, 표 A에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 중쇄 CDR2 아미노산 서열 및 중쇄 CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 경쇄 CDR 아미노산 서열 중 1 또는 2개를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 10

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

- a. 서열번호 78, 79, 80, 64, 65, 66;
- b. 서열번호 81, 112, 80, 88, 65, 66;
- c. 서열번호 81, 79, 80, 64, 67, 68;
- d. 서열번호 82, 79, 83, 39, 70, 71;
- e. 서열번호 81, 79, 113, 89, 90, 77;
- f. 서열번호 81, 84, 85, 72, 73, 74;
- g. 서열번호 86, 79, 87, 75, 76, 77;
- h. 서열번호 114, 79, 115, 91, 92, 93;
- i. 서열번호 81, 116, 117, 94, 73, 74;
- j. 서열번호 81, 118, 117, 95, 96, 74;
- k. 서열번호 81, 119, 117, 97, 98, 74;
- l. 서열번호 81, 118, 85, 99, 100, 74;
- m. 서열번호 81, 129, 117, 101, 102, 74;
- n. 서열번호 120, 121, 122, 103, 104, 105;
- o. 서열번호 123, 124, 125, 106, 107, 108; 및
- p. 서열번호 126, 127, 128, 109, 110, 111

로 이루어진 군으로부터 선택된 6개의 CDR 아미노산 서열을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 11

제5항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

- a. 표 B에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 2, 34, 36, 38 및 40로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는
- b. 표 B에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 및 41로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는
- c. (a)와 (b) 둘 다

를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 80% 또는 적어도 약 85%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 90% 또는 적어도 약 95%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 14

제11항에 있어서,

- a. 서열번호 10과 11;
- b. 서열번호 12와 13;
- c. 서열번호 14와 15;
- d. 서열번호 16과 17;
- e. 서열번호 18과 19;
- f. 서열번호 20과 21;
- g. 서열번호 22와 23;
- h. 서열번호 24와 25;
- i. 서열번호 26과 27;
- j. 서열번호 28과 29;
- k. 서열번호 30과 31;
- l. 서열번호 32와 33;
- m. 서열번호 34와 35;
- n. 서열번호 36과 37;
- o. 서열번호 38과 39; 및
- p. 서열번호 40과 41

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 항체인, 항원-결합 단백질.

청구항 16

제15항에 있어서, 단클론성 항체인, 항원-결합 단백질.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, IgG 항체인, 항원-결합 단백질.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 연한천 3D 증식 분석에서 적어도 약 50% 콜로니 성장을 저해하는, 항원-결합 단백질.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 암세포를 주사한 이종이식 마우스에서 종양 성장을 저해하는, 항원-결합 단백질.

청구항 20

제19항에 있어서, 췌장암 세포, 위장암 세포, 방광암 세포 또는 결장 암세포를 주사한 이종이식 마우스의 종양 성장을 저해하는, 항원-결합 단백질.

청구항 21

제20항에 있어서, 췌장암 세포, 위장암 세포, 방광암 세포 또는 결장 암세포를 주사한 이종이식 마우스에서 적어도 50%의 종양 성장을 저해하는, 항원-결합 단백질.

청구항 22

항원-결합 단백질로서, (a) 표 A에 제시된 HC CDR1 아미노산 서열 또는 서열번호 64, 88, 69, 89, 72, 75, 91, 94, 95, 97, 99, 101, 103, 106, 109로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (b) 표 A에 제시된 HC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 65, 67, 70, 90, 73, 76, 92, 73, 96, 98, 100, 102, 104, 107, 110으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (c) 표 A에 제시된 HC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 66, 68, 71, 77, 74, 77, 93, 74, 105, 108, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (d) 표 A에 제시된 LC CDR1 아미노산 서열 또는 서열번호 78, 81, 82, 86, 114, 120, 123, 126으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (e) 표 A에 제시된 LC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 79, 112, 79, 84, 116, 118, 119, 129, 121, 124, 127로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (f) 표 A에 제시된 LC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 80, 83, 113, 85, 87, 115, 117, 122, 125, 128로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열, 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 23

항원-결합 단백질로서,

a. 서열번호 78, 79, 80, 64, 65, 66;

b. 서열번호 81, 112, 80, 88, 65, 66;

- c. 서열번호 81, 79, 80, 64, 67, 68;
- d. 서열번호 82, 79, 83, 39, 70, 71;
- e. 서열번호 81, 79, 113, 89, 90, 77;
- f. 서열번호 81, 84, 85, 72, 73, 74;
- g. 서열번호 86, 79, 87, 75, 76, 77;
- h. 서열번호 114, 79, 115, 91, 92, 93;
- i. 서열번호 81, 116, 117, 94, 73, 74;
- j. 서열번호 81, 118, 117, 95, 96, 74;
- k. 서열번호 81, 119, 117, 97, 98, 74;
- l. 서열번호 81, 118, 85, 99, 100, 74;
- m. 서열번호 81, 129, 117, 101, 102, 74;
- n. 서열번호 120, 121, 122, 103, 104, 105;
- o. 서열번호 123, 124, 125, 106, 107, 108; 및
- p. 서열번호 126, 127, 128, 109, 110, 111

로 이루어진 군으로부터 선택된 6개의 CDR 아미노산 서열을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 24

항원-결합 단백질로서,

- a. 표 B에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 및 40로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는
- b. 표 B에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 및 41로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는
- c. (a)와 (b) 둘 다를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 85%의 서열 동일성 또는 약 90% 또는 약 95%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 26

항원-결합 단백질로서,

- a. 서열번호 10과 11;
- b. 서열번호 12와 13;
- c. 서열번호 14와 15;
- d. 서열번호 16과 17;
- e. 서열번호 18과 19;
- f. 서열번호 20과 21;
- g. 서열번호 22와 23;

- h. 서열번호 24와 25;
- i. 서열번호 26과 27;
- j. 서열번호 28과 29;
- k. 서열번호 30과 31;
- l. 서열번호 32와 33;
- m. 서열번호 34와 35;
- n. 서열번호 36과 37;
- o. 서열번호 38과 39; 및
- p. 서열번호 40과 41

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 27

항원-결합 단백질로서,

- a. 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 서열번호 42, 46, 49, 52, 55, 56, 57 및 131로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는
- b. 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 43, 44, 45, 47, 48, 50, 51, 53, 54, 130, 132, 147, 149 및 150로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는
- c. (a)와 (b) 둘 다를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 85%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 29

제27항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 90% 또는 약 95%의 서열 동일성을 갖는, 항원-결합 단백질.

청구항 30

항원-결합 단백질로서,

- a. 서열번호 42와 43;
- b. 서열번호 42와 44;
- c. 서열번호 42와 45;
- d. 서열번호 46과 47;
- e. 서열번호 46과 48;
- f. 서열번호 131과 149;
- g. 서열번호 131과 150;
- h. 서열번호 52와 53;
- i. 서열번호 52와 54;
- j. 서열번호 55와 53;
- k. 서열번호 55와 54;

- l. 서열번호 56과 53;
- m. 서열번호 56과 54;
- n. 서열번호 57과 50;
- o. 서열번호 57과 51;
- p. 서열번호 49와 50;
- q. 서열번호 49와 51;
- r. 서열번호 42와 130;
- s. 서열번호 131과 147; 및
- t. 서열번호 131과 132

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 비푸코실화된(afucosylated) 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는, 항원-결합 단백질.

청구항 32

CLDN18.2 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항원-결합 단백질로서, CLDN18.2에 결합하는 상기 항원-결합 단백질은 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질 또는 본 명세서에 기재된 것인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 33

제32항에 있어서, CLDN18.2에 결합하는 상기 항원-결합 단백질은

- a. 표 B, 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열;
- b. 표 B, 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는
- c. (a)와 (b) 둘 다

를 포함하는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 35

제32항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 폴리펩타이드를 포함하는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 36

제32항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 37

제32항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원에 특이적인 항체의 항원-결합 단편을 포함하는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 38

제32항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원은 T 세포에 의해 발현되는 세포 표면 단백질, 선택적으로 T-세포 수용체(TCR)의 성분, 예를 들어 CD3인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 39

제32항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원은 CD3인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 40

제32항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원은 CD3E인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 41

제32항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원은 T-세포 활성화를 돕는 공자극 분자, 예를 들어, CD40 또는 4-1BB(CD137)인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 42

제32항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원은 Fc 수용체, 선택적으로, Fc 감마 수용체, Fc-알파 수용체 또는 Fc-엡실론 수용체인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 Fc 수용체는 CD64(Fc-감마 RI), CD32(Fc-감마 RIIA), CD16A(Fc-감마 RIIB), CD16b(Fc-감마 RIIB), FcεRI, CD23(Fc-엡실론 RII), CD89(Fc-엡실론 RI), Fcα/μR 또는 FcRn인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 Fc 수용체는 CD16A인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 45

제32항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원은 면역 관문 분자, 예를 들어, 면역 관문 경로에 관련된 단백질, 선택적으로, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA4, IDO, KIR, LAG3, NOX2, PD-1, TIM3, VISTA 또는 SIGLEC7인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 면역 관문 분자는 PD-1, LAG3, TIM3 또는 CTLA4인, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 47

제32항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체(예를 들어, 표 B, 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9 또는 표 10) 중 어느 것의 scFv, Fab, 또는 F(ab)₂'를 포함하는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 48

제32항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 표 11에 제시된 서열 또는 서열번호 143, 144, 145 또는 146, 또는 1 내지 5개의 아미노산만큼 다르고 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열을 포함하는 항원-결합 단백질을 포함하는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 변이체 서열은 적어도 또는 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 50

제32항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 나노바디, 다이어바디(diabody), BiTE®, DART, TandAb, CrossMab 또는 HSAbody의 구조를 포함하는, 이중특이성 항원-결합 단백질.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질 또는 본 명세서에 기재된 것을 포함하는, 접합체.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 항원-결합 단백질은 서열번호 42 및 서열번호 45에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 접합체.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 세포독성제 또는 화학치료제를 포함하는, 접합체.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 화학치료제는 튜블린 중합을 차단함으로써 세포분열을 저해하는 항유사분열제인, 접합체.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 항유사분열제는 아우리스타틴인, 접합체.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 아우리스타틴은 MMAE인, 접합체.

청구항 57

제51항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제는 절단성 링커를 통해 상기 항원-결합 단백질에 접합된, 접합체.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 절단성 링커는 MC-VC-PAB인, 접합체.

청구항 59

제51항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 단백질은 항체인, 접합체.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 항체는 단클론성 항체이되, 선택적으로 상기 단클론성 항체는 IgG 항체인, 접합체.

청구항 61

제59항 또는 제60항에 있어서, 상기 항체는 인간 항체, 인간화된 항체 또는 키메라 항체인, 접합체.

청구항 62

제51항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수는 1 내지 8 범위이되, 바람직하게는 상기 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수는 3 내지 8의 범위인, 접합체.

청구항 63

제51항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 이질 접합체인, 접합체.

청구항 64

제51항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 동질 접합체인, 접합체.

청구항 65

제51항 내지 제62항 및 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제는 상기 항원-결합 단백질의 특정 부위에 접합되는, 접합체.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 특정 부위는 짝지어지지 않은 시스테인 잔기인, 접합체.

청구항 67

제51항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체는 MC-VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 42 및 서열번호 45에 제시된 아미노산을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 접합체.

청구항 68

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질 또는 본 명세서에 기재된 것을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 69

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제50항 중 어느 한 항의 이중특이성 항원-결합 단백질, 제51항 내지 제67항 중 어느 한 항의 접합체, 또는 제68항의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산.

청구항 70

제69항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 71

제69항의 핵산 또는 제70항의 벡터를 포함하는, 숙주 세포.

청구항 72

Claudin18.2(CLDN18.2) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 생성하는 방법으로서, (i) 세포 배양 배지에서 제71항의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 제1항 내지 제71항 중 어느 한 항의 항원 결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 단계, 및 (ii) 세포 배양 배지로부터 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 채취하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 73

Claudin18.2(CLDN18.2) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 생성하는 방법으로서, (i) 세포 배양 배지에서 제71항의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 제69항의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는, 단계, 및 (ii) 세포 배양 배지로부터 융합 단백질을 채취하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 74

약제학적 조성물의 생산 방법으로서, 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제50항 중 어느 한 항의 이중특이성 항원-결합 단백질, 제51항 내지 제67항 중 어느 한 항의 접합체, 제68항의 융합 단백질, 제69항의 핵산, 제70항의 벡터, 제71항의 숙주 세포 또는 이들의 조합물, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 방법.

청구항 75

약제학적 조성물로서, 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제50항 중 어느 한 항의 이중특이성 항원-결합 단백질, 제51항 내지 제67항 중 어느 한 항의 접합체, 제68항의 융합 단백질, 제69항의 핵산, 제70항의 벡터, 제71항의 숙주 세포 또는 이들의 조합물, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 76

CLDN18.2-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 암을 치료하기 위한 유효량으로 제75항의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 77

대상체에서의 종양 성장을 저해하는 방법으로서, 종양 성장을 저해하기 위한 유효량으로 제75항의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 78

대상체에서의 종양 크기를 감소시키는 방법으로서, 종양 크기를 감소시키기 위한 유효량으로 제75항의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 79

대상체에서의 암의 재발을 방지하는 방법으로서, 암의 재발을 방지하기 위한 유효량으로 제75항의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 80

CLDN18.2의 낮은 과발현자인 것으로 진단된 대상체에서 암을 진단하는 방법으로서, 암의 재발을 방지하기 위한 유효량으로 제75항의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법

청구항 81

제76항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 종양 세포에서 세포자멸사를 유발하는, 방법.

청구항 82

제76항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여하는 단계는 CLDN18.2를 발현시키는 세포에서 세포자멸사를 유발하는, 방법.

청구항 83

샘플에서 Claudin18.2(CLDN18.2)를 검출하는 방법으로서, 상기 샘플을 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제50항 중 어느 한 항의 이중특이성 항원-결합 단백질, 제51항 내지 제67항 중 어느 한 항의 접합체, 또는 제68항의 융합 단백질과 접촉시키는 단계 및 CLDN18.2에 결합된 상기 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체에 대해 분석하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 84

대상체에서 Claudin18.2(CLDN18.2)-양성 암을 진단하는 방법으로서, 상기 대상체로부터 얻은 세포 또는 조직을 포함하는 생물학적 샘플을 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항원-결합 단백질, 제32항 내지 제50항 중 어느 한 항의 이중특이성 항원-결합 단백질, 제51항 내지 제67항 중 어느 한 항의 접합체, 또는 제68항의 융합 단백질과 접촉시키는 단계, 및 CLDN18.2에 결합된 상기 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시내용은 일반적으로 claudin 18.2에 특이적인 항체 및 암을 치료하기 위한 이의 용도에 관한 것이다.

[0002] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0003] 본 출원은 2019년 7월 17일자로 출원된 미국 특허 가출원 제62/875,416호의 유익을 주장하며, 상기 출원의 전문은 본 명세서에 이의 전문이 참조에 의해 인용된다.

배경 기술

[0004] 항체는 세포, 박테리아, 바이러스 또는 독소 상에서 별개의 항원을 특이적으로 표적화하는 이들의 능력으로 인해 제한된 부작용을 특징으로 하는 강력한 치료제를 구성한다. 1986년에, 첫 번째 치료적 단클론성 항체인 오소클론 OKT3이 시장에 도입되었다. 이후로, 이런 부류의 생체의약품 제품은 상당히 성장되어왔다. 2014 후반에, 암 및 염증, 심혈관, 호흡기 및 감염성 질환을 포함하는 다양한 질환의 치료를 위해 47개의 단클론성 항체 제품이 미국 또는 유럽에서 승인되었다.

[0005] 암을 치료하기 위해 미식품 의약국에 의해 현재 12가지 초과된 단클론성 항체가 승인되어 있다. 이들 제제 중에는 만성 림프구성 백혈병(CLL)용으로 지시되는 알렘투주맵(Campath®) 및 유방암 치료용으로 사용되는 트라스투주맵(Herceptin®)이 있다. 일부 항체는, 예를 들어, 브렌투시맵 베도틴(Adcetris®) 및 아도-트라스투주맵 엠탄신(Kadcyla®)을 포함하는, 화학치료약물로 표지된다. 다른 항체 제품, 예컨대, 블리나투모맵(Blinicyto)은 두 상이한 항원을 인식하고 결합하도록 설계되어 있다. 이러한 항체 제품의 상업적 이용 가능성에도 불구하고, 현재의 암 발생률 및 암 사망은 높게 남아있다. 암 발생률은 1년에 100,000명의 남성 및 여성당 450명 초과이며, 암 사망률은 1년에 100,000명의 남성 및 여성당 단지 170명 초과인 것으로 보고되었다.

발명의 내용

[0006] Claudin-18(CLDN18)에 결합하는 항원-결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18에 결합하고, 마우스 CLDN18에 선택적으로 결합한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 CLDN18의 세포외 도메인(extracellular domain: ECD)에 결합한다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용은 CLDN18.2에 대한 항원 결합 단백질을 제공한다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 CLDN18.2의 ECD의 세포외 루프 1(EL1)에 결합한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 CLDN18.2의 ECD의 EL1에 결합하고, 세포외 루프 2(EL2)에는 결합하지 않는다. 다양한 실시형태에서, CLDN18.2에 결합하는 항원 결합 단백질은 CLDN18.2의 잔기 28 내지 74의 아미노산 서열(서열번호 1) 내의 에피토프에 결합한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합은 CLDN 18.2의 GLWRSCVRESSGFTECRFYFTL(서열번호 4), QGLWRSCVRESSGFTECRGYFTLK(서열번호 5), DQWSTQDLYNNPVTAVFNYQG LWRSC(서열번호 6) 또는 CRGYFTLLFLPAMLQAVR(서열번호 7)의 아미노산 서열에 결합한다.

[0007] 다양한 예에서, 항원 결합 단백질은 CLDN18.2에 결합하고, Claudin 패밀리의 임의의 다른 구성원에는 결합하지 않는다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단백질은 인간 암 세포, 예를 들어, HUPT4 췌장 세포에 의해 내인성으로 발현되는 CLDN18.2에 결합한다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항원-결합 단백질에 부착되는 임의의 다른 모이어티 없이 대상체, 예를 들어, 인간에서의 종양 성장을 저해한다. 다양한 예에서, 이중성 모이어티에 비접합된(예를 들어, 임의의 화학치료제, 약물 또는 독성 모이어티에 비접합된) 항원-결합 단백질은 대상체, 예를 들어, 인간에서의 종양 성장을 저해한다.

[0008] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 암세포에 의해 발현되는 CLDN18.2에 결합한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2와 기준 항-CLDN18.2 항체 사이의 결합 상호작용을 저해한다. 특정 이론으로 구속되는 일 없이, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 저해 작용은 이러한 독립체가 종양 성장을 감소시키고 종양 또는 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법에서 유용하게 되는 것을 가능하게 한다. 본 명세서에 추가로 논의되는 바와 같이, 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 항체, 이의 항원-결합 항체 단편, 또는 항체 단백질 생성물이다.

[0009] 본 개시내용은 또한 아미노산 서열의 구체화된 그룹 중 적어도 3, 4, 5개 또는 모든 아미노산 서열을 포함하는 항원-결합 단백질을 제공한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체의 적어도 3, 4, 5 또는 6개의 상보성 결정 영역(complementary determining region: CDR) 아미노산 서열을 포함한다.

[0010] 본 개시내용은 본 명세서에서 상술되는 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항원-결합 단백질을 추가로 제공한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 본 명세서에 추가로 기재되는 바와 같은 표 A, 표 B, 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10, 표 11에 열거된 서열번호의 아미노산 서열 또는 이들의 조합을 포함한다.

- [0011] 본 개시내용은 CLDN18.2 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항원-결합 단백질을 제공한다. 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 제2 항원은 세포 표면 단백질, 선택적으로, 결합이 면역 반응을 조절하는 단백질일 수 있다. 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 구조, 예를 들어, 다이아바디, TandAb(탠덤 다이아바디), BiTE(이중특이성 T 세포 관여자) 등을 취할 수 있다. 예시적인 이중특이성 항원-결합 단백질은 표 11에 제시된 서열을 포함한다.
- [0012] 본 개시내용은 또한 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질 및 이중성 모이어티(예를 들어, 세포 독성 약물)를 포함하는 접합체를 제공한다. 접합체는 절단성 링커 또는 비절단성 링커를 포함할 수 있다. 접합체는 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질에 접합된 다양한 수의 이중성 모이어티(제제), 바람직하게는 단백질당 1 내지 8개의 제제 또는 단백질당 3 내지 8개의 제제를 가질 수 있다. 접합체는 부위-특이적 접합체일 수 있다. 접합체는 동질 접합체 또는 이질 접합체일 수 있다.
- [0013] 관련된 폴리펩타이드, 핵산, 벡터, 숙주 세포 및 접합체가 본 명세서에 추가로 제공된다. 이러한 독립체를 포함하는 키트 및 약제학적 조성물이 추가로 상정된다.
- [0014] 또한 항원-결합 단백질의 제조 방법이 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 항원-결합 단백질 또는 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다.
- [0015] 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 추가로 본 명세서에 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 대상체에서 암을 치료하는 데 유효한 양으로 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0016] 또한 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 CLDN18.2-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 다양한 실시형태에서, CLDN18.2-발현 암은 CLDN18.2를 발현시킨다. 추가로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 성장을 저해하는 방법이 상정된다.
- [0017] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 크기를 감소시키거나, 대상체에서의 암의 재발을 예방하는 방법.
- [0018] 또한 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, CLDN18, 예컨대, CLDN18.2의 낮은 과발현자(over-expresser)인 것으로 진단된 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다.
- [0019] 다양한 실시형태에서, 투여하는 단계는 종양 세포에서, 예를 들어, CLDN18, 특히, CLDN18.2를 발현시키는 세포에서 세포자멸사를 유발한다. 다양한 실시형태에서, 투여는 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC) 또는 보체-의존적 세포독성(CDC), 종양 괴사 및 세포의 사멸 또는 고갈, 및/또는 종양 세포 접착의 붕괴를 유발하며, 이들 각각은 종양 퇴행 또는 종양 성장의 늦춤을 초래한다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 암 유형의 패널에서의 CLDN18.2 발현의 그래프를 나타낸 도면.
- 도 2는 추가적인 암 유형에서의 CLDN18.2 발현의 그래프를 나타낸 도면.
- 도 3은 RNASeq에 의해 결정된 바와 같은 암 세포주에서의 CLDN18.1 및 CLDN18.2 발현의 그래프를 나타낸 도면.
- 도 4는 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 암 세포주의 표면 상에서 CLDN18.2를 검출하는 본 명세서에 기재된 항-CLDN18.2 항체의 능력을 도시한 도면.
- 도 5A는 키메라 항-CLDN18.2 항체에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 상부 위장관(SNU601) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(mm^3) 그래프를 나타낸 도면. 도 5B는 동일한 처리군에서 제30일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화 그래프를 나타낸 도면.
- 도 6A는 키메라 항-CLDN18.2 항체에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 췌장(HUPT4) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(mm^3) 그래프를 나타낸 도면. 도 6B는 동일한 처리군에서 제28일에 종양 용적(mm^3)의 평균 변화 그래프를 나타낸 도면.
- 도 7A는 인간화된 항-CLDN18.2 항체에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 췌장(HUPT4) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(mm^3) 그래프를 나타낸 도면. 도 7B는 동일한 처리군에서 제42일에 종양 용적(mm^3)의

평균 변화 그래프를 나타낸 도면.

도 8A는 인간화된 항-CLDN18.2 항체에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 상이한 투약 스케줄 후 체장(HUPT4) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤)를 도시한 도면. 도 8B는 동일한 처리군에서 제42일에 종양 용적(㎤)의 평균 변화 그래프를 나타낸 도면.

도 9A는 인간화된 항-CLDN18.2 항체 약물 접합체(ADC)에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 체장(HUPT4) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면. 도 9B는 단일 용량의 항-CLDN18.2 ADC 또는 대조군 항체로 치료된 마우스에서의 종양 용적(㎤)의 그래프를 나타낸 도면.

도 10A는 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 ADC에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 체장(PATU8988S) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면. 도 10B는 동일한 처리군에서 제33일에 종양 용적(㎤)의 평균 변화 그래프를 나타낸 도면.

도 11은 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 ADC에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 SNU601 위 암종을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면.

도 12A는 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 항체 약물 접합체(ADC)에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 체장(HUPT4) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면. 도 12B는 동일한 처리군에서 제32일에 종양 용적(㎤)의 그래프를 나타낸 도면.

도 13은 본 명세서에 기재된 CLDN18.2 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 제시한 도면.

도 14A는 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 항체 약물 접합체(ADC)에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 CLDN18.2를 발현시키는 체장 환자-유래(PDX) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면. 도 14B는 동일한 처리군에서 제27일에 종양 용적(㎤)의 그래프를 나타낸 도면. 도 14C는 PDX 모델에 대해 CLDN18.2 발현을 나타내는 면역조직화학(IHC)을 나타낸 도면.

도 15A는 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 항체 약물 접합체(ADC)에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 CLDN18.2를 발현시키지 않는 체장 환자-유래(PDX) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면. 도 15B는 동일한 처리군에서 제18일에 종양 용적(㎤)의 그래프를 나타낸 도면. 도 15C는 PDX 모델에 대해 CLDN18.2 발현의 결여를 나타내는 면역조직화학(IHC)을 나타낸 도면.

도 16A는 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 항체 약물 접합체(ADC)에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 CLDN18.2를 발현시키지 않는 흑색종(M202) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면. 도 16B는 동일한 처리군에서 제23일에 종양 용적(㎤)의 그래프를 나타낸 도면.

도 17은 항체 307-4h 및 358-h3에 대한 서열 및 추가적인 서열 변이를 나타낸 도면. 이들 항체는 잠재적 제조성(manufacturability) 서열 경향(liability)에 대한 추가적 정보를 제공하기 위해 생성되었다.

도 18은 유세포분석에 의해 분석할 때 천연 양성 세포(CLDN18.2의 내인성 발현을 갖는 세포) 또는 인공적으로 과발현된 세포(CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포)에 대한 인간화된 항체 결합 활성을 나타낸 도면.

도 19는 인간 CLDN18.2, 인간 CLDN18.1, 마우스 CLDN18.2, 개 CLDN18 및 랫트 CLDN18에 대한 인간화된 항체 결합 활성을 나타낸 도면.

도 20은 HUPT4 세포에서 CLDN18.2 인간화된 항체에 의한 항체 내재화의 시험관내 특성규명을 나타낸 도면.

도 21A는 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포 또는 CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포에 대한 인간화된 CLDN18.2 항체의 결합 친화도(KD)를 나타낸 도면. 도 21B는 다양한 암 세포주에 대한 CLDN18.2 발현 수준을 나타낸 도면. pNK-307-h1F06-4는 307-h4 항체를 지칭하고; pNK-358-h2c10-3은 358-h3 항체를 지칭하며; #307-6h는 307-6h 항체를 지칭하고; #358-5h는 358-5h 항체를 지칭한다.

도 22A는 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 항체(307-4h, 307-6h, 358-3h 및 358-5h)에 의한 치료 후에 시간(일수)의 함수로서 체장(HUPT4) 종양을 보유하는 마우스에서의 종양의 종양 용적(㎤) 그래프를 나타낸 도면. 도 22B는 동일한 처리군에서 제24일에 종양 용적(㎤)의 그래프를 나타낸 도면.

도 23A 내지 도 23C는 CLDN18.2-CD3 이중특이성 T 세포 관여자(BiTE)의 서열(도 23A 및 도 23C) 및 CLDN18.2-CD16 TandAb의 서열(도 23B 및 도 23C)을 나타낸 도면.

도 24A 내지 도 24E는 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포 또는 CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포에

대한 CLDN18.2-CD3 BiTE의 결합 활성을 나타낸 도면. 결합 활성은 유세포분석에 의해 분석되었다.

도 25A 내지 도 25E는 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포 또는 CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포에 대한 CLDN18.2-CD16 TandAb의 결합 활성을 나타낸 도면. 결합 활성은 유세포분석에 의해 분석되었다.

도 26A 내지 도 26E는 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포 또는 CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포에 대한 CLDN18.2-CD16 TandAb의 결합 활성을 나타낸 도면. 결합 활성은 유세포분석에 의해 분석되었다.

도 27A는 유세포분석에 의해 분석할 때 Jurkat 세포에 대한 CLDN19.2-CD3 BiTE의 결합 활성을 나타낸 도면. 도 27B는 BiTE를 갖는 Jurkat 세포의 표면 염색을 나타낸 도면.

도 28은 NFAT-RE 리포터를 갖는 Jurkat 세포를 이용하고, CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포 또는 CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포를 사용하는 CLDN18.2-CD3 BiTE를 이용하는 T-세포 활성화 분석을 나타낸 도면.

도 29는 NFAT-RE 리포터를 갖는 Jurkat 세포를 이용하고, CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포 또는 CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포를 사용하는 CLDN18.2-CD3 BiTE를 이용하는 T-세포 활성화 분석을 나타낸 도면.

도 30A 내지 도 30F는 치료 5일 후에 CLDN18.2-CD3 BiTE 세포독성 분석의 대표적인 이미지를 나타낸 도면.

도 31은 치료 5일 후에 CLDN18.2-CD3 BiTE의 락트산염 탈수소효소(LDH) 활성을 나타낸 도면.

도 32는 상이한 용량의 항-CLDN18.2 BiTE를 이용한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 체장(HUPT4) 중량을 보유하고 인간 PBMC를 주사한 마우스에서의 중량의 종양 용적(mm³)의 그래프를 나타낸 도면.

도 33A는 상이한 용량의 인간화된 항-CLDN18.2 BiTE에 의한 치료 후 시간(일수)의 함수로서 체장(HUPT4) 중량을 보유하는 인간화된 BLT 마우스에서의 중량의 종양 용적(mm³) 그래프를 나타낸 도면. 도 33B는 동일한 처리군에서 제28일에 종양 용적(mm³)의 그래프를 나타낸 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 본 개시내용은 CLDN18.2-발현 암을 치료하기 위해 CLDN18에 대한, 예를 들어, CLDN18.2에 특이적인 항원 결합 단백질을 기재한다. 항-CLDN18.2 항체는 세포-세포 연결에서의 CLDN18.2 기능의 직접 차단을 통해서 뿐만 아니라 면역 보충을 통해 효과적인 것으로 여겨진다.

[0022] *Claudin* 패밀리

[0023] 폐쇄 연결(occluding junction) 또는 부착 이음부(zonulae occludente)로도 알려진 밀착연접은 세포사이 투과성을 조절하고, 상피 및 내피세포 시트에서의 세포 극성을 유지하는 두 인접 세포 사이에 위치된 척추동물 구조이다. 유전자의 claudin(CLDN) 패밀리는 밀착연접의 중요한 성분인 막 단백질을 암호화한다. CLDN 단백질은 4개의 막관통(TM) 나선(TM1, TM2, TM3 및 TM4) 및 2개의 세포외 루프(EL1 및 EL2)를 포함한다. 인접한 세포의 CLDN 단백질의 세포외 루프는 서로 상호작용하여 세포 시트를 밀봉하고, 내강과 기저측 공간 사이의 세포사이 수송을 조절한다.

[0024] CLDN 단백질은 다양한 인간 질환 및 병리에서 어떤 역할을 한다. 예를 들어, *CLDN1* 유전자에서의 돌연변이는 담관의 폐색과 함께 피부의 스케일링을 초래하는 것으로 나타났다. *CLDN16* 유전자의 돌연변이체는 마그네슘 소모 장애를 야기한다. *CLDN19* 돌연변이는 안구 병태, 예컨대, 황반 결손(macular colobomata) 및 근시를 야기하는 한편, *CLDN14* 돌연변이는 비증후군성 열성 난청을 야기할 수 있다. CLDN3 및 CLDN4는 장에서의 클로스트리듐 페르프린젠스(*Clostridium perfringens*) 엔테로톡신에 대한 표면 수용체인 것으로 알려져 있으며, CLDN1, CLDN6 및 CLDN9는 C형 간염(HCV) 진입(entry)을 위한 공동 수용체이다. 몇몇 CLDN 단백질은 암에서 비정상적으로 발현되는 것으로 나타났다. 예를 들어, CLDN1은 유방암 및 결장암에서 하향조절되는 반면, CLDN3 및 CLDN4는 다수의 암에서 고도로 상향조절된다.

[0025] Claudin-6(CLDN6)은 CLDN 패밀리의 구성원이다. 인간 CLDN6 단백질을 암호화하는 유전자는 16p13.3에서 인간 염색체 16의 p 아암 상에 위치되고, 침팬지, 레서스 원숭이, 개, 소, 마우스, 랫트, 제브라피시 및 개구리에서 보존된다. CLDN6은 일반적으로 인간에서 220-아미노산 전구체 단백질로서 발현되며; 이의 처음 21개의 아미노산은 신호 펩타이드를 구성한다.

[0026] Claudin-18(CLDN18)은 비생식계열 성인 조직에 대체로 존재하지 않는 밀착연접 단백질이다. CLDN18.2는 비-줄기

세포에 비해 줄기 세포에서 상승된다. 인간 *CLDN18* 유전자는 2개의 대안의 제1 엑손을 가지며, 이는 제1 세포의 루프를 포함하는 N-말단의 69개의 아미노산(Niimi et al., Mol Cell Biol 2001;21:7380-90)과 상이한 2개의 단백질 아이소폼(CLDN18.1 및 CLDN18.2)을 생성한다. 두 변이체는 제1 세포의 도메인에서 51개의 아미노산 중 8개의 아미노산에서 상이하며, 이들의 제2 세포의 루프의 서열은 동일하다. CLDN18.2는 정상 위 조직에만 존재한다. CLDN18.2는 췌장, 식도 및 폐암에서 과발현된다. 높은 중앙-정상 발현 차이뿐만 아니라 중앙 생물학에서의 이의 추정적 역할은 CLDN18.2를 고도로 매력적인 치료적 표적으로 만든다. CLDN18.2 전구체 단백질의 아미노산 서열은 미국 국립생물정보센터(NCBI) 웹사이트에서 NCBI 참조 서열 NP_001002026으로서 공개적으로 입수 가능하며, 본 명세서에서 서열번호 1로서 제공된다. 세포의 루프1은 서열번호 1의 아미노산 28에서 80까지 실행되며, EL2는 서열번호 1의 아미노산 144 내지 174이다. Claudin-18.2에 결합하는 항체는 미국 특허 제 10,137,195호에 기재되어 있다.

[0027] 항원 결합 단백질

[0028] Claudin-18(CLDN18)에 결합하는 항원-결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 다양한 실시형태에서, 항원 결합 단백질은 아이소폼 CLDN18.2에 결합한다. 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 당업계에 공지된 항원-결합 단백질의 다수 형태 중 어느 하나를 취할 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항체, 또는 항원-결합 항체 단편, 또는 항체 단백질 생성물의 형태를 취한다.

[0029] 본 개시내용의 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 항체를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나, 이루어진다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "항체"는 통상적인 면역글로불린 형식을 갖고, 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 가변 및 불변 영역을 포함하는 단백질을 지칭한다. 예를 들어, 항체는 폴리펩타이드 쇄의 2개의 동일한 쌍의 "Y-형" 구조인 IgG일 수 있으며, 각 쌍은 1개의 "경"쇄(전형적으로 분자량이 약 25kDa임) 및 1개의 "중"쇄(전형적으로 분자량이 약 50 내지 70kDa임)를 가진다. 항체는 가변 영역 및 불변 영역을 가진다. IgG 형식에서, 가변 영역을 일반적으로 약 100 내지 110개 이상의 아미노산이며, 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하고, 주로 항원 인식을 초래하고, 상이한 항원에 결합하는 항체에서 실질적으로 다르다. 불변 영역은 항체가 면역계의 세포 및 분자를 보충하도록 허용한다. 가변 영역은 각 경쇄 및 중쇄의 N-말단의 영역으로 이루어지는 반면, 불변 영역은 중쇄 및 경쇄 각각의 C-말단의 부분으로 이루어진다. (Janeway et al., "Structure of the Antibody Molecule and the Immunoglobulin Genes", Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 4th ed. Elsevier Science Ltd./Garland Publishing, (1999)).

[0030] 항체의 CDR의 일반적 구조 및 특성은 당업계에 기재되어 있다. 간략하게 말해서, 항체 스캐폴드에서, CDR은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내 프레임워크 내에 함입되어 있고, 여기서, 이들은 대체로 항원 결합 및 인식을 초래하는 영역을 구성한다. 가변 영역은 전형적으로 프레임워크 영역 내에서(문헌[Kabat et al., 1991]에 의해 프레임워크 영역 1 내지 4, FR1, FR2, FR3 및 FR4로 표기; 또한 문헌[Chothia and Lesk, 1987] 상기 참조) 적어도 3개의 중쇄 또는 경쇄 CDR(문헌[Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Public Health Service N.I.H., Bethesda, Md.]; 또한 문헌[Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342: 877-883] 참조)을 포함한다. 관련된 실시형태에서, 프레임워크의 잔기는 변경된다. 변경될 수 있는 중쇄 프레임워크 영역은 중쇄 CDR 잔기를 둘러싸는 H-FR1, H-FR2, H-FR3 및 H-FR4로 표기되는 영역 내에 놓여있고, 변경될 수 있는 경쇄 프레임워크 영역의 잔기는 경쇄 CDR 잔기를 둘러싸는 L-FR1, L-FR2, L-FR3 및 L-FR4로 표기되는 영역 내에 놓여있다. 프레임워크 영역 내의 아미노산은, 예를 들어, 인간 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크에서 확인되는 임의의 적합한 아미노산으로 대체될 수 있다.

[0031] 항체는 당업계에 공지된 임의의 불변 영역을 포함할 수 있다. 인간 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로서 분류된다. 중쇄는 뮤, 델타, 감마, 알파 또는 엡실론으로서 분류되고, 항체의 아이소타입을 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로서 나타낸다. IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 몇몇 하위부류를 가진다. IgM은 IgM1 및 IgM2를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하위부류를 가진다. 본 개시내용의 실시형태는 항체의 모든 이러한 부류 또는 아이소타입을 포함한다. 경쇄 불변 영역은, 예를 들어, 카파- 또는 람다-유형 경쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파- 또는 람다-유형 경쇄 불변 영역일 수 있다. 중쇄 불변 영역은, 예를 들어, 알파-, 델타-, 엡실론-, 감마- 또는 뮤-유형 중쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 알파-, 델타-, 엡실론-, 감마- 또는 뮤-유형 중쇄 불변 영역일 수 있다. 따라서, 다양한 실시형태에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 중 어느 하나를 포함하는 아이소타입 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM의 항체이다. 다양한 양상에서, 항체는 반감기/안정성을 개선시키기 위해 또는 발현/제조성에 더 적합한 항체를 제공하기 위해, 천연-유래 상대에 대해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 불변 영역을 포함한다. 다양한 예에서, 항체는 불변 영역을 포함하되, 천연 유래 상대

에 존재하는 C-말단의 Lys 잔기는 제거되거나 또는 잘린다.

[0032] 항체는 단클론성 항체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 포유류, 예를 들어, 마우스, 토끼, 염소, 말, 닭, 햄스터, 인간 등에 의해 생성된 천연 유래 항체와 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 이와 관련하여, 항체는 포유류 항체, 예를 들어, 마우스 항체, 토끼 항체, 염소 항체, 말 항체, 닭 항체, 햄스터 항체, 인간 항체 등으로서 간주될 수 있다. 특정 양상에서, 항원-결합 단백질은 항체, 예컨대, 인간 항체이다. 특정 양상에서, 항원-결합 단백질은 키메라 항체 또는 인간화된 항체이다. 용어 "키메라 항체"는 둘 이상의 상이한 항체로부터의 도메인을 포함하는 항체를 지칭한다. 키메라 항체는, 예를 들어, 하나의 종으로부터의 불변 도메인 및 두 번째 이상의 종으로부터의 가변 도메인을 포함하고, 일반적으로, 적어도 2개의 종으로부터의 아미노산 서열의 신장을 포함할 수 있다. 키메라 항체는 또한 동일 종 내에서 둘 이상의 상이한 항체의 도메인을 포함할 수 있다. 용어 "인간화된"은 항체에 관해 사용될 때, 본래의 공급원 항체보다 진정한 인간 항체와 더 유사한 구조 및 면역학적 기능을 갖도록 조작된 비-인간 공급원으로부터의 적어도 CDR 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 예를 들어, 인간화는 비-인간 항체, 예컨대, 마우스 항체로부터의 CDR을 인간 항체에 접합시키는 것을 수반할 수 있다. 인간화는 또한 비-인간 서열을 인간 서열과 더 유사하게 만들기 위해 아미노산 치환을 선택하는 것을 수반할 수 있다. 인간 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역에 대한 서열 정보를 포함하는 정보는 Uniprot 데이터베이스뿐만 아니라 항체 조작 및 생산 분야에서 잘 공지되어 있는 다른 데이터베이스를 통해 공개적으로 입수 가능하다. 예를 들어, IgG2 불변 영역은 Uniprot 데이터베이스로부터 본 명세서에 참조에 의해 인용되는 Uniprot 번호 P01859로서 입수 가능하다.

[0033] 항체는 효소, 예컨대, 파파인 및 펩신에 의해 단편으로 절단될 수 있다. 파파인은 항체를 절단하여 2개의 Fab 단편 및 단일 Fc 단편을 생성한다. 펩신은 항체를 절단하여 F(ab')₂ 단편 및 pFc' 단편을 생성한다. 본 개시내용의 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항체의 항원-결합 단편(항원-결합 항체 단편, 항원-결합 단편, 항원-결합 부분이라고도 함)이다. 다양한 예에서, 항원-결합 항체 단편은 Fab 단편 또는 F(ab')₂ 단편이다.

[0034] 항체의 구조는 적어도 약 12 내지 150kDa의 분자량 범위에 걸쳐있고, 단량체(n = 1), 내지 이량체(n = 2), 내지 삼량체(n = 3), 내지 사량체(n = 4), 및 잠재적으로는 더 높은 결합가(n) 범위를 갖는, 증가되는 범위의 대안의 항체 형식을 생성하는데 이용되었고; 이러한 대안의 항체 형식은 본 명세서에서 "항체 단백질 생성물"로서 지칭된다. 항체 단백질 생성물은 전체 항원 구조에 기반하는 것 및 전체 항원-결합 능력을 보유하는 항체 단편을 포함하는 것, 예컨대, scFv, Fab 및 VHH/VH(이하에 논의)를 포함한다. 이의 완전한 항원 결합 부위를 보유하는 가장 작은 항원-결합 단편은 가변(V) 영역으로 완전히 이루어진 Fv 단편이다. 가용성, 가요성 아미노산펩타이드 링커는 분자의 안정화를 위해 scFv(단일쇄 단편 가변) 단편에 V 영역을 연결하는 데 사용되거나, 또는 불변(C) 도메인은 Fab 단편[단편, 항원-결합]을 생성하기 위해 V 영역에 첨가된다. scFv와 Fab 단편은 둘 다 숙주 세포, 예를 들어, 원핵 숙주 세포에서 용이하게 생성될 수 있다. 다른 항체 단백질 생성물은 이항화결합 안정화된 scFv(ds-scFv), 단일쇄 Fab(scFab)뿐만 아니라 올리고머화 도메인에 연결된 scFv로 이루어진 상이한 형식을 포함하는 다이머바디, 트라이머바디 및 테트라바디 또는 미니바디(미니Ab)와 같은 이량체 및 다량체 항체 형식을 포함한다. 가장 작은 단편은 낙타과 중쇄 Ab뿐만 아니라 단일 도메인 Ab(sdAb)의 VHH/VH이다. 신규한 항체 형식을 생성하기 위해 가장 빈번하게 사용되는 빌딩 블록은 대략 15개의 아미노산 잔기의 펩타이드 링커에 의해 연결된 중쇄 및 경쇄(VH 및 VL 도메인)로부터의 V 도메인을 포함하는 단일쇄 가변(V)-도메인 항체 단편(scFv)이다. 펩티바디 또는 펩타이드-Fc 융합은 또 다른 항체 단백질 생성물이다. 펩티바디의 구조는 Fc 도메인 상에 접합된 생물학적으로 활성인 펩타이드로 이루어진다. 펩티바디는 당업계에 잘 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Shimamoto et al., mAbs 4(5): 586-591 (2012)] 참조.

[0035] 다른 항체 단백질 생성물은 단일쇄 항체(SCA); 다이머바디; 트라이머바디; 테트라바디; 이중특이성 또는 삼중특이성 항체 등을 포함한다. 이중특이성 항체는 5가지 주요 분류로 나눌 수 있다: BsIgG, 현수된 IgG, 이중특이성 항체(BsAb) 단편, 이중특이성 융합 단백질 및 BsAb 접합체. 예를 들어, 문헌[Spiess et al., Molecular Immunology 67(2) Part A: 97-106 (2015)] 참조.

[0036] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 이들 항체 단백질 생성물 중 어느 하나를 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이루어진다. 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 scFv, Fab VHH/VH, Fv 단편, ds-scFv, scFab, 이량체 항체, 다량체 항체(예를 들어, 다이머바디, 트라이머바디, 테트라바디), 미니Ab, 펩티바디 VHH/VH of 낙타과 중쇄 항체, sdAb, 다이머바디; 트라이머바디; 테트라바디; 이중특이성 또는 삼중특이성 항체, BsIgG, 현수된 IgG, BsAb 단편, 이중특이성 융합 단백질 및 BsAb 접합체 중 어느 하나를

포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이루어진다.

- [0037] 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 단량체 형태 또는 다량체, 올리고머 또는 다량체 형태의 항체 단백질 생성물이다. 항체가 둘 이상의 별개의 항원 결합 영역 단편을 포함하는 특정 실시형태에서, 항체는 항체에 의해 인식되고 결합되는 별개의 에피토프 수에 따라서 이중특이성, 삼중특이성, 또는 다중-특이성, 또는 2가, 3가, 또는 다가로 간주된다.
- [0038] 다양한 실시형태에서, 항-CLDN18.2 항체 또는 이의 항체 변이체는 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 단클론성 항체, 재조합 항체, 항원-결합 항체 단편, 단일쇄 항체, 단량체 항체, 다이머바디, 트라이머바디, 테트라머바디, Fab 단편, IgG1 항체, IgG2 항체, IgG3 항체 및 IgG4 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0039] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 치료제에 연결된다. 이하에 기재되는 바와 같이, 화학치료제, 사이토카인 및 성장 인자, 세포독성제 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 치료제가 당업계에 공지될 수 있다. 이하의 "접합체" 참조.
- [0040] *이중특이성 형식*
- [0041] 예시적 양상에서, 항원-결합 단백질은 이중특이성이고, 따라서, 2개의 상이하고 별개인 항원에 결합할 수 있다. 예시적 실시형태에서, 항원 결합 단백질은 이중특이성이고, CLDN18.2 및 제2 항원에 결합한다.
- [0042] 예시적 예에서, 제2 항원은 T-세포에 의해 발현되는 세포 표면 단백질이다. 예시적 양상에서, 세포 표면 단백질은 T-세포 수용체(TCR), 예를 들어, CD3의 구성성분이다. 예시적 예에서, 제2 항원은 T-세포 활성화를 돕는 공자극 분자, 예를 들어, CD40 또는 4-1BB(CD137)이다. 예시적 양상에서, 제2 항원은 Fc 수용체이다. 다양한 양상에서, Fc 수용체는 Fc 감마 수용체, Fc-알파 수용체, Fc-엡실론 수용체이다. 예시적 양상에서, Fc 수용체는 CD64(Fc-감마 RI), CD32(Fc-감마 RIIA), CD16A(Fc-감마 RIIIA), CD16b(Fc-감마 RIIB), Fc ε RI, CD23(Fc-엡실론 RII), CD89(Fc-엡실론 RI), Fc α/μ R 또는 FcRn이다. 예시적 양상에서, Fc 수용체는 CD16A이다. 예시적 예에서, 제2 항원은 면역 관문 분자, 예를 들어, 면역 관문 경로에 관련된 단백질이다. 면역 관문 경로 및 여기서 작용하는 분자 또는 단백질은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Pardoll, Nat Rev Genet 12(4): 252-264 (2012)] 참조. 예시적 예에서, 면역 관문 분자는 A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA4, IDO, KIR, LAG3, NOX2, PD-1, TIM3, VISTA 또는 SIGLEC7이다. 선택적으로, 면역 관문 분자는 PD-1, LAG3, TIM3 또는 CTLA4이다.
- [0043] 이중특이성 항원-결합 단백질의 50가지 이상의 형식이 당업계에 공지되어 있으며, 이 중 일부는 문헌 [Kontermann and Brinkmann, Drug Discovery Today 20(7): 838-847 (2015); Zhang et al., Exp Hematol Oncol 6:12(2017); Spiess et al., Mol Immunol.; 67(2 Pt A):95-106 (2015)]에 기재되어 있다. 예시적 양상에서, 이중특이성 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 화학적 조작, 유전자 조작 또는 쿼드로마(quadroma) 기술을 통해 생성된다.
- [0044] 예시적 양상에서, 항체의 불변 도메인의 일부 또는 모두를 갖는 이중특이성 항원-결합 단백질이 작제된다. 예시적 양상에서, 이중특이성 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함하고, Fc-매개 효과기 기능을 보유한다. 다양한 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은, 예를 들어, 두 단클론성 항체(mab)의 화학적 교차에 의해, 또는 노브 앤 홀드(knob and hold) 기술에 의해 형성된 이중특이성 단클론성 항체이다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 H쇄 이형이량체가 2개의 CH3 도메인에 상이한 돌연변이를 도입함으로써 비대칭 항체를 생성하게 하는 "노브-인투-홀" 기술을 통해 생성된다. "노브" 돌연변이는 하나의 HC로 만들어지며, "홀" 돌연변이는 다른 HC에서 생성되어 이형이량체를 촉진시킨다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 목적하는 특이성을 갖는 단클론성 항체를 생성하는 두 상이한 하이브리도마의 체세포 융합에 기반한 쿼드로마 기술에 의해 생성된 이중특이성 항체이다. 문헌[Zhang et al., 2017, 상기 참조]. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 crossMab, 오쏘-Fab IgG, DVD-Ig, 투인원(two in one) IgG, IgG-scFv 및 scFv₂-Fc이다(Kontermann and Brinkmann, 2015, 상기 참조)이다. 다양한 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 Ig-scFv 융합이되, 새로운 항원-결합 모이어티는 전장 IgG에 첨가되어, 두 별개의 항원에 대해 4가인 융합 단백질, 예를 들어, IgG C-말단의 scFv 융합 및 IgG N-말단의 scFv 융합을 초래한다. 예시적 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 이중-가변-도메인-IgG(DVD-IgG)이되, 하나의 항원에 특이적인 IgG의 LC 및 HC 가변 영역은 링커를 통해 제2 항원에 특이적인 IgG의 N-말단의 LC 및 HC 가변 영역에 융합되어 DVD-IgG를 형성한다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 IgG의 Fab 단편의 이중특이성 다이머바디로의 대체를 수반하는 다이머바디-Fc 융합이다.
- [0045] 대안의 예에서, 이중특이성 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함하지 않는다. 예시적 양

상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 각 모체 단클론성 항체의 가변 도메인을 포함하고, 링커는 클로닝되고 연결되어 단일쇄 이중특이성 항체를 형성한다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 탠덤 scFvs, 다이어바디 형식, 단일쇄 다이어바디, 탠덤 다이어바디(TandAb), 이중-친화도 재표적화 분자(DART), 도크-앤-락(dock-and-lock: DNL) 및 나노바디이다(Fan et al., J Hematol Oncol. 2015; 8:130). 다양한 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 이중특이성 F(mab)¹₂, scFv, 이중특이성 다이어바디(BsDb), 단일쇄 이중특이성 다이어바디(scBsDb), 단일쇄 이중특이성 탠덤 가변 도메인(scBsTaFv), 도크-앤-락 3가 Fab(DNL-(Fab)3), 단일-도메인 항체(sdAb) 또는 이중특이성 단일-도메인 항체(BssdAb)이다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 추가 펩타이드 링커, 예컨대, 글리신-세린 반복부 모티프에 의해 연결되는 2개의 scFv 단편을 포함하는 탠덤 scFv이다. 선택적으로, 탠덤 scFv는 구조: VL_A-링커1-VH_A-링커2-VH_B-링커3-VL_B(VL 및 VH는 단일쇄 항체 단편으로부터 유래되고; A 및 B는 모 단클론성 항체 A 및 B를 나타냄)를 포함한다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 단일 폴리펩타이드 쇠에 연결된 VL 및 VH 도메인의 2개의 쌍을 포함하는 TandAb이다(Reusch et al., MABs. 2015; 7(3):584-604). 2개의 폴리펩타이드 생성물은 헤드-투-테일 방식으로 이량체화되어, 발현 시 거대 분자량을 갖는 동형이량체(~105 kDa)를 형성한다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 문헌 [PNAS 108(27): 11187-92(2011)]에 기재되어 있는 crossMab 기술을 이용하여 생성되는 것이다. CrossMab은 임의의 화학적 링커 또는 커넥터를 갖지 않으며, 이중특이성 이형이량체 IgG 항체에서 정확한 경쇄 결합을 하게 하는 방법에 의해 생성된다. 예시적 양상에서, CrossMab은 2가(1+1), 3가(2+1) 및 4가(2+2) 이중특이성 crossMab이거나, 또는 비-Fc 탠덤 항원-결합 단편(Fab)-기반 crossMab이다. 예시적 예에서, crossMab은 crossMab^{Fab}, crossMab^{VH-VL} 또는 crossMab^{CH1-CL}이다.

[0046] 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 단일 단량체 가변 항체 도메인을 포함하는, 단일-도메인 항체, 또는 나노바디를 포함한다. 선택적으로, 가변 도메인은 중쇄 가변 도메인에 기반한다. 대안의 양상에서, 가변 도메인은 경쇄 가변 도메인에 기반한다.

[0047] 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 이중특이성 T 세포 관여자 또는 BiTE®이다. BiTE는 가요성 펩타이드 링커에 의해 연결된 scFv 형태로 항체의 가변 영역만을 포함하는 2가 소분자이다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체의 LC 및 HC 가변 영역 및 제2 항원에 특이적인 제2 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함하는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, BiTE는 CD3에 특이적인 제2 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3은 CD3E이다.

[0048] 예시적 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 BiTEs®와 달리, DART의 2개의 쇠 사이의 공유 결합이 항원-결합 부위의 자유를 제한하는, 이중 친화도 재표적화(DART)이다. 따라서, DART는 구조적으로 뻣뻣하고, 표적화 효과기 세포 사이의 안정한 접촉을 형성할 수 있다. DART는 2개의 조작된 Fv 단편을 포함하며, 이는 자체의 VH가 나머지 하나의 VH로 교환된다. 상호 교환된 Fv 도메인은 유리하게는 짧은 연결 펩타이드에 의해 입체구조적 제약으로부터 변이체 단편을 해제한다.

[0049] 예시적 양상에서, 이중특이성 항원 결합 단백질은 변형된 HSA에 융합된 2개의 scFv를 포함하는 HSABody이다. HSABody는 문헌[McDonagh et al., Mol Cancer Ther. 2012;11(3):582-93]에 기재되어 있다.

[0050] 따라서, 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 예시적 양상에서, 항원 결합 단편은 Fab이다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체의 F(ab)²를 포함한다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 임의의 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함하는 scFv를 포함한다. 예시적 양상에서, scFv는 서열번호 514 또는 515의 아미노산 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역에 기반하며, 다른 양상에서, 항원 결합 단편은 경쇄 가변 영역에 기반한다. 예시적 양상에서, 항원 결합 단편은 HC 가변 영역과 LC 가변 영역 둘 다의 적어도 일부를 포함한다. 예시적 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체의 LC 또는 HC 가변 영역 둘 다가 아닌 경우에 적어도 하나 및 제2 항원에 특이적인 제2 항체의 LC와 HC 가변 영역 둘 다가 아닌 경우에 적어도 하나를 포함한다. 예시적 예에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체의 LC 및 HC 가변 영역 및 제2 항원에 특이적인 제2 항체의 LC 및 HC 가변 영역을 포함하는 scFv를 포함한다.

[0051] CLDN18 및 에피토프

[0052] 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CLDN18.2에 결합한다. 다양한 양상에서, CLDN18.2는 하기 아미노산 서열을

갖는 인간 CLDN18.2 아이소폼이다:

MAVTACQGLGFVVSLLIGIAGIIAATCMDQWSTQDLYNNPVTAVFNY
QGLWRSCVRESSGFTTECRGYFTLLGLPAMLQAVRALMIVGIVLGAIG
LLVSIFALKCIRIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVSGLCAIAGVSVFAN
MLVTNFWMSTANMYTGMGGMVQTVQTRYTFGAALFVGWVAGGL
TLIGGVMMCIACRGLAPEETNYKAVSYHASGHSVAYKPGGFKASTG
FGSNTKNKKIYDGGARTEDEVQSYPKHDYV (서열번호 1)

[0053]

[0054]

다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CLDN18.2의 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합한다. 다양한 양상에서, CLDN18.2는 인간 CLDN18.2이고, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2의 아미노산 서열, 예를 들어, 서열번호 1 내의 에피토프에 결합한다. "에피토프"는 항원-결합 단백질에 의해 결합되는 CLDN18.2의 또는 이것 내의 영역을 의미한다. 일부 실시형태에서, 에피토프는 선형 에피토프이다. "선형 에피토프"는 항원-결합 단백질에 의해 결합된 CLDN18.2의 또는 이것 내의 영역을 지칭하며, 이 영역은 CLDN18.2의 아미노산 서열의 인접한 아미노산으로 구성된다. 선형 에피토프의 아미노산은 CLDN18.2의 1차 구조에서 서로 인접해 있다. 따라서, 선형 에피토프는 항원, 즉, CLDN18.2의 아미노산 서열의 단편 또는 일부이다. 다른 다양한 실시형태에서, 에피토프는 입체구조적 또는 구조적 에피토프이다. "입체구조적 에피토프" 또는 "구조적 에피토프"는 CLDN18.2가 이의 적절하게 폴딩된 상태일 때에만 서로 근위에 위치되는 아미노산으로 구성된 에피토프를 의미한다. 선형 에피토프와 달리, 입체구조적 또는 구조적 에피토프의 아미노산은 CLDN18.2의 1차 구조(즉, 아미노산 서열)에서 서로 인접해 있지 않다. 입체구조적 또는 구조적 에피토프는 항원(CLDN18.2)의 아미노산 서열의 인접한 아미노산으로 이루어지지 않는다.

[0055]

다양한 양상에서, 에피토프는 CLDN18.2, 예를 들어, 인간 CLDN18.2의 세포외 도메인(ECD) 내에 위치된다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단백질은 서열번호 1의 잔기 28 내지 80의 아미노산 서열을 갖는 CLDN18.2의 ECD의 세포외 루프 1(EL1)에 결합한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질이 결합하는 에피토프는 CLDN 18.2의 GLWRSCVRESSGFTTECRFYFTL(서열번호 4), QGLWRSCVRESSGFTTECRGYFTLK(서열번호 5), DQWSTQDLYNNPVTAVFNYQG LWRSC(서열번호 6) 또는 CRGYFTLLFLPAMLQAVR(서열번호 7) 내에 있다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 EL1에 결합하지만, CLDN18.2의 세포외 루프 2(EL2)에 결합하지 않는다. 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원 결합 단백질이 결합하는 에피토프(들)는 서열번호 58의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 서열번호 59의 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하거나 또는 서열번호 60의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 서열번호 61에 의해 암호화된 중쇄 가변 서열, 또는 서열번호 62의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 또는 서열번호 63에 의해 암호화된 중쇄 가변 서열을 포함하는, 항-CLDN18.2 항체에 의해 결합되는 에피토프와 상이하다.

[0056]

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2 및 비-인간 CLDN18.2에 결합한다. 다양한 예에서, 비-인간 CLDN18.2는 침팬지, 레서스 원숭이, 개, 소, 마우스, 랫트, 제브라피시 또는 개구리의 CLDN18.2이다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2 및 마우스 CLDN18.2에 결합한다.

[0057]

친화도 및 결합활성

[0058]

본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질은 비-공유적 및 가역적 방식으로 CLDN18.2에 결합한다. 다양한 실시형태에서, CLDN18.2에 대한 항원-결합 단백질의 결합 강도는 항원-결합 단백질과 에피토프 결합 부위 사이의 상호작용 강도의 척도인 이의 친화도에 관해 기재될 수 있다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질은 CLDN18.2에 대해 고친화도를 갖고, 따라서, 저친화도 항원-결합 단백질 더 단기간에 보다 다량의 CLDN18.2에 결합할 것이다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 적어도 10^5 mol^{-1} , 적어도 10^6 mol^{-1} , 적어도 10^7 mol^{-1} , 적어도 10^8 mol^{-1} , 적어도 10^9 mol^{-1} , 또는 적어도 10^{10} mol^{-1} 또는 적어도 10^{10} mol^{-1} 적어도 10^{10} mol^{-1} 인 평형 결합 상수인 K_A 를 가진다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, K_A 는 pH, 온도 및 완충제 조성을 포함하는 인자에 의해 영향을 받을 수 있다.

[0059]

다양한 실시형태에서, CLDN18.2에 대한 항원-결합 단백질의 결합 강도는 이의 민감성에 관해 기재될 수 있다. K_D 는 항원-결합 단백질과 CLDN18.2 사이의 k_{off}/k_{on} 비인 평형 해리 상수이다. K_D 및 K_A 는 역으로 관련된다. K_D 값은 항원-결합 단백질(특정 실험에 필요한 항원-결합 단백질의 양)의 농도에 관한 것이며, 따라서 K_D 값이 낮을수록

록(저농도) 항원-결합 단백질의 친화도는 더 높다. 다양한 양상에서, CLDN18.2에 대한 항원-결합 단백질의 결합 강도는 K_D 에 관해 기재될 수 있다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 K_D 는 약 10^{-1} , 약 10^{-2} , 약 10^{-3} , 약 10^{-4} , 약 10^{-5} , 약 10^{-6} 이하이다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 K_D 는 마이크로몰, 나노몰, 피코몰 또는 펨토몰이다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 K_D 는 약 10^{-4} 내지 10^{-6} 또는 10^{-7} 내지 10^{-9} 또는 10^{-10} 내지 10^{-12} 또는 10^{-13} 내지 10^{-15} 또는 10^{-9} 내지 10^{-12} 또는 10^{-9} 내지 10^{-15} 의 범위 이내이다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 K_D 는 약 1.0×10^{-12} M 내지 약 1.0×10^{-8} M의 범위 이내이다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 K_D 는 약 1.0×10^{-11} M 내지 약 1.0×10^{-9} M의 범위 이내이다.

[0060]

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질의 친화도는 유세포측정- 또는 형광-활성화 세포 분류(FACS)-기반 분석을 이용하여 측정되거나, 등급화된다. 유세포측정-기반 결합 분석은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Cedeno-Arias et al., Sci Pharm 79(3): 569-581 (2011); Rathanaswami et al., Analytical Biochem 373: 52-60 (2008); 및 Geuijen et al., J Immunol Methods 302(1-2): 68-77 (2005)] 참조. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질의 친화도는 문헌[Trikha et al., Int J Cancer 110: 326-335 (2004) 및 Tam et al., Circulation 98(11): 1085-1091 (1998)]에 기재된 바와 같은 분석을 이용하여 측정되거나, 등급화된다. 이하의 표제 "경쟁 분석" 부문을 참조한다. 문헌[Trikh et al.]에서, 항원을 발현시키는 세포가 방사성분석에서 사용되었다. 세포 표면 항원에 대한 ^{125} I-표지된 항원-결합 단백질(예를 들어, 항체)의 결합은 현탁액 중 세포를 이용하여 측정된다. 다양한 양상에서, CLDN18.2 항체의 상대 친화도는 FACS-기반 분석을 통해 결정되며, 형광단에 접합된 상이한 농도의 CLDN18.2 항체는 세포 발현 CLDN18.2와 함께 인큐베이션되고, 방출된 형광(항체-항원 결합의 직접 척도임)이 결정된다. 각 용량 또는 농도에 대한 형광을 플롯팅하는 곡선을 생성한다. max 값은 형광 안정기를 유지하거나 최대값에 도달되고, 결합할 때 포화가 일어나는 가장 낮은 농도이다. max 값의 절반은 EC50 또는 IC50으로 간주되며, 가장 낮은 EC50/IC50을 갖는 항체는 동일한 방식으로 시험한 다른 항체에 대해 가장 높은 친화도를 갖는 것으로 간주된다. 이러한 분석은 본 명세서의 실시예 5에 기재된다.

[0061]

다양한 양상에서, IC₅₀ 값은 경쟁적 결합 저해 분석에서 결정될 때 항원-결합 단백질의 K_D 에 근사한다. 다양한 예에서, 이하에 논의하는 바와 같이, 경쟁 분석은 기준 항체, 형광단-접합 2차 항체, 및 CLDN18.2를 발현시키는 세포를 이용하여 수행한 FACS-기반 분석이다. 다양한 양상에서, 세포는 CLDN18.2를 과발현시키기 위해 유전자 조작된다. 일부 양상에서, 세포는 CLDN18.2를 발현시키기 위해 바이러스 벡터로 형질도입된 HEK293T 세포이다. 대안의 양상에서, 세포는 CLDN18.2를 내인성으로 발현시킨다. FACS-기반 분석이 수행되기 전에, 일부 양상에서, CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포는 낮은 CLDN18.2-발현 세포 또는 높은 CLDN18.2-발현 세포로서 사전 결정된다. 일부 양상에서, 세포는 암세포 또는 종양 세포이다. 다양한 양상에서, 세포는 세포주, 예를 들어, 난소 세포주, 자궁내막 세포주, 방광 세포주, 폐 세포주, 위장(GI) 세포주, 간 세포주, 폐 세포주 등으로부터의 세포이다. 다양한 양상에서, CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포는 HUPT4 췌장 세포, UMUC-4 방광 세포, MKN7, KATO III, SNU601, NUGC4, NUGC3, SNU620 SNU520 및 OE19 상부 GI 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 세포에 의해 발현되는 인간 CLDN18.2와 기준 항체 간의 결합 상호작용을 저해하며, 이 기준 항체는 CLDN18.2에 결합하지만, 본 개시내용의 항원-결합 단백질에는 결합하지 않는 것으로 알려져 있다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2에 대한 결합에 대해 기준 항체와 경쟁하고, 이에 의해 시험관내 경쟁 결합 분석에 의해 결정되는 바와 같이 기준 항체에 결합되는 인간 CLDN18.2의 양을 감소시킨다. 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2와 기준 항체 사이의 결합 상호작용을 저해하고, 저해는 IC₅₀에 의해 특성규명된다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2와 기준 항체 사이의 결합 상호작용을 저해하는 데 약 2500nM 미만의 IC₅₀을 나타낸다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 약 2000nM 미만, 약 1500nM 미만, 약 1000nM 미만, 약 900nm 미만, 약 800nm 미만, 약 700nm 미만, 약 600nm 미만, 약 500nm 미만, 약 400nm 미만, 약 300nm 미만, 약 200nm, 또는 약 100nm 미만의 IC₅₀을 나타낸다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 약 90nM 미만, 약 80nM 미만, 약 70nM 미만, 약 60nM 미만, 약 50nM 미만, 약 40nM 미만, 약 30nM 미만, 약 20nM 미만 또는 약 10nM 미만의 IC₅₀을 나타낸다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원 결합 단백질은 CLDN18.2에 대한 결합에 대해 CLDN18.2에 결합하는 것으로 알려진 기준 항체에 경쟁한다(이 기준 항체는 본 개시내용의 임의의 항원-결합 단백질과 상이함). 경쟁 분석 하의 추가적인 설명을 참

조한다.

[0062] 결합활성은 항체-항원 복합체의 전반적 강도의 척도를 제공한다. 이는 3가지 주요 파라미터에 의존한다: 에피토프에 대한 항원-결합 단백질의 친화도, 항원-결합 단백질과 CLDN18.2 둘 다의 결합가, 및 상호작용하는 부분의 구조적 배열. 항원-결합 단백질의 결합가(항원 결합 부위의 수)가 클수록, 이것이 결합할 수 있는 항원(CLDN18.2)의 양은 많다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 CLDN18.2에 대해 강한 결합활성을 가진다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 다가이다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 2가이다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 1가이다.

[0063] 교차-반응성

[0064] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CLDN18.2에 결합하고, CLDN 패밀리의 임의의 다른 구성원에 결합하지 않고, 예를 들어, CLDN 패밀리의 임의의 다른 구성원과 교차 반응하지 않는다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CLDN18.2-특이적이다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CLDN18.1에 대한 항원-결합 단백질, 또는 다른 CLDN 단백질의 선택성보다 적어도 10-배, 5-배, 4-배, 3-배, 2-배 더 큰 CLDN18.2에 대한 선택성을 가진다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 CLDN18.1 각각에 대한 항원-결합 단백질 또는 임의의 다른 CLDN 단백질의 선택성보다 적어도 10-배, 5-배, 4-배, 3-배, 2-배 더 큰 CLDN18.2에 대한 선택성을 가진다. 선택성은 CLDN18.2, 또는 CLDN 패밀리의 구성원에 대해 항원 결합 단백질에 의해 나타나는 K_D 에 기반할 수 있되, K_D 는 당업계에서 공지된 기법, 예를 들어, 표면 플라즈몬 공명, FACS-기반 친화도 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0065] 경쟁 분석

[0066] 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2와 기준 항체 간의 결합 상호작용을 저해하며, 이 기준 항체는 CLDN18.2에 결합하지만, 본 개시내용의 항원-결합 단백질에는 결합하지 않는 것으로 알려져 있다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2에 대한 결합에 대해 기준 항체와 경쟁하고, 이에 의해 시험관내 경쟁 결합 분석에 의해 결정되는 바와 같이 기준 항체에 결합되는 인간 CLDN18.2의 양을 감소시킨다. 다양한 실시형태에서, 기준 항체는 인간 CLDN18.2의 세포의 도메인의 아미노산 서열 내에서, 선택적으로, EL2 또는 EL1 내에서 에피토프에 결합한다. 다양한 양상에서, 기준 항체는 서열번호 58에 의해 암호화되는 경쇄 가변 서열, 및 서열번호 59에 의해 암호화되는 중쇄 가변 서열을 포함하거나, 또는 서열번호 60의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및 서열번호 61에 의해 암호화된 중쇄 가변 서열, 또는 서열번호 62의 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및 서열번호 63에 의해 암호화된 중쇄 가변 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2와 기준 항체 사이의 결합 상호작용을 저해하고, 저해는 IC_{50} 에 의해 특성규명된다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2와 기준 항체 사이의 결합 상호작용을 저해하는 데 약 2500nM 미만의 IC_{50} 을 나타낸다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 약 2000nM 미만, 약 1500nM 미만, 약 1000nM 미만, 약 900nM 미만, 약 800nM 미만, 약 700nM 미만, 약 600nM 미만, 약 500nM 미만, 약 400nM 미만, 약 300nM 미만, 약 200nM, 또는 약 100nM 미만의 IC_{50} 을 나타낸다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 약 90nM 미만, 약 80nM 미만, 약 70nM 미만, 약 60nM 미만, 약 50nM 미만, 약 40nM 미만, 약 30nM 미만, 약 20nM 미만 또는 약 10nM 미만의 IC_{50} 을 나타낸다.

[0067] 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2에 대한 결합에 대해 기준 항체와 경쟁하고, 이에 의해 시험관내 경쟁 결합 분석에 의해 결정되는 바와 같이 기준 항체에 결합되는 인간 CLDN18.2의 양을 감소시킨다. 다양한 양상에서, 시험관내 경쟁 결합 분석은 기준 항체의 Fc에 결합하는 형광단-접합 2차 항체의 형광이 특정 양의 본 개시내용의 항원-결합 단백질의 부재 또는 존재 하에 측정되는 FACS-기반 분석이다. 이러한 FACS-기반 분석은 본 명세서에서 실시예에 기재된다. 다양한 양상에서, FACS-기반 분석은 기준 항체, 형광단-접합 2차 항체 및 CLDN18.2를 발현시키는 세포를 이용하여 수행된다. 다양한 양상에서, 세포는 CLDN18.2를 과발현시키기 위해 유전자 조작된다. 일부 양상에서, 세포는 CLDN18.2를 발현시키기 위해 바이러스 벡터로 형질도입된 HEK293T 세포이다. 대안의 양상에서, 세포는 CLDN18.2를 내인성으로 발현시킨다. FACS-기반 분석이 수행되기 전에, 일부 양상에서, CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포는 낮은 CLDN18.2-발현 세포 또는 높은 CLDN18.2-발현 세포로서 사전 결정된다. 일부 양상에서, 세포는 암세포 또는 종양 세포이다. 다양한 양상에서, 세포는 세포주, 예를 들어, 난소 세포주, 자궁내막 세포주, 방광 세포주, 폐 세포주, 위장(GI) 세포주, 간 세포주, 폐 세포주 등으로부터의 세포이다. 다양한 양상에서, CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포는 HUPT4 췌장 세포, UMC-4 방광 세포, MKN7, KATO III, SNU601, NUGC4, NUGC3, SNU620 SNU520 및 OE19 상부 GI 세포로 이루어진

군으로부터 선택된다. 다양한 예에서, 본 개시내용의 항원 결합 단백질은 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포 중 하나 이상에 의해 내인성으로 발현되는 CLDN18.2에 고친화도로 결합한다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단백질은 본 명세서에 기재된 HUPT4, UMUC-4, MKN7, KATO III, SNU601, NUGC4, NUGC3, SNU620 SNU520 및 OE19 세포 중 하나 이상을 이용하여 FACS-기반 경쟁 결합 저해 분석에서 결정된 바와 같은 약 3000nM 미만의 IC₅₀을 나타낸다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단백질은 HUPT4, UMUC-4, MKN7, KATO III, SNU601, NUGC4, NUGC3, SNU620 SNU520 및 OE19 세포 중 하나 이상을 이용하여 FACS-기반 경쟁 결합 저해 분석에서 결정된 바와 같은 약 2500nM 미만, 약 2000nM 미만, 약 1750nM 미만, 약 1500nM 미만, 약 1250nM 미만, 약 1000nM 미만, 약 750nM 미만 또는 약 500nM 미만의 IC₅₀을 나타낸다. 다양한 양상에서, 항원 결합 단백질은 HUPT4, UMUC-4, MKN7, KATO III, SNU601, NUGC4, NUGC3, SNU620 SNU520 및 OE19 세포 중 하나 이상을 이용하여 FACS-기반 경쟁 결합 저해 분석에서 결정된 바와 같은 약 400nM 미만, 약 300nM 미만, 약 200nM 미만, 약 100nM 미만, 약 75 nM 미만, 약 50nM 미만, 약 25 nM, 또는 약 10nM 미만의 IC₅₀을 나타낸다.

[0068] 항원 또는 이의 에피토프에 대한 결합에 대해 제2 항체와 경쟁하는 항체의 능력을 시험하는 다른 결합 분석, 예를 들어, 경쟁 결합 분석 또는 경쟁 분석은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Trikha et al., Int J Cancer 110: 326-335 (2004); Tam et al., Circulation 98(11): 1085-1091 (1998)] 참조. 미국 특허 출원 공개 제20140178905호, 문헌[Chand et al., Biologicals 46: 168-171 (2017); Liu et al., Anal Biochem 525: 89-91 (2017); 및 Goolia et al., J Vet Diagn Invest 29(2): 250-253 (2017)] 참조. 또한, 두 항체를 비교하는 다른 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 포함한다. SPR은 항체 및 2차 항체의 결합 상수를 결정하는 데 사용될 수 있으며, 두 결합 상수가 비교될 수 있다.

[0069] 항체 생성 방법 및 관련 방법

[0070] 항원-결합 단백질(예를 들어, 항체, 항원-결합 항체 단편 및 항체 단백질 생성물)의 적합한 제조 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 항체를 생성하기 위한 표준 하이브리도마 방법은, 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane (eds.), Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press (1988), 및 CA. Janeway et al. (eds.), Immunobiology, 5th Ed., Garland Publishing, New York, NY (2001)]에 기재되어 있다. CLDN18.2 단클론성 항체 또는 본 개시내용의 다양한 제조 방법은 본 명세서에서 실시예에 제공된다.

[0071] 숙주 종에 따라서, 숙주에 의한 더 큰 항체 생성을 야기하는 면역학적 반응을 증가시키기 위해 다양한 아류반트가 사용될 수 있다. 이러한 아류반트는 프로인트, 무기염 겔, 예컨대, 수산화알루미늄, 및 표면 활성 물질, 예컨대, 리소레스틴, 플루로닉 폴리에틸렌, 다가음이온, 펩타이드, 오일 에멀션, 키홀 림펫 헤모사이아닌(keyhole limpet hemocyanin) 및 다이나이트로페놀을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. BCG(바실리 칼메트-구에린(bacilli Calmette-Guerin)) 및 코리네박테리움 파쿰(Corynebacterium parvum)은 잠재적으로 유용한 인간 아류반트이다.

[0072] 항체 생성의 다른 방법은 표 1에 요약된다.

표 1

기법	다양한 참고문헌
EBV-하이브리도마 방법 및 박테리오파지 벡터 발현 시스템	문헌[Haskard and Archer, J. Immunol. Methods, 74(2), 361-67 (1984), Roder et al., Methods Enzymol., 121, 140-67 (1986)], 및 문헌[Huse et al., Science, 246, 1275-81 (1989)].
비-인간 동물에서의 항체 생성 방법	미국 특허 제 5,545,806 호, 제 5,569,825 호 및 제 5,714,352 호, 및 미국 특허 출원 공개 제 2002/0197266 호
림프구 집단에서의 생체내 생성 유발 또는 고도로 특이적인 결합 시약의 재조합 면역글로불린 라이브러리 또는 패널 선별에 의함	문헌[Orlandi et al (Proc Natl Acad Sci 86: 3833-3837; 1989), 및 Winter G and Milstein C (Nature 349: 293-299, 1991)].
재조합 단백질의 생성 방법	문헌[Protein production and purification" Nat Methods 5(2): 135-146 (2008)].
파지 디스플레이	문헌[Janeway et al., 상기 참조], 문헌[Huse et al., 상기 참조] 및 미국 특허 제 6,265,150 호. 관련된 방법은 또한 미국 특허 제 5,403,484 호; 미국 특허 제 5,571,698 호; 미국 특허 제 5,837,500 호; 미국 특허 제 5,702,892 호에 기재되어 있다. 미국 특허 제 5,780,279 호; 미국 특허 제 5,821,047 호; 미국 특허 제 5,824,520 호; 미국 특허 제 5,855,885 호; 미국 특허 제 5,858,657 호; 미국 특허 제 5,871,907 호; 미국 특허 제 5,969,108 호; 미국 특허 제 6,057,098 호; 및 미국 특허 제 6,225,447 호에 기재된 기법
항체는 유전자이식 마우스에 의해 생성될 수 있다	미국 특허 제 5,545,806 호 및 제 5,569,825 호, 및 문헌[Janeway et al., 상기 참조].

[0073]

[0074]

항체가 생성되는 방법과 상관없이 CLDN18.2의 에피토프에 결합하는 능력에 대해 항체를 시험하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 임의의 항체-항원 결합 분석, 예컨대, 방사 면역 분석(RIA), ELISA, 웨스턴 블롯, 면역침전, SPR, 및 경쟁 저해 분석을 포함한다(예를 들어, 문헌[Janeway et al., 이하 참조], 및 미국 특허 출원 공개 제 2002/0197266호, 및 경쟁 분석에 관해 상기 부분 참조).

[0075]

서열/구조

[0076]

(a) 표 A에 제시된 중쇄(HC) 상보성-결정 영역(CDR) 1 아미노산 서열 또는 서열번호 64, 88, 69, 89, 72, 75, 91, 94, 95, 97, 99, 101, 103, 106, 109로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (b) 표 A에 제시된 HC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 65, 67, 70, 90, 73, 76, 92, 73, 96, 98, 100, 102, 104, 107, 110으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (c) 표 A에 제시된 HC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 66, 68, 71, 77, 74, 77, 93, 74, 105, 108, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (d) 표 A에 제시된 경쇄(LC) CDR1 아미노산 서열 또는 서열번호 78, 81, 82, 86, 114, 120, 123, 126으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단

지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (e) 표 A에 제시된 LC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 79, 112, 79, 84, 116, 118, 119, 129, 121, 124, 127로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (f) 표 A에 제시된 LC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 80, 83, 113, 85, 87, 115, 117, 122, 125, 128로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함하는 항원-결합 단백질이 본 명세서에 제공된다.

[표 A]

	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3
Ab 307	78	79	80	64	65	66
Ab 369	81	112	80	88	65	66
Ab 376	81	79	80	64	67	68
Ab 358	82	79	83	39	70	71
Ab 384	81	79	113	89	90	77
Ab 360	81	84	85	72	73	74
Ab 432	86	79	87	75	76	77
Ab 400	114	79	115	91	92	93
Ab 331	81	116	117	94	73	74
Ab 347	81	118	117	95	96	74
Ab 339	81	119	117	97	98	74
Ab 301	81	118	85	99	100	74
Ab 392	81	129	117	101	102	74
Ab 416	120	121	122	103	104	105
Ab 409	123	124	125	106	107	108
Ab 424	126	127	128	109	110	111

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 표 A에 제시된 LC CDR1 아미노산 서열, LC CDR2 아미노산 서열 및 LC CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 HC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개를 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 표 A에 제시된 HC CDR1 아미노산 서열, HC CDR2 아미노산 서열 및 HC CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 LC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개를 포함한다.

다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 A의 단일 행에서 서열번호로 표기되는 아미노산 서열 중 적어도 3, 4 또는 5개를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 각각의 LC CDR 아미노산 서열 및 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 HC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 각각의 HC CDR 아미노산 서열 및 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 LC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 CDR 아미노산 서열 모두 6개를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 서열번호 78, 79, 80, 64, 65, 66; (b) 서열번호 81, 112, 80, 88, 65, 66; (c) 서열번호 81, 79, 80, 64, 67, 68; (d) 서열번호 82, 79, 83, 39, 70,

71; (e) 서열번호 81, 79, 113, 89, 90, 77; (f) 서열번호 81, 84, 85, 72, 73, 74; (g) 서열번호 86, 79, 87, 75, 76, 77; (h) 서열번호 114, 79, 115, 91, 92, 93; (i) 서열번호 81, 116, 117, 94, 73, 74; (j) 서열번호 81, 118, 117, 95, 96, 74; (k) 서열번호 81, 119, 117, 97, 98, 74; (l) 서열번호 81, 118, 85, 99, 100, 74; (m) 서열번호 81, 129, 117, 101, 102, 74; (n) 서열번호 120, 121, 122, 103, 104, 105; (o) 서열번호 123, 124, 125, 106, 107, 108; 및 (p) 서열번호 126, 127, 128, 109, 110, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 6개의 CDR 아미노산 서열을 포함한다.

[0081] 또한 표 A에서 확인되는 임의의 HCDR 또는 LCDR 아미노산 서열과 비교할 때 하나 이상의 아미노산 변화(예를 들어, 치환, 삽입 또는 결실)를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 본 명세서에 개시된 HCDR 및/또는 LCDR 서열이 상정된다. 바람직한 치환은 표 A의 다른 HCDR1, HCDR2, HCDR3 또는 LCDR1, LCDR2 또는 LCDR3 내의 대응하는 위치에서의 아미노산에 대한 치환을 포함한다. 대안적으로, HCDR1, HCDR2, HCDR3 및/또는 LCDR1, LCDR2 또는 LCDR3 서열은 본 명세서에 기재된 HCDR1, HCDR2, HCDR3 또는 LCDR1, LCDR2 또는 LCDR3의 공통 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0082] 다양한 예에서, 표 A의 아미노산 서열은 적어도 하나 이상(예를 들어, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상)의 개재 아미노산(들)에 의해 분리된다. 다양한 예에서, LC CDR1과 LC CDR2의 서열 사이에 약 10 내지 20개의 아미노산이 있고, LC CDR2와 LC CDR3의 서열 사이에 약 25 내지 약 40개의 아미노산이 있다. 다양한 예에서, LC CDR1과 LC CDR2의 서열 사이에 약 14 내지 16개의 아미노산이 있고, LC CDR2와 LC CDR3의 서열 사이에 약 30 내지 약 35개의 아미노산이 있다. 다양한 예에서, HC CDR1과 HC CDR2의 서열 사이에 약 10 내지 20개의 아미노산이 있고, HC CDR2와 HC CDR3의 서열 사이에 약 25 내지 약 40개의 아미노산이 있다. 다양한 예에서, HC CDR1과 HC CDR2의 서열 사이에 약 14 내지 16개의 아미노산이 있고, HC CDR2와 HC CDR3의 서열 사이에 약 30 내지 약 35개의 아미노산이 있다.

[0083] 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 표 B에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 2, 34, 36, 38 및 40로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (b) 표 B에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 및 41로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 다를 포함한다.

[0084] [표 B]

	중쇄 가변 영역	경쇄 가변 영역
Ab 307	10	11
Ab 369	12	13
Ab 376	14	15
Ab 358	16	17
Ab 384	18	19
Ab 360	20	21
Ab 432	22	23
Ab 400	24	25
Ab 331	26	27
Ab 347	28	29
Ab 339	30	31
Ab 301	32	33
Ab 392	34	35
Ab 416	36	37
Ab 409	48	39
Ab 424	40	41

[0085]

[0086]

다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 서열번호 10과 11; (b) 서열번호 12와 13; (c) 서열번호 14와 15; (d) 서열번호 16과 17; (e) 서열번호 18과 19; (f) 서열번호 20과 21; (g) 서열번호 22와 23; (h) 서열번호 24와 25; (i) 서열번호 26과 27; (j) 서열번호 28과 29; (k) 서열번호 30과 31; (l) 서열번호 32와 33; (m) 서열번호 34와 35; (n) 서열번호 36과 37; (o) 서열번호 38과 39; (p) 서열번호 40과 41로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함한다.

[0087]

또한 표 B에서 확인되는 임의의 VH 또는 VL 아미노산 서열과 비교할 때 하나 이상의 아미노산 변화(예를 들어, 치환, 삽입 또는 결실)를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 본 명세서에 개시된 VH 및/또는 VL 서열이 상정된다. 바람직한 치환은 표 B의 다른 VH 또는 VL 내의 대응하는 위치에서의 아미노산에 대한 치환을 포함한다. 대안적으로, VH 및/또는 VL 서열은 본 명세서에 기재된 VH 또는 VL의 공통 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, CDR 또는 VH 또는 VL은 도 13에 제시된 모 서열과 상이한 것과 동일한 아미노산으로 치환될 수 있다. 인간화된 서열에서의 아미노산 변화는 강조된다. 본 명세서에 기재된 인간화된 VH 또는 VL 서열의 공통 서열이 본 명세서에 상정된다.

[0088]

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 서열번호 58 및 59의 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열의 쌍을 포함하지 않는다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 서열번호 60 및 61의 아미노산 서열의 쌍을 포함하지 않는다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 서열번호 62 및 63의 아미노산 서열의 쌍을 포함하지 않는다.

[0089]

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 상기 언급한 아미노산 서열과 유사한 아미노산 서열을 포함하고, 또한 항원-결합 단백질은 이의 생물학적 기능, 예를 들어, 인간 CLDN18.2에 결합하는 이의 능력을 실질적으로 보유하며, 종양 성장을 감소시키고, 암을 치료한다.

[0090]

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 상기 언급한 아미노산 서열(들)에 대해 단지 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의

아미노산만큼 다른 아미노산 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 기준 서열의 변이체 서열을 포함하며, 이 변이체 서열은 기준 서열에 대해 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르다. 다양한 양상에서, CDR 외부에서 생기는 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들어, 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 항원-결합 단백질이 중쇄 또는 경쇄의 프레임워크 영역(들) 내에서 생긴다. 다양한 양상에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 항원-결합 단백질, 또한 항원-결합 단백질은 6개의 CDR의 아미노산 서열을 보유한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 상기 언급한 아미노산 서열(들)에 비해, 단지 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 보존적 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "보존적 아미노산 치환"은 하나의 아미노산의 유사한 특성, 예를 들어, 크기, 전하, 소수성, 친수성 및/또는 방향족성을 갖는 다른 아미노산으로의 치환을 지칭하며, 다음의 5개 군 중 하나 내의 교환을 포함한다:

I. 작은 지방족, 비극성 또는 약각 극성의 잔기:

Ala, Ser, Thr, Pro, Gly;

II. 극성, 음으로 하전된 잔기 및 이들의 아마이드 및 에스터:

Asp, Asn, Glu, Gln, 시스테인산 및 호모시스테인산;

III. 극성, 양으로 하전된 잔기:

His, Arg, Lys; 오르니틴(Orn)

IV. 거대, 지방족, 비극성 잔기:

Met, Leu, Ile, Val, Cys, 노르류신(Nle), 호모시스테인

V. 거대, 방향족 잔기:

Phe, Tyr, Trp, 아세틸 페닐알라닌

다양한 양상에서, 보존적 아미노산 치환은 하기 아미노산 중 하나 내의 교환이다:

I. 지방족 아미노산: Gly, Ala, Val, Leu, Ile

II. 측쇄 하이드록실을 포함하는 비방향족 아미노산: Serc Thr

III. 황 측쇄를 포함하는 아미노산: Cys, Met

IV: 측쇄 방향족 고리를 포함하는 아미노산: Phe, Tyr, Trp

V: 산성 아미노산: Glu; Asp

VI: 염기성 아미노산: Arg; Lys

VII: 측쇄 아마이드를 포함하는 아미노산: Gln, Asn

VIII: 측쇄 이미다졸을 포함하는 아미노산: His, 알파-다이메틸 이미다졸 아세트산(DMIA)

IX: 이미노산: Pro, 4-하이드록시-Pro, 4-아미노-Pro

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 상기 언급한 아미노산 서열에 대해 약 30% 초과, 또는 약 50% 초과 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%를 갖거나 상기 언급한 아미노산 서열에 대해 90% 초과와 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%를 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 상기 언급한 아미노산 서열의 전장을 따라서 90% 초과와 서열 동일성을 가진다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 상기 언급한 아미노산 서열의 전장을 따라서 적어도 95%, 96%, 97%, 98 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 기준 서열의 변이체 서열을 포함하며, 이 변이체 서열은 상기 언급한 서열에 대해 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 가진다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 기준 서열의 변이체 서열을 포함하며, 이 변이체 서열은 상기 언급한 서열에 대해 적어도 또는 약 80%의 서열 동일성을 가진다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 기준 서열의 변이체 서열을 포함하며, 이 변이체 서열은 상기 언급한 서열에 대해 적어도 또는 약 90%의 서열 동일성을 가진다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 기준 서

열의 변이체 서열을 포함하며, 이 변이체 서열은 상기 언급한 서열에 대해 적어도 또는 약 95%의 서열 동일성을 가진다.

[0113] 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 A의 단일 행에서의 서열번호 중 1, 2, 3, 4 또는 5개의 서열 및 서열번호 64 내지 129 중 어느 것에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)를 갖는 적어도 하나의 변이체 서열을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 서열번호 78, 79, 80, 64, 65, 66; (b) 서열번호 81, 112, 80, 88, 65, 66; (c) 서열번호 81, 79, 80, 64, 67, 68; (d) 서열번호 82, 79, 83, 39, 70, 71; (e) 서열번호 81, 79, 113, 89, 90, 77; (f) 서열번호 81, 84, 85, 72, 73, 74; (g) 서열번호 86, 79, 87, 75, 76, 77; (h) 서열번호 114, 79, 115, 91, 92, 93; (i) 서열번호 81, 116, 117, 94, 73, 74; (j) 서열번호 81, 118, 117, 95, 96, 74; (k) 서열번호 81, 119, 117, 97, 98, 74; (l) 서열번호 81, 118, 85, 99, 100, 74; (m) 서열번호 81, 129, 117, 101, 102, 74; (n) 서열번호 120, 121, 122, 103, 104, 105; (o) 서열번호 123, 124, 125, 106, 107, 108; 및 (p) 서열번호 126, 127, 128, 109, 110, 111로부터 선택된 서열 세트의 1, 2, 3, 4 또는 5개의 서열을 포함하되, 항원-결합 단백질은 세트 서열 중 적어도 하나에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 적어도 하나의 변이체 서열을 추가로 포함한다.

[0114] 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 서열번호 10 내지 41 중 어느 것에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열의 쌍을 포함한다. 다양한 예에서, 항원 결합 단백질은 (a) 서열번호 10과 11; (b) 서열번호 12와 13; (c) 서열번호 14와 15; (d) 서열번호 16과 17; (e) 서열번호 18과 19; (f) 서열번호 20과 21; (g) 서열번호 22와 23; (h) 서열번호 24와 25; (i) 서열번호 26과 27; (j) 서열번호 28과 29; (k) 서열번호 30과 31; (l) 서열번호 32와 33; (m) 서열번호 34와 35; (n) 서열번호 36과 37; (o) 서열번호 38과 39; 및 (p) 서열번호 40과 41에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열의 쌍을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 서열번호 10과 11; (b) 서열번호 12와 13; (c) 서열번호 14와 15; (d) 서열번호 16과 17; (e) 서열번호 18과 19; (f) 서열번호 20과 21; (g) 서열번호 22와 23; (h) 서열번호 24와 25; (i) 서열번호 26과 27; (j) 서열번호 28과 29; (k) 서열번호 30과 31; (l) 서열번호 32와 33; (m) 서열번호 34와 35; (n) 서열번호 36과 37; (o) 서열번호 38과 39; (p) 서열번호 40과 41로부터 선택된 하나의 서열, 및 (a) 내지 (p)의 서열에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열인 다른 서열의 서열쌍을 포함한다. 예를 들어, 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 서열번호 10의 서열을 포함하고, 항원-결합 단백질은 서열번호 11에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열을 추가로 포함한다.

[0115] 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 원치않는 측쇄 반응을 감소 또는 방지하기 위해 반응성 아미노산을 감소 또는 제거하도록 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 상기 언급한 아미노산 서열의 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 항원-결합 단백질은 (i) His, Tyr 또는 Phe으로 치환되는 Trp 잔기; (ii) Gln, Ser, Ala 또는 Asp으로 치환되는 Asn 잔기; (iii) Ala, Ser 또는 Glu으로 치환되는 Pro 잔기 직전에 생기는 Asp 잔기, (iv) Gln, Ser 또는 Ala으로 치환되는 Asn 잔기; 및/또는 (v) Tyr, Ser 또는 Ala으로 치환되는 Cys 잔기 중 하나 이상을 갖는 상기 언급한 아미노산 서열의 아미노산 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 SHM 사건에 기반하거나 또는 다른 유사한 항체 서열 규모의 통계학적 분석에 기반하여, 더 큰 결합 친화도, 더 큰 안정성 또는 다른 긍정적인 속성을 갖는 것으로 예측되는 아미노산 치환을 갖는 상기 언급한 아미노산 서열의 아미노산 서열을 포함한다.

[0116] 인간화된 항체

[0117] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 표 A 또는 표 B에 기재된 항원 결합 단백질의 인간화된 형태이다.

[0118] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 도 13에 나타난 위치에서의 측쇄 또는 경쇄 가변 영역에서 하나 이상의 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 또는 35개의) 아미노산 치환을 갖는 표 B에 제시된 바와 같은 항체의 인간화된 형태, 또는 이의 공통 서열이다.

[0119] 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 표 C에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 42, 46, 49, 52, 55, 56, 57 및 131로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%, 또는 약 80%, 또는 약 85%, 또는 약 90%, 또는 약 95%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (b) 표 C에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 43 내지 45, 47 내지 48, 50 내지 51, 53 내지 54, 149 및 150으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르고 적어도 또는 약 70%, 또는 약 80%, 또는 약 85%, 또는 약 90%, 또는 약 95%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 다를 포함한다.

[0120] [표 C]

	인간화된 중쇄 가변 영역 서열번호	인간화된 경쇄 가변 영역 서열번호
HuAB307	42	43, 44, 45
HuAB376	46	47, 48
HuAB358	131	149, 150
HuAB360	52, 55, 56	53, 54,
HuAB432	49, 57	50, 51

[0121]

[0122] 다양한 실시형태에서, 인간화된 항원-결합 단백질은 표 D에 나타낸 아미노산 서열의 쌍을 포함한다.

[0123] [표 D]

인간화된 AB	HC 서열번호	LC 서열번호
HuAb307-1	42	43
HuAb307-2	42	44
HuAb307-3	42	45
HuAb376-1	46	47
HuAb376-2	46	48
HuAb358-1	131	149
HuAb358-2	131	150
HuAb360-1	52	53
HuAb360-2	52	54
HuAb360-3	55	53
HuAb360-4	55	54
HuAb360-5	56	53
HuAb360-6	56	54
HuAb432-1	57	50
HuAb432-2	57	51
HuAb432-3	49	50
HuAb432-4	49	51

[0124]

[0125]

다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 C에 열거된 서열번호에 대해 각각 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열의 쌍을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 C에 열거된 서열번호로부터 선택된 하나의 서열 및 표 D에 열거된 서열번호를 갖는 서열에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열인 다른 서열, 표 C에 열거된 서열번호를 갖는 서열의 서열 쌍을 포함한다.

[0126]

다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 표 D에 열거된 서열번호로부터 선택된 하나의 서열 및 표 D에 열거된 서열번호를 갖는 서열에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열인 다른 서열의 서열 쌍을 포함한다. 예를 들어, 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 서열번호 42의 서열을 포함하고, 항원-결합 단백질은 서열번호 43에 대해 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 변이체 서열을 추가로 포함한다.

[0127]

비푸코실화된(afucosylated) 항체

[0128]

다수의 분비된 단백질은 번역 후 글리코실화를 겪으며, 이 과정에 의해 당 모이어티(예를 들어, 글리칸, 당류)는 단백질의 특정 아미노산에 공유 부착된다. 진행 세포에서, 2가지 유형의 글리코실화 반응이 일어난다: (1) N-연결된 글리코실화, 이때 글리칸은 인식 서열 Asn-X-Thr/Ser의 아스파라긴에 부착되며, "X"는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임, 및 (2) 글리칸이 세린 또는 트레오닌에 부착되는 O-연결된 글리코실화. 글리코실화 유형(N-연결 또는 O-연결)과 상관없이, 단백질 글리코폼의 미세이질성은 각 부위(O 또는 N)와 관련된 글리칸 구조의 큰 범위로 인해 존재한다.

[0129]

모든 N-글리칸은 통상적인 코어 당 서열: Man α 1-6(Man α 1-3)Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc β 1-Asn-X-

Ser/Thr(Man₃GlcNAc₂Asn)을 갖고, 3가지 유형으로 범주화된다: (A) 2개의 N-아세틸글루코사민(GalNAc) 모이어티 및 다수의(예를 들어, 5, 6, 7, 8 또는 9) 만노스(Man) 잔기로 이루어진, 고만노스(HM) 또는 올리고만노스(OM) 유형, (B) 2개 초과 GlcNAc 모이어티 및 다수의 다른 당 유형을 포함하는, 복합체 유형 또는 (C) 분자의 한쪽 측면 상에 Man 잔기 및 복합체 분자의 염기에서 GlcNAc를 포함하는, 혼성 유형. 도 1A(문헌[Stanley et al., Chapter 8: N-Glycans, Essentials of Glycobiology, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2009]으로부터 발췌)는 3가지 유형의 N-글리칸을 나타낸다.

[0130] N-연결된 글리칸은 전형적으로 갈락토스(Gal), N-아세틸갈락토사민(GalNAc), 갈락토사민(GalN), 글루코스(Glc), N-아세틸글루코사민(GlcNAc), 글루코사민(GlcN), 만노스(Man), N-아세틸만노사민(ManNAc), 만노사민(MaN), 자일로스(Xyl), N-아세틸뉴라민산(Neu5Ac), N-글리코일뉴라민산(Neu5Gc), 2-케토-3-독시노논산(Kdn), 푸코스(Fuc), 글루쿠론산(GlcA), 이두론산(IdoA), 갈락투론산(Gal A), 만누론산(Man A) 중 하나 이상의 단당류를 포함한다. 이러한 당류에 대해 통상적으로 사용되는 기호는 도 29A에 나타낸다.

[0131] N-연결된 글리코실화는 소포체(ER)에서 시작하며, 여기서, 반응의 복합체 세트는 2개의 GlcNAc 잔기 및 3개의 Man 잔기로 본질적으로 이루어진 코어 글리칸의 부착을 초래한다. ER에서 형성된 글리칸 복합체는 골지체에서의 효소의 작용에 의해 변형된다. 당류가 효소에 상대적으로 접근 가능하지 않다면, 이는 전형적으로 본래의 HM 형태에 머문다. 효소가 당류에 접근할 수 있다면, 다수의 Man 잔기는 절단되고, 당류는 추가로 변형되어, 복합체 유형 N-글리칸 구조를 초래한다. 예를 들어, 시스-골지체에 위치한 만노시다제-1은 HM 글리칸을 절단 또는 가수분해할 수 있는 한편, 중간-골지체에 위치한 푸코실트랜스퍼라제 FUT-8은 글리칸을 푸코실화한다(Hanrue Imai-Nishiya (2007), BMC Biotechnology, 7:84).

[0132] 따라서, 당 조성 및 글리칸 구조의 구조적 입체배치는 인자들 중에서도, ER 및 골지체에서의 글리코실화 기작, 글리칸 구조에 대한 기작 효소의 접근성, 각 효소의 작용 순서 및 단백질이 글리코실화 기작으로부터 방출되는 단계에 따라 다르다.

[0133] 본 개시내용의 예시적 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "Fc 폴리펩타이드"는 항체의 Fc 영역으로부터 유래된 폴리펩타이드의 천연 및 유전인 형태를 포함한다. 예시적 양상에서, 본 명세서에 개시된 항원-결합 단백질의 Fc 폴리펩타이드는 글리칸을 포함한다. 다양한 예에서, 글리칸은 푸코스를 결여하거나, 비푸코실화된다. 예시적 양상에서, 항원-결합 단백질은 비푸코실화된 글리칸을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "비푸코실화된 글리칸" 또는 "비푸코 글리칸" 또는 "비푸코실화된 글리코폼" 또는 "Afuc"는 N-글리코실화 부위의 Asn과의 아마이드 결합에 수반된 GlcNAc 잔기 상에 코어 푸코스, 예를 들어, α1,6-연결된 푸코스가 없는 글리코폼을 지칭한다. 비푸코실화된 글리코폼은 A1G0, A2G0, A2G1a, A2G1b, A2G2 및 A1G1M5를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가적인 비푸코실화된 글리칸은, 예를 들어, A1G1a, G0[H3N4], G0[H4N4], G0[H5N4], fo-n[h3n3]을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Reusch and Tejada, Glycobiology 25(12): 1325-1334 (2015)] 참조.

[0134] 본 개시내용은 또한 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 항원 결합 단백질을 포함하는 조성물, 예를 들어, 약제학적 조성물을 제공한다. 예시적 양상에서, 조성물에 존재하는 항원-결합 단백질의 적어도 또는 약 25%는 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 항원-결합 단백질이다. 예시적 양상에서, 조성물에 존재하는 항원-결합 단백질의 적어도 또는 약 25%는 비푸코실화된다. 선택적으로, 조성물에 존재하는 항원-결합 단백질의 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 이상은 비푸코실화된다. 특정 글리코프로파일의 항원-결합 단백질을 포함하는 조성물을 생성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예시적 실시형태에서, 항원 결합 단백질은 드 노보 경로 또는 샤프비지 경로(salvage pathway)의 효소 활성을 변경시키도록 유전자 변형된 세포에서 생성된 재조합체이다. 푸코스 대사의 이들 두 경로는 도 29B에 나타낸다. 예시적 실시형태에서, 세포는 푸코실-트랜스퍼라제(FUT, 예를 들어, FUT1, FUT2, FUT3, FUT4, FUT5, FUT6, FUT7, FUT8, FUT9), 푸코스 키나제, GDP-푸코스 파이로포스포릴라제, GDP-D-만노스-4,6-탈수효소(GMD), 및 GDP-케토-6-데옥시만노스-3,5-에피머라제, 4-환원효소(FX) 중 어느 하나 이상의 활성을 변경식도록 유전자 변형된다. 예시적 실시형태에서, 세포는 유전자 암호화 FX를 녹아웃하도록 유전자 변형된다. 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO2017/079165 A1; 문헌[Kanda et al., J Biotechnol 130, 2007, 300-310, Yamane-Ohunuki et al., Biotechnol Bioeng 87, 2004, 614-622, Malphettes et al., Biotechnol Bioeng 106, 2010, 774-783] 참조.

[0135] **핵산**

[0136] 본 개시내용은 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 추가로

제공한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "핵산"은 "폴리뉴클레오타이드", "올리고뉴클레오타이드" 및 "핵산 분자"를 포함하고, 일반적으로 천연 공급원으로부터 합성되거나 얻어지는(예를 들어, 단리 및/또는 정제된) 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, 천연, 비천연 또는 변형된 뉴클레오타이드를 함유할 수 있으며, 비변형 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 사이에서 발견되는 포스포다이에스터 대신에 천연, 비천연 또는 변형된 뉴클레오타이드간 결합, 예컨대, 포스포로아미데이트 결합 또는 포스포로티오에이트 결합을 포함할 수 있는, DNA 또는 RNA의 중합체 또는 이의 변형된 형태를 의미한다. 핵산은 본 개시내용의 항원-결합 단백질 중 어느 것을 암호화하는 임의의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 다양한 양상에서, 핵산은 (a) 표 A에 제시된 중쇄(HC) 상보성-결정 영역(CDR) 1 아미노산 서열 또는 서열번호 64, 88, 69, 89, 72, 75, 91, 94, 95, 97, 99, 101, 103, 106, 109로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (b) 표 A에 제시된 HC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 65, 67, 70, 90, 73, 76, 92, 73, 96, 98, 100, 102, 104, 107, 110으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (c) 표 A에 제시된 HC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 66, 68, 71, 77, 74, 77, 93, 74, 105, 108, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (d) 표 A에 제시된 경쇄(LC) CDR1 아미노산 서열 또는 서열번호 78, 81, 82, 86, 114, 120, 123, 126으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (e) 표 A에 제시된 LC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 79, 112, 79, 84, 116, 118, 119, 129, 121, 124, 127로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (f) 표 A에 제시된 LC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 80, 83, 113, 85, 87, 115, 117, 122, 125, 128로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함하는 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 핵산은 표 A에 제시된 LC CDR1 아미노산 서열, LC CDR2 아미노산 서열 및 LC CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 HC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개를 포함하는, 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 핵산은 표 A에 제시된 HC CDR1 아미노산 서열, HC CDR2 아미노산 서열 및 HC CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 LC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개를 포함하는, 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 핵산은 (a) 표 A의 단일 행에서 서열번호로 표기되는 아미노산 서열 중 적어도 3, 4 또는 5개, (b) 표 A의 단일 행에서 서열번호로 표기되는 각각의 LC CDR 아미노산 서열 및 표 A의 단일 행에서 서열번호로 표기되는 HC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개, (c) 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 각각의 HC CDR 아미노산 서열 및 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 LC CDR 아미노산 서열 중 적어도 1 또는 2개, (d) 표 A의 단일 행의 서열번호로 표기되는 모두 6개의 CDR 아미노산 서열, 및/또는 (e) (a) 서열번호 78, 79, 80, 64, 65, 66; (b) 서열번호 81, 112, 80, 88, 65, 66; (c) 서열번호 81, 79, 80, 64, 67, 68; (d) 서열번호 82, 79, 83, 39, 70, 71; (e) 서열번호 81, 79, 113, 89, 90, 77; (f) 서열번호 81, 84, 85, 72, 73, 74; (g) 서열번호 86, 79, 87, 75, 76, 77; (h) 서열번호 114, 79, 115, 91, 92, 93; (i) 서열번호 81, 116, 117, 94, 73, 74; (j) 서열번호 81, 118, 117, 95, 96, 74; (k) 서열번호 81, 119, 117, 97, 98, 74; (l) 서열번호 81, 118, 85, 99, 100, 74; (m) 서열번호 81, 129, 117, 101, 102, 74; (n) 서열번호 120, 121, 122, 103, 104, 105; (o) 서열번호 123, 124, 125, 106, 107, 108; 및 (p) 서열번호 126, 127, 128, 109, 110, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 6개의 CDR 아미노산 서열을 포함하는, 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0137] 다양한 실시형태에서, 핵산은 (a) 표 B에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 또는 40로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (b) 표 B에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 또는 41로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를

들어, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 다를 포함하는, 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 핵산은 (a) 서열번호 10과 11; (b) 서열번호 12와 13; (c) 서열번호 14와 15; (d) 서열번호 16과 17; (e) 서열번호 18과 19; (f) 서열번호 20과 21; (g) 서열번호 22와 23; (h) 서열번호 24와 25; (i) 서열번호 26과 27; (j) 서열번호 28과 29; (k) 서열번호 30과 31; (l) 서열번호 32와 33; (m) 서열번호 34와 35; (n) 서열번호 36과 37; (o) 서열번호 38과 39; (p) 서열번호 40과 41로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함하는 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 핵산은 표 D에 열거된 쌍으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함하는 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 다양한 양상에서, 핵산은 서열번호 42 내지 57 중 어느 하나 이상에 제시된 아미노산 서열을 암호화하는 서열을 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 임의의 삽입, 결실, 역위 및/또는 치환을 포함하지 않는다. 다른 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 삽입, 결실, 역위 및/또는 치환을 포함한다.

[0138] 일부 양상에서, 본 개시내용의 핵산은 재조합체이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "재조합체"는 (i) 살아있는 세포에서 복제할 수 있는 핵산 분자에 천연 또는 합성 핵산 세그먼트를 결합시킴으로써 살아있는 세포 밖에서 작제된 분자, 또는 (ii) 상기 (i)에 기재된 것의 복제로부터 초래되는 분자를 지칭한다. 본 명세서의 목적을 위해, 복제는 시험관내 복제 또는 생체내 복제일 수 있다.

[0139] 일부 양상에서, 핵산은 당업계에 공지된 절차를 이용하여 화학적 합성 및/또는 효소적 결합 반응에 기반하여 작제된다. 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., 상기 참조; 및 Ausubel et al., 상기 참조]. 예를 들어, 핵산은 천연 유래 뉴클레오타이드, 또는 분자의 생물학적 안정성을 증가시키도록 또는 혼성화 시 형성된 이중가닥의 물리적 안정성을 증가시키도록 설계된 다양하게 변형된 뉴클레오타이드(예를 들어, 포스포로티오에이트 유도체 및 아크리딘 치환된 뉴클레오타이드)를 이용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 핵산을 생성하기 위해 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오타이드의 예는 5-플루오로유라실, 5-브로모유라실, 5-클로로유라실, 5-아이오도유라실, 하이포잔틴, 잔틴, 4-아세틸사이토신, 5-(카복시하이드록시메틸) 유라실, 5- 카복시메틸아미노메틸-2-티오유리딘, 5-카복시메틸아미노메틸유라실, 다이하이드로유라실, 베타-D-갈락토실큐에오신, 이노신, N⁶-아이소펜텐일아데닌, 1-메틸구아닌, 1-메틸이노신, 2,2-다이메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸사이토신, 5-메틸사이토신, N⁶-치환된 아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸유라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오유라실, 베타-D-만노실큐에오신, 5'- 메톡시카복시메틸유라실, 5-메톡시유라실, 2-메틸티오-N⁶-아이소펜텐일아데닌, 유라실- 5-옥시아세트산(v), 위부톡신, 슈도유라틸, 큐에오신, 2-티오사이토신, 5-메틸-2- 티오유라실, 2-티오유라실, 4-티오유라실, 5-메틸유라실, 유라실-5-옥시아세트산 메틸에스터, 3- (3-아미노-3-N-2-카복시프로필) 유라실 및 2,6-다이아미노퓨린을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 대안적으로, 본 개시내용의 핵산 중 하나 이상은 Macro molecular Resources(콜로라도주 포트 콜린스에 소재) 및 Synthegen(텍사스주 휴스턴에 소재)과 같은 회사로부터 구입할 수 있다.

[0140] 벡터

[0141] 본 개시내용의 핵산은 일부 양상에서 벡터에 혼입된다. 이와 관련하여, 본 개시내용은 임의의 본 명세서에 개시된 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 다양한 양상에서, 벡터는 재조합 발현 벡터이다. 본 명세서의 목적을 위해, 용어 "재조합 발현 벡터"는 작제물이 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 때, 숙주 세포에 의해 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드의 발현을 가능하게 하는 유전자 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 작제물을 의미하며, 벡터는 세포 내에서 발현된 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 갖기에 충분한 조건 하에 세포와 접촉된다. 본 개시내용의 벡터는 전체로서 천연 유래가 아니다. 그러나, 벡터의 부분은 천연 유래일 수 있다. 본 명세서에 개시된 벡터는 합성되거나 천연 공급원으로부터 얻은 단일-가닥 또는 이중 가닥일 수 있고, 천연, 비천연 또는 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 유형의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 벡터는 천연 유래 또는 비-천연 유래 뉴클레오타이드간 결합, 또는 결합 유형 둘 다를 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 변형된 뉴클레오타이드 또는 비-천연 유래 뉴클레오타이드간 결합은 벡터의 전사 또는 복제를 방해하지 않는다.

[0142] 본 개시내용의 벡터는 임의의 적합한 벡터일 수 있고, 임의의 적합한 숙주를 형질도입하거나, 형질전환시키거나 또는 형질감염시키는 데 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 증식 및 확장을 위해 또는 발현을 위해 또는 둘 다를 위해 설계된 것, 예컨대, 플라스미드 및 바이러스를 포함한다. 벡터는 플라스미드 기반 발현 벡터일 수 있다.

다양한 양상에서, 벡터는 pUC 계열(Fermentas Life Sciences), pBluescript 계열(Stratagene, 캘리포니아주 라 호야에 소재), pET 계열(Novagen, 위스콘신주 매디슨에 소재), pGEX 계열(Pharmacia Biotech, 스웨덴 옘살라에 소재) 및 pEX 계열(Clontech, 캘리포니아주 팔로알토에 소재)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 박테리오파지 벡터, 예컨대, λ GT10, λ GT11, λ ZapII(Stratagene), λ EMBL4 및 λ NMI 149가 또한 사용될 수 있다. 식물 발현 벡터의 예는 pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 및 pBIN19(Clontech)를 포함한다. 동물 발현 벡터의 예는 pEUK-C1, pMAM 및 pMAMneo(Clontech)를 포함한다. 일부 양상에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터이다. 다양한 양상에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터, 단순 포진 바이러스(HSV) 벡터, 수포성 구내염 바이러스(VSV) 벡터, 백시니아 바이러스 벡터 또는 렌티바이러스 벡터이다. 예를 들어, 문헌[Howarth et al., Cell Biol. Toxicol. 26(1): 1-20 (2010)] 참조. 다양한 양상에서, 벡터는 절지동물, 예를 들어, 곤충을 감염시키는 바콜로바이러스 벡터이다. 다양한 양상에서, 바콜로바이러스 벡터는 아우토그라파캘리포니아 다핵 바이러스(Autographacalifornica multiple nuclear virus: AcMNPV) 또는 누에나방 핵 다면체(BmNPV)이다. 예를 들어, 문헌[Khan, Adv Pharm Bull 3(2): 257-263 (2013); Miller, Bioessays 11(4): 91-96 (1989); Atkinson et al., Pestic Sci 28: 215-224 (1990)].

[0143] 본 개시내용의 벡터는, 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., 상기 참조, 및 Ausubel et al., 상기 참조]에 기재된 표준 제조법 DNA 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 원형 또는 선형인 발현 벡터의 작제물은 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 기능성인 복제 시스템을 포함하도록 제조될 수 있다. 복제 시스템은, 예를 들어, CoIE1, 2 μ 플라스미드, λ , SV40, 소 유두종 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다.

[0144] 일부 양상에서, 벡터는 적절하다면, 벡터가 DNA-기반인지 또는 RNA-기반인지의 여부를 고려하여 벡터가 도입되는 숙주의 유형(예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물)에 특이적인 조절 서열, 예컨대, 전사 및 번역 개시 및 종결 코돈을 포함한다.

[0145] 벡터는 형질전환 또는 형질감염된 숙주의 선택을 가능하게 하는 하나 이상의 마커 유전자를 포함할 수 있다. 마커 유전자는 살생물제 내성(예를 들어, 항생제에 대한 내성, 중금속 등), 원형양체 등을 제공하기 위한 영양요구성 숙주에서의 상보성을 포함한다. 본 명세서에 개시된 발현 벡터에 대한 적합한 마커 유전자는, 예를 들어, 네오마이신/G418 내성 유전자, 하이그로마이신 내성 유전자, 히스티딘을 내성 유전자, 테트라사이클린 내성 유전자 및 암피실린 내성 유전자를 포함한다.

[0146] 벡터는 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(기능성 부분 및 이의 기능성 변이체를 포함)에, 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 상보성이거나 또는 이에 혼성화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 천연 또는 표준 프로모터를 포함할 수 있다. 프로모터의 선택, 예를 들어, 강, 약, 유도성, 조직-특이적 및 발생-특이적은 당업자의 기술 이내이다. 유사하게, 뉴클레오타이드 서열과 프로모터의 조합은 또한 당업자 내이다. 프로모터는 비-바이러스 프로모터 또는 바이러스 프로모터, 예를 들어, 거대세포바이러스(CMV) 프로모터, SV40 프로모터, RSV 프로모터 및 뮌헨 줄기 세포 바이러스의 긴 말단 반복부에서 발견되는 프로모터일 수 있다.

[0147] 숙주 세포

[0148] 본 명세서에서 본 개시내용의 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "숙주 세포"는 본 명세서에 개시된 벡터를 포함하고, 핵산(예를 들어, mRNA, 단백질)에 의해 암호화된 발현 생성물을 생성할 수 있는 임의의 유형의 세포를 지칭한다. 일부 양상에서, 숙주 세포는 부착 세포 또는 현탁 세포, 즉, 현탁액 중에서 성장하는 세포이다. 다양한 양상에서 숙주 세포는 배양된 세포, 또는 1차 세포, 즉, 유기체, 예를 들어, 인간으로부터 직접 단리된 세포이다. 숙주 세포는 임의의 세포 유형을 가질 수 있고, 임의의 유형의 조직으로부터 유래될 수 있고, 임의의 발생 단계를 가질 수 있다.

[0149] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 글리코실화된 단백질이고, 숙주 세포는 글리코실화-적격 세포이다. 다양한 양상에서, 글리코실화-적격 세포는 효모 세포, 섬유성 진균 세포, 원생동물 세포, 조류 세포, 곤충 세포 또는 포유류 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 진핵 세포이다. 이러한 숙주 세포는 당업계에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Frenzel, et al., Front Immunol 4: 217 (2013)] 참조. 다양한 양상에서, 진핵 세포는 포유류 세포이다. 다양한 양상에서, 포유류 세포는 비-인간 포유류 세포이다. 일부 양상에서, 세포는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 및 이들의 유도체(예를 들어, CHO-K1, CHO pro-3), 마우스 골수종 세포(예를 들어, NSO, GS-NSO, Sp2/0), 다이하이드로엽산환원효소(DHFR) 활성이 결여되도록 조작된 세포(예를 들어, DUKX-X11, DG44), 인간 배아 신장 293(HEK293) 세포 또는 이의 유도체(예를 들어, HEK293T, HEK293-EBNA), 그린 아프리카 원숭이 신장 세포(예를 들어, COS 세포, VERO 세포), 인간 자궁경부암 세포(예를 들어, HeLa), 인간 골육종 상피 세포

U2-OS, 선암종 인간 폐포 기저 상피 세포 A549, 인간 섬유육종 세포 HT1080, 마우스 뇌 종양 세포 CAD, 배아 암 종 세포 P19, 마우스 배아 섬유아세포 NIH 3T3, 마우스 섬유아세포 L929, 마우스 신경아세포종 세포 N2a, 인간 유방암 세포 MCF-7, 망막모세포종 세포 Y79, 인간 망막모세포종 세포 SO-Rb50, 인간 간암 세포 Hep G2, 마우스 B 골수종 세포 J558L, 또는 새끼 햄스터 신장(BHK) 세포이다(Gaillet et al. 2007; Khan, Adv Pharm Bull 3(2): 257-263 (2013)).

[0150] 벡터를 증식하거나 복제하기 위한 목적을 위해, 일부 양상에서 숙주 세포는 원핵 세포, 예를 들어, 박테리아 세포이다.

[0151] 또한 본 개시내용에 의해 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 숙주 세포를 포함하는 세포 집단이 제공된다. 일부 양상에서 세포 집단은 기재된 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함하는 이중성 집단이며, 이는 적어도 하나의 다른 세포에 추가로, 임의의 벡터를 포함하지 않는다. 대안적으로, 일부 양상에서, 세포 집단은 실질적으로 균질한 집단이며, 이때 집단은 벡터를 포함하는(예를 들어, 본질적으로 이루어진) 숙주 세포를 주로 포함한다. 일부 양상에서, 집단은 세포의 클론 집단이며, 이때, 집단의 모든 세포는 벡터를 포함하는 단일 숙주 세포의 클론이고, 집단의 모든 세포는 벡터를 포함한다. 본 개시내용의 다양한 실시형태에서, 세포 집단은 본 명세서에 기재된 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함하는 클론 집단이다.

[0152] 제조 방법

[0153] 또한 CLDN18.2에 결합하는 항원-결합 단백질을 생성하는 방법이 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 세포 배양 배지에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양시키는 단계 및 세포 배양 배지로부터 항원-결합 단백질을 채취하는 단계를 포함한다. 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 임의의 숙주 세포일 수 있다. 다양한 양상에서, 숙주 세포는 CHO 세포, NS0 세포, COS 세포, VERO 세포 및 BHK 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다양한 양상에서, 숙주 세포를 배양시키는 단계는 숙주 세포의 성장 및 확장을 지원하기 위해 성장 배지에서 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다. 다양한 양상에서, 성장 배지는 시간적 방식으로 세포 밀도, 배양 생존도 및 생산성을 증가시킨다. 다양한 양상에서, 성장 배지는 아미노산, 비타민, 무기염, 글루코스, 및 성장 인자의 공급원으로서의 혈청, 호르몬 및 부착 인자를 포함한다. 다양한 양상에서, 성장 배지는 아미노산, 비타민, 미량의 원소, 무기염, 지질 및 인슐린 또는 인슐린-유사 성장 인자로 이루어진 완전히 화학적으로 한정된 배지이다. 영양분에 추가로, 성장 배지는 또한 pH 및 삼투압을 유지하게 한다. 몇몇 성장 배지는 상업적으로 입수 가능하며, 당업계에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Arora, "Cell Culture Media: A Review" MATER METHODS 3:175 (2013)] 참조.

[0154] 다양한 양상에서, 상기 방법은 공급 배지에서 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 유가 배양(fed-batch) 방식으로 공급 배지에서 배양시키는 단계를 포함한다. 재조합 단백질 생성 방법이 당업계에 공지된다. 예를 들어, 문헌[Li et al., "Cell culture processes for monoclonal antibody production" MAbs 2(5): 466-477 (2010)] 참조.

[0155] 항원-결합 단백질의 제조 방법은 세포 배양물 또는 이의 상청액으로부터 단백질을 정제하고, 바람직하게는 정제된 단백질을 회수하기 위한 하나 이상의 단계를 포함할 수 있다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 하나 이상의 크로마토그래피 단계, 예를 들어, 친화도 크로마토그래피(예를 들어, 단백질 A 친화도 크로마토그래피), 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피를 포함한다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 단백질 A 친화도 크로마토그래피 수지를 이용하여 단백질을 정제하는 단계를 포함한다.

[0156] 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 정제된 단백질 등을 제형화하여, 정제된 단백질을 포함하는 제형을 얻는 단계를 추가로 포함한다. 이러한 단계는 문헌[Formulation and Process Development Strategies for Manufacturing, eds. Jameel and Hershenson, John Wiley & Sons, Inc. (Hoboken, NJ), 2010]에 기재되어 있다.

[0157] 다양한 양상에서, 폴리펩타이드 및 항원-결합 단백질에 연결된 항원-결합 단백질은 융합 단백질의 부분이다. 따라서, 본 개시내용은 CLDN18.2에 결합하는 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 생성하는 방법을 추가로 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 세포 배양 배지에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양시키는 단계 및 세포 배양 배지로부터 융합 단백질을 채취하는 단계를 포함한다.

[0158] 집합체

- [0159] 본 개시내용은 또한 제2 모이어티(예를 들어, 이중성 모이어티, 접합체 모이어티)에 부착되거나, 연결되거나, 접합된 항원-결합 단백질질을 제공한다. 따라서, 본 개시내용은 항원-결합 단백질 및 이중성 모이어티를 포함하는 접합체를 제공한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "이중성 모이어티"는 "접합체 모이어티"와 동의어이며, 본 개시내용의 항원-결합 단백질과 상이한 임의의 분자(화학적 또는 생물학적, 천연 유래 또는 비암호화)를 지칭한다. 다양한 이중성 모이어티는 중합체, 탄수화물, 지질, 핵산, 올리고뉴클레오타이드, DNA 또는 RNA, 아미노산, 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 치료제(예를 들어, 세포독성제, 사이토카인), 또는 진단제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0160] 일부 실시형태에서, 이중성 모이어티는 중합체이다. 중합체는 분지 또는 비분지될 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서 중합체는 약 2kDa 내지 약 100kDa의 평균 분자량을 갖는다(용어 "약" 수용성 중합체의 제조에서, 일부 분자는 언급된 분자량보다 더 많이, 일부는 더 적게 무게가 나간다는 것을 나타냄). 일부 양상에서, 중합체의 평균 분자량은 약 5kDa 내지 약 50kDa, 약 12kDa 내지 약 40kDa 또는 약 20kDa 내지 약 35kDa이다.
- [0161] 일부 실시형태에서, 중합체는 단일 반응기, 예컨대, 아실화를 위한 활성 에스터 또는 알킬화를 위한 알데하이드를 갖도록 변형되며, 따라서, 중합도는 제어될 수 있다. 일부 실시형태에서, 중합체는 수용성이며, 따라서, 이것이 부착되는 단백질은 수성 환경, 예컨대, 생리적 환경에서 침전하지 않는다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 조성물이 치료용으로 사용될 때, 중합체는 약제학적으로 허용 가능하다. 추가적으로, 일부 양상에서, 중합체는 중합체, 예를 들어, 공중합체, 블록 공중합체의 혼합물이다.
- [0162] 일부 실시형태에서, 중합체는 폴리아마이드, 폴리카보네이트, 폴리알킬렌 및 이의 유도체, 예를 들어, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리알킬렌 옥사이드, 폴리알킬렌 테레프탈레이트, 아크릴과 메타크릴 에스터의 중합체, 예를 들어, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(에틸 메타크릴레이트), 폴리(부틸메타크릴레이트), 폴리(아이소부틸 메타크릴레이트), 폴리(헥실메타크릴레이트), 폴리(아이소데실 메타크릴레이트), 폴리(라우릴 메타크릴레이트), 폴리(페닐 메타크릴레이트), 폴리(메틸 아크릴레이트), 폴리(아이소프로필 아크릴레이트), 폴리(아이소부틸 아크릴레이트), 및 폴리(옥타데실 아크릴레이트), 폴리비닐 중합체, 예를 들어, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 에터, 폴리비닐 에스터, 폴리비닐 할로젠화물, 폴리(비닐 아세테이트), 및 폴리비닐피롤리돈, 폴리글리콜라이드, 폴리실록산, 폴리우레탄 및 이들의 공중합체, 셀룰로스, 예를 들어, 알킬 셀룰로스, 하이드록시알킬 셀룰로스, 셀룰로스 에터, 셀룰로스 에스터, 나이트로 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시-프로필 메틸 셀룰로스, 하이드록시부틸 메틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 프로피오네이트, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 카복시에틸 셀룰로스, 셀룰로스 트라이아세테이트, 및 셀룰로스 설페이트 나트륨염, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 예를 들어, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드) 및 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 및 폴리스타이렌으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0163] 본 명세서에서 사용하기 위한 특히 바람직한 수용성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 폴리에틸렌 글리콜은 다른 단백질, 예컨대, 모노-(C1-C10) 알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜을 유도체화하기 위해 사용될 수 있는 PEG의 임의의 형태를 포함하는 것을 의미한다. PEG는 넓은 범위의 분자량에서 이용 가능한 선형 또는 분지형 중성 폴리에테리고, 물 및 대부분의 유기 용매에서 가용성이다.
- [0164] 일부 실시형태에서, 이중성 모이어티는 탄수화물이다. 일부 실시형태에서, 탄수화물은 단당류(예를 들어, 글루코스, 갈락토스, 프럭토스), 이당류(예를 들어, 수크로스, 락토스, 말토스), 올리고당(예를 들어, 라피노스, 스타키오스), 다당류(전분, 아밀라제, 아밀로펙틴, 셀룰로스, 키틴, 칼로스, 라미나린, 자일란, 만난, 푸코이단, 갈락토만난)이다.
- [0165] 일부 실시형태에서, 이중성 모이어티는 지질이다. 일부 실시형태에서, 지질은 지방산, 에이코사노이드, 프로스타글란딘, 류코트라이엔, 트롬복산, N-아실 에탄올아민), 글리세로지질(예를 들어, 일-, 이-, 삼-치환된 글리세롤), 글리세로인지질(예를 들어, 포스파티딜콜린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린), 스펅고지질(예를 들어, 스펅고신, 세라마이드), 스테롤 지질(예를 들어, 스테로이드, 콜레스테롤), 프레놀 지질, 사카로지질, 또는 폴리케타이드, 오일, 왁스, 콜레스테롤, 스테롤, 지용성 비타민, 모노글리세라이드, 다이글리세라이드, 트라이글리세라이드, 인지질이다.
- [0166] 일부 실시형태에서, 이중성 모이어티는 치료제이다. 치료제는 당업계에 공지된 임의의 것일 수 있다. 본 명세서에 상정된 치료제의 예는 천연 효소, 천연 공급원으로부터 유래된 단백질, 재조합 단백질, 천연 펩타이드, 합성 펩타이드, 환식 펩타이드, 항체, 수용체 작용제, 세포독성제, 면역글로불린, 베타-아드레날린 차단제, 칼슘 통

로 차단제, 관상혈관확장제, 강심배당제, 항부정맥제, 교감 신경성 약물, 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해제, 이노제, 강심제, 콜레스테롤 및 트라이글리세라이드 환원제, 담즙산 금속이온봉쇄제, 피브레이트, 3-하이드록시-3-메틸글루테릴(HMG)-CoA 환원효소 저해제, 나이아신 유도제, 항아드레날린제, 알파-아드레날린 차단제, 중추 작용 항아드레날린제, 혈관확장제, 칼륨 보존성 이노제, 티아자이드 및 관련 제제, 안지오텐신 II 수용체 길항제, 말초 혈관확장제, 항안드로겐, 에스트로겐, 항생제, 레티노이드, 인슐린 및 유사체, 알파-글루코시다제 저해제, 바이구아나이드, 메글리티나이드, 설펜일유레아, 티아졸리딘다이온, 안드로겐, 프로세스토젠, 뼈 대사 조절제, 뇌하수체 전엽 호르몬, 시상하부 호르몬, 뇌하수체 후엽 호르몬, 성선자극호르몬, 성선자극호르몬-방출 호르몬 길항제, 배란촉진제, 선택적 에스트로겐 수용체 조절제, 항갑상선제, 갑상선 호르몬, 부피형성제, 완하제, 항연동제, 균총(flora) 변형제, 장 흡착제, 장 항-감염제, 항식욕부진, 약액질 방지제, 폭식방지제, 식욕 억제제, 비만증 치료제, 제산제, 상부 위장관 제제, 항콜린제, 아미노살리실산 유도제, 생물학적 반응 변형제, 코르티코스테로이드, 진정제, 5-HT₄ 부분적 작용제, 항히스타민, 칸나비노이드, 도파민 길항제, 세로토닌 길항제, 세포보호제, 히스타민 H₂-수용체 길항제, 점막 보호제, 양성자 펌프 저해제, 헬리코박터 파일로리(H. pylori) 박멸 요법, 적혈구형성 자극제, 조혈형성제, 빈혈제, 헤파린, 항섬유소용해제, 지혈제, 혈액응고인자, 아데노신 2인산 저해제, 당단백질 수용체 저해제, 피브리노겐-혈소판 결합 저해제, 트롬복산-A₂ 저해제, 플라스미노겐 활성화제, 항혈전제, 글루코코르티코이드, 무기질 코르티코이드, 코르티코스테로이드, 선택적 면역억제제, 항진균제, 예방적 요법에 수반된 약물, AIDS-연관 감염, 거대세포바이러스, 비-뉴클레오사이드 역전사효소 저해제, 뉴클레오사이드 유사체 역전사효소 저해제, 프로테아제 저해제, 빈혈, 카포시 육종, 아미노글리코사이드, 카바페넴, 세팔로스포린, 글리코펩타이드계항균제, 린코사마이드, 마크롤라이드, 옥사졸리딘온, 페니실린, 스트렙토그라민, 설펜아마이드, 트라이메토프림 및 유도제, 테트라사이클린, 구충제, 아메바박멸제, 바이구아나이드, 신코나 알칼로이드, 엽산 길항제, 퀴놀린 유도제, 주폐포자충 요법, 하이드라자이드, 이미다졸, 트리아아졸, 나이트로이미다졸, 환식 아민, 뉴라미니다제 저해제, 뉴클레오사이드, 인산염 결합제, 콜린에스터라제 저해제, 보조 요법, 바르비투르산염 및 유도제, 벤조다이아제핀, 감마 아미노뷰티르산 유도제, 하이단토인 유도제, 이미노스틸벤 유도제, 석신이미드 유도제, 항경련제, 맥각 알칼로이드, 편두통 제제, 생물학적 반응 변형제, 카바산 에스터, 삼환식 유도제, 탈분극제, 비탈분극제, 신경근 마비제, CNS 자극제, 도파민 시약, 모노아민 옥시다제 저해제, COMT 저해제, 알킬 설포네이트, 에틸렌이민, 이미다조테트라진, 질소 머스타드 유사체, 나이트로소유레아, 백금-함유 화합물, 항대사물질, 퓨린 유사체, 피리미딘 유사체, 유레아 유도제, 안트라사이클린, 악티노마이신, 캄프토테신 유도제, 에피포도필로톡신, 탁산, 빈카 알칼로이드 및 유사체, 항안드로겐, 항에스트로겐, 비스테로이드성 방향화효소 저해제, 단백질 키나제 저해제 항종양성, 아자스피로데칸다이온 유도제, 항불안제, 자극제, 모노아민 재흡수 저해제, 선택적 세로토닌 재흡수 저해제, 항우울제, 벤즈아미소옥사졸 유도제, 뷰티로페논 유도제, 다이벤조다이아제핀 유도제, 다이벤조티아제핀 유도제, 다이페닐뷰티피페리딘 유도제, 페노티아진, 티에노벤조다이아제핀 유도제, 티옥산텐 유도제, 알러젠성 추출물, 비스테로이드성 제제, 류코트라이엔 수용체 길항제, 잔틴, 엔도텔린 수용체 길항제, 프로스타글란딘, 폐 계면활성제, 점액분해제, 세포분열저지제, 항통풍제, 잔틴 옥시다제 저해제, 포스포다이에스터라제 저해제, 메타민 염, 나이트로퓨란 유도제, 퀴놀론, 평활근이완제, 부교감 신경 흥분제, 할로겐화 탄화수소, 아미노 벤조산의 에스터, 아마이드(예를 들어, 리도카인, 아티카인 염산염, 부피바카인 염산염), 해열제, 수면제 및 진정제, 사이클로피롤론, 피라졸로피리미딘, 비스테로이드성 항-염증 약물, 오피오이드, 파라-아미노페놀 유도제, 알코올 탈수소효소 저해제, 헤파린 길항제, 흡착제, 최토제, 오피오이드 길항제, 콜린에스터라제 재활성제, 니코틴 대체 요법, 비타민 A 유사체 및 길항제, 비타민 B 유사체 및 길항제, 비타민 C 유사체 및 길항제, 비타민 D 유사체 및 길항제, 비타민 E 유사체 및 길항제, 비타민 K 유사체 및 길항제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0167] 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 중앙 전이를 저해하는 데 효과적인 1종 이상의 사이토카인 및 성장 인자에 접합될 수 있고, 사이토카인 또는 성장 인자는 적어도 하나의 세포 집단에 대해 항종식 효과를 갖는 것으로 나타났다. 이러한 사이토카인, 림포카인, 성장 인자 또는 다른 조혈인자는 하기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다: M-CSF, GM-CSF, TNF, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IFN, TNF α, TNF1, TNF2, G-CSF, Meg-CSF, GM-CSF, 트롬보포이에틴, 줄기 세포 인자 및 에리스로포이에틴. 본 명세서에서 사용하기 위한 추가적인 성장 인자는 안지오텐신, 골형성 단백질-1, 골 형성 단백질-2, 골 형성 단백질-3, 골 형성 단백질-4, 골 형성 단백질-5, 골 형성 단백질-6, 골 형성 단백질-7, 골 형성 단백질-8, 골 형성 단백질-9, 골 형성 단백질-10, 골 형성 단백질-11, 골 형성 단백질-12, 골 형성 단백질-13, 골 형성 단백질-14, 골 형성 단백질-15, 골 형성 단백질 수용체 IA, 골 형성 단백질 수용체 IB, 뇌 유래 신경영양인자, 섬모 신경영양 인자, 섬모 신경영양 인자 수용체 α, 사이토카인-유발 호중구 화학주성 인자 1, 사이토카인-유발 호중구 화학주성 인자 2 α, 사이토카인-유발 호중구 화학주성 인자 2

β , β 내피세포 성장 인자, 엔도텔린 1, 상피-유래 호중구 유인제, 교세포 세포주-유래 호중구 인자 수용체 α 1, 교세포 세포주-유래 호중구 인자 수용체 α 2, 성장 관련 단백질, 성장 관련 단백질 α , 성장 관련 단백질 β , 성장 관련 단백질 γ , 헤파린 결합 표피 성장 인자, 간세포 성장 인자, 간세포 성장 인자 수용체, 인슐린-유사 성장 인자 I, 인슐린-유사 성장 인자 수용체, 인슐린-유사 성장 인자 II, 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질, 각질형성세포 성장 인자, 백혈병 저해 인자, 백혈병 저해 인자 수용체 α , 신경 성장 인자 신경 성장 인자 수용체, 신경영양-3, 신경영양-4, 프레-B 세포 성장 자극 인자, 줄기 세포 인자, 줄기 세포 인자 수용체, 형질전환 성장 인자 α , 형질전환 성장 인자 β , 형질전환 성장 인자 β 1, 형질전환 성장 인자 β 1.2, 형질전환 성장 인자 β 2, 형질전환 성장 인자 β 3, 형질전환 성장 인자 β 5, 잠복성 형질전환 성장 인자 β 1, 형질전환 성장 인자 β 결합 단백질 I, 형질전환 성장 인자 β 결합 단백질 II, 형질전환 성장 인자 β 결합 단백질 III, 종양 괴사 인자 수용체 I형, 종양 괴사 인자 수용체 II형, 유로키나제-형 플라스미노겐 활성화제 수용체, 및 키메라 단백질 및 생물학적으로 또는 면역학적으로 활성인 이들의 단편을 포함한다.

[0168] 일부 실시형태에서, 접합체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질 및 세포독성제를 포함한다. 세포 독성제는 세포에 독성인 임의의 분자(화학적 및 생물학적)이다. 일부 양상에서, 세포독성제가 본 개시내용의 항원-결합 단백질에 접합될 때, 얻어진 결과는 상승작용이다. 다시 말해서, 항원-결합 단백질과 세포독성제의 병용요법의 유효성은 상승작용이며, 즉, 유효성은 각각의 상가적 개개 효과로부터 예상되는 유효성보다 크다. 따라서, 세포독성제의 투약량은 감소될 수 있고, 따라서, 독성 문제의 위험 및 다른 부작용은 동시에 감소된다. 일부 실시형태에서, 세포독성제는 화학치료제이다. 화학치료제는 당업계에 공지되어 있으며, 미국 특허 제 6,630,124호에 기재된 바와 같은 백금 배위 화합물, 토포아이소머라제 저해제, 항생제, 항유사분열 알칼로이드 및 다이플루오로뉴클레오사이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0169] 일부 실시형태에서, 화학치료제는 백금 배위 화합물이다. 용어 "백금 배위 화합물"은 철 형태로 백금을 제공하는 백금 배위 화합물을 저해하는 임의의 종양 세포 성장을 지칭한다.

[0170] 일부 실시형태에서, 백금 배위 화합물은 시스-다이아민다이아쿠오백금 (II)-이온; 클로로(다이에틸렌트라이아민)-백금(II)클로라이드; 다이클로로(에틸렌다이아민)-백금(II), 다이아민(1,1-사이클로부탄다이카복실레이트) 백금(II) (카보플라틴); 스피로플라틴; 이프로플라틴; 다이아민(2-에틸말로네이트)-백금(II); 에틸렌다이아민말로네이트백금(II); 아쿠아(1,2-다이아미노사이클로헥산)-설페이트백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)말로네이트백금(II); (4-카복시프탈레이트)(1,2-다이아미노사이클로헥산)백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)-(아이소시트레이트)백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)시스(파이루베이트)백금(II); (1,2-다이아미노사이클로헥산)옥살레이트백금(II); 오르마플라틴; 및 테트라플라틴이다.

[0171] 일부 실시형태에서, 시스플라틴은 본 발명의 조성물 및 방법에서 사용되는 백금 배위 화합물이다. 시스플라틴은 Bristol Myers-Squibb Corporation으로부터의 명칭 PLATINOL™ 하에 상업적으로 입수 가능하며, 물, 멸균 식염수 또는 다른 적합한 비히클을 이용하는 구성을 위해 분말로서 이용 가능하다. 본 발명에서 사용하기에 적합한 다른 백금 배위 화합물은 공지되어 있으며, 상업적으로 입수 가능하고/하거나 통상적인 기법에 의해 제조될 수 있다. 시스플라틴 또는 시스-다이클로로다이아민백금 II는 다양한 인간 고형 악성 종양의 치료에서 화학치료제로서 다년 동안 성공적으로 사용되어 왔다. 더 최근에는, 다른 다이아미노-백금 복합체가 다양한 인간 고형 악성 종양의 치료에서 화학치료제로서 효능을 나타내었다. 이러한 다이아미노-백금 복합체는 스피로백금 및 카보플라티늄을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 시스플라틴 및 다른 다이아미노-백금 복합체는 인간에서 화학치료제로서 널리 사용되어 왔지만, 이들은 신장 손상과 같은 독성 문제를 야기할 수 있는 높은 투약 수준으로 전달되어야 한다.

[0172] 일부 실시형태에서, 화학치료제는 토포아이소머라제 저해제이다. 토포아이소머라제는 진행 세포에서 DNA 위상(topology)을 변경시킬 수 있는 효소이다. 이들은 세포 기능 및 세포 증식에 중요하다. 일반적으로, 진행 세포에 토포아이소머라제의 2가지 부류, 즉, I형 및 II형이 있다. 토포아이소머라제 I은 대략 100,000의 분자량의 단량체 효소이다. 효소는 DNA에 결합하고, 일시적 단일-가닥 파손을 도입하며, 이중나선을 풀고(또는 이것이 풀리게 함), 후속적으로 DNA 가닥이 분리되기 전에 파손을 다시 봉합한다. 다양한 토포아이소머라제 저해제는 난소암, 식도암 또는 비소세포 폐암종으로 고통받는 인간의 치료에서의 임상 효능이 최근에 나타났다.

[0173] 일부 양상에서, 토포아이소머라제 저해제는 캄토테신 또는 캄토테신 유사체이다. 캄프토테신은 중국에 자생하는 위캄프토테카 아쿠미나타(*Camptotheca acuminata*) 나무 및 인도에 자생하는 노타포디트 포에티다(*Nothapodytes foetida*) 나무에 의해 생성된 수불용성, 세포독성 알칼로이드이다. 캄프토테신은 다수의 종양 세포에 대해 활성을 저해하는 종양 세포 성장을 나타낸다. 캄토테신 유사체 부류의 화합물은 전형적으로 DNA 토포아이소머라제 I

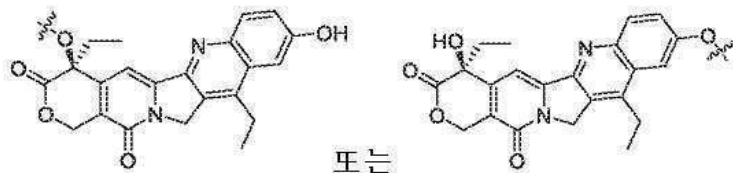
의 특이적 저해제이다. "토포아이스머라제의 저해제"라는 용어는 캄토테신과 구조적으로 관련된 화합물을 저해하는 임의의 종양 세포 성장을 의미한다. 캄토테신 유사체 부류의 화합물은 토포테칸, 이리노테칸 및 9-아미노-캄토테신을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0174]

추가적인 실시형태에서, 세포독성제는 캄토테신 유사체는 1991년 4월 2일자로 발행된 미국 특허 제5,004,758호 및 20' 공개 번호 EP 0 321 122로서 1989년 6월 21자로 공개된 유럽 특허 출원 제88311366.4호; 1986년 8월 5일자로 발행된 미국 특허 제4,604,463호 및 1985년 4월 17일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 137 145호; 1984년 9월 25일자로 공개된 미국 특허 제4,473,692호 및 1983년 3월 16일자로 유럽 특허 출원 공개 번호 EP 0 074 256; 1985년 10월 8일자로 발행된 미국 특허 제4,545,880호 및 1983년 3월 16일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 074 256호; 1983년 9월 14일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 088 642호; Wani et al., J. Med. Chem., 29, 2358-2363 (1986); 문헌[Nitta et al., Proc. 14th International Congr. Chemotherapy, Kyoto, 1985, Tokyo Press, Anticancer Section 1, p. 28-30]에 특허청구되거나 기재된 임의의 종양 세포 성장 저해 캄토테신 유사체, 특히 CPT-11로 불리는 화합물이다. CPT-11은 10-하이드록시-7-에틸 캄토테신의 C-10에서 카바메이트 결합을 통해 결합된 4-(피페리디노)-피페리딘 측쇄를 갖는 캄토테신 유사체이다. CPT-11은 현재 진행 중인 인간 임상 시험이고, 또한 이리노테칸으로서 지칭된다; 문헌[Wani et al., J. Med. Chem., 23, 554 (1980); Wani et. al., J. Med. Chem., 30, 1774 (1987)]; 1982년 8월 3일자로 발행된 미국 특허 제4,342,776호; 1990년 9월 13일자로 출원된 미국 특허 출원 제581,916호 및 1991년 3월 20일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 418 099호; 1985년 4월 23일자로 발행된 미국 특허 출원 제4,513,138호 및 1983년 3월 23일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 EP 0 074 770호; 1983년 8월 16일자로 공개된 미국 특허 제4,399,276호 및 1982년 7월 28일자로 공개된 유럽 특허 출원 공개 0 056 692호; 이들의 전체 개시내용은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 캄토테신 유사체 부류의 상기 열거한 화합물은 모두 상업적으로 입수 가능하고/하거나 상기 열거한 참고문헌에 기재된 것을 포함하는 통상적인 기법에 의해 제조될 수 있다. 토포아이스머라제 저해제는 토포테칸, 이리노테칸 및 9-아미노캄토테신으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0175]

일부 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 이리노테칸(CPT-11)의 활성 대사물질이다. 일부 이러한 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 7-에틸-10-하이드록시캄토테신(SN-38)이다. 대사물질로서, SN-38은 카복실에스터라제에 의한 이리노테칸의 가수분해에 의해 형성된다. 일부 실시형태에서, SN-38은 다음의 구조 중 하나를 가진다:



[0176]

[0177]

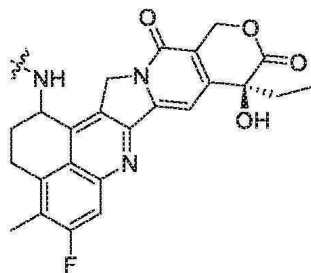
SN-38은 미국 특허 출원 제7,999,083호; 미국 특허 출원 제8,080,250호; 미국 특허 출원 제8,759,496호; 미국 특허 출원 제8,999,344호; 미국 특허 출원 제10,195,288호; 및 미국 특허 출원 제9,808,537호에 기재되어 있다.

[0178]

일부 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 엑사테칸 메탄설포네이트이다. 엑사테칸 메탄설포네이트는 다른 CPT 유사체보다 더 강한 토포아이스머라제 I 저해 활성 및 항종양 활성을 나타내는 수용성 캄토테신(CPT)이다. 또한, 엑사테칸은 p-당단백질(P-gp)-매개 다제내성 세포에 효과적이다.

[0179]

일부 실시형태에서, 캄토테신 유사체는 SN-38보다 10-배 더 높은 토포아이스머라제 I 저해 효능을 갖는 엑사테칸의 강한 유도체인 데록스테칸(Dxd)이다. 일부 실시형태에서, Dxd는 다음의 구조를 가진다:



[0180]

[0181]

Dxd는 미국 특허 출원 제6,407,115호; 미국 특허 출원 제10,195,288호; 미국 특허 출원 제9,808,537호; 및 미

국 특허 출원 제6,407,115호에 기재되어 있다.

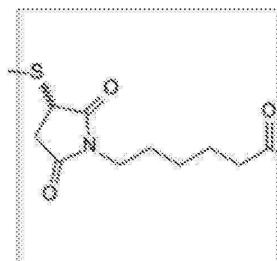
[0182] 캄토테신 유사체 부류의 수많은 화합물의 제제(이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 수화물 및 용매화물)뿐만 아니라 캄토테신 유사체 부류의 이러한 화합물 및 비활성, 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 경구 및 비경구 약제학적 조성물의 제제는 1991년 4월 2일자로 발행된 미국 특허 제5,004,758호 및 공개 번호 EP 0 321 122로서 1989년 6월 21일자로 공개된 유럽 특허 출원 제88311366.4호에 광범위하게 기재되어 있으며, 이들의 교시는 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0183] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 화학치료제는 항생제 화합물이다. 적합한 항생제는 독소루비신, 미토마이신, 블레오마이신, 다우노루비신 및 스트렙토조신을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0184] 일부 실시형태에서, 화학치료제는 항유사분열 알칼로이드이다. 일반적으로, 항유사분열 알칼로이드 일일초(Cantharanthus roseus)로부터 추출될 수 있고, 항암 화학요법제로서 효능있는 것으로 나타났다. 매우 다수의 반합성 유도체는 화학적으로 그리고 약학적으로 연구되었다(문헌[0. Van Tellinghen et al, Anticancer Research, 12, 1699-1716 (1992)] 참조). 본 발명의 항유사분열 알칼로이드는 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 탁솔 및 비노렐빈을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 후자의 두 항유사분열 알칼로이드는 Eli Lilly사 및 Pierre Fabre Laboratories로부터 각각 상업적으로 입수 가능하다(미국 특허 제5,620,985호 참조). 일 실시형태에서, 항유사분열 알칼로이드는 비노렐빈이다.

[0185] 본 발명의 다른 실시형태에서, 화학치료제는 다이플루오로뉴클레오사이드이다. 2'-데옥시-2',2'-다이플루오로뉴클레오사이드는 항바이러스 활성을 갖는 것으로 당업계에 공지되어 있다. 이러한 화합물은 개시되어 있으며, 미국 특허 제4,526,988호 및 제4,808,614호에 개시되어 있다. 유럽 특허 출원 공개 제184,365호는 이들 동일한 다이플루오로뉴클레오사이드가 중앙세포붕괴성 활성을 가진다. 특정 양상에서, 본 발명의 조성물 및 방법에서 사용되는 2'-데옥시-2',2'-다이플루오로뉴클레오사이드는 겐시타빈 하이드로클로라이드로도 알려진 2'-데옥시-2',2'-다이플루오로사이티딘 하이드로클로라이드이다. 겐시타빈은 상업적으로 입수 가능하거나, 미국 특허 제4,526,988호, 제4,808,614호 및 제5,223,608호에 개시되고 교시된 다단계 공정에서 합성될 수 있으며, 이들의 교시는 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

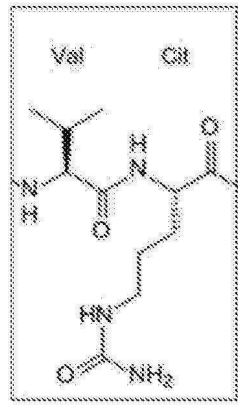
[0186] 다양한 양상에서, 화학치료제는 튜불린 중합 차단, 미세소관 탈안정화, 또는 미세소관 동역학 변경에 의해 세포분열을 저해하는 항유사분열제, 예를 들어, 메이탄시노이드 또는 이의 유도체(예를 들어, DM1 또는 DM4), 아우리스타틴 또는 이의 유도체이다. 다양한 예에서, 화학치료제는 아우리스타틴이다. 예를 들어, 일부 양상에서, 아우리스타틴은 돌라스타틴, 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE) 또는 PF-06380101이다. 아우리스타틴은 당업계에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Maderna, A.; et al., Mol Pharmaceutics 12(6): 1798-1812(2015)] 참조. 다양한 양상에서, 접합체는 MMAE와 병용하여 본 개시내용의 항체를 포함한다. 선택적으로, 접합체는 링커를 포함한다. 일부 양상에서, 링커는 절단성 연결 모이어티를 포함한다. 다양한 예에서, 접합체는 카텝신-절단성 링커에 연결된 부착기에 연결되고, 결국 MMAE에 연결되는 스페이서에 연결되는 본 개시내용의 항체를 포함한다. 양상에서, 부착 기는 항체의 Fc 영역의 Cys 잔기를 통해 항체에 부착된다. 예시적 양상에서, 부착 기는 하기 화학식 I의 구조를 포함한다:



[0187]

[0188] [화학식 I]

[0189] 예시적 양상에서, 카텝신 절단성 링커는 하기 화학식 II의 구조식을 포함한다:



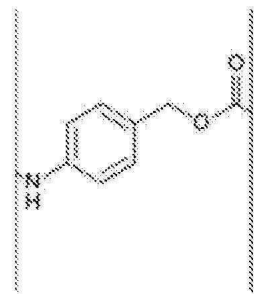
[0190]

[0191]

[화학식 II].

[0192]

예시적 양상에서, 스페이서는 하기 화학식 III의 구조를 포함한다:



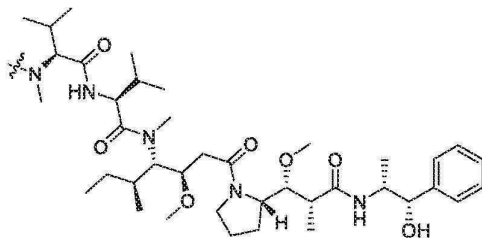
[0193]

[0194]

[화학식 III].

[0195]

일부 실시형태에서, MMAE는 다음의 구조를 가진다:



[0196]

[0197]

본 개시내용은 또한 접합체가 융합 단백질이 되도록 폴리펩타이드에 연결된 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함하는 접합체를 제공한다. 따라서, 본 개시내용은 폴리펩타이드에 연결된 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 폴리펩타이드는 진단 표지, 예를 들어, 형광 단백질, 예컨대, 녹색 형광 단백질, 또는 기타 태그, 예를 들어, Myc 태그이다. 다양한 양상에서, 폴리펩타이드는 사이토카인, 림포카인, 성장 인자 또는 상기 열거한 다른 조혈인자 중 하나이다.

[0198]

링커

[0199]

일부 실시형태에서, 접합체는 이중성 모이어티에 직접 연결된다. 대안의 실시형태에서, 접합체는 본 개시내용의 화합물을 이중성 모이어티에 결합시키는 링커를 포함한다. 일부 양상에서, 링커는 1 내지 약 60, 또는 1 내지 30개 이상의 원자, 2 내지 5개의 원자, 2 내지 10개의 원자, 5 내지 10개의 원자, 또는 10 내지 20개 이상의 원자의쇄를 포함한다. 일부 실시형태에서,쇄 원자는 모두 탄소 원자이다. 일부 실시형태에서, 링커 골격에서쇄 원자는 C, O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된다.쇄 원자 및 링커는 더 가용성인 접합체를 제공하기 위해 이들의 예상된 용해도(친수성)에 따라 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 표적 조직 또는 기관 또는 세포에서 발견되는 효소 또는 다른 촉매 또는 가수분해 조건에 의해 절단 처리되는 작용기를 제공한다. 일부 실시형태에서, 링커의 길이는 입체 장애에 대한 가능성을 감소시킬만큼 충분히 길다. 일부 실시형태에서, 링커는 아미노산 또는 펩타이드 링커이다. 이러한 펩타이드 링커는 임의의 길이일 수 있다. 다양한 링커는 약 1 내지

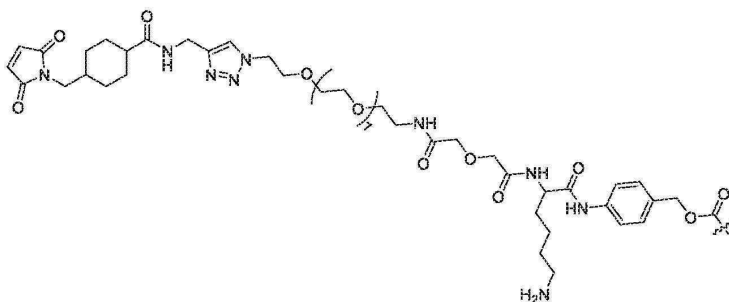
50개의 아미노산 길이, 5 내지 50, 3 내지 5, 5 내지 10, 5 내지 15, 또는 10 내지 30개의 아미노산 길이이다.

[0200] 다양한 적합한 링커는 당업계에 공지되어 있다. 링커의 절단이 세포내 환경에서 약물을 방출하도록, 링커는, 예를 들어, 생리적 조건 하에, 예를 들어, 세포내 조건 하에서 절단성(절단성 링커)일 수 있다. 대안적으로, 링커의 절단이 종양 세포 내에 우선적으로 침투하는 약물을 방출하도록, 링커는 세포외 조건 하에, 예를 들어, 종양 세포 밖에서 또는 종양 덩어리 근처에서 절단성일 수 있다. 다른 실시형태에서, 링커는 절단성이 아니며(비-절단성 링커), 약물은, 예를 들어, 항체 분해에 의해 방출된다.

[0201] 링커는 항체 모이어티 상에서 화학적 반응성 기에, 예를 들어, 유리 아미노, 이미노, 하이드록실, 티올 또는 카복실기에(예를 들어, N- 또는 C-말단에, 하나 이상의 라이신 잔기의 앵글론 아미노기에, 하나 이상의 글루탐산 또는 아스파르트산 잔기의 유리 카복실기에, 하나 이상의 시스테인일 잔기의 설프하이드릴기에, 또는 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 하이드록실기에) 결합될 수 있다. 링커가 결합되는 부위는 항체 모이어티의 아미노산 서열의 천연 잔기일 수 있거나, 또는 예를 들어, DNA 재조합 기술에 의해(예를 들어, 아미노산 서열에서 시스테인 또는 프로테아제 절단 부위를 도입함으로써) 또는 단백질 생화학(예를 들어, 환원, pH 조절 또는 단백질 분해)에 의해, 항체 모이어티에 도입될 수 있다. 링커가 결합되는 부위는 또한 비천연 아미노산일 수 있다. 링커가 결합되는 부위는 또한 항체 상의 글리칸일 수 있다.

[0202] 전형적으로, 링커가 연결하는 2개의 기가 연결되는 조건 하에서 링커는 실질적으로 비활성이다. 용어 "2작용성 가교제", "2작용성 링커" 또는 "가교제"는 링커의 각 말단에 2개의 반응성기를 갖는 변형체를 지칭하며, 하나의 반응성 기는 세포독성 화합물과 처음 반응되어 링커 모이어티를 보유하는 화합물을 제공할 수 있고, 이어서, 제 2 반응성기는 항체와 반응될 수 있다. 대안적으로, 2작용성 가교제의 하나의 말단은 항체와 처음 반응되어 링커 모이어티를 보유하는 항체를 제공할 수 있고, 이어서, 제 2 반응성기는 세포독성 화합물과 반응될 수 있다. 연결 모이어티는 특정 부위에서 세포독성 모이어티의 방출을 가능하게 하는 화학적 결합을 포함할 수 있다. 적합한 화학적 결합은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 이황화결합, 티오에터 결합, 산 불안정 결합, 광불안정 결합, 프로테아제/펩티다제 불안정 결합, 및 에스테라제 불안정 결합을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 제5,208,020호; 제5,475,092호; 제6,441,163호; 제6,716,821호; 제6,913,748호; 제7,276,497호; 제7,276,499호; 제7,368,565호; 제7,388,026호 및 제7,414,073호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 결합은 이황화결합, 티오에터, 및/또는 프로테아제/펩티다제 불안정 결합이다. 본 발명에서 사용될 수 있는 다른 링커는 비-절단성 링커, 예컨대, 미국 특허 제20050169933호에 상세하게 기재된 것, 하전된 링커, 또는 친수성 링커, 예컨대, 미국 특허 공개 제2009/0274713호, 미국 특허 공개 제2010/0129314호 및 WO 2009/134976을 포함하며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 분명하게 인용된다.

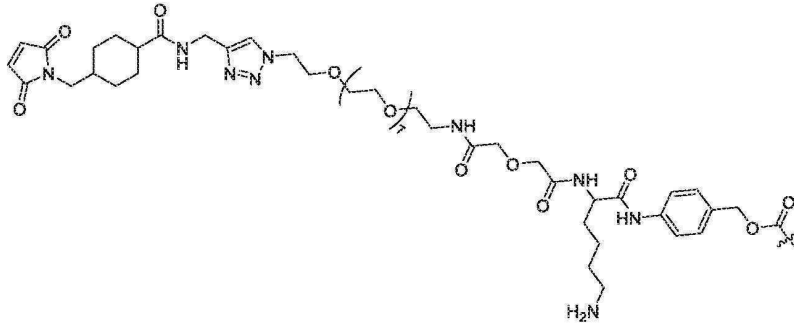
[0203] 일부 실시형태에서, 링커는 접합체에 소수성을 부여하는 친수성 링커이다. 일부 실시형태에서, 친수성 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 친수성 링커는 CLA2이다. 일부 실시형태에서, CLA2 링커는 다음의 구조를 갖는다:



[0204]

[0205] CLA2는 미국 특허 제8,080,250호; 제8,759,496호; 및 제10,195,288호에 기재되어 있다.

[0206] 일부 실시형태에서, 친수성 링커는 CL2E이다. 일부 실시형태에서, CL2E 링커는 다음의 구조를 갖는다:

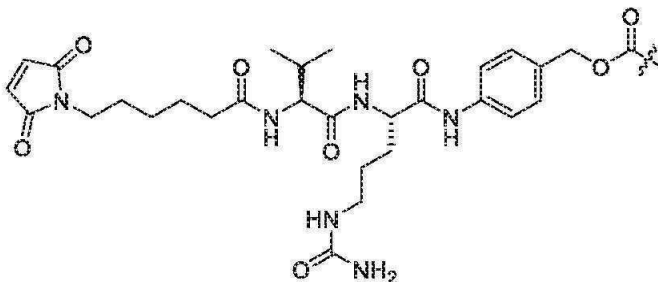


[0207]

[0208] CL2E는 미국 특허 제8,080,250호; 제8,759,496호; 및 제10,195,288호에 기재되어 있다.

[0209] 일부 실시형태에서, 링커는 세포내 환경에(예를 들어, 라이소좀 또는 엔도솜 또는 카베올라 내에) 존재하는 절단제에 의해 절단 가능하다. 링커는, 예를 들어, 라이소좀 또는 엔도솜 프로테아제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 세포내 또는 세포외 펩티다제 또는 프로테아제 효소에 의해 절단되는 펩타이드 링커일 수 있다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 아미노산 길이를 포함한다.

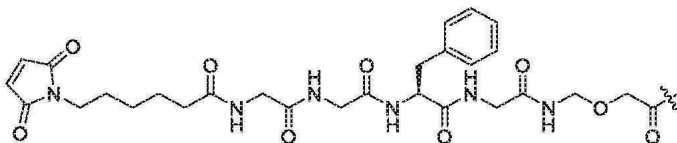
[0210] 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 발린 및 시트룰린 잔기를 포함하는 MC-VC-PAB이다. 일부 실시형태에서, MC-VC-PAB 링커는 다음의 구조를 갖는다:



[0211]

[0212] MC-VC-PAB는 미국 특허 제7,659,241호; 제7,829,531호; 제6,884,869호; 제6,214,345호; 및 제6,214,345호에 기재되어 있다.

[0213] 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 말레이미도카프로일 글리신-글리신-페닐알라닌-글리신(MC-GGFG)이다. 일부 실시형태에서, MC-GGFG 링커는 다음의 구조를 갖는다:



[0214]

[0215] MC-GGFG는 미국 특허 제9,808,537호; 및 제10,195,288호에 기재되어 있다.

[0216] 다른 실시형태에서, 절단성 링커는 pH-민감성, 즉, 특정 pH에서 가수분해에 민감성이다. 일부 실시형태에서, pH-민감성 링커는 산성 조건 하에 가수분해 가능하다. 예를 들어, 라이소좀에서 가수분해 가능한 산-불안정 링커(예를 들어, 하이드라존, 세미카바존, 티오세미카바존, 시스-아코니트산 아마이드, 오쏘에스터, 아세탈, 케탈 등)가 사용될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제5,122,368호; 제5,824,805호; 제5,622,929호; 문헌[Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville et al, 1989, Biol. Chem. 264: 14653-14661] 참조). 이러한 링커는 중성 pH 조건, 예컨대, 혈액 중에서 상대적으로 안정하지만, pH 5.5 또는 5.0 미만, 라이소좀의 대략의 pH에서 불안정하다. 특정 실시형태에서, 가수분해 가능한 링커는 티오에터 링커(예를 들어, 아실 하이드라존 결합을 통해 치료제에 부착되는 티오에터이다(예를 들어, 미국 특허 제5,622,929호 참조)).

[0217] 다른 실시형태에서, 링커는 환원 조건 하에 절단성이다(예를 들어, 이황화 링커). 이황화결합을 통해 세포독성

화합물과의 항체 결합을 가능하게 하는 2작용성 가교제는 N-석신이미딜-4-(4-나이트로피리딜-2-다이티오)부타노에이트, N-석신이미딜-3-(2-피리딜다이티오)프로피오네이트(SPDP), N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오)펜타노에이트(SPP), N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오)부타노에이트(SPDB), N-석신이미딜-4-(2-피리딜다이티오)-2-설포부타노에이트(설포-SPDB)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 설포-SPDB는, 예를 들어, 본 명세서에 참조에 의해 인용되는 미국 특허 제8,236,319호에 기재되어 있다. 대안적으로, 티올기를 도입하기 위한 가교제, 예컨대, 2-이미노티올란, 호모시스테인 티올락톤 또는 S-아세틸석신산 무수물이 사용될 수 있다. 다른 실시형태에서, 링커는 앞서 기재한 펩타이드, pH-민감성, 또는 이황화물 링커 중 하나 이상의 조합을 포함할 수 있다.

[0218] "이종2작용성 가교제"는 두 상이한 반응기를 갖는 2작용성 가교제이다. 세포독성 화합물을 항체와 연결하기 위해 아민-반응성 N-하이드록시석신이미디기(NHS 기)와 카보닐-반응성 하이드라진기를 둘 다 포함하는 이종2작용성 가교제가 또한 사용될 수 있다. 이러한 상업적으로 입수 가능한 이종2작용성 가교제의 예는 석신이미딜 6-하이드라지노니코틴아마이드 아세톤 하이드라존(SANH), 석신이미딜 4-하이드라지도테레프탈레이트 하이드로클로라이드(SHTH) 및 석신이미딜 하이드라지늄 니코티네이트 하이드로클로라이드(SHNH)를 포함한다. 본 발명의 하이드라진-보유 벤조다이아제핀 유도체를 이용하여 산 불안정 결합을 유지하는 접합체가 또한 제조될 수 있다. 사용될 수 있는 2작용성 가교제의 예는 석신이미딜-p-폼일 벤조에이트(SFB) 및 석신이미딜-p-폼일페녹시아세이트(SFPA)를 포함한다.

[0219] 본 명세서에 기재된 링커는 본 명세서에 기재된 이종성 모이어티와의 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 상기 열거한 링커와 본 명세서에 기재된 이종성 모이어티는 모두 상업적으로 입수 가능하고/하거나 상기 열거한 참고문헌에 기재한 것을 포함하는 통상적인 기법에 의해 제조될 수 있다.

[0220] **접합**

[0221] 이종성 모이어티-대-항원-결합 단백질 비(HAR)는 항원-결합 분자마다 연결된 이종성 모이어티의 수를 나타낸다. 일부 실시형태에서, HAR은 1 대 15, 1 대 10, 1 대 9, 1 대 8, 1 대 7, 1 대 6, 1 대 5, 1 대 4, 1 대 3, 또는 1 대 2의 범위이다. 일부 실시형태에서, HAR은 2 대 10, 2 대 9, 2 대 8, 2 대 7, 2 대 6, 2 대 5, 2 대 4 또는 2 대 3의 범위이다. 다른 실시형태에서, HAR은 약 2, 약 2.5, 약 3, 약 4, 약 5, 또는 약 6이다. 일부 실시형태에서, HAR은 약 2 내지 약 4의 범위이다. HAR은 통상적인 수단, 예컨대, 질량분석법, UV/Vis 분광학, ELISA 분석 및/또는 HPLC에 의해 특성규명될 수 있다.

[0222] 일부 실시형태에서, 접합체는 이질 접합체("통상적"으로도 지칭됨)이되, 항원-결합 단백질은 상이한 수의 이종성 모이어티에 접합된다. 일부 실시형태에서, 이질 접합체는 접합체의 가우시안(Gaussian) 분포 또는 준-가우시안 분포에 따르되, 분포는 평균 이종성 모이어티 부하 값으로 집중되며 일부 항원-결합 단백질은 평균보다 높게 접합되고, 일부 항원-결합 단백질은 평균보다 낮게 접합된다.

[0223] 일부 실시형태에서, 접합체는 동질 접합체이되, 항원-결합 단백질의 실질적인 백분율은 정해진 수의 모이어티에 접합된다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10의 HAR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 2, 4, 6 또는 8의 HAR을 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 동질 접합체는 4의 HAR을 포함한다. 다른 바람직한 실시형태에서, 동질 접합체는 2의 HAR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 정해진 HAR과의 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 이상 또는 100%의 접합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 정해진 HAR과의 약 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100%의 접합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 정해진 HAR과의 적어도 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100%의 접합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체는 가우시안 또는 준-가우시안 분포가 아닌 HAR 분포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동질 접합체의 동질성은 크로마토그램, 예를 들어, HPLC 또는 임의의 적합한 크로마토그래피에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 크로마토그램은 HIC 크로마토그램이다. 동질 접합체는 부위-특이적 접합에 의해 생성될 수 있다.

[0224] 일부 실시형태에서, 이종성 모이어티는 부위-특이적 방식으로 항원-결합 단백질(예를 들어, 항체)에 접합된다. 다양한 부위-특이적 접합 방법, 예를 들어, 깎지여지지 않은 시스테인 잔기에서의 티오맵 또는 TDC 또는 접합(Junutula *et al.* (2008) *Nat. Biotechnol.* 26:925-932; Dimasi *et al.* (2017) *Mol. Pharm.* 14:1501-1516; Shen *et al.* (2012) *Nat. Biotechnol.* 30:184-9); 티올 브리지 링커(Behrens *et al.* (2015) *Mol. Pharm.* 12:3986-98); 트랜스글루타미나제를 이용하는 글루타민에서의 접합(Dennler *et al.* (2013) *Methods Mol. Bio.* 1045:205-15; Dennler *et al.* (2014) *Bioconj Chem.* 25:569-78); 조작된 비천원 아미노산 잔기에서의 접합

(Axup *et al.* (2012) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 104:16101-6; Tian *et al.* (2014) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 111:1766-71; VanBrunt *et al.* (2015) *Bioconjug Chem* 26:2249-60; Zimmerman *et al.* (2014) *Bioconjug Chem* 25:351-61); 셀레노시스테인 접합(Li *et al.* (2017) *Cell Chem Biol* 24:433-442); 글리칸-매개 접합(Okeley *et al.* (2013) *Bioconjug Chem* 24:1650-5); 갈락토스 또는 GalNAc 유사체에서의 접합(Ramakrishnan and Qasba (2002) *J Biol Chem* 277:20833-9; van Geel *et al.* (2015) *Bioconjug Chem* 26:2233-42); 글리칸 조작을 통해(Zhou *et al.* (2014) *Bioconjug Chem* 25:510-20; Tang *et al.* (2017) *Nat Protoc* 12:1702-1721); 짧은 펩타이드 태그, 예컨대, 글루타민 태그 또는 솔타제 A-매개 펩타이드전달의 조작을 통해(Strop *et al.* (2013) *Chem Biol* 20:161-7; Beerli *et al.* (2015) *PLoS One* 10:e0131177); 그리고 알데하이드 태그를 통해(Wu *et al.* (2009) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 106:3000-5) 당업계에 공지되어 있다.

[0225] 접합체(예를 들어, ADC)의 예측 불가능성

[0226] 사전에, 단순히 항체 프로파일, 또는 약물 페이로드 프로파일에 기반하여 예측할 수 없으며, 이의 항체-약물 접합체는 임상 용도에 충분히 안전하고 효과적일 것이다. 예를 들어, 특정 약물 페이로드는 하나의 표적으로 향하는 항체에 접합될 때 완벽하게 잘 기능할 수 있지만, 상이한 표적으로 향하는 항체에, 또는 심지어 동일한 표적으로 향하는 상이한 항체에 접합될 때에도 거의 작용하지 않을 수도 있다. 상이한 항체-약물 접합체가 생체내 상이한 항-종양 활성을 나타내는 이유는 새로운 항체-약물 접합체의 설계에서 정확한 예측을 가능하게 하도록 충분히 잘 이해되고 있지 않다. 다수 인자의 예측 불가능한 상호 작용은 어떤 역할을 한다는 것이 추측된다. 이들 인자는, 예를 들어, 표적 항원에 대한 항체-약물 접합체의 결합 친화도, 고형 종양에 침투하는 접합체의 능력뿐만 아니라 독성을 야기하는 일 없이 종양에 적절한 노출을 위한 순환에서의 반감기를 포함할 수 있다.

[0227] 복잡성 및 예측 불가능성은 항체 친화도 단독에 의해 잘 입증된다. 고친화도를 갖는 항체 또는 항체-약물 접합체는 더 양호한 세포 흡수를 추적하며, 이는 세포 내에서 방출된 보다 고수준의 세포독성 페이로드를 야기한다. 보다 고친화도는 또한 항체-의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 향상시키는 것으로 알려져 있다. 이들 속성은 모두 항체-약물 접합체의 세포 사멸 성향을 유리하게 한다. 그러나, 또한 항체 또는 항체-약물 접합체의 고친화도는 "항원 장벽 효과"를 통한 효율적인 종양 침투를 방지할 수 있는 것으로 알려져 있으며, 이는 생체내 강한 항-종양 활성을 달성하기 위해, 항체-약물 접합체의 친화도는 너무 높거나 너무 낮지 않고 적당하여야 한다는 것을 시사한다. 지금까지, 항체-약물 접합체에 대한 친화도의 가장 효율적이거나 효과적인 수준이 되는 것을 예측하는 방법은 알려져 있지 않다.

[0228] 또한, 생체내 항-종양 활성은 링커 및 페이로드 단독의 메커니즘에 의해 예측될 수 없다. 예를 들어, 문헌[0. Ab *et al.*, *Mol. Cancer Ther.* 14(&):1605-1613 (2015)]은 전임상 암 모델에서 시험할 때, 상이한 링커를 통해 동일한 항-튜블린 독소에 접합된 동일한 항체는 극적으로 상이한 항-종양 활성을 나타낸다는 것을 입증하였다. 본 실시예는 두 링커의 화학적 구조가 매우 유사하기 때문에 특히 놀랍다. 또한, 우수한 접합체에 존재하는 링커는 친수성 모이어티를 포함하였다. 친수성 대사물질은 일반적으로 막 침투성이 더 적으며, 라이소좀(접합체 분해 부위)으로부터의 유출물에서 더 느린 것으로 생각되고, 방출된 페이로드의 항-튜블린 활성에서 지연을 야기한다. 이 발견은 페이로드 전달의 "이상적인"동력학을 주장하지만, 지금까지, 이러한 동력학을 구성하는 것에 대한 통찰은 없다. 이 복잡성에 추가되는 것은 특정 세포 유형에 대해 정해진 경우에도 페이로드 전달의 이상적인 동력학이 모든 세포 유형에 적용되는지의 여부에 대한 제약이 없는 질문이다. 따라서, 링커 또는 페이로드의 화학적 조성으로부터 단지 더 효과적인생체내 항-종양 활성을 예측하는 것은 가능하지 않다.

[0229] 조성물, 약제학적 조성물 및 제형

[0230] 본 명세서에 개시된 바와 같은 항원-결합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 접합체를 포함하는 조성물이 본 명세서에 제공된다. 일부 양상에서 조성물은 단리 및/또는 정제된 형태로 항원-결합 단백질을 포함한다. 일부 양상에서, 조성물은 본 개시내용의 항원-결합 단백질의 단일 유형(예를 들어, 구조)을 포함하거나, 본 개시내용의 둘 이상의 항원-결합 단백질의 조합물을 포함하되, 조성물은 상이한 유형(예를 들어, 구조)의 둘 이상의 항원-결합 단백질을 포함한다.

[0231] 일부 양상에서, 조성물은 특정 온도, 예를 들어, 실온에서, 예를 들어, 항원-결합 단백질의 안정화를 통해 항원-결합 단백질의 화학-물리적 특성을 향상시켜, 보관수명을 증가시키고, 분해, 예를 들어, 산화 프로테아제 매개 분해를 감소시키며, 항원-결합 단백질의 반감기를 증가시키며, 기타 등등인 제제를 포함한다. 일부 양상에서, 조성물은 선택적으로 본 개시내용의 항원-결합 단백질에 혼합되거나 또는 항원-결합 단백질에 접합된 이중성 모이어티 또는 접합체 모이어티로서 본 명세서에 개시된 임의의 제제를 포함한다.

- [0232] 본 개시내용의 다양한 양상에서, 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 항원-결합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 접합체(본 명세서에서 이후에 "활성제"로서 지칭됨)는 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제와 함께 활성제를 포함하는 약제학적 조성물로 제형화된다. 이와 관련하여, 본 개시내용은 대상체, 예를 들어, 포유류에 대한 투여용으로 의도되는 활성제를 포함하는 약제학적 조성물을 추가로 제공한다.
- [0233] 일부 실시형태에서, 활성제는 환자에 투여하기에 적합한 순도 수준에서 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시형태에서, 활성제는 적어도 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98% 또는 약 99%의 순도 수준, 및 약제학적으로 허용 가능 희석제, 담체 또는 부형제를 가진다. 일부 실시형태에서, 조성물은 약 0.001 내지 약 30.0mg/ml의 농도로 활성제를 함유한다.
- [0234] 다양한 양상에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 임의의 표준 약제학적 담체, 예컨대, 인산염 완충 식염수 용액, 물, 에멀션, 예컨대, 오일/물 또는 물/오일 에멀션, 및 다양한 유형의 습윤제를 포함한다. 상기 용어는 또한 인간을 포함하는 동물에서 사용하기 위한 미연방정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 미국 약전에서 열거되는 임의의 제제를 포함한다.
- [0235] 약제학적 조성물은, 예를 들어, 산성화제, 첨가제, 흡착제, 에어로졸 추진제, 공기 이동제, 알칼리제, 고결방지제, 항응고제, 항균 보존제, 항산화제, 방부제, 염기, 결합제, 완충제, 킬레이트제, 코팅제, 착색제, 건조제, 세척제, 희석제, 소독약, 붕괴제, 분산제, 용해 향상제, 염료, 완화제, 유화제, 에멀션 안정제, 충전제, 필름형성제, 향미 증진제, 향미제, 유동 향상제, 겔화제, 과립화제, 습윤화제, 윤활제, 점막접착제, 연고기제, 연고, 유성 비히클, 유기 염기, 파스틸 베이스, 색소, 가소제, 연마제, 보존제, 금속이온 봉쇄제, 피부 침투제, 가용화제, 용매, 안정제, 좌약 베이스, 표면 활성제, 계면활성제, 현탁제, 감미제, 치료제, 증점제, 등장제, 독성제, 점도-증가제, 물-흡수제, 물-혼화성 공용매, 연수제 또는 습윤제를 포함하는, 임의의 약제학적으로 허용 가능한 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된 문헌[the *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Third Edition, A. H. Kibbe (Pharmaceutical Press, London, UK, 2000)] 참조. 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된 문헌[*Remington's Pharmaceutical Sciences*, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980)].
- [0236] 다양한 양상에서, 약제학적 조성물은 사용되는 투약량 및 농도에서 수용자에 대해 비독성인 제형 물질을 포함한다. 구체적 실시형태에서, 약제학적 조성물은 활성제 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 염; 폴리올; 계면활성제; 삼투 균형제; 등장제; 항산화제; 항생제; 항진균제; 증량제; 동결건조보호제; 소포제; 킬레이트제; 보존제; 착색제; 진통제; 또는 추가적인 약제학적 제제를 포함한다. 다양한 양상에서, 약제학적 조성물은 선택적으로, 약제학적으로 허용 가능한 염; 삼투 균형제(등장제); 항산화제; 항생제; 항진균제; 증량제; 동결건조보호제; 소포제; 킬레이트제; 보존제; 착색제; 및 진통제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 1종 이상의 부형제에 추가로, 하나 이상의 폴리올 및/또는 하나 이상의 계면활성제를 포함한다.
- [0237] 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은, 예를 들어, 조성물의 pH, 삼투압 농도, 점성도, 투명도, 색, 등장성, 냄새, 멸균, 안정성, 용해 또는 방출 속도, 흡착 또는 침투를 변형, 유지 또는 보존하기 위한 제형 물질을 함유할 수 있다. 이러한 실시형태에서, 적합한 제형 물질은 아미노산(예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신); 항균제; 항산화제(예컨대, 아스코르브산, 황산나트륨 또는 아황산수소나트륨); 완충제(예컨대, 붕산염, 중탄산염, Tris-HCl, 시트르산염, 인산염 또는 기타 유기산); 증량제(예컨대, 만니톨 또는 글리신); 킬레이트제(예컨대, 에틸렌다이아민 테트라아세트산(EDTA)); 착화제(예컨대, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-사이클로덱스트린 또는 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린); 충전제; 당류; 이당류; 및 기타 탄수화물(예컨대, 글루코스, 만노스 또는 텍스트린); 단백질(예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 착색제, 향미제 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체(예컨대, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩타이드; 염-형성 반대이온(예컨대, 나트륨); 보존제(예컨대, 염화벤즈알코올, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸 파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 솔보산 또는 과산화수소); 용매(예컨대, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜); 당 알코올(예컨대, 만니톨 또는 솔비톨); 현탁제; 계면활성제 또는 습윤제(예컨대, 플루로닉, PEG, 솔비탄 에스터, 폴리솔베이트, 예컨대, 폴리솔베이트 20, 폴리솔베이트, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 킬로사팔); 안정성 향상제(예컨대, 수크로스 또는 솔비톨); 등장성 향상제(예컨대, 알칼리금속 할로겐화물, 바람직하게는, 염화나트륨 또는 염화칼륨, 만니톨 솔비톨); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및/또는 약제학적 아유반트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 문헌[REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18"

Edition, (A. R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company] 참조.

- [0238] 약제학적 조성물은 생리적으로 적합한 pH를 달성하도록 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 pH는, 예를 들어, 약 4 또는 약 5 및 약 8.0 또는 약 4.5 및 약 7.5 또는 약 5.0 내지 약 7.5일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 약제학적 조성물의 pH는 5.5 내지 7.5이다.
- [0239] 본 개시내용은 약제학적 조성물을 생산하는 방법을 제공한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질, 접합체, 융합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 이들의 조합물을 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제와 조합하는 단계를 포함한다.
- [0240] 투여 경로
- [0241] 본 개시내용과 관련하여, 활성제, 또는 이를 포함하는 약제학적 조성물은 임의의 적합한 투여 경로를 통해 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 활성제는 비경구, 비강, 경구, 폐, 국소, 질 또는 직장 투여를 통해 대상체에게 투여될 수 있다. 투여 경로에 대한 다음의 논의는 단지 다양한 실시형태를 예시하기 위해 제공되며, 범주를 임의의 방법으로 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0242] 비경구 투여에 적합한 제형은 항산화제, 완충제, 정균제 및 의도된 수용자의 혈액과 등장성인 제형을 제공하는 용질, 및 현탁제, 가용화제, 증점제, 안정제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 현탁액을 함유할 수 있는, 수성 및 비-수성, 등장 멸균 주사 용액을 포함한다. 용어 "비경구"는 소화관을 통하지는 않지만 임의의 다른 경로, 예컨대, 피하, 근육내, 척수내 또는 정맥내와 같은 일부 다른 경로에 의함을 의미한다. 본 개시내용의 활성제는 약제학적으로 허용 가능한 계면활성제, 예컨대, 비누 또는 세정제, 현탁제, 예컨대, 액틴, 카보머, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 또는 카복시메틸셀룰로스, 또는 유화제 및 기타 약제학적 아유반트의 첨가와 함께 또는 첨가 없이 물, 식염수, 수성 텍스트로스 및 관련된 당 용액, 알코올, 예컨대, 에탄올 또는 핵사데실 알코올, 글리콜, 예컨대, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜, 다이메틸설폭사이드, 글리세롤, 케탈, 예컨대, 2,2-다이메틸-153-다이옥솔란-4-메탄올, 에터, 폴리(에틸렌글리콜) 400, 오일, 지방산, 지방산 에스터 또는 글리세라이드 또는 아세틸화된 지방산 글리세라이드를 포함하는, 약제학적 담체, 예컨대, 멸균 액체 또는 액체의 혼합물 중의 생리학적으로 허용 가능한 희석제와 함께 투여될 수 있다.
- [0243] 비경구 제형에서 사용될 수 있는 오일은 석유, 동물, 식물성 또는 합성 오일을 포함한다. 오일의 구체적인 예는 땅콩유, 대두유, 참깨유, 면실유, 옥수수유, 올리브유, 석유 및 광유를 포함한다. 비경구 제형에서 사용하기 위한 적합한 지방산은 올레산, 스테아르산 및 아이소스테아르산을 포함한다. 에틸 올리에이트 및 아이소프로필 미리스테이트는 적합한 지방산 에스터의 예이다.
- [0244] 비경구 제형에서 사용하기 위한 적합한 비누는 지방 알칼리 금속, 암모늄 및 트라이에탄올아민 염을 포함하고, 적합한 세정제는 (a) 양이온성 세정제, 예를 들어, 다이메틸 다이알킬 암모늄 할로겐화물, 및 알킬 피리디늄 할로겐화물, (b) 음이온성 세정제, 예를 들어, 알킬, 아릴, 및 올레핀 설포네이트, 알킬, 올레핀, 에터, 및 모노글리세라이드 설페이트, 및 설포석시네이트, (c) 비이온성 세정제, 예컨대, 지방 아민 옥사이드, 지방산 알칸올 아마이드 및 폴리옥시에틸렌폴리프로필렌 공중합체, (d) 양쪽성 세정제, 예를 들어, 알킬-β-아미노프로피오네이트 및 2-알킬 -이미다졸린 4차 암모늄염, 및 (e) 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0245] 일부 실시형태에서, 비경구 제형은 용액 중 약 0.5중량% 내지 약 25중량%의 본 개시내용의 활성제를 함유한다. 보존제 및 완충제가 사용될 수 있다. 주사 부위에서 자극을 최소화 또는 제거하기 위해, 이러한 조성물은 친수성-친유성 밸런스(HLB)가 약 12 내지 약 17인, 1종 이상의 비이온성 계면활성제를 함유할 수 있다. 이러한 제형 중의 계면활성제의 양은 전형적으로 약 5중량% 내지 약 15중량%의 범위일 것이다. 적합한 계면활성제는 폴리에틸렌 글리콜 솔비탄 지방산 에스터, 예컨대, 솔비탄 모노올리에에트, 및 프로필렌 옥사이드와 프로필렌 글리콜의 축합에 의해 형성된 소수성 염기와 에틸렌 옥사이드의 고분자량 부가물을 포함한다. 일부 양상에서 비경구 제형은 단일-용량 또는 다회 용량의 밀봉 용기, 예컨대, 앰플 및 바이알로 제공되며, 사용 직전에 주사를 위해 멸균 액체 부형제, 예를 들어, 물의 첨가만을 필요로 하는 냉동-건조(동결건조) 조건에 저장될 수 있다. 일부 양상에서 즉석 주사 용액 및 현탁액은 앞서 기재한 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조된다.
- [0246] 주사용 제형은 본 개시내용에 따른다. 주사용 조성물에 효과적인 약제학적 담체에 대한 필요는 당업자에게 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[*Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Company, Philadelphia, PA, Banker and Chalmers, eds., 페이지 238-250 (1982), 및 *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4th ed., 페이지 622-630 (1986)] 참조).

- [0247] 투약량
- [0248] 본 개시내용의 활성제는 종양 성장을 저해하는 방법뿐만 아니라 암을 치료 또는 예방하는 방법을 포함하는 본 명세서에 추가로 기재하는 바와 같은 다른 방법에서 유용한 것으로 여겨진다. 본 개시내용의 목적을 위해, 투여되는 활성제의 양 또는 용량은 합리적인 시간들에 걸쳐 대상체 또는 동물에서, 예를 들어, 치료적 또는 예방적 반응을 달성하는 데 충분하여야 한다. 예를 들어, 본 개시내용의 활성제의 용량은 투여 시간으로부터 약 1 내지 4분, 1 내지 4시간 또는 1 내지 4주 이상, 예를 들어, 5 내지 20주 이상의 기간에 본 명세서에 기재된 바와 같은 암을 치료하는 데 충분하여야 한다. 특정 실시형태에서, 시간 기간은 훨씬 더 길 수 있다. 용량은 특정 활성제의 효능 및 동물(예를 들어, 인간)의 병태뿐만 아니라 치료될 동물(예를 들어, 인간)의 체중에 의해 결정될 것이다.
- [0249] 투여되는 용량을 결정하기 위한 다수의 분석은 당업계에 공지되어 있다. 본 명세서의 목적을 위해, 주어진 용량의 본 개시내용의 활성제의 포유류 세트(세트 각각에 상이한 용량의 활성제가 제공됨) 중 포유류에 대한 투여 시 암이 치료되는 정도를 비교하는 분석은 포유류에게 투여될 개시 용량을 결정하는 데 사용될 수 있었다. 특정 용량의 투여 시 암이 치료되는 정도는, 예를 들어, 마우스 이종이식 모델에서 활성제에 의해 달성되는 종양 퇴행 정도로 나타낼 수 있다. 종양 퇴행을 분석하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 본 명세서에서 실시예에 기재되어 있다.
- [0250] 본 개시내용의 활성제의 용량은 또한 본 개시내용의 특정 활성제의 투여를 수반할 수 있는 존재, 특성 및 임의의 부작용의 정도에 의해 결정될 것이다. 전형적으로, 담당의사는 각각의 개개 환자를 치료하기 위해, 다양한 인자, 예컨대, 연령, 체중, 일반적 건강상태, 식이요법, 성별, 투여될 본 개시내용의 활성제, 투여 경로, 및 치료 중인 병태의 중증도를 고려하여 본 개시내용의 활성제의 투약량을 결정할 것이다. 본 개시내용을 제한하려는 의도가 아니고 예로서, 본 개시내용의 활성제의 용량은 약 0.0001 내지 약 1g/kg 치료 중인 대상체의 체중/일, 약 0.0001 내지 약 0.001g/kg 체중/일, 또는 약 0.01mg 내지 약 1g/kg 체중/일일 수 있다.
- [0251] 제어 방출 제형
- [0252] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 활성제가 투여되는 신체로 이것이 방출되는 방식이 시간 및 신체 내의 위치와 관련하여 제어되도록 본 명세서에 기재된 활성제는 데포 형태로 변형될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제 4,450,150호 참조). 본 개시내용의 활성제의 데포 형태는, 예를 들어, 활성제 및 다공성 및 비다공성 물질, 예컨대, 중합체를 포함하는 이식 가능한 조성물일 수 있되, 활성제는 물질 및/또는 비다공성 물질의 분해에 의해 캡슐화되거나 전체적으로 확산된다. 이어서, 데포는 대상체 신체 내의 목적하는 위치에 이식되고, 활성제는 사전결정된 속도로 이식물로부터 방출된다.
- [0253] 특정 양상에서 활성제를 포함하는 약제학적 조성물은 생체내 방출 프로파일의 임의의 유형을 갖도록 변형된다. 일부 양상에서, 약제학적 조성물은 즉시 방출, 제어 방출, 지속 방출, 연장 방출, 지연 방출 또는 2상 방출 제형이다. 제어 방출을 위한 펩타이드를 제형화하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Qian et al., *J Pharm* 374: 46-52(2009)] 및 국제 특허 출원 공개 WO 2008/130158, WO2004/033036; WO2000/032218; 및 WO 1999/040942 참조.
- [0254] 본 조성물은, 예를 들어, 마이셀 또는 리포솜, 또는 일부 다른 캡슐화된 형태를 추가로 포함할 수 있거나, 또는 장기간의 저장 및/또는 전달 효과를 제공하기 위해 연장된 방출 형태로 투여될 수 있다.
- [0255] 용도
- [0256] 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 종양 성장을 저해하는 데 유용하다. 특정 이론으로 구속되는 일 없이, 본 명세서에 제공된 항원-결합 단백질의 저해 작용은 이러한 독립체가 암을 치료하는 방법에서 유용하게 되는 것을 가능하게 한다.
- [0257] 따라서, 대상체에서 종양 성장을 저해하는 방법 및 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 방법이 본 명세서에 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 종양 성장을 저해하거나 또는 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 데 유효한 양으로 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 다양한 양상에서, 난소 종양, 흑색종 종양, 방광 종양 또는 자궁내막 종양의 성장은 저해된다. 다양한 양상에서, 난소 종양, 흑색종 종양, 방광 종양 또는 자궁내막 종양의 크기는 감소된다.
- [0258] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "저해하다" 또는 "감소시키다" 및 이로부터 파생된 단어는 100% 또는 완전한 저해 또는 감소가 아닐 수도 있다. 오히려, 당업자가 잠재적 이점 또는 치료 효과를 갖는 것으로 인식하는

다양한 정도의 저해 또는 감소가 있다. 이와 관련하여, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 종양 성장을 저해하거나 또는 종양 크기를 임의의 양 또는 수준까지 감소시킬 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 저해는 적어도 또는 약 10% 저해(예를 들어, 적어도 또는 약 20% 저해, 적어도 또는 약 30% 저해, 적어도 또는 약 40% 저해, 적어도 또는 약 50% 저해, 적어도 또는 약 60% 저해, 적어도 또는 약 70% 저해, 적어도 또는 약 80% 저해, 적어도 또는 약 90% 저해, 적어도 또는 약 95% 저해, 적어도 또는 약 98% 저해)이다. 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 감소는 적어도 또는 약 10% 감소(예를 들어, 적어도 또는 약 20% 감소, 적어도 또는 약 30% 감소, 적어도 또는 약 40% 감소, 적어도 또는 약 50% 감소, 적어도 또는 약 60% 감소, 적어도 또는 약 70% 감소, 적어도 또는 약 80% 감소, 적어도 또는 약 90% 감소, 적어도 또는 약 95% 감소, 적어도 또는 약 98% 감소)이다.

[0259] 암, 예를 들어, CLDN18.2-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 명세서에서 추가로 제공된다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 대상체에서 암을 치료하는 데 유효한 양으로 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0260] 본 명세서의 목적을 위해, 본 명세서에 개시된 방법의 암은 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 다른 부분으로 확산될 수 있는 임의의 암, 예를 들어, 비정상적 및 제어되지 않는 세포분열에 의해 야기되는 임의의 악성 성장 또는 종양일 수 있다. 일부 양상에서 암은 급성 림프구성 암, 급성 골수성 백혈병, 포상횡문근육종, 골암, 뇌암, 유방암, 항문, 항문관, 또는 항문의 암, 눈의 암, 간내담관의 암, 관절암, 목의 암, 담낭, 또는 흉막, 코, 비강 또는 중이의 암, 구강암, 음문암, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수 암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 위장 유암 종양, 호지킨 림프종, 하인두암, 신장암, 후두암, 간암, 폐암, 악성 중피종, 흑색종, 다발성 골수종, 비인두암, 비호지킨 림프종, 난소암, 췌장암, 복막, 장막, 및 장간막암, 인두암, 전립선암, 직장암, 신암(예를 들어, 신세포 암종(RCC)), 소장암, 연조직암, 위암, 고환암, 갑상선암, 자궁암 및 비뇨기 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택된 것이다. 특정 양상에서, 암은 두경부, 난소, 자궁경부, 방광 및 식도암, 췌장, 위장암, 위, 유방, 자궁내막 및 결장직장암, 간세포암종, 교모세포종, 방광, 폐암, 예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC), 기관지 폐포암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다양한 양상에서, 암은 췌장암, 위장암, 방광암, 결장암, 폐암, 간암, 자궁내막암이다. 다양한 양상에서, 암은 CLDN18.2의 중간 내지 고발현을 특징으로 하는 임의의 암이다. 예를 들어, 도 1 내지 도 2 참조. 다양한 양상에서, 암은 급성 골수성 백혈병, 거대 B-세포 림프종, 위암, 전립선암, 흑색종, 결장암, 직장암, 방광암, 자궁경부암, 간암, 유방암, 신장 투명세포 암종, 두경부암, 육종, 신장 혈색소성암, 저등급 신경교종, 부신피질암, 교모세포종, 신장 유두상 세포 암종, 폐편평세포 암종, 갑상선암, 폐 선암종, 췌장암, 자궁내막암, 자궁 암육종 또는 난소암이다. 다양한 양상에서, 암은 췌장암, 위장암, 방광암, 결장암, 폐암, 간암, 난소암, 자궁내막모양암, 자궁암, 폐암, 위암, 유방암 두경부 편평세포암종(HNSCC) 암 및 자궁경부암으로부터 선택된다.

[0261] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "치료하다"뿐만 아니라 이와 관련된 단어가 반드시 100% 또는 완전한 치료를 나타내지는 않는다. 오히려, 당업자가 잠재적 이점 또는 치료 효과를 갖는 것으로 인식하는 다양한 정도의 치료가 있다. 이와 관련하여, 본 개시내용의 암 치료 방법은 임의의 양 또는 임의의 수준의 치료를 제공할 수 있다. 더 나아가, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 치료는 치료 중인 암의 한 가지 이상의 병태 또는 증상 또는 징후의 치료를 포함할 수 있다. 또한, 본 개시내용의 방법에 의해 제공되는 치료는 암 진행을 늦추는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 T 세포 활성화 또는 암에 대한 면역 반응 향상, 종양 또는 암 성장의 감소, 종양 세포 전이의 감소, 종양 또는 암 세포의 세포 사멸 증가 등에 의해 암을 치료할 수 있다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 적어도 1일, 2일, 4일, 6일, 8일, 10일, 15일, 30일, 2개월, 3개월, 4개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년 이상만큼 암의 발병 또는 재발을 지연시킴으로써 치료한다. 다양한 양상에서, 상기 방법은 대상체의 생존을 증가시킴으로써 치료한다.

[0262] 본 개시내용의 항원 결합 단백질은 또한 샘플에서 CLDN18.2를 검출하거나, CLDN18.2-양성암을 진단하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 샘플에서 CLDN18.2를 검출하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계 및 CLDN18.2에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체에 대해 분석하는 단계를 포함한다. 본 개시내용은 또한 대상체에서 CLDN18.2-양성 암을 진단하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 대상체로부터 얻은 세포 또는 조직을 포함하는 생물학적 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계 및 CLDN18.2에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체에 대해 분석하는 단계를 포함한다.

[0263] 대상체

[0264] 본 개시내용의 일부 실시형태에서, 대상체는 쥐설치류보목의 포유류, 예컨대, 마우스 및 햄스터, 및 토끼목의 포유류, 예컨대, 토끼, 식육목으로부터의 포유류, 예를 들어, 고양이과(고양이) 및 개과(개), 우제목으로부터의 포유류, 예를 들어, 소(젓소) 및 돼지(피그) 또는 기제류목, 예를 들어, 말과(말)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 포유류이다. 일부 양상에서, 포유류는 영장류목, 꼬리감는원숭이과 또는 시미안(원숭이) 또는 원숭이하목(인간 및 유인원)을 가진다. 일부 양상에서, 포유류는 인간이다.

[0265] 키트

[0266] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 키트로 제공된다. 다양한 양상에서, 키트는 항원-결합 단백질(들)을 단위 용량으로서 포함한다. 본 명세서의 목적을 위해 "단위 용량"은 적합한 담체에서 분산된 별개의 양을 지칭한다. 다양한 양상에서, 단위 용량은 목적하는 효과, 예를 들어, 종양 성장의 저해, 종양 크기의 감소, 암 치료를 대상체에게 제공하기에 충분한 양이다. 따라서, 선택적으로 단위 용량으로 제공되는 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함하는 키트가 본 명세서에 제공된다. 다양한 양상에서, 키트는 몇몇 단위 용량, 예를 들어 단위 용량의 1주 또는 1개월의 공급을 포함하고, 선택적으로, 이들 각각은 개개로 패키징되거나 또 다르게는 다른 단위 용량으로부터 분리된다. 일부 실시형태에서, 키트/단위 용량의 성분은 환자에 대한 투여를 위한 지침과 함께 패키징된다. 일부 실시형태에서, 키트는 환자에 투여를 위해 하나 이상의 장치, 예를 들어, 바늘 및 주사기 등을 포함한다. 일부 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이의 약제학적으로 허용 가능함, 항원-결합 단백질을 포함하는 접합체, 또는 항원-결합 단백질을 포함하는 다량체 또는 이량체는 바로 사용 가능한 형태, 예를 들어, 주사기, 정맥주사 백 등으로 사전 패키징된다. 일부 양상에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 것을 포함하는 다른 치료제 또는 진단제 또는 약제학적으로 허용 가능한 담체(예를 들어, 용매, 완충제, 희석제 등)를 추가로 포함한다. 특정 양상에서, 키트는 화학치료 또는 방사선치료에서 사용되는 제제, 예를 들어, 치료제와 함께 본 개시내용의 항원-결합 단백질을 포함한다.

[0267] 다양한 실시형태

[0268] 본 개시내용의 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 인간 CLDN18.2 단백질(서열번호 1)에 결합하되, (a) 항원-결합 단백질은 CLDN18.2의 세포의 도메인(ECD)의 세포의 루프 1(EL1)에 결합하고, CLDN18.2의 ECD의 세포 외 루프 2(EL2)에 결합하지 않거나; 또는 (b) Claudin18.1(CLDN18.1), 또는 임의의 다른 claudin 단백질에 결합하지 않으며, 기준 항체보다 1.5배 초과 친화도로 HUPT4 세포에 의해 내인성으로 발현되는 CLDN18.2에 결합하거나; 또는 (c) 이들의 조합이다. 다양한 실시형태에서, 본 명세서의 항원 결합 단백질은 기준 항체보다 적어도 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 또는 5.0배 이상의 친화도로 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포(예를 들어, HUPT4 또는 다른 세포)에 결합한다.

[0269] 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 CLDN 18.2의 GLWRSCVRESSGFTFCRFYFTL(서열번호 4), QGLWRSCVRESSGFTFCRGYFTLK(서열번호 5), DQWSTQDLYNNPVTAVFNQGLWRSC(서열번호 6) 또는 CRGYFTLLFLPAMLQAVR(서열번호 7)의 아미노산 서열 내의 에피토프에 결합한다.

[0270] 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 표 A에 제시된 중쇄(CDR) 1 아미노산 서열 또는 서열번호 64, 88, 69, 89, 72, 75, 91, 94, 95, 97, 99, 101, 103, 106, 109로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (b) 표 A에 제시된 HC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 65, 67, 70, 90, 73, 76, 92, 73, 96, 98, 100, 102, 104, 107, 110으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (c) 표 A에 제시된 HC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 66, 68, 71, 77, 74, 77, 93, 74, 105, 108, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (d) 표 A에 제시된 경쇄(LC) CDR1 아미노산 서열 또는 서열번호 78, 81, 82, 86, 114, 120, 123, 126으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (e) 표 A에 제시된 LC CDR2 아미노산 서열 또는 서열번호 79, 112, 79, 84, 116, 118, 119, 129, 121, 124, 127로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (f) 표 A에 제

시된 LC CDR3 아미노산 서열 또는 서열번호 80, 83, 113, 85, 87, 115, 117, 122, 125, 128로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (g) (a) 내지 (f) 중 임의의 둘 이상의 조합을 포함한다.

[0271] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 표 A에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 경쇄 CDR2 아미노산 서열 및 경쇄 CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 중쇄 CDR 아미노산 서열 중 1 또는 2개를 포함한다. 일부 예에서, 항원-결합 단백질은 표 A에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 중쇄 CDR2 아미노산 서열 및 중쇄 CDR3 아미노산 서열 및 표 A에 제시된 경쇄 CDR 아미노산 서열 중 1 또는 2개를 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 (a) 서열번호 78, 79, 80, 64, 65, 66; (b) 서열번호 81, 112, 80, 88, 65, 66; (c) 서열번호 81, 79, 80, 64, 67, 68; (d) 서열번호 82, 79, 83, 39, 70, 71; (e) 서열번호 81, 79, 113, 89, 90, 77; (f) 서열번호 81, 84, 85, 72, 73, 74; (g) 서열번호 86, 79, 87, 75, 76, 77; (h) 서열번호 114, 79, 115, 91, 92, 93; (i) 서열번호 81, 116, 117, 94, 73, 74; (j) 서열번호 81, 118, 117, 95, 96, 74; (k) 서열번호 81, 119, 117, 97, 98, 74; (l) 서열번호 81, 118, 85, 99, 100, 74; (m) 서열번호 81, 129, 117, 101, 102, 74; (n) 서열번호 120, 121, 122, 103, 104, 105; (o) 서열번호 123, 124, 125, 106, 107, 108; 및 (p) 서열번호 126, 127, 128, 109, 110, 111로 이루어진 군으로부터 선택된 6개의 CDR 아미노산 서열을 포함한다.

[0272] 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 (a) 표 B에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 2, 34, 36, 38 및 40로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (b) 표 B에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 또는 서열번호 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 및 41로 이루어진 군으로부터 선택된 서열; 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 적어도 또는 약 70%(예를 들어, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%)의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (a)와 (b) 둘 다를 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 (a) 서열번호 10과 11; (b) 서열번호 12와 13; (c) 서열번호 14와 15; (d) 서열번호 16과 17; (e) 서열번호 18과 19; (f) 서열번호 20과 21; (g) 서열번호 22와 23; (h) 서열번호 24와 25; (i) 서열번호 26과 27; (j) 서열번호 28과 29; (k) 서열번호 30과 31; (l) 서열번호 32와 33; (m) 서열번호 34와 35; (n) 서열번호 36과 37; (o) 서열번호 38과 39; (p) 서열번호 40과 41로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함한다.

[0273] 다양한 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 (a) 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 서열번호 42, 46, 49, 52, 55, 56, 57 및 131로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%, 또는 약 80%, 또는 약 90%, 또는 약 95%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (b) 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 서열번호 43 내지 45, 47 내지 48, 50 내지 51, 53 내지 54, 130, 132, 147, 149 및 150로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%, 또는 약 80%, 또는 약 90%, 또는 약 95%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 다를 포함한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 표 D에 열거된 바와 같은 아미노산 서열의 쌍을 포함한다.

[0274] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은: (a) 서열번호 42와 43; (b) 서열번호 42와 44; (c) 서열번호 42와 45; (d) 서열번호 46과 47; (e) 서열번호 46과 48; (f) 서열번호 131과 149; (g) 서열번호 131과 150; (h) 서열번호 52와 53; (i) 서열번호 52와 54; (j) 서열번호 55와 53; (k) 서열번호 55와 54; (l) 서열번호 56과 53; (m) 서열번호 56과 54; (n) 서열번호 57과 50; (o) 서열번호 57과 51; (p) 서열번호 49와 50; (q) 서열번호 49와 51; (r) 서열번호 42와 130; (s) 서열번호 131과 147; 및 (t) 서열번호 131과 132로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 쌍을 포함한다.

[0275] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 비무코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함한다.

[0276] 다양한 양상에서, 본 개시내용의 항원-결합 단백질은 항체, 예를 들어, 단클론성 항체이다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 IgG이다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 연한천 3D 증식 분석에서 적어도 약 50%의 콜로니 성장을 저해하거나 인간 암세포가 주사된 이종이식 마우스에서 종양 성장을 저해한다. 다양한 양상에서, 항원-결합 단백질은 난소암 세포, 흑색종암 세포, 방광 암세포 또는 자궁내막암 세포가 주사된 이종이식 마우스

의 종양 성장을 저해한다. 다양한 예에서, 항원-결합 단백질은 난소암 세포, 방광암 세포 또는 자궁내막암 세포가 주사된 이중이식 마우스에서 적어도 50%의 종양 성장을 저해한다.

[0277] 본 개시내용은 CLDN18.2 및 제2 항원에 결합하는 이중특이성 항원-결합 단백질을 제공하되, CLDN18.2에 결합하는 항원-결합 단백질은 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 중 어느 하나이다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은: (a) 표 B, 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 중쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; (b) 표 B, 표 D, 표 6, 표 8, 표 9, 표 10에 제시된 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 단지 1 또는 2개의 아미노산만큼 다르거나 또는 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열; 또는 (c) (a)와 (b) 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 서열은 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 가진다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 Fc 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 비푸코실화된 글리칸을 포함하는 Fc 폴리펩타이드를 포함한다.

[0278] 다양한 양상에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 CLDN18.2 및 제2 항원에 결합한다. 일부 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 제2 항원에 특이적인 항체의 항원-결합 단편을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 T 세포에 의해 발현되는 세포 표면 단백질, 선택적으로 T-세포 수용체(TCR)의 성분, 예를 들어 CD3이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 CD3이다. 일부 실시형태에서, 제2 항원은 CD3E이다.

[0279] 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 T-세포 활성화를 돕는 공자극 분자, 예를 들어, CD40 또는 4-1BB(CD137)이다. 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 Fc 수용체, 선택적으로, Fc 감마 수용체, Fc-알파 수용체 또는 Fc-엡실론 수용체이다. 일부 실시형태에서, Fc 수용체는 CD64(Fc-감마 RI), CD32(Fc-감마 RIIA), CD16A(Fc-감마 RIIIA), CD16b(Fc-감마 RIIb), Fc ϵ RI, CD23(Fc-엡실론 RII), CD89(Fc-엡실론 RI), Fc α/μ R 또는 FcRn이다. 일부 실시형태에서, Fc 수용체는 CD16A이다.

[0280] 다양한 실시형태에서, 제2 항원은 면역 관문 분자, 예를 들어, 면역 관문 경로에 관련된 단백질, 선택적으로, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA4, IDO, KIR, LAG3, NOX2, PD-1, TIM3, VISTA 또는 SIGLEC7이다. 일부 실시형태에서, 면역 관문 분자는 PD-1, LAG3, TIM3 또는 CTLA4이다. 다양한 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 본 명세서에 개시된 CLDN18.2 항체 중 어느 것(예를 들어, 표 B, 표 C, 표 D, 표 6, 표 8, 도 13 또는 도 17)의 scFv, Fab 또는 F(ab)2'를 포함한다.

[0281] 다양한 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 표 11에 제시된 서열 또는 서열번호 143, 144, 145 또는 146, 또는 1 내지 5개의 아미노산만큼 다르고 적어도 또는 약 70%의 서열 동일성을 갖는 이들의 변이체 서열을 포함하는 항원-결합 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 서열은 적어도 또는 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 가진다. 다양한 실시형태에서, 이중특이성 항원-결합 단백질은 나노바디, 다이아바디, BiTE®, DART, TandAb, CrossMab 또는 HSAbody의 구조를 포함한다. 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질 및 이중성 모이어티를 포함하는 접합체를 제공한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 단백질은 서열번호 42 및 서열번호 45에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 접합체는 세포독성제 또는 화학치료제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 화학치료제는 튜블린 중합을 차단함으로써 세포분열을 저해하는 항유사분열제이다. 일부 실시형태에서, 항유사분열제는 아우리스타틴이다. 일부 실시형태에서, 아우리스타틴은 MMAE이다.

[0282] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 접합체는 절단성 링커를 통해 항원-결합 단백질에 접합된다. 일부 실시형태에서, 절단성 링커는 MC-VC-PAB이다.

[0283] 일부 실시형태에서, 접합체는 항체가 단클론성 항체인 항원-결합 단백질을 포함하되, 선택적으로 단클론성 항체는 IgG 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 인간 항체, 인간화된 항체 또는 키메라 항체이다.

[0284] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용의 접합체는 1 내지 8 범위에서 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수를 갖되, 바람직하게는 항원-결합 단백질당 접합된 제제 단위의 평균 수는 3 내지 8의 범위이다. 일부 실시형태에서, 접합체는 이질 접합체이다. 다른 실시형태에서, 접합체는 동질 접합체이다. 일부 실시형태에서, 접합체는 이중성 모이어티 또는 제제를 포함하되, 제제는 항원-결합 단백질의 특정 부위에 접합된다. 일부 실시형태에서, 특정 부위는 짝지어지지 않은 시스템인 잔기이다. 일부 실시형태에서, 접합체는 MC-VC-PAB-MMAE에 접합된 서열번호 42 및 서열번호 45에 제시된 아미노산을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0285] 본 개시내용은 또한 본 명세서에 기재된 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 포함하는 용합

단백질을 제공한다. 본 개시내용은 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체, 또는 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 추가로 제공한다. 본 개시내용은 본 개시내용의 항원 결합 단백질, 접합체, 또는 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 본 개시내용은 본 개시내용의 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 추가로 제공한다.

[0286] 본 개시내용은 (i) 세포 배양 배지에서 본 개시내용의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 항원 결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는 단계, 및 (ii) 세포 배양 배지로부터 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 채취하는 단계를 포함하는, Claudin18.2(CLDN18.2) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 생성하는 방법을 제공한다. 또한, (i) 세포 배양 배지에서 본 개시내용의 숙주 세포를 배양시키는 단계로서, 숙주 세포는 본 개시내용의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는, 단계, 및 (ii) 세포 배양 배지로부터 융합 단백질을 채취하는 단계를 포함하는, Claudin18.2(CLDN18.2) 단백질에 결합하는 항원-결합 단백질 또는 이중특이성 항원-결합 단백질을 포함하는 융합 단백질을 생성하는 방법이 제공된다.

[0287] 본 개시내용은 더 나아가 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체, 융합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포, 또는 이들의 조합물, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 조합하는 단계를 포함하는 약제학적 조성물의 생성 방법을 제공한다. 또한 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체, 융합 단백질, 핵산, 벡터, 숙주 세포 또는 이들의 조합물, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0288] 암을 치료하기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 CLDN18.2-발현 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 또한 종양 성장을 저해하기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 성장을 저해하는 방법이 제공된다. 본 개시내용은 종양 크기를 감소시키기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 종양 크기를 감소시키는 방법을 제공한다. 추가로 암의 재발을 방지하기 위한 유효량으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암의 재발을 방지하는 방법이 제공된다.

[0289] 본 개시내용은 샘플을 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계, 및 CLDN18.2에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 샘플에서 Claudin18.2(CLDN18.2)를 검출하는 방법을 제공한다. 또한 대상체로부터 얻은 세포 또는 조직을 포함하는 생물학적 샘플을 본 개시내용의 항원-결합 단백질, 이중특이성 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질과 접촉시키는 단계, 및 CLDN18.2에 결합된 항원-결합 단백질, 접합체 또는 융합 단백질을 포함하는 면역복합체를 분석하는 단계를 포함하는, 대상체에서 Claudin18.2(CLDN18.2)-양성암을 진단하는 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0290] 본 개시내용은 또한 CLDN18.2의 낮은 과발현자인 것으로 진단된 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 상기 방법은 암의 재발을 방지하기 위한 유효량으로 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 양상에서, 투여하는 단계는 종양 세포에서의 세포자멸사를 유발하고, 선택적으로, 투여하는 단계는 CLDN18.2를 발현시키는 세포에서 세포자멸사를 유발한다. 다양한 양상에서, 상기 대상체는 종양을 갖고, 종양은 4가지 그룹: 고발현자, 중간 발현자, 저발현자 및 비-발현자 중 하나로 준-정량적으로 범주화된다. 다양한 예에서, 고발현자는 12 log 백만의 킬로베이스당 단편(Fragments Per Kilobase Million: FPKM) 초과인 CLDN18.2 RNA로서 정의되며, CLDN18.2 RNA는 RNASeq에 의해 측정되거나, 또는 CLDN18.2 단백질 수준은 면역조직화학(IHC)에 의해 측정할 때 3+ 초과이다. 다양한 예에서, 중간 발현자는 10 log FPKM 초과인 CLDN18.2 RNA로서 정의되며, CLDN18.2 RNA는 RNASeq에 의해 측정되거나, 또는 CLDN18.2 단백질 수준은 IHC에 의해 측정할 때 2+ 초과이다. 다양한 예에서, 저 발현자는 6 log FPKM 초과인 CLDN18.2 RNA로서 정의되며, CLDN18.2 RNA는 RNASeq에 의해 측정되거나, 또는 CLDN18.2 단백질 수준은 IHC에 의해 측정할 때 1+ 초과이다. 다양한 예에서, 비-발현자는 6 log FPKM 미만의 CLDN18.2 RNA로서 정의되며, CLDN18.2 RNA는 RNASeq에 의해 측정되거나, 또는 CLDN18.2 단백질 수준은 IHC 검출 한계 미만이다. 다양한 양상에서, 상기 종양을 갖는 대상체는 마찬가지로 CLDN18.2의 고발현자, 중간 발현자, 저발현자 또는 비발현자로서 기재된다.

[0291] 다음의 실시예는 단지 본 개시내용을 예시하기 위해 제공하며, 이의 범주를 임의의 방법으로 제한하지 않는다.

[0292] 실시예

[0293] 실시예 1

[0294] 본 실시예는 상이한 세포 및 조직 공급원에서의 CLDN18.2 RNA 수준의 분석을 입증한다.

[0295] 상이한 공급원 물질에서 CLDN18.2의 발현에 대한 기준을 확립하기 위해, 중개 종양학 연구 실험실 (Translational Oncology Research laboratory: TORL)에 의해 생성된 환자 및 세포주에서 CLDN18.2 발현의 발현 수준을 분석하였다.

[0296] 미 국립암연구소(National Cancer Institute: NCI)에 의해 관리되는 암유전체지도(The Cancer Genome Atlas: TCGA) 데이터베이스에 포함된 정보를 이용하여 환자 샘플 중 CLDN18.2 RNA의 수준을 측정하였다. 공동 기금에 의해 유지되는 유전형-조직 발현(Genotype-Tissue Expression: GTEX) 데이터베이스에서의 정보를 이용하여 정상 조직에서의 CLDN18.2 수준을 측정하였다. GTEX 데이터베이스로부터의 조직 분석은 CLDN18.2가 다른 조직 중에서도 폐, 위, 전립선, 결장, 췌장 및 유방을 포함하는 다양한 부위에서 검출 가능하다는 것을 나타내었다.

[0297] Agilent 44K 마이크로어레이(4x44K 어레이 칩, Agilent Technologies, 캘리포니아주 산타 클라라에 소재) 및 RNA 서열분석(RNA-Seq) 검정을 이용하여 TORL 암세포주에서 CLDN18.2 발현 수준을 측정하였다. "정량화를 위한 RNASeq" 서비스를 이용하여 BGI Americas(매사추세츠주 케임브리지에 소재)에 의해 RNASeq를 수행하였다. 도 1 및 도 2에 나타난 바와 같이, 두경부, 흑색종, 유방, 폐, 전립선, 육종 및 림프종 암 세포에서 CLDN18.2 발현 수준을 검출 가능하였지만, 상부 위장(GI), 췌장 및 결장암 세포가 고수준의 CLDN18.2를 발현시켰다.

[0298] 도 3은 고 CLDN18.2 발현자인 해당 세포가 CLDN18.1을 발현시키지 않는다는 것을 나타낸다. 도 4는 CLDN18.2를 발현시키는 천연 세포주의 분포를 나타내며, CLDN18.2 RNA 양성인 세포가 양성 유동 신호를 가진다는 것을 입증한다.

[0299] 실시예 2

[0300] 본 실시예는 CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포의 생성을 입증한다.

[0301] CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 모델을 생성하였다. 이들 모델을 사용하여 본 명세서에 기재된 CLDN18.2 항체의 효능을 결정하였다. 간략히 말하면, CLDN18.2를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 CMV 프로모터 및 너싱 근염바이러스(EMCV)의 약화된 내부 리보솜 유입 부위(IRES)를 갖는 렌티바이러스 벡터내로 조작하였다. IRES을 관심 대상 유전자(Gene of Interest: GOI) cDNA(CLDN18.2)와 퓨로마이신 cDNA 사이에 위치시켰다. 마멋 전사후 조절 요소(woodchuck posttranscriptional regulatory element: WPRE)를 퓨로마이신 cDNA 하류에 위치시켰다. 벡터는 또한 GFP 마커 서열 또는 MycDDK 태그 중 하나를 발현시켰다.

[0302] 발현 벡터를 HEK293T 세포에(선별 목적을 위해) 그리고 NIH3T3 세포에(면역화를 위해) 바이러스에 의해 형질도입하였다. 퓨로마이신($1\mu\text{g}/\text{ml}$)을 함유하는 배지에서의 생존에 기반하여 양으로 형질도입된 세포를 선택하였다. 양의 세포를 서브클로닝하여 CLDN18.2 과발현 세포의 안정하고, 균일한 클론 집단을 얻었다.

[0303] CLDN18.2의 과발현을 확인하기 위해 GFP 태그를 이용하여 형광 현미경에 의해 서브클로닝 CLDN18.2 발현을 확인하였다.

[0304] 실시예 3

[0305] 본 실시예는 기준 및 대조군 항체의 생성을 입증한다.

[0306] 재조합 마우스 IgG2A 키메라 항체를 생성하기 위해 항체 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 ExpiCHO™ 발현 시스템(ThermoFisher Scientific, 매사추세츠주 월섬에 소재)에 클로닝함으로써 기준(참조) CLDN18.2-특이적 항체 및 대조군 항체를 생성하였다. 실시예 5에 기재하는 새로 생성된 CLDN18.2 특이적 항체와 함께 이들 항체를 시험하였다.

[0307] 간략히 말해서, 제조업자의 프로토콜에 따라 ExpiCHO™ 발현 시스템(카탈로그 번호: A29133, 미국에 소재한 ThermoFisher Scientific)을 이용하여 대조군 및 기준 항체 서열을 포함하는 플라스미드를 형질감염시켰다. 세포를 제1일에 37°C 및 8% CO_2 에서 배양시키고, 이어서, 배지에서 형질감염 후 32°C 및 5% CO_2 에서 키트를 제공하였다. 10분 동안 1,000g 다음에 30분 동안 5,000g에서 원심분리에 의해 ExpiCHO™ 배양 배지를 정화시킴으로써 항체를 정제하였다. 이어서, $0.45\mu\text{m}$ 필터 다음에 $0.22\mu\text{m}$ 필터를 이용하여 상청액을 여과시켰다. 후속적으로, 제조업자의 프로토콜에 따라 단백질 A/G 수지(Life Technologies, 캘리포니아주 칼스베드에 소재; 카탈로그 번호

20424)를 이용하여 상청액을 친화도 정제 처리하였다. ELISA 정제 전에, 배양 배지에서의 항체 역가를 대략 결정하여 부하한 배지의 양이 80% 미만의 수지 결합 능력을 점유하였다는 것을 보장하였다. 인큐베이션 후에, 수지를 PBS로 세척하고, 용리 완충제(Life Technologies, 카탈로그 번호 21004)로 용리시켰다. Tris 완충제, pH 8.0를 첨가함으로써 용리 분획을 즉시 생리적 pH로 조절하였다. 후속적으로 정제된 항체를 PBS 완충제 중 Amicon Ultra-15 원심분리 필터 단위(Life Technologies, 카탈로그 번호 UFC900324)를 이용하여 완충제 교환 및 단백질 농축을 실시하였다. BCA 단백질 분석에 의해 항체 농도를 결정하였다. 항체 순도를 시험하기 위해 SDS-PAGE 및 쿠마씨-염색을 수행하였다. 정제된 단백질을 분취하고, 장기간 저장을 위해 -80℃에서 저장하거나 즉시 사용을 위해 4℃에서 유지시켰다.

[0308] SDS-PAGE 다음에 비환원 대 환원 조건 하의 쿠마씨 염색에 의해 항체의 완전성을 입증하였고; 비환원 조건 하에서, 하나는 150kDa 주변에서 밴드가 우세한 반면, 환원 조건 하에, 2개의 밴드, 즉, 50kDa 및 25kDa이 관찰되었다.

[0309] 실시예 4

[0310] 본 실시예는 높은 내인성 CLDN18.2 발현을 갖는 세포주의 특성규명을 입증한다.

[0311] 암세포주의 패널을 FACS에 의한 CLDN18.2의 이들의 내인성 발현에 대해 분석하였다. 간략히 말해서, 실시예 1에 기재한 바와 같이, CLDN18.2를 과발현시키는 세포(예를 들어, 실시예 2에 기재된 CLDN18.2를 과발현시키는 HEK293T 세포), 및 고수준 또는 저수준에서 CLDN18.2를 내인성으로 발현시키는 세포주를 이용하여 표적에 대한 항체의 결합을 입증하였다. CLDN18.2-발현 세포를 얼음 상에서 30분 동안 기준 또는 대조군 항체(실시예 3에 기재)와 함께 인큐베이션시키고, 세척 후에, 얼음 상에서 30분 동안 Alexa Fluor® 647 접합 염소 항-마우스 IgG (최소 x-반응성) 항체, Biolegend 카탈로그 번호 405322와 함께 인큐베이션시켰다. BD Biosciences Accuri™ 유세포분석기(캘리포니아주 새너제이)에 의해 형광을 판독하였다.

[0312] 대조군 및 기준 항체를 입증하기 위해 과발현된 계통을 사용하였고, 일단 입증되면, 대조군 및 기준 항체를 사용하여 내인성 세포주를 특성규명하였다. CLDN18.2를 과발현시키는 세포를 이들 분석에서 양성 대조군으로서 포함시켰다.

[0313] FACS 분석은 췌장, 결장 및 방광 암세포주에 추가로 4가지의 상부 GI 암세포주가 표면 상에서 CLDN18.2를 고수준으로 발현시킨다는 것을 나타내었다. 시험한 암세포주에 의한 CLDN18.2의 내인성 발현 수준을 표 2에 요약한다. 또한 도 4 참조.

표 2

세포주	조직학	CLDN18.2 FKPM	그룹	유동 검증
HUPT4	췌장	285.62	양성 대조군 +++	
KATO III	상부 GI	246.53	양성 대조군 +++	
SNU601	상부 GI	245.64	양성 대조군 +++	
NUGC 4	상부 GI	144.16	양성 대조군 ++	
SNU620	상부 GI	27.06	양성 대조군 ++	
PATU 8988S	췌장	24.32	양성 대조군 +	
SKCO1	결장	14.48	양성 대조군 +	
SNU520	상부 GI	13.16	양성 대조군 +	
OE19	상부 GI	6.02	양성 대조군 +	
M202	흑색종	0	음성 대조군 -	
M275	흑색종	0	음성 대조군 -	
MCF7	유방	0	음성 대조군 -	
CACO2	결장	0	음성 대조군 -	
LS513	결장	0	음성 대조군 -	

[0314]

[0315] 실시예 5

[0316] 본 실시예는 CLDN18.2 특이적 항체의 생성을 위한 마우스의 면역화를 기재한다.

[0317] 프레드 허친슨 암 연구 센터(Fred Hutchinson Cancer Research Center)의 기법에 따라 6가지 상이한 펩타이드 면역원의 혼합물로 Balb/c 및 CD1 마우스를 면역화시킴으로써 CLDN18.2-특이적 항체를 생성하였다. 펩타이드는 CLDN18.2 세포의 도메인(즉, EL1 또는 EL2)에서 제1 또는 제2 루프 중 하나에 걸쳐있다. 펩타이드는 EL1의 전장, EL1의 첫 번째(N-말단의) 절반에 걸쳐있는 펩타이드, 및 EL1의 두 번째(C-말단의) 절반에 걸쳐있는 펩타이드를 포함한다. 표 3은 펩타이드의 서열을 제공한다.

표 3

펩타이드 면역원		서열번호
Ac-CNMLVTNFWMSTANMYTGMGG MVQTVQTRYTFGA-아마이드 N-말단의 Cys 접합	반대 선별을 위한 전체 EL2	4
Ac-NMLVTNFWMSTANMYTGMGG MVQTVQTRYTFGAC-아마이드 C-말단의 Cys 접합	반대 선별을 위한 전체 EL2	5
H2N-GLWRSCVRESSSGFTECRGYFTL- 아마이드 유리 아민 접합	중간 EL1	6
H2N-QGLWRSCVRESSSGFTECRGYFTLK- 아마이드 유리 아민 접합	중간 EL1	7
Ac-DQWSTQDLYNNPVTAVFNYYQGLWRSC- 아마이드 C-말단의 Cys 접합	N-말단의 EL1	8
Ac-CRGYFTLLGLPAMLQAVR-아마이드 N-말단의 Cys 접합	C-말단의 EL1	9

[0318]

[0319] 또한 인간 CLDN18.2-myc-DDK 발현 벡터를 포함하는 플라스미드를 이용하여 전장 CLDN18.2를 과발현시키는 3T3 세포로 마우스를 면역화시켰다.

[0320] 비장세포를 면역화된 마우스로부터 채취하였고, BTX 전기융합(BTX, 매사추세츠주 홀리스턴에 소재)에 의해 골수 중 계통과 융합시켜 하이브리도마를 생성하였다. 7000개의 1차 하이브리도마 배양물을 생성하였고, 384-웰 플레이트에서 배양시켰다. 3가지 상이한 펩타이드 표적을 발현시키는 비드를 이용하는 비드 어레이에 의해 펩타이드에 결합하는 항체의 능력을 평가하였다. 내인성 및 인공 세포주 모델에 대한 유세포분석에 의해 추가로 선별한 96 웰 플레이트에 대략 2000개의 잠재적 양성 항체를 재배열시켰다.

[0321] 이어서, 표적 영역에 대해 서열 유사성을 갖는 단백질(예를 들어, 다른 CLDN 단백질)의 내인성 및 인공 모델에 대해 유세포분석에 의해 양성 하이브리도마 상청액을 반대 선별하였다. 제2 선별 및 반대선별로부터, 추가 연구를 위해 대략 20개의 CLDN18.2-특이적 항체를 선택하였다. 이들 항체를 서브클로닝하고, 가변 중쇄 및 경쇄 서열을 결정하였다. 표 B 및 서열 목록.

[0322] CLDN18.2 항체를 ExpiCHO™ 발현을 이용하여 전장 IgG 항체로서 형식화하였다. 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 항체 발현 벡터에 클로닝시키고, 이를 pcDNA™3.4-TOPO® 벡터(카탈로그 번호: A14697, 미국에 소재한 ThermoFisher Scientific)에 기반하여 실험실에서 조작하고, (키트에 제공된 프로토콜(ExpiCHO™ 발현 시스템, 카탈로그 번호: A29133, 미국에 소재한 ThermoFisher Scientific)에 따름)에 의해 CHO 세포에 형질감염시켰다. 항체를 정제하고, CLDN18.2에 대한 항체 및 항체 IC50의 세포 표면 결합을 FACS에 의해 결정하였으며, 이때 CLDN18.2 항체를 제조업자의 프로토콜에 따라 Alexa Fluor® 647 NHS Ester(석신이미딜 에스터), 카탈로그 번호 A20106(ThermoFisher Scientific)에 직접 접합시켰다. 150,000개의 세포 시스템으로 50μl 용적에서 CLDN18.2 항체를 0.32nM 내지 1000nM(연속희석 1:5, 6점)에서 시험하였다.

[0323] CLDN18.2-발현 세포를 FACS 분석에서 사용하여 세포 표면 상에서 CLDN18.2에 결합하고 다른 CLDN 패밀리를 구성원과 교차반응하는 CLDN18.2 항체의 능력을 결정하였다. GFP에 융합된 인간 CLDN18.2, GFP에 융합된 마우스 CLDN18.2, CLDN18.1-GFP 또는 GFP 단독(CLDN18.2 없음)을 발현시키도록 조작된 HEK293 T 세포를 CLDN18.2 발현의 인공 모델로서 사용하였다. HUPT4, SNU601 및 PATU8988S 세포를 CLDN18.2 발현의 내인성 모델로서 사용하였다.

[0324] 시험한 세포의 각 유형에 대해 그리고 각 mAb에 대해, 세포 표면 단백질을 보호하기 위해 베르센(versene)(트립신 대신)에 의해 배양 플라스크의 표면으로부터 세포를 분리시켰다. 이어서, 분리된 세포를 사전 결정된 농도에서 암실 내 얼음 상에서 30분 동안 Alexa Fluor®-표지된 CLDN18.2 mAb와 함께 인큐베이션시켰다. CLDN18.2 mAb를 Alexa Fluor® 647 NHS 에스터(석신이미딜 에스터)로 직접 표지하였다. 세척 후에, 채널 FL4H에서 항체-항원 단백질 결합을 검출하기 위해 BD Accuri™ 유세포분석기 C6에 의해 세포를 판독하였다. 각 항체를 다양한 농도에서 시험하여 용량-형광 곡선을 확립하였다. 온라인으로 입수 가능한 Very Simple IC50 툴 키트를 이용하여 항체의 EC50/IC50(최대값의 절반이 FL4H(생존 가능한 단일선 세포에서 개폐)의 값에 기반하여 계산된 항체 농도)을 생물학적 용량-반응 데이터를 곡선 유형에 플롯팅 및 적합화시켜 EC50/IC50를 제공하였다. 최대 값은 형광이 최대치가 되는 항체의 가장 낮은 농도였다. 또한 다른 CLDN18 아이소폼 CLDN18.1과 교차반응하는 항체의 능력에 대해 항체를 선별하였다. 이들 값을 사용하여 시험한 항체 세트 중의 각 항체의 상대 친화도를 결정하였다. 유사한 방법을 이용하여 교차 반응성 데이터를 얻었다.

[0325] 본 방식으로 결정한 바와 같은 상대 친화도 데이터를 표 4에 제시한다.

표 4

항체	HEK293T CLDN18.2 클론 C12	HEK293T CLDN18.1 MP	HEK293T 마우스 CLDN18.2 MP	SNU601 (UP GI) (18.2+, 18.1-)	HUPT4 (체장) (18.2+, 18.1-)
기준 1	1087.33	음성	194.616	음성	음성
기준 2	1739.8	음성	음성	음성	음성
307	39.1103	음성	68.7527	221.052	336.347
369	39.9668	음성	90.027	275.857	265.104
376	52.086	음성	음성	음성	음성
358	54.516	1521.2	40.5826	414.028	111.152
384	595.065	음성	음성	음성	음성
360	39.6599	1764.71	57.7089	119.333	693.06
432	42.3122	음성	96.7865	245.495	348.164
400	31.2122	음성	음성	270.384	97.7672
331	23.075	1676.34	810.04	106.452	606.235
347	70.4383	1231	1349.89	275.857	294.152
339	37.62	594.402	433.276	285.293	302.185
301	22.0736	674.874	1608.73	256.108	142.614
392	446	음성	음성	음성	음성
416	597.23	음성	591.243	음성	음성
409	604.874	음성	1044	음성	음성

[0326]

실시예 6

[0327]

[0328] 본 실시예는 키메라 마우스 IgG mAb의 특성규명을 입증한다.

[0329]

[0329] 인간 암세포주를 주사한 이중이식 마우스에서 생체내 결합 연구를 수행하였다. 간략히 말해서, 6주령 CD-1 무흉선 누드 마우스(Charles River Laboratories)에서 인간 암세포주의 이중이식 모델을 확립하였다. 각 세포주의 피하 주사를 위해 다음의 조건에 따랐다: 50% matrigel(BD Biosciences)과 함께 HUPT4 1.0×10^7 세포, SNU601 1.0×10^7 개의 세포. 처리 아암당 8마리 마우스를 달성하기 위해 충분한 수의 마우스에 주사하였다. 종양이 평균 크기 150 내지 300mm³에 도달되었을 때, 마우스를 처리군에 무작위화하였다. 처리를 위해, 각 치료적 항체

(Ab384, Ab400, 기준 Ab1, 기준 Ab2, 및 비-표적화 IgG2-대조군을 정맥내 꼬리 정맥(IV) 주사에 대해 1mg/ml의 작업 농도까지 멸균 식염수 중에서 희석시켰다. 종양 이종이식편을 주당 3회 캘리포로 측정하였고, 종양 용적 (mm³)을 높이×폭×깊이를 곱함으로써 결정하였다. 마우스를 2 내지 5주 동안 처리하였다. 연구의 종료 시, 동물을 안락사시키고, 종양 조직을 절개하고, 바이오마커 분석을 위해 순간 냉동 또는 포말된 고정 파라핀 포매 (FFPE) 조직으로서 저장하도록 나누었다. IACUC 및 캘리포니아 로스앤젤레스 유니버시티(University of California at Los Angeles) 동물 연구 위원회에서 의해 승인된 프로토콜 하에 모든 동물 작업을 수행하였다. StudyDirector(캘리포니아주 샌프란시스코에 소재)로부터의 StudyLog 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다. 결과를 각 그룹에 대한 평균 용적으로서 제시한다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SE)를 나타낸다.

[0330] 이종이식 분석 결과를 도 5 내지 도 6에 나타낸다. 도 5A 및 도 5B에 나타낸 바와 같이, Ab384 및 Ab400 각각은 위장 종양을 보유하는 마우스에서 대조군 IgG2 항체에 대해 제30일에 종양 용적의 실질적인 평균 변화를 야기하였다. 도 6A 및 도 6B에 나타낸 바와 같이, 클론 Ab384, Ab376, Ab307 및 Ab432는 체장 종양을 보유하는 마우스에서 대조군 IgG2 항체에 대해 제28일에 종양 용적의 실질적인 평균 변화를 야기하였다.

[0331] **실시예 7**

[0332] 본 실시예는 본 개시내용 항체의 인간화를 입증한다.

[0333] 인간화 분석을 위해 표 A/표 B에 열거한 항체의 서브셋을 선택하였다. Ab307, Ab376, Ab358, Ab360 및 Ab432 항체의 중쇄 가변(VH) 및 경쇄 가변(VL) 서열을 인간 VH 유전자 및 인간 VL카파 유전자로부터의 공지된 인간 생식계열 서열의 라이브러리와 비교하였고(IMG[®] the international ImMunoGeneTics information system[®] www.imgt.org; founder and director: Marie-Paule Lefranc, Montpellier, France); 사용한 데이터베이스는 IMG[®] 인간 VH 유전자(F+ORF, 273개의 생식계열 서열) 및 IMG[®] 인간 VL카파 유전자(F+ORF, 74개의 생식계열 서열)였다. 모 항체에 대한 서열에 가장 가까운 것으로부터 역선택 인간 생식계열을 선택하였다.

[0334] CDR을 AbM 정의에 따라 정의하였다(CDR 정의를 비교하는 표에 대해 Dr. Andrew C. R. Martin www.bioinf.org.uk/abs/의 웹사이트 참조).

[0335] 대응하는 모 뮤린 서열에 대한 인간 생식계열 프레임워크(즉, VH 및 VL에서의 비-CDR 잔기) 위치의 변경은 인간화된 항체의 결합을 최적화하는 데 필요할 수 있다. 인간화된 항체 형태에 대한 서열을 서열번호 42 내지 57로서 제공한다.

[0336] 표 6은 인간화된 VH 및 VL을 조합하기 위한 계획을 나타낸다. 인간화된 형태 중 어느 것도 키메라 mAb와 동등하지 않다.

표 6

모체	인간화된 Ab #	VH (서열번호)	VL (서열번호)
AB307	AB307-1	42	43
	AB307-2	42	44
	AB307-3 (02-0307-h4 또는 307-h4 로도 알려짐)	42	45
AB376	AB376-1	46	47
	AB376-2	46	48
AB358	AB358-1	131	149
	AB358-2	131	150
AB360	AB360-1	52	53
	AB360-2	52	54
	AB360-3	55	53
	AB360-4	55	54
	AB360-5	56	53
	AB360-6	56	54
AB432	AB432-1	57	50
	AB432-2	57	51
	AB432-3	49	50
	AB432-4	49	51

[0337]

[0338]

표 6에 기재한 인간화된 항체를 작제하고, 실시예 5에 본질적으로 기재한 바와 같이 발현시켰다. 표시된 암세포주에 의해 발현되는 바와 같이 CLDN18.2에 대한 결합을 위한 인간화된 항체(1.5 μ g 또는 0.3 μ g 중 하나)의 상대항원 결합 강도를 결정하기 위해 FACS 분석을 수행하였다. 분석 결과를 표 7에 제공한다. 줄베특시맵, 163E12 및 175D10를 기준 항체로서 사용하였다. 대응하는 모 항체(인간화 전 항체)를 대조군으로서 사용하여 "chim"으로 표기하였다.

표 7

KW Seq#	HEK293T- CLDN18.2 C12 클론 1.5ug	HUPT4 (+) 1.5ug	M202 (-) 새로 해동 1.5ug	HEK293T 모체 (-) 1.5ug
기준 1	80,615.36	2,445.92	3,894.39	2,898.86
기준 2	125,202.94	11,064.14	2,216.52	998.59
줄베특시맵	109,075.36	10,591.27	1,904.84	678.45
HuAb307-1	125,796.09	30,241.74	8,682.10	4,289.50
HuAb307-2	132,787.03	32,521.62	1,592.42	5,408.69
HuAb307-3	150,985.45	33,950.44	3,775.04	3,360.29
307-Chim	141,127.14	34,706.06	3,080.84	1,129.30
HuAb376-1	140,433.38	29,690.76	2,299.00	6,632.66
HuAb376-2	119,002.68	28,320.51	3,041.69	1,541.68
376-Chim	136,939.09	31,333.80	31,708.31	810.22
HuAb358-1	130,607.65	52,729.98	6,152.96	21,348.56
HuAb358-2	122,419.18	29,784.78	11,218.61	3,402.99
358-Chim	139,047.66	33,303.64	3,367.47	2,137.99
HuAb360-1	119,957.83	26,419.25	19,069.64	6,776.90
HuAb360-2	138,043.18	24,936.06	48,715.77	9,009.25
HuAb360-3	156,608.12	27,378.40	969.43	3,333.84
HuAb360-4	149,257.62	27,974.01	17,782.36	20,416.84
HuAb360-5	138,037.24	28,632.32	6,854.33	9,633.66
HuAb360-6	158,583.85	34,575.76	43,042.33	37,944.48
360-Chim	116,699.09	26,165.33	947.91	1,096.91
HuAb432-1	97,364.68	30,614.48	36,682.10	10,710.48
HuAb432-2	127,823.22	36,110.09	37,613.03	14,253.88
HuAb432-3	88,782.75	27,081.55	2,166.10	926.51
HuAb432-4	172,520.93	23,114.08	39,687.76	16,580.43
432-Chim	161,087.95	27,883.51	1,900.93	951.57

[0339]

[0340]

시험관내 항원 결합 데이터에 기반하여, 추가 시험 및 발생을 위해 5개의 인간화된 항체를 선택하였다. 항체는 Ab307, Ab376, Ab358, Ab360 및 Ab432로부터 유래되었다.

[0341]

실시에 6에 본질적으로 기재한 바와 같이, 췌장 암세포주 HUPT4를 주사한 이종이식 마우스에서 Ab307, Ab376, Ab358, Ab360 및 Ab432의 인간화된 형태의 생체내 결합 연구를 수행하였다. 간략히 말해서, 6주령 CD-1 무흉선 누드 마우스(Charles River Laboratories)에서 HUPT4의 이종이식 모델을 확립하였다. 종양이 평균 크기 150 내지 300mm³에 도달된 후에, 마우스를 처리군에 무작위화하였다. 인간화된 항체를 정맥내 꼬리 정맥(IV) 주사에 대해 1mg/ml의 작업 농도까지 멸균 식염수 중에서 희석시켰다. 종양 이종이식편을 주당 3회 캘리퍼로 측정하였고, 종양 용적(mm³)을 높이×폭×길이를 곱함으로써 결정하였다. 마우스를 2 내지 7주 동안 처리하였다. 연구의 종료 시, 동물을 안락사시키고, 종양 조직을 절개하고, 바이오마커 분석을 위해 순간 냉동 또는 포말린 고정 파라핀 포매(FFPE) 조직으로서 저장하도록 나누었다.

[0342]

이종이식 분석 결과를 도 7 내지 도 12에 나타낸다. 도 7A 내지 도 7B는 인간화된 Ab307, Ab376, Ab358, Ab360, Ab432에 대한 이종이식 분석 결과를 나타내며, 항체를 5주 동안 주당 1회 투여하였다. 대조군은 비히클 대조군(PBS), 인간 IgG1(10mg/kg Q4D) 및 307의 무린 형태(10mg/kg Q4D)를 포함하였다. 도 7에 나타낸 바와 같이, 인간화된 Ab307(HuAb307) 및 HuAb358로 처리한 동물은 제42일 치료 기간에 걸쳐 종양 용적의 가장 큰 감소를 입증한 반면, HuAb 360 및 HuAb 432 처리는 종양 용적의 중간 감소를 유발하였다.

[0343]

도 8A 내지 도 8B는 다양한 용량의 HuAb307 항체, 예를 들어, 4일마다(q4d), 매주(qw), 3주마다(q3w) 제공되는 10mg/kg 또는 4일마다 제공되는 2.5mg/kg을 이용하는 HUPT4 췌장암의 치료를 위한 이종이식 분석 결과를 나타낸다. 매주 또는 4주마다의 처리는 처리 후 제42일까지 3주마다 제공된 항체에 비해 더 양호한 결과를 나타내었다.

[0344] 실시예 8

[0345] 항체를 또한 세포독성 페이로드를 운반하는 능력에 대해 시험하였다. MMAE를 운반하는 인간화된 항체를 다양한 용량 및 용량 스케줄에서 시험하여 체장 또는 방광암에 대한 모델에서 세포의 세포독성을 매개하는 항체의 능력을 평가하였다.

[0346] 간략하게 말해서, CD-1 누드 마우스(그룹당 8마리의 마우스)에 HUPT4 또는 PATU8988S 체장 세포, 또는 SNU601 방광 세포로 우측 옆구리에 피하 주사하였다. 종양이 평균 크기 150 내지 300mm³에 도달되었을 때, 마우스를 처리군에 무작위화하였다. 처리를 위해, 인간화된 항-CLDN18.2 MMAE 항체, 또는 인간 IgG 대조군 항체 중 하나를 꼬리 정맥 주사에 의해 1주 1회 마우스에 투여하였다. 종양 이종이식편을 주당 3회 캘리퍼로 측정하였고, 종양 용적(mm³)을 높이×폭×길이를 곱함으로써 결정하였다. 마우스를 20 내지 42일 동안 처리하였다. 연구의 종료 시, 동물을 안락사시키고, 종양 조직을 절개하고, 바이오마커 분석을 위해 순간 냉동 또는 포말된 고정 파라핀 포매(FFPE) 조직으로서 저장하도록 나누었다. IACUC 및 캘리포니아 로스앤젤레스 유니버시티(University of California at Los Angeles) 동물 연구 위원회에서 승인된 프로토콜 하에 모든 동물 작업을 수행하였다. StudyDirector(캘리포니아주 샌프란시스코에 소재)로부터의 StudyLog 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다. 결과를 각 그룹에 대한 평균 용적으로서 제시한다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SE)를 나타낸다.

[0347] 도 9A 내지 도 9B는 3주 동안 항체 HuAb307-MMAE 및 HuAb358-MMAE를 5mg/kg, 2.5mg/kg 또는 1mg/kg으로 매주 투여하는 체장 종양 모델에서의 처리 결과를 나타낸다. 항-CLDN18.2-ADC는 페이로드 단독보다 종양 용적을 감소시키는 데 더 효과적이었다. 5mg/kg에서의 단일 용량의 HuAb307는 또한 제40일까지 종양 세포를 사멸시키는 데 효과적이었다.

[0348] 10mg/kg으로 투여한 항체 HuAb307, HuAb368, HuAb360 및 HuAb432의 효능을 MMAE에 접합된 HuAb307 및 HuAb358-ADC와 비교하였고, 매주 5mg/kg으로 체장암 세포 모델에 투여하였다. 항체 단독은 종양 용적 크기가 감소되었지만, 항-CLDN18.2-ADC는 48일까지 개선된 종양 사멸을 나타내었다(도 10A 내지 도 10B). 위 암종 모델에서 유사한 결과가 관찰되었다(도 11).

[0349] 추가 실험에서, Ab307 및 Ab358-ADC 접합체를 정맥내로 상이한 용량으로 투여하였다. 결과는 i.v. 처리가 용량 의존적이라는 것을 나타낸다(도 12A 내지 도 12B).

[0350] 이들 결과는 항체가 고형 종양에 세포독성제에 대한 유용한 전달 시스템이라는 것을 나타낸다.

[0351] 본 명세서에 인용된 간행물, 특허 출원 및 특허를 포함하는 모든 참고문헌은 각각의 참고문헌이 참조에 의해 인용되는 것으로 개별적이고 구체적으로 표시되며 이의 전문이 본 명세서에 제시되는 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0352] 본 개시내용의 설명과 관련하여(특히 다음의 청구범위와 관련하여) 단수 용어의 사용 및 유사한 대상은 본 명세서에서 달리 표시되거나 문맥에 의해 분명하게 모순되지 않는 한, 단수와 복수를 둘 다 아우르는 것으로 해석되어야 한다. 용어 "포함하는(comprising)", "갖는", "포함하는(including)" 및 "함유하는"는 달리 언급되지 않는 한, 제약을 두지 않은 용어로서(즉, "포함하지만, 이들로 제한되지 않음"을 의미) 해석되어야 한다.

[0353] 본 명세서의 값의 범위의 열거는 단지 본 명세서에서 달리 표시되지 않는 한, 범위 및 각 종점 내에 속하는 각 개별적 값에 대해 개개로 언급하는 약칭 방법으로서 작용하는 것으로 의도되며, 각 개별적 값 및 종점은 본 명세서에서 개개로 열거되는 바와 같이 본 명세서에 포함된다.

[0354] 본 명세서에 기재된 모든 방법은 본 명세서에 달리 표시되지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 분명하게 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본 명세서에 제공된 임의의 및 모든 실시예, 또는 다양한 언어(예를 들어, "예컨대")의 사용은 본 개시내용을 단지 더 양호하게 예시하기 위한 의도이며, 달리 청구되지 않는 한 본 개시내용의 범주에 대한 제한을 제기하지는 않는다. 본 명세서의 어떤 언어도 본 개시내용의 실행에 필수적인 것으로 임의의 청구되지 않은 구성요소를 나타내는 것으로서 해석되어서는 안 된다.

[0355] 본 개시내용을 수행하기 위해 본 발명자에게 가장 잘 공지된 방식을 포함하여, 본 개시내용의 바람직한 실시형태가 본 명세서에 기재된다. 해당 바람직한 실시형태의 변형은 앞서 언급한 설명을 읽을 때 당업자에게 분명하게 될 것이다. 본 발명자들은 적절한 경우 당업자가 이러한 변형을 사용하는 것을 예상하며, 본 발명자들은 본 개시내용이 본 명세서에 구체적으로 기재된 것과 다르게 실행할 것으로 의도한다. 따라서, 본 개시내용은 준거법에 의해 허용된다면 본 명세서에 첨부된 청구범위에 열거된 대상의 모든 변형 및 균등물을 포함한다. 게다가, 본 명세서에 달리 표시되지 않는 한 또는 문맥에 의해 달리 분명하게 모순되지 않는 한, 모든 가능한 변형에서

상기 설명한 구성요소의 임의의 조합이 본 개시내용에 의해 포함된다.

[0356] **실시예 9**

[0357] 본 실시예는 췌장암 환자 유래 이중이식편(PDX)에서 인간화된 항-CLDN18.2-307 항체 약물 접합체(ADC)의 생체내 활성을 입증한다.

[0358] 방법: 췌장암의 2명 환자 유래 이중이식편에서 CLDN18.2 지향 ADC(CLDN18.2-307-ADC(MC-VC-PAB-MMAE에 접합)), 및 CLDN18.2 지향 mAb CLDN18.2-307의 항-종양 활성을 평가하였다. 각 PDX는 IHC에 의해 CLDN18.2 단백질에 대해 양성(XWR6) 또는 음성(XWR187)인 것으로 이미 나타났다(도 14C 및 도 15C). 동물의 우측 뒤 옆구리에 종양 조직의 피하 이식에 의해 마우스에서의 종양 조직의 생체내 계대를 통해 6주령의 CD-1 무흉선 누드 마우스(Charles River Laboratories)에서 환자 유래 이중이식편을 확립하였다. 일단 충분한 수의 이중이식편 종양 보유 마우스가 달성되고, 종양 용적이 200 내지 300 mm³의 범위라면, 마우스를 처리군에 무작위화시켜 3회 반복 용량에 대해 비-표적화 IgG2A 대조군 항체(10mg/kg QW IV), 인간화된 mAb CLDN18.2-307(10mg/kg QW IV) 또는 CLDN18.2-307-ADC(5mg/kg QW IV) 중 하나를 받았다. 모든 실험에 대해, 캘리퍼를 이용하여 주당 3회로 종양 이중이식편을 측정하였고, 종양 용적(mm³)을 높이×폭×길이를 곱함으로써 결정하였다. IACUC 및 UCLA 동물 연구 위원회에 의해 승인된 프로토콜 하에 모든 동물 작업을 수행하였다. StudyDirector(캘리포니아주 샌프란시스코에 소재)로부터의 StudyLog 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다.

[0359] 간략한 요약: CLDN18.2 양성 XWR6 모델에서, mAb CLDN18.2-307에 의한 처리는 비표적화 대조군에 비해 PDX의 평균 진행 속도를 늦추었지만, 그러나, 307-ADC는 그룹 내 4마리 마우스 각각에서 이중이식편 종양 부담의 완전한 퇴행을 유발하였다(도 14A 및 도 14B). CLDN18.2 양성 모델과 대조적으로, CLDN18.2-307-ADC 또는 mAb CLDN18.2-307은 CLDN18.2 음성 PDX, XWR187의 이중이식 종양 진행에 영향이 없음을 나타내었다(도 15A 및 도 15B).

[0360] **실시예 10**

[0361] 본 실시예는 표적 음성 암세포주 이중이식편에서의 인간화된 CLDN18.2 mAb 및 인간화된 CLDN18.2 ADC 활성의 평가를 입증한다.

[0362] 방법: CLDN18.2 단백질에 음성인 것으로 이전에 나타난(즉, CLDN18.2 단백질의 발현이 결여된) 인간 흑색종의 세포주 이중이식 모델(M202)에서 2개의 CLDN18.2 ADC(MC-VC-PAB-MMAE에 접합) 및 2개의 CLDN18.2 mAb의 표적 선택적 활성을 평가하였다. 동물의 우측 뒤 옆구리에 50% 매트릭셀(BD Biosciences)과 함께 1.0×10^7 개 세포의 주사에 의해 6주령의 CD-1 무흉선 누드 마우스(Charles River Laboratories)에서 암 세포주 이중이식편을 확립하였다. 종양이 250 mm³ 내지 300 mm³의 평균 크기에 도달되었을 때, 마우스를 3회의 반복 용량에 대해 비표적화 인간화된-IgG1 대조군 항체(10mg/kg QW IV), mAb CLDN18.2-307(10mg/kg QW IV), mAb CLDN18.2-358(10mg/kg QW IV), CLDN18.2-307-ADC(5mg/kg QW IV) 또는 CLDN18.2-338-ADC(5mg/kg QW IV) 중 하나에 의한 처리를 위한 그룹으로 무작위화하였다. 모든 실험에 대해, 캘리퍼를 이용하여 주당 3회로 종양 이중이식편을 측정하였고, 종양 용적(mm³)을 높이×폭×길이를 곱함으로써 결정하였다. IACUC 및 UCLA 동물 연구 위원회에 의해 승인된 프로토콜 하에 모든 동물 작업을 수행하였다. StudyDirector(캘리포니아주 샌프란시스코에 소재)로부터의 StudyLog 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다.

[0363] 간략한 요약: 본 CLDN18.2-음성 모델에서 이들 mAb 또는 ADC 중 하나에 의한 유의미한 항-종양 활성은 관찰되지 않았다(도 16A 및 도 16B). 이들 데이터는 이들 분자가 매우 적은 비표적(off-target) 활성을 가진다는 것을 나타낸다.

[0364] **실시예 11**

[0365] 본 실시예는 유세포분석에 의해 분석할 때 천연 양성 세포(CLDN18.2의 내인성 발현을 갖는 세포) 또는 인공적으로 과발현된 세포(CLDN18.2를 과발현시키도록 조작된 세포)에 대한 인간화된 항체 결합 활성을 입증한다.

[0366] 방법: 3가지 상이한 농도에서 인간화된 항체를 4℃에서 30분 동안 50μl 2% FBS/PBS 중에서 150,000개의 세포와 함께 인큐베이션시킨 후에, 2% FBS/PBS로 세척하고; 이어서, 4℃에서 30분 동안 Biolegend로부터의 Alexa Fluor[®] 647 항-인간 IgG Fc 항체(409320)와 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 샘플을 Intellicyt[®] iQue 어드밴스드 유세포분석 플랫폼에 의해 측정하였다.

[0367] 간략한 요약: 307에 기반하여 변형된 8개의 인간화된 항체(h1F06) 및 CLDN18.2에 대해 358에 기반하여 변형된 8

개의 인간화된 항체는 천연 CLDN18.2 발현 HUPT4 세포에서 또는 인공 CLDN18.2 과발현 HEK293T 세포에서 이들의 모 항체에 비해 유세포분석에 의해 다양한 결합 친화도를 나타내는 한편, 음성 대조군 M202 세포 및 HEK293T 모 세포에 대해 활성을 나타낸다(도 18).

실시예 12

다음의 표 8은 추가적인 인간화된 항체 및 서열을 나타낸다.

표 8

항체	VH 또는 VL	서열 번호	아미노산 서열
02-0307-h4	02-0307-h4_VH	42	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSSWVRQ APGKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCTRLVKGNDYWGQGTITVSS
	02-0307-h4_VL	45	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLLNSGNQKNYLS WYQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSVQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKEIK
02-0307-h6	02-0307-h6_VH	42	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSSWVRQ APGKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCTRLVKGNDYWGQGTITVSS
	02-0307-h6_VL	130	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLLSSGNQKNYLS WYQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSVQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKEIK
02-0358-h3	02-0358-h3_VH	131	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQ APGKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRSGYYGNSLDYWGQGTITVSS
	02-0358-h3_VL	147	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLLFNSGNQKNYLT WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSVQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGTKEIK
02-0358-h5	02-0358-h5_VH	131	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQ APGKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRSGYYGNSLDYWGQGTITVSS
	02-0358-h5_VL	132	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLLFSSGNQKNYLT WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSVQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGTKEIK

실시예 13

본 실시예는 오솔로그를 과발현시키도록 조작된 세포 상에서 CLDN18.1 및 CLDN18.2의 중 오솔로그에 대한 인간화된 항체 결합 활성을 입증한다. 결합 활성은 유세포분석에 의해 분석되었다.

방법: 3가지 상이한 농도에서 4가지의 인간화된 항체를 4℃에서 30분 동안 50 μ l 2% FBS/PBS 중에서 150,000개의 세포와 함께 인큐베이션시킨 후에, 2% FBS/PBS로 세척하고; 이어서, 4℃에서 30분 동안 Biolegend로부터의 Alexa Fluor[®] 647 항-인간 IgG Fc 항체(409320)와 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 샘플을 Intellicyt[®] iQue 어드밴스드 유세포분석 플랫폼에 의해 측정하였다.

간략한 요약: 307 및 358에 기반하여 변형된 4가지의 인간화된 항체는 인간 CLDN18.2, 인간 CLDN18.1, 마우스 CLDN18.2, 개 CLDN18, 및 랫트 CLDN18를 이용하는 유세포분석에 의해 유의하게 다른 결합 친화도를 나타낸다(도 19). 인간과 마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)(게잡이 원숭이)(사노노물거스 원숭이) 간에 루프1과 루프2는 둘 다 동일하며, 따라서 원숭이 CLDN18.2 OE 계통을 본 분석에 포함시키지 않았다.

실시예 14

본 실시예는 HUPT4 세포에서 CLDN18.2 인간화된 항체에 의한 항체 내재화의 시험관내 특성규명을 입증한다.

방법: 37℃에서 밤새 1 μ g/ml 배지에서 DNA 염료 Hoechst 33342를 이용하여 핵을 염색하였다. 라이소솜을 CellLight[™] 라이소솜-GFP, BacMam 2.0(C10507)으로 염색하였고, 37℃에서, 2 μ l/10k 세포로 밤새 형질감염시켰다. CLDN18.2 항체를 주로 AF647로 표지한다. HUPT4 세포를 4℃에서 30분 동안 8 μ g 항체/300 μ l 성장 배지로 염색한다.

간략한 요약: 시험한 모두 4가지의 항체(02-0307-h4, 02-0307-h6, 02-0358-h3 및 02-0358-h5)를 염색 후 24 내지 48시간에 완전히 내재화한다(도 20). 내재화한 후에, 항체(적색)를 라이소솜(녹색)에 합하고, 핵(청색) 주위

에 황색 스팟을 형성한다(도 20).

[0379] 실시예 15

[0380] 본 실시예에는 인간화된 CLDN18.2 항체의 결합 친화도(KD), 및 다양한 암 세포주 표면 상의 CLDN18.2 발현 수준을 입증한다.

[0381] 방법: 세포-기반 항체 친화도 KD를 Sapidye로부터의 KinExA 4000에 의해 측정하였다(도 21A). 각 KD 측정을 위해, 일반적으로, 계대간 발현 수준의 변화를 피하기 위해 세포의 동일한 배취(동일한 계대)를 이용하여 적어도 2개 항체의 농도 곡선을 제조하였다. 간략히 말해서, 베르센을 이용하여 HEK293T CLDN18.2-mGFP C12 세포(조작된 과발현 세포주) 또는 HUPT4 세포(천연 양성 세포주)를 분리시켰다. 이어서, 세포를 2%FBS/DMEM 또는 2% FBS/RPMI에서 밤새 4°C에서 상이한 농도의 항체 용액 중에서 각각 평형상태로 만들었다. 세포 농도를 1.8×10^7 개의 세포/㎖로 시작하고, 2배 연속 희석을 10점까지 수행하였다. 또한, 항체 용액 단독(신호 100%) 및 비특이적 결합(NSB) 완충제 단독을 각 곡선에 포함시켰다. 다음 날, 세포를 10분 동안 1500rpm에서 교반시키고, 측정을 위해 상청액을 저장하였다. PMMA 비드(Sapidye, 440176)를 30μg/㎖에서 염소-항-인간 IgG(Jackson ImmunoResearch Labs, 109-005-003)로 사전 코팅한 후에, RT에서 1시간 동안 10mg/㎖ BSA/PBS와 함께 인큐베이션시켰다. 형광 Alexa Fluor® 647 AffiniPure 염소 항-인간 IgG(Jackson ImmunoResearch Labs, 109-605-088)를 1%BSA/PBS에서 0.5μg/㎖로 희석시켰다. n-곡선 분석에 의해 분석한 2가지의 항체 곡선을 이용하여 KD 및 항원 발현 수준을 계산하였다.

[0382] Quantum MESF 키트(다양한 양의 Alexa Fluor 647로 표지한 4개의 형광 마이크로스피어 집단, Bangs Laboratories Inc, 카탈로그 번호 647) 및 Quantum Simply Cellular(4 standards, Bangs Laboratories Inc, 카탈로그 번호 816) 또는 단순 세포 키트(1 표준, 카탈로그 번호 812)의 조합을 이용함으로써 정량적 유세포측정을 통해 세포 표면 항원 발현 수준을 또한 수행하였다(도 21B). 간략히 말해서, 세포를 베르센 용액을 이용하여 분리시키고; Alexa Fluor 647 염료로 4°C에서 30분 동안 1차 표지한 CLDN18.2 항체로 세포 및 QSC 비드를 염색하고; 2%FBS/PBS로 세척한 후에, 단일 집단 주위에서 개폐되는 동일한 상황에서 Accuri C6 상에서 세포, MESF 및 QSC 비드를 분석하였다. 각 키트로 제공한 QuickCal 분석 주형을 이용하여, 표준 곡선을 생성하고 형광을 정량화하기 위해 MESF 키트를 사용하고; 이어서, 발현의 결정을 위해 곡선에 대해 세포 샘플을 판독한다. 또한, Quantum Simply Cellular 또는 Simply Cellular 키트를 사용하여 형광단:단백질(F/P) 비를 정량화하였다. QuickCal 분석 주형을 이용한다. 후속적으로, F/P 비를 이용하여 MESF로부터의 결과를 ABC 단위로 전환시킨다. 최종적으로, 계산한 1가 ABC에 2를 곱한 것은 2가 결합을 갖는 ABC 값이다.

[0383] 간략한 요약: 4가지의 인간화된 CLDN18.2 항체는 CLDN18.2 양성 세포주에 대해 상이한 결합 친화도를 나타내었고; CLDN18.2 과발현 인공 세포와 비교할 때 천연 CLDN18.2 양성 세포에 대해 더 높은 결합 친화도를 나타내었다(도 21A). 세포 표면 상에서 CLDN18.2의 발현 수준은 상이한 조직학 중 내인성 세포주에서 달랐다(도 21B).

[0384] 실시예 16

[0385] 본 실시예에는 CLDN18.2+ 체장 암세포주(HUPT4) 이종이식편에서의 CLDN18.2 인간화된 mAb 효능을 입증한다.

[0386] 방법: 4개의 CLD18.2 지향 항체의 항-종양 활성을 인간 체장암의 HUPT4 세포주 이종이식편 모델에서 비교하였다. 동물의 우측 뒤 옆구리에 50% 매트릭젤(BD Biosciences)과 함께 1.0×10^7 개 세포의 주사에 의해 6 주령의 CD-1 무흉선 누드 마우스(Charles River Laboratories)에서 암 세포주 이종이식편을 확립하였다. 종양이 평균 크기 200mm³에 도달되었을 때, 마우스를 처리군에 무작위화하였다. 마우스를 10mg/kg에서 비표적화 인간화된-IgG1 대조군 항체, CLDN18.2 항체 클론 #307-4, #02-307-6h, #358-3 또는 #02-358-5h 중 하나의 정맥내(IV) 주사에 의해 1주 1회(QW) 처리하였다. 모든 실험에 대해, 캘리퍼를 이용하여 주당 3회로 종양 이종이식편을 측정하였고, 종양 용적(mm³)을 높이×폭×길이로 곱함으로써 결정하였다. IACUC 및 UCLA 동물 연구 위원회에 의해 승인된 프로토콜 하에 모든 동물 작업을 수행하였다. StudyDirector(캘리포니아주 샌프란시스코에 소재)로부터의 StudyLog 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다.

[0387] 간략한 요약: 각 항체에 의한 처리는 24일의 투약에 걸쳐 이종이식 종양 진행의 완전한 차단을 유발하였다. 시험한 4개의 CLDN18.2 mAb 중에서, 클론 #307-4는 다른 3개의 클론에 대해 미미하게 개선된 효능을 나타내었다(도 22A 및 도 22B).

[0388] 실시예 17

[0389] 본 실시예는 유세포분석에 의해 천연 양성 세포 또는 인공적으로 과발현된 세포에 대한 CLDN18.2-CD3-이중특이성 T 세포 관여자(BiTE) 결합 활성을 입증한다.

[0390] 방법: #307-CD3E-BiTE(2개 배취) 및 358-CD3E-BiTE를 4℃에서 30분 동안 50 μ l 2% FBS/PBS 중에서 150,000개의 세포와 함께 인큐베이션시킨 후에, 2% FBS/PBS로 세척하고; 이어서, 4℃에서 30분 동안 항-his Alexa Fluor[®] 647 항체(Biolegend #652513)와 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 샘플을 BD Accuri[™] C6 유세포분석기에 의해 측정하였다.

[0391] 간략한 요약: CLDN18.2 BiTE[#307-CD3E-BiTE(2개 배취) 및 358-CD3E-BiTE]는 천연 CLDN18.2 발현 HUPT4 세포, 및 인공 CLDN18.2 과발현 HEK293T 세포를 이용하는 유세포분석에 의해 양호한 결합 친화도를 나타내는 반면, 음성 대조군 ARK2 세포에 대해 활성을 나타내지 않았다(도 24A-도 24E). 그러나, 항-his-AF647(Biolegend #652513)은 HEK293T 모 세포와의 매우 높은 배경/비-특이적 결합을 가졌다.

[0392] 실시예 18

[0393] 본 실시예는 유세포분석에 의해 천연 양성 세포 또는 인공적으로 과발현된 세포에 대한 CLDN18.2-CD16-TandAb(Tandem 다이어바디) 결합 활성을 입증한다.

[0394] 방법: 307 또는 358 항체의 항원 결합 단백질을 이용하여 각각 CD16A 또는 CLDN18.2에 결합하는 항원-결합 모이 어티를 포함하는 TandAb를 작제하였다. 본 명세서에 기재된 TandAb의 구조는 CD16A VH-(G2S)3-CLDN18.2AbVL-(G2S)3-CLDN18.2AbVH-(G2S)3-CD16A VL-His 태그이다(도 23A 내지 도 23C). TandAb 307-CD16A 및 TandAb 358-CD16A뿐만 아니라 AFM13를 4℃에서 30분 동안 50 μ l 2% FBS/PBS 중에서 150,000개의 세포와 함께 인큐베이션시킨 후에, 2% FBS/PBS로 세척하고; 이어서, 4℃에서 30분 동안 항-his Alexa Fluor[®] 647 항체(Biolegend #652513)와 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 샘플을 BD Accuri[™] C6 유세포분석기에 의해 측정하였다.

[0395] 간략한 요약: TandAb 307-CD16A 및 TandAb 358-CD16A는 천연 CLDN18.2 발현 HUPT4 세포를 이용하는 유세포분석에 의해 양호한 결합 친화도를 나타낸 반면, 음성 대조군 ARK2 세포에 대해 더 적은 활성을 나타내었다. 그러나, 항-his-AF647(Biolegend #652513)은 매우 높은 배경/비-특이적 결합을 가졌다. AFM13 항체(CD16A 및 CD30에 대한 이중특이성)를 Jurkat-Lucia-NFAT-CD16A 세포에서 CD16A에 대한 결합에 대해 양성 대조군으로서 사용하였다. 본 유동 분석에서의 결과는 307-CD16A 및 358-CD16A의 TandAb가 CLDN18.2와 CD16A 둘 다에 성공적으로 결합한다는 것을 입증하였다(도 25A 내지 도 25E).

[0396] 실시예 19

[0397] 본 실시예는 유세포분석에 의해 천연 양성 세포 또는 인공적으로 과발현된 세포에 대한 CLDN18.2-CD16-TandAb결합 활성을 입증한다.

[0398] 방법: Tandab 307-CD16A 및 Tandab 358-CD16A뿐만 아니라 AFM13를 4℃에서 30분 동안 50 μ l 2% FBS/PBS 중에서 150,000개의 세포와 함께 인큐베이션시킨 후에, 2% FBS/PBS로 세척하고; 이어서, 4℃에서 30분 동안 항-his Alexa Fluor[®] 647 항체(Biolegend #652513)와 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 샘플을 BD Accuri[™] C6 유세포 분석기에 의해 측정하였다.

[0399] 간략한 요약: Tandab 307-CD16A 및 Tandab 358-CD16A는 천연 CLDN18.2 발현 HUPT4 세포에 의해 양호한 결합 친화도를 나타낸 반면, CLDN18.2 음성 ARK2 세포에 대해 더 적은 활성을 나타내었다(도 26A 내지 도 26E). 그러나, 항-his-AF647(Biolegend #652513)은 높은 배경/비-특이적 결합을 가졌다. AFM13 항체(CD16A 및 CD30에 대한 이중특이성)를 Jurkat-Lucia-NFAT-CD16A 세포에서 CD16A에 대한 결합에 대해 양성 대조군으로서 사용하였다. 본 유동 분석에서의 결과는 Tandab 307-CD16A 및 Tandab 358-CD16A가 CLDN18.2와 CD16A 둘 다에 성공적으로 결합한다는 것을 나타내었다(도 26A 내지 도 26E).

[0400] 실시예 20

[0401] 본 실시예는 유세포 분석에 의해 Jurkat 세포에 대해 CLDN18.2-CD3 BiTE 결합 활성을 나타낸다.

[0402] 방법: CD3에 대해 내인성으로 양성인 Jurkat 세포를 1 μ g의 관심 대상의 각 BiTE(Blinicyto-His 태그, p307 BiTE-His 태그, p358 BiTE-His 태그)와 함께 인큐베이션시키고, 4℃에서 적어도 30분 동안 인큐베이션시키고, 세척하고 나서, 0.5 μ g의 항-His 2차 항체와 함께 인큐베이션시켰다. 샘플을 세척하고, 동일한 날에 유세포분석에 의해 실행하였다. 음성 대조군에 대해, Jurkat 세포를 항-His 2차 항체 단독과 함께 인큐베이션시켰다.

[0403] 간략한 요약: 유동 결과는 기준 항체(Blinicyto)뿐만 아니라 본 발명자들의 CLDN18.2 BiTES p307 및 p358의 항-CD3 결합 능력을 나타낸다(도 27A에 나타난 바와 같음). 40× Keyence 영상은 일관된 표면 염색을 나타낸다(도 27B).

[0404] **실시예 21**

[0405] 본 실시예는 천연 또는 인공적으로 과발현된 세포를 이용하여 NFAT-RE 리포터 및 CLDN18.2-CD3 BiTE를 갖는 Jurkat 세포를 이용하는 T-세포 활성화 분석을 나타낸다.

[0406] 방법: Promega의 T 세포 활성화 Bioassay 키트(NFAT-RE J1621)를 이용하여 분석을 실행하였다. 표적 세포를 백색 96 웰 플레이트 웰에서 40,000개의 세포/웰의 밀도로 과중하고, 37℃에서 밤새 인큐베이션시키고, 이 후에, 분석 키트에 포함시킨 해동-및-사용 Jurkat T 세포(활성화될 때 발광에 대해 조작)를 BiTE 처리와 함께 과중 세포(1:1 세포비)에 첨가하였다. 10nM의 시작 농도에서 9회의 연속적 1:4 희석에서 BiTE 처리를 첨가하였다. 처리한 플레이트를 6시간에 걸쳐 37℃에서 인큐베이션시키고, 이 후에 Bio-Glo 시약(키트에 포함)을 첨가하고, 초당 카운트(CPS) 단위로 Victor 3V 루미노미터에서 즉시 판독하였다.

[0407] 간략한 요약: 발광 데이터는 p307 BiTE가 CD3+ Jurkat 세포의 CLDN18.2 특이적 활성화를 유발한다는 것을 입증한다(도 28). 다시 말해서, BiTE가 활성화의 상대 수준을 유발하기 위해 중앙 연관 항원(TAA)에 양성인 세포가 존재할 필요가 있다.

[0408] **실시예 22**

[0409] 본 실시예는 인공 과발현 세포 및 내인성 세포주를 이용하여 NFAT-RE 리포터 및 CLDN18.2-CD3 BiTE를 갖는 Jurkat 세포를 이용하는 T-세포 활성화 분석을 입증한다.

[0410] 방법: Promega의 T 세포 활성화 Bioassay 키트(NFAT-RE J1621)를 이용하여 분석(도 28와 동일하지만 CLDN18.2 BiTE를 둘 다 이용함)을 실행하였다. 표적 세포를 백색 96 웰 플레이트 웰에서 40,000개의 세포/웰의 밀도로 과중하고, 37℃에서 밤새 인큐베이션시키고, 이 후에, 분석 키트에 포함시킨 해동-및-사용 Jurkat T 세포(활성화될 때 발광에 대해 조작)를 BiTE 처리와 함께 과중 세포(1:1 세포비)에 첨가하였다. 10nM의 시작 농도에서 9회의 연속적 1:4 희석에서 BiTE 처리를 첨가하였다. 처리한 플레이트를 6시간에 걸쳐 37℃에서 인큐베이션시키고, 이 후에 Bio-Glo 시약(키트에 포함)을 첨가하고, 초당 카운트(CPS) 단위로 Victor 3V 루미노미터에서 즉시 판독하였다.

[0411] 간략한 요약: 발광 데이터는 p307 및 p358 BiTE가 CD3+ Jurkat 세포의 CLDN18.2 특이적 활성화를 유발한다는 것을 입증한다(도 29). 다시 말해서, BiTE가 활성화의 상대 수준을 유발하는 데 중앙 연관 항원(TAA)에 양성인 세포가 필요하다.

[0412] **실시예 23**

[0413] 본 실시예는 처리 5일 후 CLDN18.2-CD3 이중특이성 세포독성 분석의 대표적인 영상을 나타낸다.

[0414] 방법: 96 웰 플레이트에서, pan CD3+ 인간 PBMC(HumanCells Bio로부터 구입)를 상이한 효과기:표적비로 HUPT4, Cldn18.2+ 세포주와 함께 공동배양시키고, p307 CLDN18.2 BiTE 또는 음성 대조군 Blincyto 중 하나로 처리하였다. 처리 농도는 125ng/mL에서 시작하였고, 1:10 비로 연속 희석시켰다. 처리 5일 후에, 공동 배양 및 처리가 HUPT4 세포에 대한 세포독성 효과를 유발하는지의 여부 및 어느 정도인지를 결정하기 위해 Cellavista 영상화 시스템으로 플레이트를 영상화하였다.

[0415] 간략한 요약: Cellavista 영상은 p307 CLDN18.2 BiTE가 HUPT4 세포에 대해 세포독성 효과를 유발한다는 것을 입증한다. 대조적으로, CD19에 특이적이고 CLDN18.2에 대해서는 특이적이지 않은 음성 대조군 Blincyto는 동일한 농도에서 HUPT4 세포에 영향을 미치지 않았다(도 30A 내지 도 30F).

[0416] **실시예 24**

[0417] 본 실시예는 처리 5일 후에 CLDN18.2-CD3 BiTE의 LDH 활성을 입증한다.

[0418] 방법: 실시예 22에서 상세히 설명한 실험으로부터의 배지를 수집하고, 10분 동안 14,500rpm에서 교반하여 LDH 분석을 준비하였다(Sigma: MAK066). LDH 활성 분석을 위해 각 웰로부터의 6μL의 배양 배지를 사용하였다. 10% FBS를 갖는 RPMI를 음성 대조군으로서 사용하였다. 분석을 37℃에서 수행하고, 마이크로플레이트 판독기(Molecular Device)를 이용하여 30초 간격으로 15분마다 OD450nm를 측정하였다.

[0419] 간략한 요약: 세포독성의 상대 수준을 측정하기 위해 간단한 방법으로서 LDH 비색 분석을 사용하였다. 결과는 표적-특이적 세포독성 및 용량-의존적 반응을 입증하고; CD3+ 인간 PBMC와 함께 공동발현시키고 p307 BiTE로 처리한 HUPT4 세포는 음성 대조군 블리나투모맵(Blinicyto)으로 처리한 세포에 비해 현저히 고수준의 LDH를 방출하였다. 효과기 세포 대 표적 세포 비-의존적 반응을 또한 관찰하고, 이는 CD3+ 세포가 세포독성 효과에 필요하다는 것을 나타낸다(도 31).

[0420] **실시예 25**

[0421] 본 실시예는 인간 PBMC 주사 마우스의 CLDN18.2 양성 HUPT4 췌장 암세포주 이종이식편에서 CLDN18.2-지향 BiTE(CD3)의 생체내 활성을 입증한다.

[0422] 방법: 인간 PBMC 주사로 보충한 면역손상 마우스를 이용하는 세포주 이종이식 연구에서 CLDN18.2 지향 BiTE의 항-종양 활성을 평가하였다. 면역손상(NSG) 마우스에 IL-2로 자극한 1.0×10^7 개의 인간 공여자 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 중 하나의 복강내 주사의 12일 전에 1.0×10^7 개의 HUPT4 췌장 암세포를 주사하였다. PBMC의 주사 다음 날에, 마우스를 평균 종양 용적(150 내지 200mm³)에 기반하여 그룹에 무작위화하고, 1mg/kg Blincyto(비표적화 대조군), 1mg/kg CLDN18.2-BiTE-307 또는 1mg/kg의 CLDN18.2-BiTE-358의 1일 정맥내(IV) 주사로 7일 동안 계속해서 처리하였다. 추가적인 대조군을 또한 비표적화 인간 IgG1 항체(10mg/kg IV QW), CLDN18.2-mAb-307(10mg/kg IV QW) 또는 CLDN18.2-mAb-358(10mg/kg IV QW)로 처리하였다.

[0423] 간략한 요약: CLDN18.2-BiTE-307 또는 CLDN18.2-BiTE-358로 처리한 마우스에서만 CLDN18.2-양성 HUPT4 이종이식편의 유의미한 종양 퇴행이 관찰되었다(도 32). CD19-지향 BiTE, Blincyto에 의한 처리에 반응한 어떠한 항-종양 활성도 관찰되지 않았다. HUPT4 세포는 CD19 단백질을 발현시키지 않는다. CLDN18.2로 향하는 mAb는 또한 본 모델에서 활성을 갖지 않았다(도 32). 이들 데이터는 CLDN18.2 BiTE의 강한 활성 및 BiTE 기술을 이용하여 CLDN18.2를 표적화함에 있어서의 이점을 보여준다.

[0424] **실시예 26**

[0425] 본 실시예는 인간화된 BLT 마우스에서 CLDN18.2-양성 HUPT4 암세포주 이종이식편에서의 CLDN18.2-지향 BiTE(CD3)의 생체내 활성을 입증한다.

[0426] 방법: 완전히 인간화된 면역계를 생성하기 위해 태아 공여자 CD38+ 줄기 세포 및 공여자 간 및 흉선의 단편을 이식한 면역손상(NSG) 마우스를 이용하여 세포주 이종이식 연구에서 CLDN18.2 지향 BiTE의 항-종양 활성을 평가하였다. 1.0×10^7 개의 HUPT4 췌장 암세포를 주사하기 전에 이들 BLT(골수 간 흉선) 마우스에서 인간 면역 세포의 재구성을 확인하였다. 일단 종양이 200mm³의 평균 용적에 도달되면, 5 연속일 동안 10mg/kg Hu-IgG1 대조군 IV QW 또는 1mg/kg CLDN18.2-BiTE-307 IV 중 하나로 마우스를 처리하였다.

[0427] 간략한 요약: CLDN18.2-BiTE-307로 처리한 마우스에서 유의한 종양 퇴행이 관찰되었다(도 33A 및 도 33B). 이들 데이터는 본 명세서에 기재된 CLDN18.2-표적화 BiTE가 CLDN18.2-양성 암세포주 이종이식편을 보유하는 인간화된 마우스에서 유의한 항-종양 활성을 유발한다는 것을 입증한다.

[0428] 다음의 표 9 내지 표 11은 CLDN18.2에 결합하는 다양한 항원-결합 단백질 또는 이종특이성 항원-결합 단백질을 나타낸다.

표 9

(또한 도 13에 나타냄)

서열 번호	Ab 클론	아미노산 서열
경쇄 가변 영역		
11	307	DIVMTQSPSSSLTVTTGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLSWYQQIPGQ PPKLLFYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQN DYSYPFTFGAGTKLELR
13	369	DILMTQSPSSSLTVTAGEKVTMTCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASSRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQN DYSYPFTFGAGTKLELK
15	376	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTGFTLTISNVQAEDLAVYYCQN DYSYPFTFGAGTKLELK
17	358	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTGFTLTISNVQAEDLAVYYCQN VYIYPLTFGLGKLELR
19	384	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQN NYYYPFTFGGGTKLEIK
21	360	DIVMTQSPSSSLAVTAGEQVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASIRQSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLN DYGFPPLTFGAGTKLELK
23	432	DIVMTQSPSSSLTVTAREKVTMCKSTQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQN AYYYPFTFGGGTKLEIK
25	400	DVVMQSPSSSLTVTAGEKVTMCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGAPDRFTGSGSGADFTLTISNVQAEDLAVYYCQN NYYYPFTFGSGTKLEIK
27	331	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLFYWASTKKSGVPDRFTGSGSRDFTLTISNVQAEDLAVYYCLN DYSFPLTFGAGTKLELK
29	347	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRQSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLN DYSFPLTFGAGTKLELK
31	339	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMTCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTGASGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLN DYSFPLTFGAGTKLELK
33	301	DIVMTQSPSSSLAVTTGEQVTMCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRQSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLN DYGFPPLTFGAGTKLELK
35	392	DIVMTQSPSSSLTVTTGEKVTMDCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKSGQ PPKLLIYWASIRKSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLN DYSFPLTFGAGTKLELK
37	416	QIVLTQSPAISASPGQKVTITCSASSTINYMHWYQQKLGSSPKLWIY DTSKLAPGVPARFSGSGSGTSYSLTISMEAEADAASYFCHQWSSYPPT FGSGTKLELK
39	409	DIQMTQTSSSLASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLI YYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIAATYYCQHYSKLPP TFGSGTKLEIK

[0429]

서열 번호	Ab 클론	아미노산 서열
41	424	DIVITQDELSNPVTSGESVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQGS PQLLVYWMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLEISRVAEDVGVIYQQQV VYYPYTFGSGTKLEIK
58	기준 1- 175D10	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQN DYSYPYTFGSGTKLEIK
60	기준 2- 163E12	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQN DYSYPLTFGAGTKLEIK
62	기준 3- 출레특시 맵	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQN DYSYPYTFGSGTKLEIK
중쇄 가변 영역		
10	307	DVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLEWV ATIIIGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLKSEDTAMYYC TRLVKGNAMDYWGQGTSAVAVSS
12	369	DVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLEWV ATIIIGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLKSEDTAMYYC TRLVKGNAMDYWGQGTSTVTVSS
14	376	DVKLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLYWV ATISSGVSYTYYPDSVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLKSEDTAMYYC TRLTKGNAMDYWGQGTSTVTVSS
16	358	VVQLVESGGDFVQPGGSRKLSCAVSGFTFSSFGMHVVRQAPEKGLEWV AYISSGTTNIYADTVKGRFTVSRDNPKNLSFLHMTSLRSEDTAMYYC VRSGYGNSLDYWGQGTPLTVSS
18	384	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASDYTFSTSYISWVKQRTGQGLEWI GEIYPNGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFC ARSYYGNSFAYWGQGTSLTVSA
20	360	VVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSTSYLMHWVRQKPGGLDWI GYINPYNDGTNYNAKFIDKATLTSDKTSSTAYMELSSLTSEDSAIYYC TRGDYWGQGTSTVTVSS
22	432	QIQLQQSGAELARPRASVKLSCKASGYTFSTSDVISWVKQRPQGLEWI GESYLRNGNTYYNENFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFC ARSYYGNSFAYWGQGTSLTVSA
24	400	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLNSYGVSWVRQPPGKGLEWL GVIWGDGSTNYHSALKSRNLNINKDKSKSQVFLKLNLSQTDDTATYYCA RPTRGNAMDYWGQGTSTVTVSS
26	331	EVQLQQSGPELVKPGASVRMSCKASGYTFSTSYIMHWVKQKPGQGPEWM GYINPYNDGTNYNEKFKDKATLTSDKSSSTAYMDLSSLTSEDSAVYYC TRGDYWGQGTSTVTVSS
28	347	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSTSYLIHWVKQKPGQGLEWI GYINPYNDATYYNEKFKAKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDTAIYYC TRGDYWSQGTSTVTVSS
30	339	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSTSYVMHWVKQKPGQGLEWI GYFNPNDDTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMDLSSLTSEDSAVYXC TRGDYWGQGTSTVTVSS
32	301	VVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSTFLIHWVRQKPGGLEWI GYINPYDYGINYNVKFMDKVTLTSDKTSSTAYMELSSLTSADSAIYYC TRGDYWGQGTSTVIVSS

[0430]

서열 번호	Ab 클론	아미노산 서열
34	392	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGFTFTSYVMHWVKQKSGQGLEWI GYINPYNDIKYNAKFEDKATLTSDRSSSTAYMELSSLTSDSDSAVYFC TRGDYWGQGTTLTVSS
36	416	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASVYSFTGYNMNVKQKSGKSLLEWI GVINPNYGNNTNQNRFKKGKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYC ARSEDYNNIRGASWGQGTTLTVSA
38	409	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWI GEISPRSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFC ATGVITTVIPTDWFYFDVWGTTTTVSS
40	424	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSTFTVYMNWVKQSPEKSLEWI GEINPSTGGTTYNPKFKAATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAIYFC VRWADYWGQGTTLTVSS
59	기준 1	QVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPQGQGLEWI GNIYPSDSYTNYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSSEDSAVYYC TRSWRGNSFDYWGQGTTLTVSS
61	기준 2	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVKQRTGQGLEWI GEIYPGSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFC ARSYGAFDYWGQGTTLTVSS
148	기준 2-1	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNVKQAPGKGLKWM GWINTNTGEPTYAEFEKGRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYFC ARLGFGNAMDYWGQGTSTVTVSS
63	기준 3- 출레특시 맵	QVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPQGQGLEWI GNIYPSDSYTNYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSSEDSAVYYC TRSWRGNSFDYWGQGTTLTVSS
인간화된 경쇄 가변 영역		
43	HuAb307- 1 (L1)	DIVMTQSPD SLAVSLGERATIN CKSSQSLNLSGNQKNYLSWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQN DYSYPFTFGQGTKLE IK
44	HuAb307- 2 (L2)	DIVMTQSPD SLAVSLGERATIN CKSSQSLNLSGNQKNYLSWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQN DYSYPFTFGQGTKLE IK
45	HuAb307- 3 (L3)	DIVMTQSPD SLAVSLGERVTM NCKSSQSLNLSGNQKNYLSWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SVQAEDVAVYYCQN DYSYPFTFGQGTKLE IK
47	HuAb376- 1 (L1)	DIVMTQSPD SLAVSLGERATIN CKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQN DYSYPFTFGQGTKLE IK
48	HuAb376- 2 (L2)	DIVMTQSPD SLAVSLGERVTM NCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SVQAEDVAVYYCQN DYSYPFTFGQGTKLE IK
149	HuAb358- 1 (L1)	DIVMTQSPD SLAVSLGERATIN CKSSQSLFNSGNQRNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQN VYIYPLTFGQGTKLE IK
150	HuAb358- 2 (L2)	DIVMTQSPD SLAVSLGERVTM NCKSSQSLFNSGNQRNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SVQAEDVAVYYCQN VYIYPLTFGQGTKLE IK
53	HuAb360- 1 (L1)	DIVMTQSPD SLAVSLGERATIN CKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCLN DYGFPPLTFGQGTKLE IK

[0431]

서열 번호	Ab 클론	아미노산 서열
54	HuAb360- 2 (L2)	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCLN DYGFPITFGQGTKLEIK
53	HuAb360- 3 (L1)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCLN DYGFPITFGQGTKLEIK
54	HuAb360- 4 (L2)	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCLN DYGFPITFGQGTKLEIK
53	HuAb360- 5 (L1)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCLN DYGFPITFGQGTKLEIK
54	HuAb360- 6 (L2)	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCLN DYGFPITFGQGTKLEIK
50	HuAb432- 1 (L1)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSTQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQN AYYYPFTFGQGTKLEIK
51	HuAb432- 2 (L2)	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSTQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQN AYYYPFTFGQGTKLEIK
50	HuAb432- 3 (L1)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSTQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQN AYYYPFTFGQGTKLEIK
51	HuAb432- 4 (L2)	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSTQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQN AYYYPFTFGQGTKLEIK
인간화된 중쇄 가변 영역		
42	HuAb307- 1 (H2)	EVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMISWVRQAPGKLEWV ATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRLVKGNAMDYWGQGT LVT VSS
42	HuAb307- 2 (H2)	EVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMISWVRQAPGKLEWV ATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRLVKGNAMDYWGQGT LVT VSS
42	HuAb307- 3 (H2)	EVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMISWVRQAPGKLEWV ATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRLVKGNAMDYWGQGT LVT VSS
46	HuAb376- 1 (H2)	EVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMISWVRQAPGKLEWV ATISSGVSYTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRLTKGNAMDYWGQGT LVT VSS
46	HuAb376- 2 (H2)	EVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMISWVRQAPGKLEWV ATISSGVSYTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRLTKGNAMDYWGQGT LVT VSS
131	HuAb358- 1 (H2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAPGKLEWV AYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC VRSGYYGNSLDYWGQGT LVT VSS
131	HuAb358- 2 (H2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAPGKLEWV AYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC VRSGYYGNSLDYWGQGT LVT VSS

[0432]

서열 번호	Ab 클론	아미노산 서열
52	HuAb360- 1 (H2)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV S CKASGYTFTSYLMHWVRQ APGQGLEWI GYINPYNDGTNY AQKFQGRVTMTSDTSTSTV YME LSSLR SED TAVYYC TRGDYWGQGT L TV S S
52	HuAb360- 2 (H2)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV S CKASGYTFTSYLMHWVRQ APGQGLEWI GYINPYNDGTNY AQKFQGRVTMTSDTSTSTV YME LSSLR SED TAVYYC TRGDYWGQGT L TV S S
55	HuAb360- 3 (H3)	QVQLVQSGAEVKKPGASVK M SCKASGYTFTSYLMHWVRQ APGQGLEWI GYINPYNDGTNY AQKFQGRATLTSDTST AYME LSSLR SED TAVYYC TRGDYWGQGT L TV S S
55	HuAb360- 4 (H3)	QVQLVQSGAEVKKPGASVK M SCKASGYTFTSYLMHWVRQ APGQGLEWI GYINPYNDGTNY AQKFQGRATLTSDTST AYME LSSLR SED TAVYYC TRGDYWGQGT L TV S S
56	HuAb360- 5 (H4)	QVQLVQSGAEVKKPGASVK M SCKASGYTFTSYLMHWVRQ APGQGLEWI GYINPYNDGTNY AQKFQGRATLTSDKST AYME LSSLR SED TAVYYC TRGDYWGQGT L TV S S
56	HuAb360- 6 (H4)	QVQLVQSGAEVKKPGASVK M SCKASGYTFTSYLMHWVRQ APGQGLEWI GYINPYNDGTNY AQKFQGRATLTSDKST AYME LSSLR SED TAVYYC TRGDYWGQGT L TV S S
57	HuAb432- 1 (H1)	QVQLVQSGAEVKK PGSSV KV S CKASGYTFTSDVISWVRQ APGQGLEWM GESYLRNGNTYY AQKFQGRVTITADKST AYME LSSLR SED TAVYYC ARSYYGNSFAYWGQGT L TV S S
57	HuAb432- 2 (H1)	QVQLVQSGAEVKK PGSSV KV S CKASGYTFTSDVISWVRQ APGQGLEWM GESYLRNGNTYY AQKFQGRVTITADKST AYME LSSLR SED TAVYYC ARSYYGNSFAYWGQGT L TV S S
49	HuAb432- 3 (H2)	QVQLVQSGAEVKK PGSSV KL S CKASGYTFTSDVISWVRQ APGQGLEWI GESYLRNGNTYY AQKFQGRATLTADKST AYME LSSLR SED TAVYYC ARSYYGNSFAYWGQGT L TV S S
49	HuAb432- 4 (H2)	QVQLVQSGAEVKK PGSSV KL S CKASGYTFTSDVISWVRQ APGQGLEWI GESYLRNGNTYY AQKFQGRATLTADKST AYME LSSLR SED TAVYYC ARSYYGNSFAYWGQGT L TV S S

[0433]

표 10

(또한 도 17 에 나타냄)

서열 번호	명칭	설명	서열
131	02-0358-4h_VH	02-0358-4h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGNSLDYWGQGTLVTVSS
135	02-0358-4h_VL	02-0358-4h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFQSGNQNRNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSS VQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGGTKLEIK
131	02-0358-5h_VH	02-0358-5h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGNSLDYWGQGTLVTVSS
136	02-0358-5h_VL	02-0358-5h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFSSGNQNRNYLTWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSV QAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGGTKLEIK
133	02-0358-6h_VH	02-0358-6h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGSLDYWGQGTLVTVSS
137	02-0358-6h_VL	02-0358-6h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFNSGNQNRNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSS VQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGGTKLEIK
134	02-0358-7h_VH	02-0358-7h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGSLDYWGQGTLVTVSS
137	02-0358-7h_VL	02-0358-7h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFNSGNQNRNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSS VQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGGTKLEIK
133	02-0358-8h_VH	02-0358-8h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGSLDYWGQGTLVTVSS
135	02-0358-8h_VL	02-0358-8h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFQSGNQNRNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSS VQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGGTKLEIK
133	02-0358-9h_VH	02-0358-9h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGSLDYWGQGTLVTVSS

[0434]

136	02-0358-9h_VL	02-0358-9h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFSSGNQRNYLTWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGTKLEIK
134	02-0358-10h_VH	02-0358-10h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHVWRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDANKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGSSLDYWGGGTLTVSS
135	02-0358-10h_VL	02-0358-10h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFQSGNQRNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV VQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGTKLEIK
134	02-0358-11h_VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHVWRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDANKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCVRSGYYGSSLDYWGGGTLTVSS
136	02-0358-11h_VL	02-0358-11h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFSSGNQRNYLTWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGTKLEIK
42	02-h1F06-5h_VH	02-0307-5h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKGNAMDYWGQGTLLTVSS
140	02-h1F06-5h_VL	02-0307-5h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLQSGNQKNYLSW YQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV VQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
42	02-h1F06-6h_VH	02-0307-6h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKGNAMDYWGQGTLLTVSS
141	02-h1F06-6h_VL	02-0307-6h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLSSGNQKNYLSWY QQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
138	02-h1F06-7h_VH	02-0307-7h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKQAMDYWGQGTLLTVSS
142	02-h1F06-7h_VL	02-0307-7h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLNSGNQKNYLSWY QQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
138	02-h1F06-8h_VH	02-0307-8h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKQAMDYWGQGTLLTVSS
140	02-h1F06-8h_VL	02-0307-8h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLQSGNQKNYLSW YQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV VQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
138	02-h1F06-9h_VH	02-0307-9h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKQAMDYWGQGTLLTVSS

141	02-h1F06-9h_VL	02-0307-9h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLSSGNQKNYLSWY QQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
139	02-h1F06-10h_VH	02-0307-10h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKGSAMDYWGQGTLLTVSS
142	02-h1F06-10h_VL	02-0307-10h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLNSGNQKNYLSWY QQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
139	02-h1F06-11h_VH	02-0307-11h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKGSAMDYWGQGTLLTVSS
140	02-h1F06-11h_VL	02-0307-11h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLQSGNQKNYLSW YQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV VQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
139	02-h1F06-12h_VH	02-0307-12h 항체	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAP GKGLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRLVKGSAMDYWGQGTLLTVSS
141	02-h1F06-12h_VL	02-0307-12h 항체	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLSSGNQKNYLSWY QQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK

[0437]

표 10의 항체는 항체 307-h4 및 358-h3에 대한 서열 및 추가적인 서열 변이를 나타낸다. 이들 항체는 잠재적 제조성(manufacturability) 서열 경향(liability)에 대한 추가적 정보를 제공하기 위해 생성되었다.

표 11

(또한 도 23에 나타냄)

명칭	서열	서열
02-0307-h4-Bs (서열번호 143)	CLDN18.2-CD3E BiTE (이중특이성 T 세포 관여자)	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLNLSGNQKN YLSWYQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGS GTDFTLTISVQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLE IKGGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSSYTMWVRQAPGKGLEWVATIIIGGS YTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCTRLVKGNAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSDIKLQQS GAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQ GLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVS SVEGGSGGGSGGGSGGGVDDIQLTQSPAIMSASPGE KVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKV ASGVPPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQW SSNPLTFGAGTKLELKHSHHHHH*
02-0307-h4-CD16A_His (서열번호 144)	CLDN18.2-CD16A TandAb	QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHV VRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGSAYYYDFADY WGQGLTVTVSSGGSGGGSGGSDIVMTQSPDSLAVSLG ERVMTMNCKSSQSLNLSGNQKNYLSWYQQKPGQPPKL LFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDV AVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIKGGSGGGSGGSEVQL LESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQA PGKGLEWVATIIIGGSYTTYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCTRLVKGNAMDYWGQGLTVT VSSGGSGGGSGGSSYVLTQPSSVSVAPGQTATISCGG HNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLF GGGTKLTVLHHHHHH*
02-0358-h3-Bs(서열번호 145)	CLDN18.2-CD3E BiTE	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCKSSQSLFNSGNQNRN YLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGS GTDFTLTISVQAEDVAVYYCQNVYIYPLTFGQGTKLEI KGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR

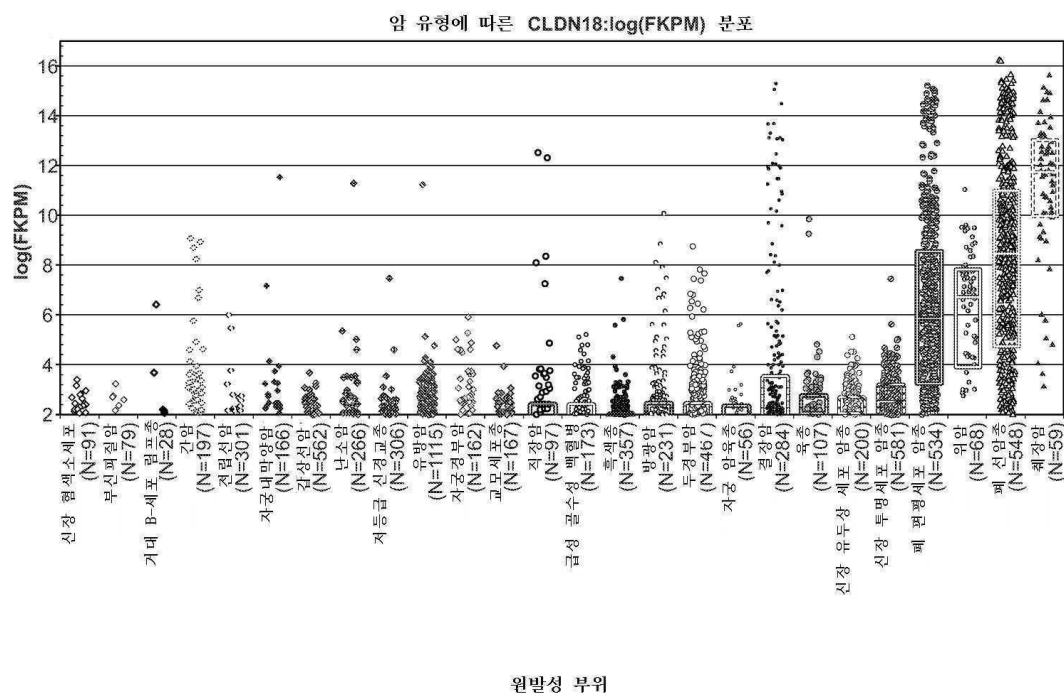
[0438]

		LSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGT TNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCVRSGYYGNSLDYWGGTLTVTVSSGGGGSDIKL QQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQR PGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSS TAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGT TLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSPAIMSA SPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYD TSKVASGVPIYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYY CQQWSSNPLTFGAGTKLELKHHHHHH*
02-0358-h3- CD16A-His (서열번호 146)	CLDN18.2- CD16A TandAb	QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTR DTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCARGSAYYYDFADY WGQGTTLTVTVSSGGSGGSGGSDIVMTQSPDSLAVSLG ERVTMNCSSQSLFNSGNQRNYLTWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVPRDFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVA VYYCQNVYIYPLTFGQGTKLEIKGGSGGSGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNAKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRSGYYGNSLDYWGGTLV TVSSGGSGGSGGSSYVLTQPSSSVAPGQTATISCGG HNIGSKNVHWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERF SGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSVLF GGGTKLTVLHHHHHHH*

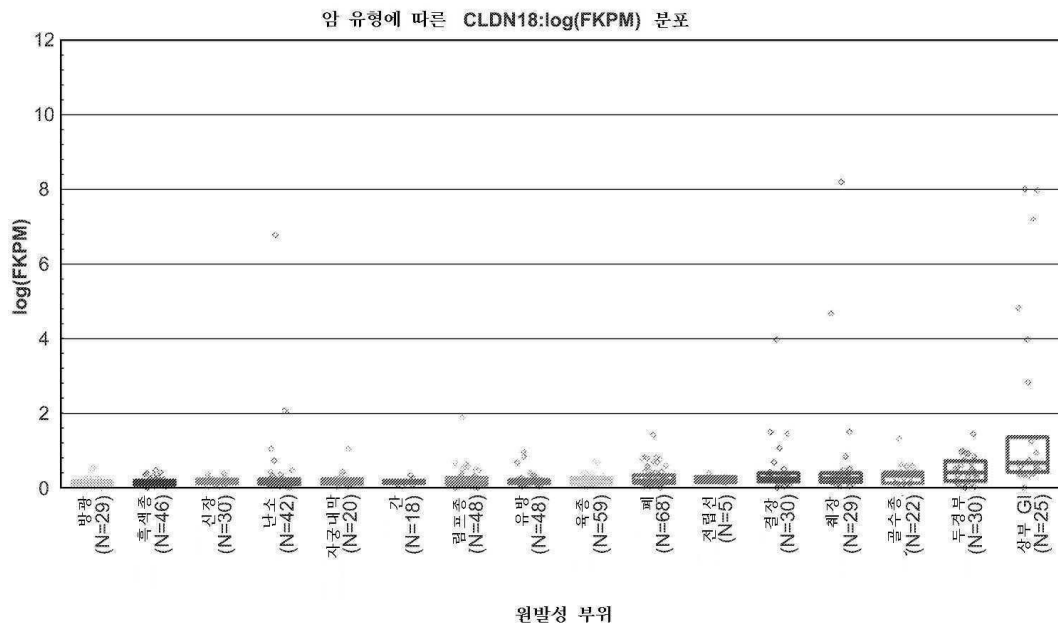
[0439]

도면

도면1



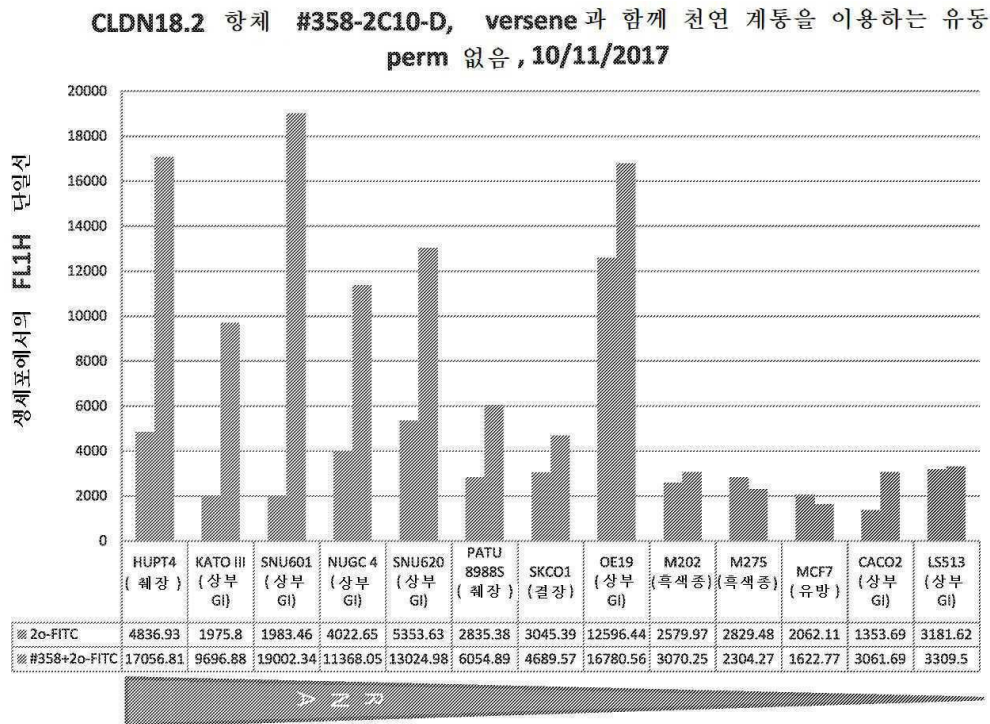
도면2



도면3

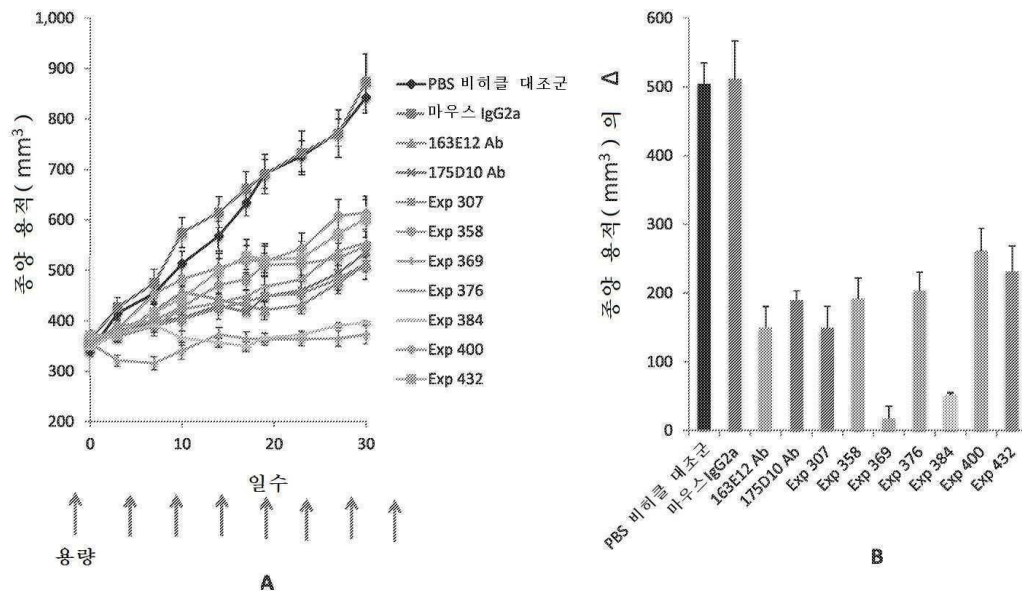
세 포 주 ID	세 포 주 명칭	TOR 부류	CLDN18.2	CLDN18.1
PN022	HUPT4	췌장	285.62	2.14
UG002	KATO III	상부 GI	246.53	0
UG023	SNU601	상부 GI	245.64	3.12
UG009	NUGC 4	상부 GI	144.16	0
UG026	SNU620	상부 GI	27.06	0
PN024	PATU 8988S	췌장	24.32	0
CL015	SKCO1	결장	14.48	0
UG027	SNU520	상부 GI	13.16	1.21
OV020	OV-90	난소	6.93	99.53
UG003	OE19	상부 GI	6.02	0
OV032	PEO14	난소	3.18	0
PN023	DAN G	췌장	1.82	0
CL002	LOVO	결장	1.8	0
CL029	SW1116	결장	1.73	0
HN015	UMSCC-19	두경부	1.68	0
LG013	H810	폐	1.67	0
UG006	IM95	상부 GI	1.54	0
MM019	MOLP-2	골수종	1.48	0
UG008	OE33	상부 GI	1.36	0
CL016	LS513	결장	1.09	0

도면4



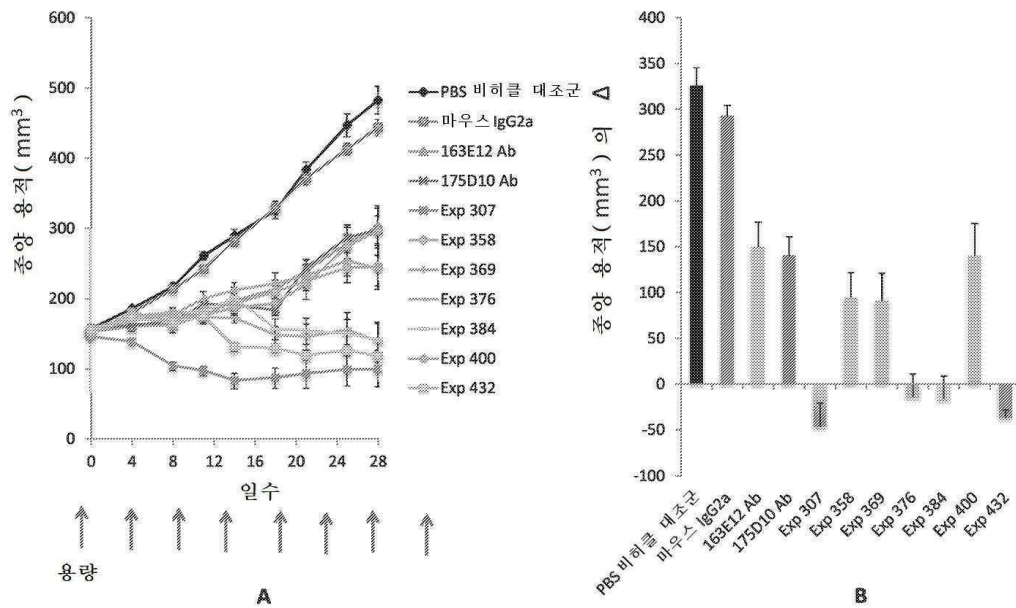
도면5

생체내 키메라 항체 선별; SNU601 (UGI) 제30일

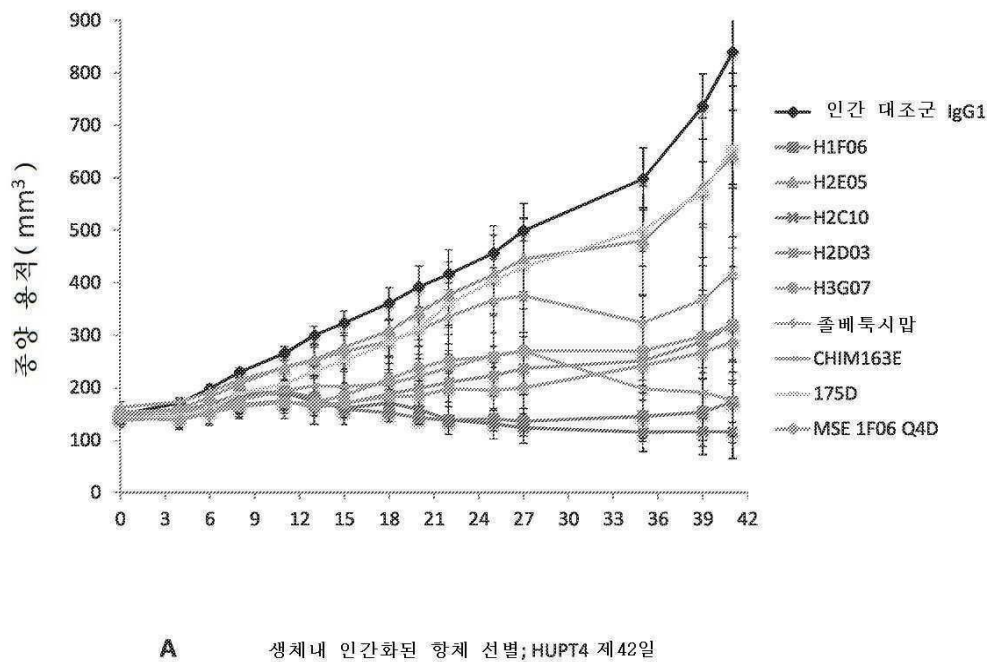


도면6

생체내 키메라 항체 선별; HUPT4 (채장) 제28일

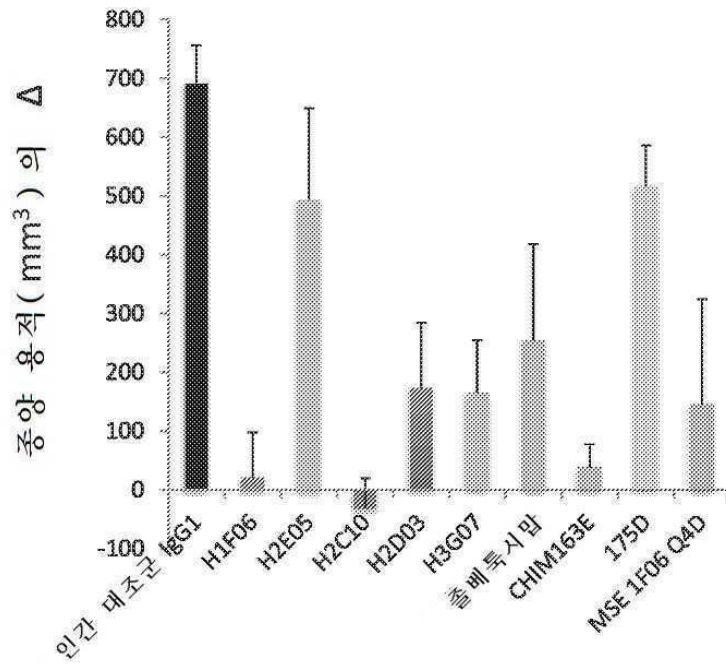


도면7a



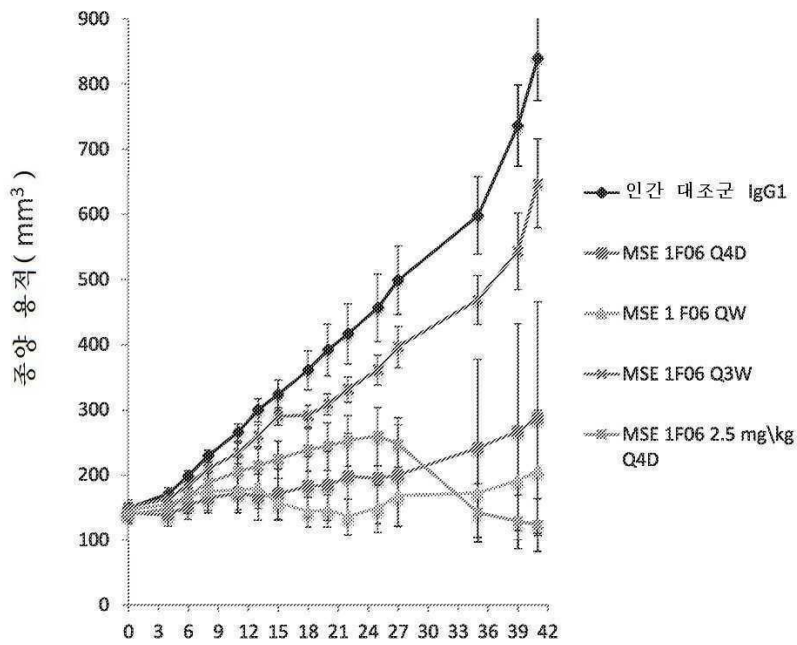
생체내 인간화된 항체 선별; HUPT4 제42일

도면7b



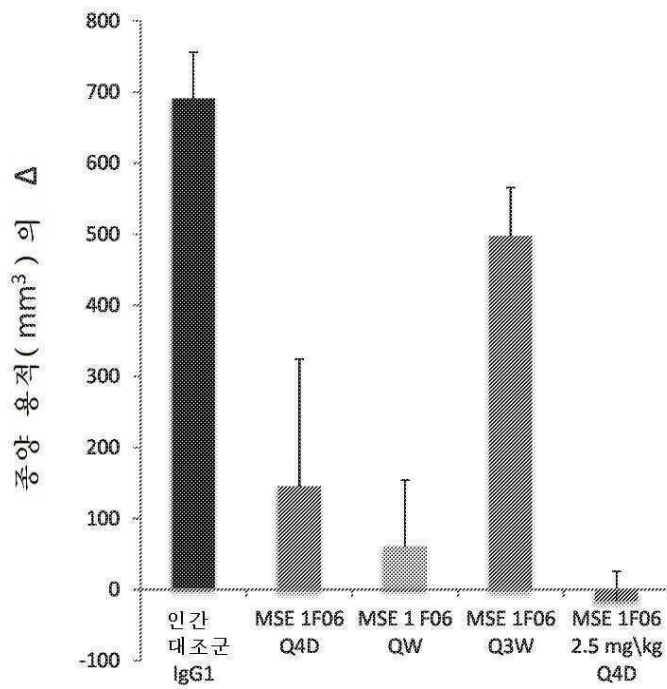
B 생체내 인간화된 항체 선별; HUPT4 제42일

도면8a



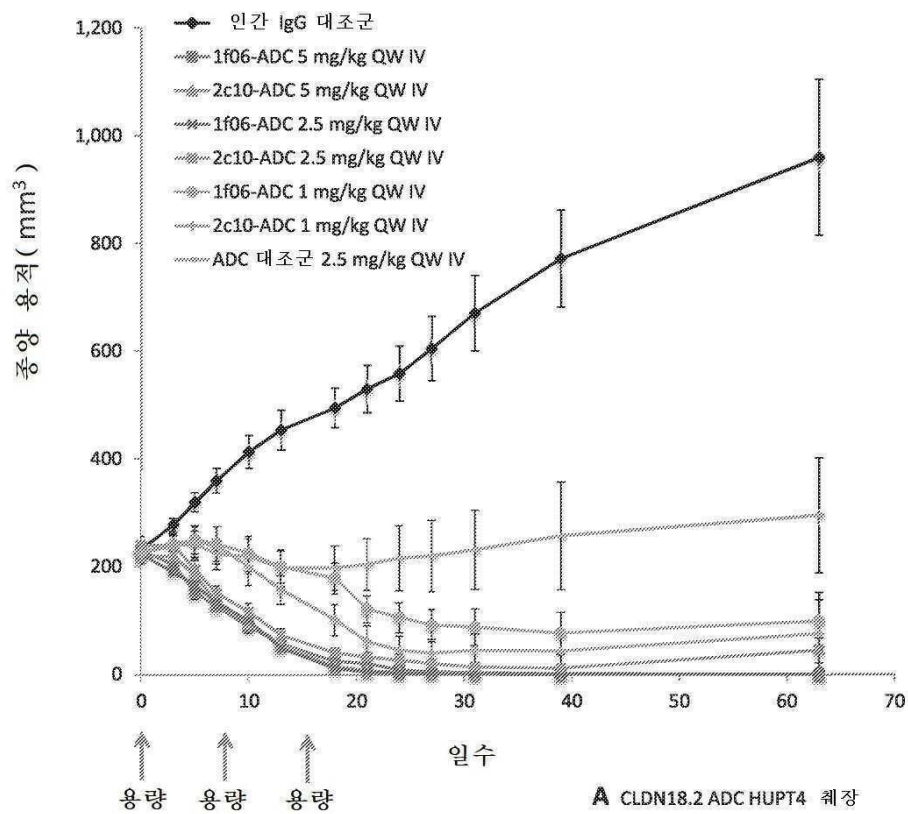
A 용량 스케줄링; HUPT4 제42일

도면8b



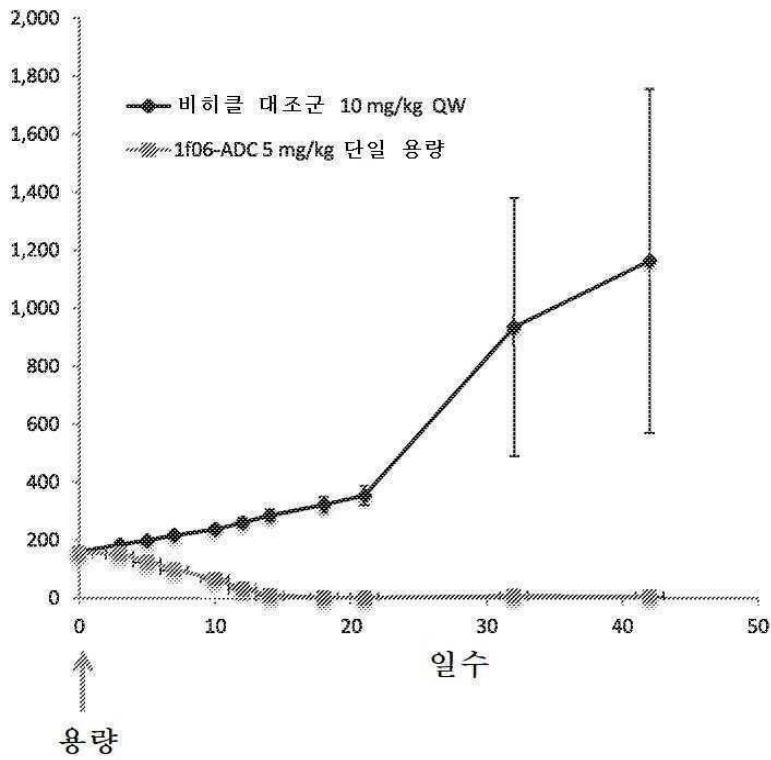
B 용량 스케줄링; HUPT4 제 42일

도면9a



A CLDN18.2 ADC HUPT4 제 42일

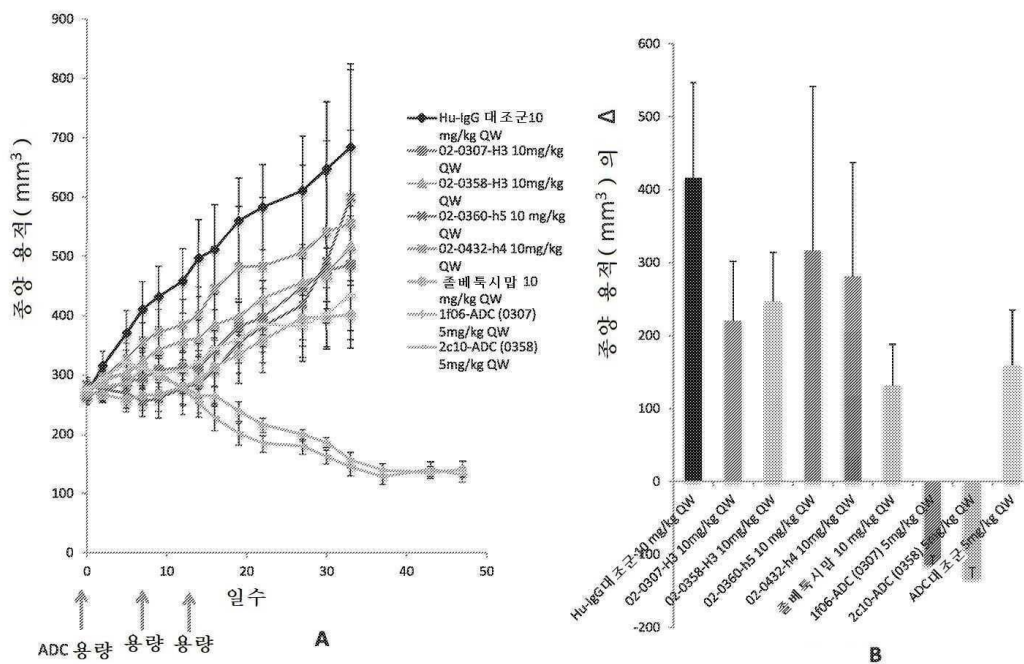
도면9b



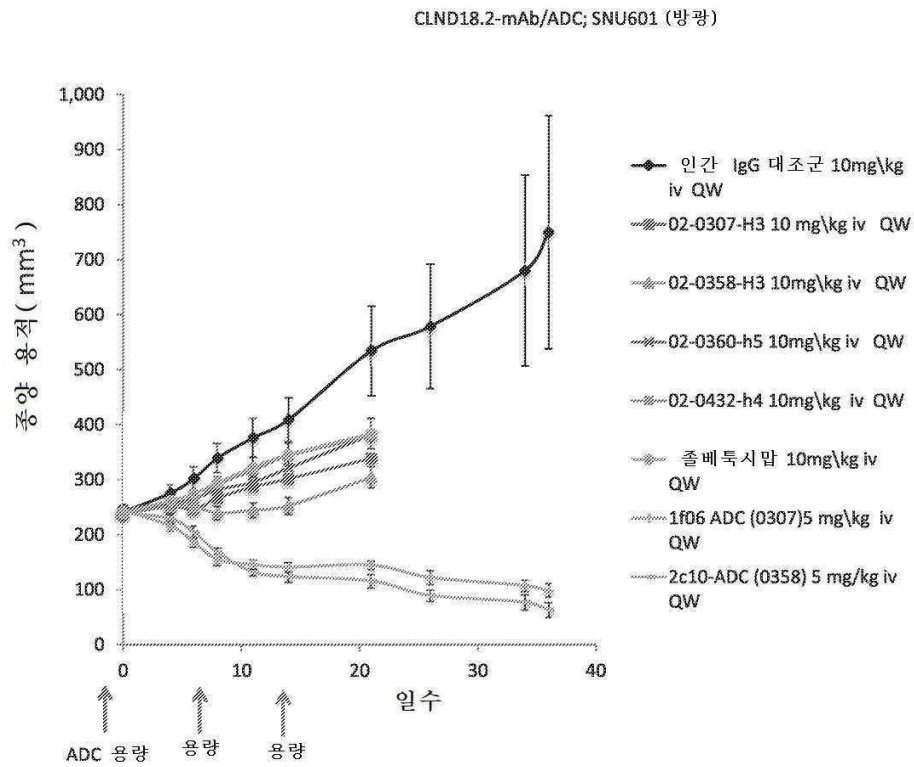
B CLDN18.2 ADC HUPT4 췌장

도면10

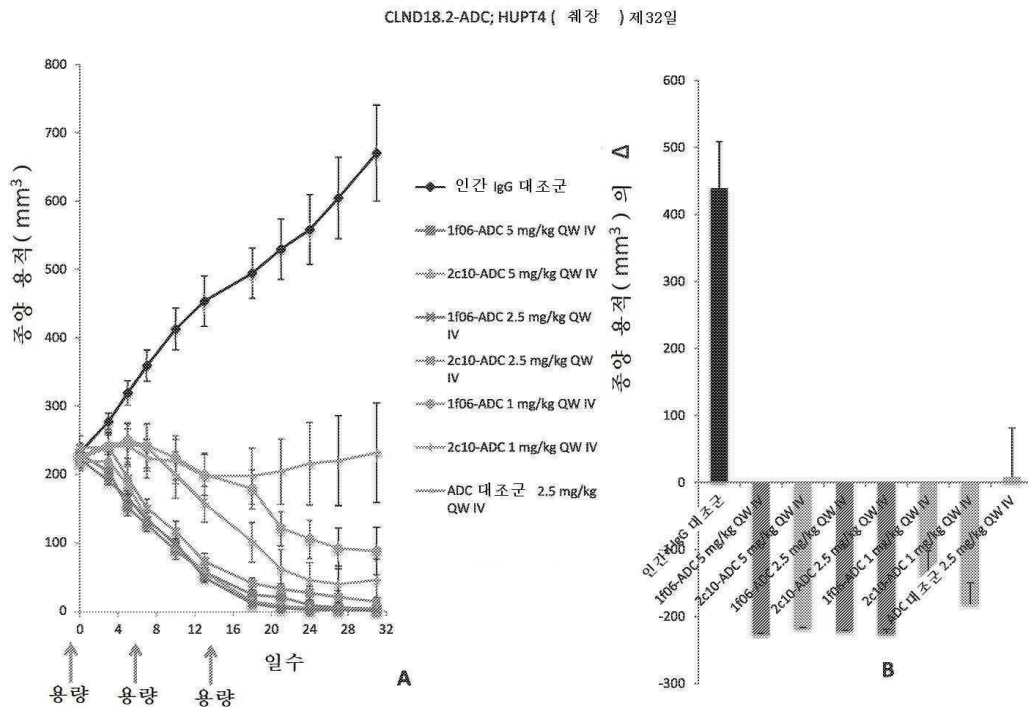
CLND18.2-mAb/ADC; PATU8988S (췌장) 제33일



도면11



도면12



도면13a

서열번호	Ab 클론	아미노산 서열
경채 가변 영역		
11	307	DIVMTQSPSSSLTVTTEGKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLSWYQQIPGQPPKLLFYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQNDYSYPFTFGAGTKLELR
13	369	DILMTQSPSSSLTVTAGEKVTMTCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASSRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQNDYSYPFTFGAGTKLELR
15	376	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTGFTLTISNVQAEDLAVYYCQNDYSYPFTFGAGTKLELR
17	358	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTGFTLTISNVQAEDLAFYYCQNVYIYPLTFGLGKLELR
19	384	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQNNYYYFTFGGKLELR
21	360	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLNDYGFPLTFGAGTKLELR
23	432	DIVMTQSPSSSLTVTAREKVTMNCKSTQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQNNYYYFTFGGKLELR
25	400	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMNCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGAPDRFTGSGS GADFTLTISNVQAEDLAIYYCQNNYNYFTFGSGTKLELR
27	331	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLFYWASTKSGVDPDRFTGSGS RTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLNDYSFPLTFGAGTKLELR
29	347	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRQSGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLTVYYCLNDYSFPLTFGAGTKLELR
31	339	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMTCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTGASGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLNDYSFPLTFGAGTKLELR
33	301	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMNCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRQSGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLNDYGFPLTFGAGTKLELR
35	392	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKSGQPPKLLIYWASTIRKSGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCLNDYSFPLTFGAGTKLELR
37	416	QIVLTQSPAIMSASPQKVTITCSASSTINYMHWYQQKLGSSPKLWIYDTSKLAPGVPARFSGSGSGTSYSLT ISSMEADAASYFCHQWSSYPFTFGSGTKLELR
39	409	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPGDVTKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLT TISNLEPEDIATYYCQHYSKLPFTFGSGTKLELR
41	424	DIVITQDELSPNPTSGESVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQSPQLLVYWMSTRASGVSDRFSGSGSG TDFLEISRVKAEDGVYYCQVYVYPTFGSGTKLELR
58	기준 1- 175D10	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQNDYSYPFTFGSGTKLELR

도면13b

서열번호	Ab 클론	아미노산 서열
60	기준 2- 163E12	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLELR
62	기준 3- 클레독시맙	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQAEDLAVYYCQNDYSYPFTFGSGTKLELR
중쇄 가변 영역		
10	307	DVKLVESGGGLVKGPGSLKLSCAASGFTFSSYTMSSWVRQTPPEKRLWVATIIIGGSYTYYPDSVKGRTISR NAKNTLYLQMSLSKSEDTAMYYCTRLVKGNDAMYWGQGTSAVSS
12	369	DVKLVESGGGLVKGPGSLKLSCAASGFTFSSYTMSSWVRQTPPEKRLWVATIIIGGSYTYYPDSVKGRTISR NAKNTLYLQMSLSKSEDTAMYYCTRLVKGNDAMYWGQGTSAVSS
14	376	DVKLVESGGGLVKGPGSLKLSCAASGFTFSSYTMSSWVRQTPPEKRLWVATIIIGGSYTYYPDSVKGRTISR NAKNTLYLQMSLSKSEDTAMYYCTRLVKGNDAMYWGQGTSAVSS
16	358	VVQLVESGGDFVQPGGSRKLSCAVSGFTFSSYTMSSWVRQTPPEKRLWVATIIIGGSYTYYPDSVKGRTISR NPKNSLPLHMTSLRSEDAMYYCVRSGYGNLDYWGQGTPLTVSS
18	384	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
20	360	VVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
22	432	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
24	400	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLNSYGVSWVRQPPGKGLWLGVIWGDGNTYNSALKSRNLNINKDK SKSQVFLKLNLSQTDATYYCARPTRGNAMDYWGQGTSAVSS
26	331	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
28	347	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
30	339	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
32	301	VVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
34	392	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD RSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
36	416	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD QSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARSYYGNSFAYWGQGLTVTSA
38	409	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFSSYIMHWVKQRTGQGLEWIGEIYPRNGNTYNEKFKGKATLTAD KSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCATGVITTVIPDWFYDVGWGTGTTVTSS

도면13c

서열번호	Ab 클론	아미노산 서열
40	424	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTVYMNWVKQSPEKSLIEWIGINPSTGGTTYNPKFKAKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAIYFCVRWADYWGQGTTLTVSS
59	기준 1	QVQLQQPGAEVLVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDSYTNYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCTRSWRGNSFDYWGQGTTLTVSS
61	기준 2	QVQLQQSGAEVLARPGASVKLSCKASGYTFTDYINWVKQRTQGQGLEWIGIYIPSGSGNTYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARSYGAFDYWGQGTTLTVSS
148	기준 2-1	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWKQAPGKGLKWMGWINTNTGEPTYAEFKGRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYFCARLGFGNAMDYWGQGTSTVTVSS
63	기준 3- 클레독시랍	QVQLQQPGAEVLVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDSYTNYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCTRSWRGNSFDYWGQGTTLTVSS
인간화된 경쇄 가변 영역		
43	HuAb307-1 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLSWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYSYPTFTFGQGTKEIK
44	HuAb307-2 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLSWYQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYSYPTFTFGQGTKEIK
45	HuAb307-3 (L3)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGNQKNYLSWYQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQNDYSYPTFTFGQGTKEIK
47	HuAb376-1 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYSYPTFTFGQGTKEIK
48	HuAb376-2 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQNDYSYPTFTFGQGTKEIK
149	HuAb358-1 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVIIYPLTFGQGTKEIK
150	HuAb358-2 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQNVIIYPLTFGQGTKEIK
53	HuAb360-1 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLNDYGFPLTFGQGTKEIK
54	HuAb360-2 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCLNDYGFPLTFGQGTKEIK
53	HuAb360-3 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLNDYGFPLTFGQGTKEIK
54	HuAb360-4 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCLNDYGFPLTFGQGTKEIK
53	HuAb360-5 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLNDYGFPLTFGQGTKEIK

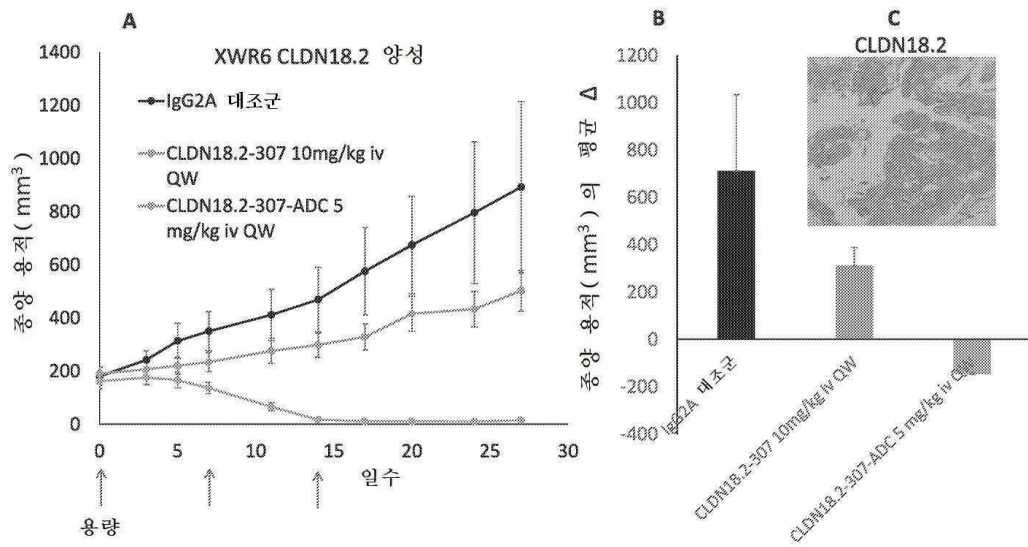
도면13d

서열번호	Ab 클론	아미노산 서열
54	HuAb360-6 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASIRQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCLNDYGFPLTFGQGTKEIK
50	HuAb432-1 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSTQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNAVYYPTFTFGQGTKEIK
51	HuAb432-2 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSTQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQNAVYYPTFTFGQGTKEIK
50	HuAb432-3 (L1)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSTQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNAVYYPTFTFGQGTKEIK
51	HuAb432-4 (L2)	DIVMTQSPDLSLAVSLGERVTMCKSTQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQNAVYYPTFTFGQGTKEIK
인간화된 중쇄 가변 영역		
42	HuAb307-1 (H2)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAPGKLEWVATIIIGGSYTYIADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRLVKGNAMDYWGQGTTLTVSS
42	HuAb307-2 (H2)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAPGKLEWVATIIIGGSYTYIADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRLVKGNAMDYWGQGTTLTVSS
42	HuAb307-3 (H2)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAPGKLEWVATIIIGGSYTYIADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRLVKGNAMDYWGQGTTLTVSS
46	HuAb376-1 (H2)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAPGKLEWVATISSGVSYTYIADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRLTKGNAMDYWGQGTTLTVSS
46	HuAb376-2 (H2)	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMWVRQAPGKLEWVATISSGVSYTYIADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRLTKGNAMDYWGQGTTLTVSS
131	HuAb358-1 (H2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHVVRQAPGKLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRSGYGNLDYWGQGTTLTVSS
131	HuAb358-2 (H2)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHVVRQAPGKLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRSGYGNLDYWGQGTTLTVSS
52	HuAb360-1 (H2)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYLMHWVRQAPGQGLEWIGYINPYNDGTNYAQKFQGRVTMTSDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCTRGDYWGQGTTLTVSS
52	HuAb360-2 (H2)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYLMHWVRQAPGQGLEWIGYINPYNDGTNYAQKFQGRVTMTSDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCTRGDYWGQGTTLTVSS
55	HuAb360-3 (H3)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYLMHWVRQAPGQGLEWIGYINPYNDGTNYAQKFQGRATLTSDTSTSTAYMESSLRSEDVAVYYCTRGDYWGQGTTLTVSS
55	HuAb360-4 (H3)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYLMHWVRQAPGQGLEWIGYINPYNDGTNYAQKFQGRATLTSDTSTSTAYMESSLRSEDVAVYYCTRGDYWGQGTTLTVSS
56	HuAb360-5 (H4)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYLMHWVRQAPGQGLEWIGYINPYNDGTNYAQKFQGRATLTSDKSTSTAYMESSLRSEDVAVYYCTRGDYWGQGTTLTVSS

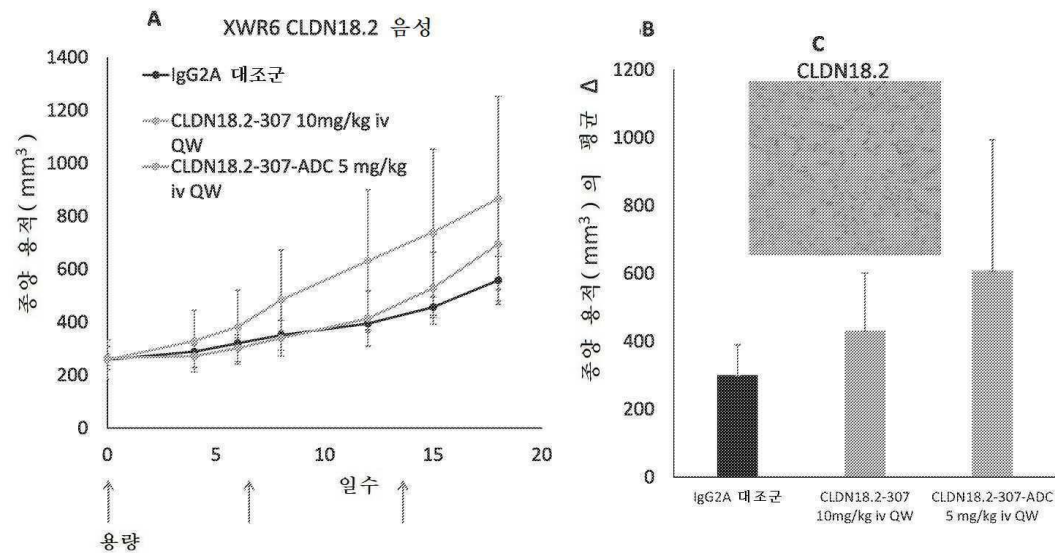
도면13e

서열번호	Ab 클론	아미노산 서열
56	HuAb360-6 (H4)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYLMHWVRQAPGQGLEWIGYINPYNDGTNYAQKFQGRATITSD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGDYWGQGLTVTVSS
57	HuAb432-1 (H1)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSDVISWVRQAPGQGLEWMGESYLRNGNTYYAQKFQGRVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYGNSFAYWGQGLTVTVSS
57	HuAb432-2 (H1)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSDVISWVRQAPGQGLEWMGESYLRNGNTYYAQKFQGRVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYGNSFAYWGQGLTVTVSS
49	HuAb432-3 (H2)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKLSCKASGYTFTSDVISWVRQAPGQGLEWIGESYLRNGNTYYAQKFQGRATLTAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYGNSFAYWGQGLTVTVSS
49	HuAb432-4 (H2)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKLSCKASGYTFTSDVISWVRQAPGQGLEWIGESYLRNGNTYYAQKFQGRATLTAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYGNSFAYWGQGLTVTVSS

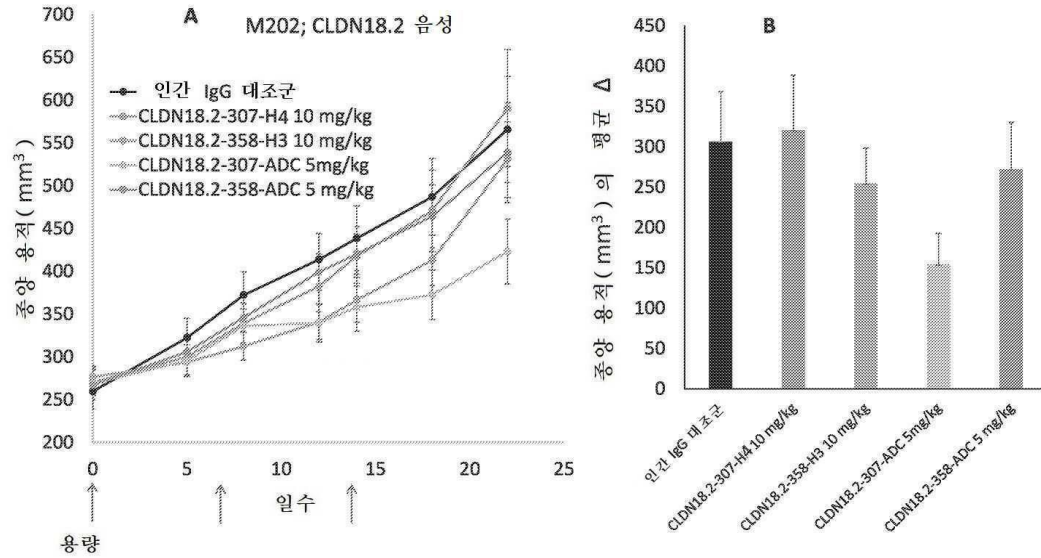
도면14



도면15



도면16



도면17

시료번호	명칭	설명	시열
131	02-0358-4h VH	02-0358-4h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
136	02-0358-4h VL	02-0358-4h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
131	02-0358-5h VH	02-0358-5h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
136	02-0358-5h VL	02-0358-5h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
133	02-0358-6h VH	02-0358-6h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
137	02-0358-6h VL	02-0358-6h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
134	02-0358-7h VH	02-0358-7h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
137	02-0358-7h VL	02-0358-7h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
133	02-0358-8h VH	02-0358-8h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
136	02-0358-8h VL	02-0358-8h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
133	02-0358-8h VH	02-0358-8h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
136	02-0358-8h VL	02-0358-8h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
134	02-0358-10h VH	02-0358-10h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
136	02-0358-10h VL	02-0358-10h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
134	02-0358-11h VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSFGMHWRQAPGKLEWYAYISGTTNRYADSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNSLRADTAIVYCVRSYYGSSLDYWGQGTLVTVSS
136	02-0358-11h VL	02-0358-11h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFQSGNQNRNYLTWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONVYPLTFGGGTLKLEIK
42	02-0358-11h VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
140	02-0358-11h VL	02-0358-11h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK
42	02-0358-11h VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
141	02-0358-11h VL	02-0358-11h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK
138	02-0358-11h VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
142	02-0358-11h VL	02-0358-11h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK
138	02-0358-11h VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
140	02-0358-11h VL	02-0358-11h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK
138	02-0358-11h VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
141	02-0358-11h VL	02-0358-11h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK
139	02-0358-10h VH	02-0358-10h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
142	02-0358-10h VL	02-0358-10h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK
139	02-0358-11h VH	02-0358-11h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
140	02-0358-11h VL	02-0358-11h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK
139	02-0358-12h VH	02-0358-12h 항체	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYMSWRQAPGKLEWATIGGSSYYTADSVKGRFTSRDINSKNTLYLQMNSLRADTAIVYCVRLVKGAMDYWGQGLTVTVSS
141	02-0358-12h VL	02-0358-12h 항체	DMVTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLQSGNQKNTLSYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSVQAEADVAVYYCONDYSPYTFGGGTLKLEIK

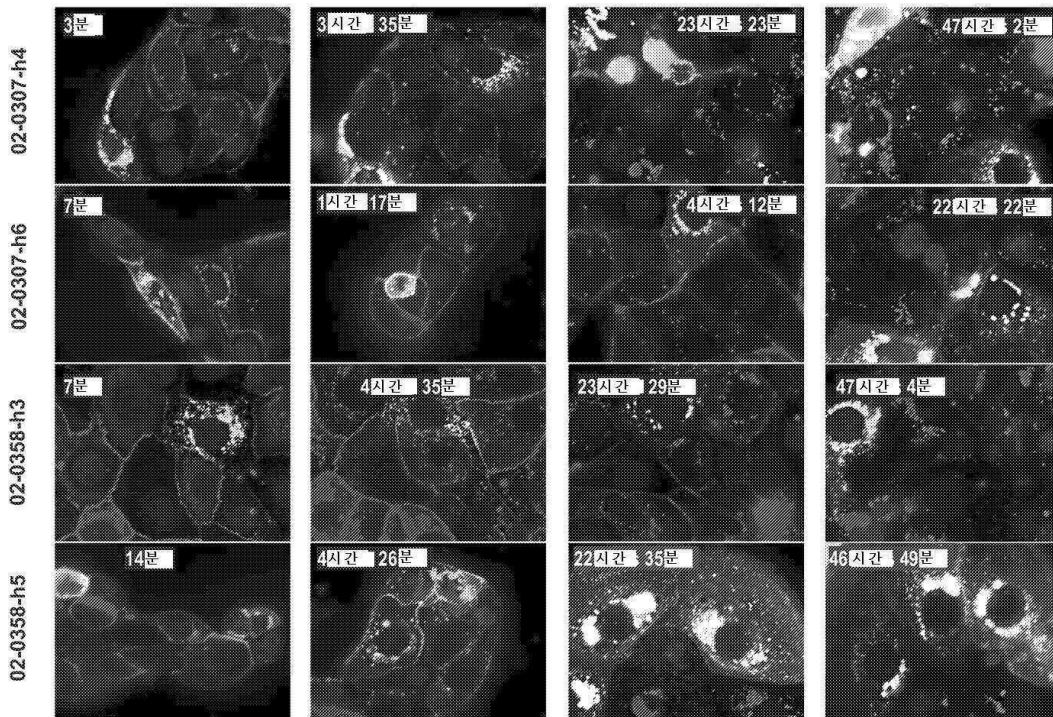
도면18

주분 ID	명칭	HEK293T	HEK293T	HEK293T	HEK293T	HEK293T	HEK293T	HEK293T	M202, 1ug	M202,	M202,	HUP14, 1ug	HUP14, 0.2ug	HUP14,	OE 비	전연비
		모제	모제	모제	CLDN18.2,	CLDN18.2,	CLDN18.2,	CLDN18.2,	0.2ug	0.2ug	0.04ug		0.04ug			
	358 Jun 10 16 2018	8,323.00	8,164.00	9,679.00	7,207,652.0	7,445,933.0	3,663,369.0	8,851.0	9,954.5	8,714.0	1,538,407.0	1,483,036.0	655,824.5	700.03	133.62	
U2761EH060-1	02-0358-4h	9,743.00	9,875.00	9,163.00	7,989,737.0	6,273,300.5	2,280,899.0	15,099.5	10,721.5	11,716.0	1,634,110.0	1,459,523.0	433,762.0	574.82	93.97	
U2761EH060-2	02-0358-5h	9,627.00	8,763.00	9,020.00	7,694,093.5	5,837,613.5	2,198,515.5	12,521.0	10,424.0	10,962.5	1,643,079.0	1,607,770.0	512,437.0	573.89	110.99	
U2761EH060-3	02-0358-6h	9,256.00	9,969.00	8,441.00	7,222,012.5	4,113,183.0	691,375.0	12,774.0	10,568.0	10,456.0	1,437,921.0	1,041,623.0	222,124.0	434.71	79.94	
U2761EH060-4	02-0358-7h	13,061.00	10,058.00	8,687.00	7,454,133.0	5,618,634.0	1,207,647.0	13,544.5	9,470.0	9,566.0	1,486,990.0	1,324,881.0	252,917.5	448.98	94.07	
U2761EH060-5	02-0358-8h	11,052.00	11,712.50	8,051.50	3,924,428.0	2,659,513.0	463,876.0	12,614.0	8,445.0	8,869.0	888,216.0	649,161.0	193,841.0	228.71	57.85	
U2761EH060-6	02-0358-9h	8,931.00	8,258.00	8,188.00	6,033,871.0	4,696,716.0	755,247.5	9,069.0	7,454.5	9,414.5	1,464,129.0	924,009.5	33,989.0	452.61	93.38	
U340LEH060-1	02-0358-10h	9,988.50	9,849.50	7,017.00	4,372,013.0	2,545,571.5	447,864.0	8,366.0	8,391.0	8,197.5	782,883.0	539,386.0	27,118.0	274.27	54.07	
U340LEH060-2	02-0358-11h	9,066.50	9,481.50	8,169.00	6,120,827.0	5,617,706.0	448,173.0	10,883.5	8,545.0	8,995.0	1,355,931.5	1,077,192.5	90,925.0	456.24	88.80	
	307 Jun 07 02 2018	10,207.00	7,785.00	10,070.00	6,442,784.5	6,151,103.0	882,289.0	10,194.5	10,266.0	9,137.0	1,668,181.0	1,518,551.0	357,802.0	480.23	119.76	
U505BEH130-2	02-0358-5h	7,865.00	10,928.00	9,805.00	5,481,294.0	5,720,888.0	469,344.0	10,221.5	8,942.5	11,408.0	1,665,867.0	1,606,587.0	437,194.5	408.12	121.34	
U505BEH130-3	02-0358-6h	8,109.00	10,555.00	8,628.00	3,506,377.0	6,545,772.0	1,101,019.5	8,874.0	8,055.0	10,555.0	1,645,893.5	1,693,376.5	412,621.0	481.94	136.51	
U505BEH130-4	02-0358-7h	8,392.00	11,628.00	7,914.00	4,703,051.0	3,286,723.0	1,106,724.0	8,991.0	8,895.0	10,695.0	373,477.5	213,932.0	55,716.0	325.64	22.50	
U505BEH130-5	02-0358-8h	11,460.50	10,362.00	8,408.00	2,741,802.0	1,690,797.5	574,195.5	10,637.5	7,571.0	9,893.0	217,507.0	91,583.0	33,043.0	165.62	12.17	
U519NEH130-1	02-0358-9h	8,538.50	10,288.00	8,196.50	3,845,698.0	2,446,037.0	1,088,188.0	7,685.0	7,225.5	10,005.0	576,193.0	359,285.0	188,556.5	273.10	45.11	
U519NEH130-2	02-0358-10h	13,151.50	9,047.50	7,776.50	2,973,269.5	2,509,094.0	566,415.0	10,404.5	7,012.0	8,390.0	101,787.0	42,834.5	20,990.0	201.79	6.42	
U519NEH130-3	02-0358-11h	8,251.00	9,627.00	7,177.00	658,134.5	295,746.5	48,044.0	7,569.5	7,203.5	8,228.0	16,637.0	11,082.0	7,142.5	39.99	1.52	
U519NEH130-4	02-0358-12h	8,384.00	9,948.50	8,416.00	2,442,569.5	2,024,693.0	437,912.0	7,197.0	7,266.0	9,325.0	154,905.0	63,210.5	17,154.5	183.38	9.89	

도면19

세포주	02-0307-h4-AF647 10ug	02-0307-h4-AF647 1ug	02-0307-h4-AF647 0.1ug	02-0358-h3-AF647 10ug	02-0358-h3-AF647 1ug	02-0358-h3-AF647 0.1ug	02-0307-h6-AF647 10ug	02-0307-h6-AF647 1ug	02-0307-h6-AF647 0.1ug	02-0358-h5-AF647 10ug	02-0358-h5-AF647 1ug	02-0358-h5-AF647 0.1ug
HEK293T 모체	12,759.00	5,328.00	3,276.00	16,812.50	4,198.00	3,268.00	22,390.50	9,051.00	2,726.00	29,683.50	8,287.00	3,589.50
HEK293T 인간 CLDN18.2 mGFP 클론 C12	5,670,306.00	4,311,651.00	578,978.00	3,920,860.00	2,704,978.00	542,378.00	7,156,050.50	7,325,915.00	4,029,889.00	7,049,930.50	6,956,214.00	3,801,790.00
HEK293T 인간 CLDN18.1 mGFP 2814	76,882.00	54,053.50	52,064.00	99,053.00	55,250.00	50,394.00	155,836.00	68,751.00	53,053.50	140,467.00	64,830.00	52,692.00
HEK293T 마우스 CLDN18.2 mGFP mass pop	6,924,857.00	4,027,795.50	472,034.50	5,528,398.00	2,287,345.50	285,031.00	9,668,013.00	9,429,164.00	2,845,982.00	9,496,337.00	8,763,303.00	2,517,805.00
HEK293T 개 CLDN18 mGFP mass pop	10,150.00	6,025.50	3,862.00	11,728.50	4,232.00	3,705.00	21,807.00	9,480.00	3,691.00	20,562.00	8,759.00	4,696.00
HEK293T 랫트 CLDN18 mGFP 클론 5	13,790.00	7,323.00	3,807.50	16,723.50	5,067.00	3,715.50	30,657.50	10,860.00	3,601.00	31,180.00	12,384.00	4,580.00

도면20



도면21

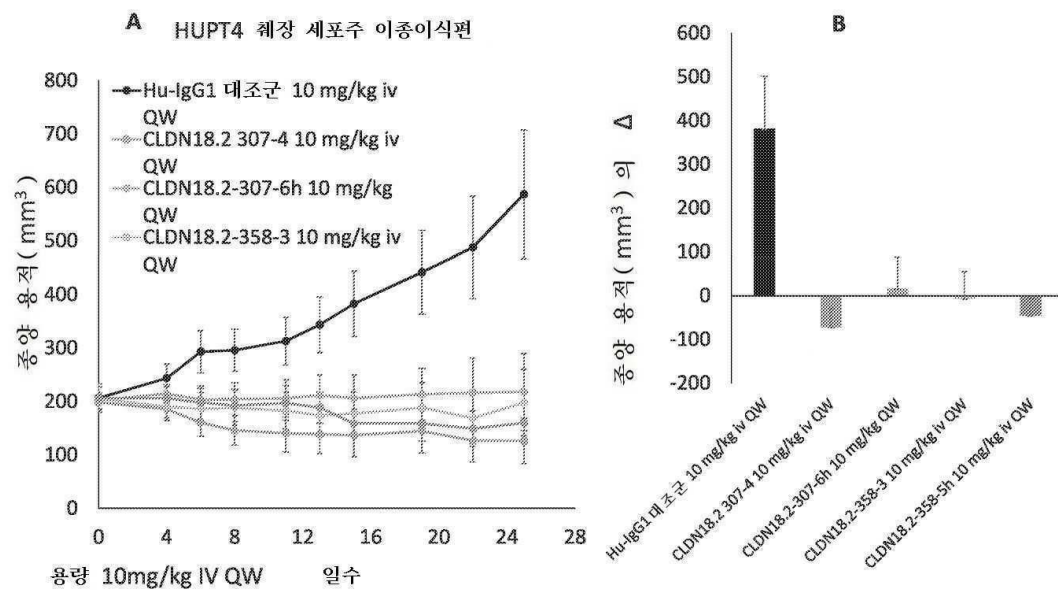
A

CLDN18.2 hAb	KD			발현 수준		평형곡선	세 포 모 델	하기에 의해 분리됨
	KD	오 차%	95% 신뢰 구간 (CI)	발현 수준	95% 신뢰 구간 (CI)			
pNK-307-h1F06-4	3.65nM	2.35	2.12nM - 6.47nM	2.085E+05	1.498E+06 - 3.195E+06	500pM, 2nM, 10nM	HEK293T-CLDN18.2-mGFP C12	Versene
pNK-358-h2C10-3	3.00nM	1.84	2.03nM - 4.44nM	4.983E+06	3.869E+06 - 6.623E+06	500pM, 2nM, 10nM	HEK293T-CLDN18.2-mGFP C12	Versene
#307-6h	1.42nM	7.72	0.18nM - 11.91nM	3.024E+06	1.642E+06 - 1.474E+07	500pM and 10nM	HEK293T-CLDN18.2-mGFP C12	Versene
#358-5h	1.81nM	7.19	0.43nM - 6.90nM	2.922E+06	1.561E+06 - 7.021E+06	500pM and 10nM	HEK293T-CLDN18.2-mGFP C12	Versene
pNK-307-h1F06-4	0.69nM	3.57	0.31nM - 1.34nM	3.313E+05	2.558E+05 - 4.458E+05	1nM, 20nM	HUPT4	Versene
pNK-358-h2C10-3	1.70nM	3.73	0.87nM - 3.23nM	4.085E+05	2.934E+05 - 6.197E+05	1nM, 20nM	HUPT4	Versene
#307-6h	0.93nM	2.72	0.58nM - 1.43nM	3.454E+05	2.760E+05 - 4.410E+05	1nM, 20nM	HUPT4	Versene
#358-5h	0.67nM	3.90	0.28nM - 1.32nM	3.059E+05	2.212E+05 - 4.487E+05	1nM, 20nM	HUPT4	Versene

B

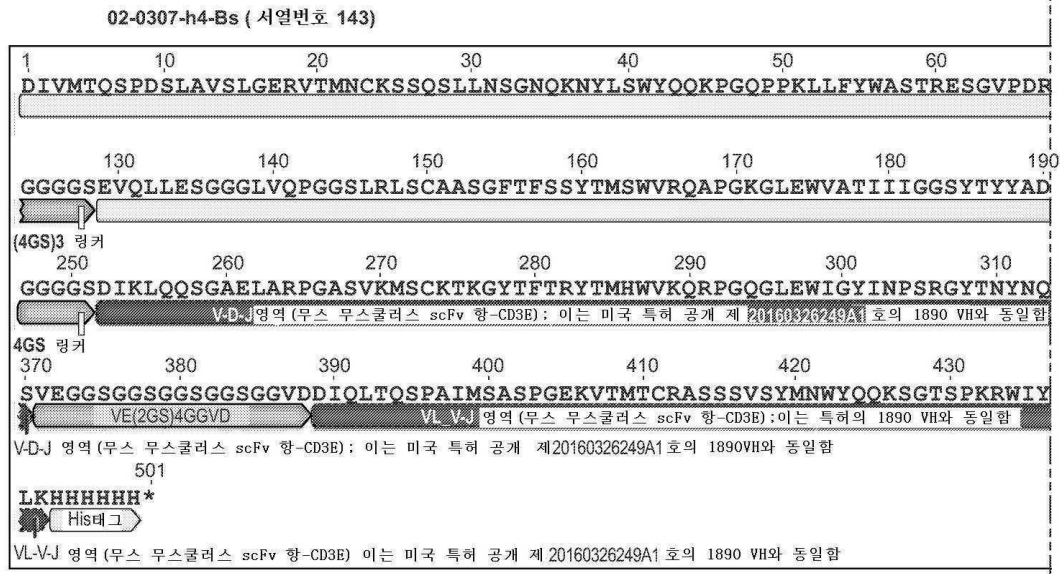
세 포 주 명 칭			병 력	KinExA 4000			양 자 유 동
				평 균 발 현 수 준 (EL)	95% 신 뢰 구 간 (CI)		
					EL 낮 음	EL 높 음	
인 공 과 발 현 계 통	293T-CLDN18.2-mGFP C12	인 공	1,534,000	2,683,500	4,909,000	1,564,395	
CLDN18.2 양 성 천 연 세 포 주	HUPT4	췌 장	460,700	361,850	599,200	188,201	
	NUGC4	상 부 GI	452,950	288,550	823,350	212,069	
	KATOIII	상 부 GI	514,350	293,450	845,400	161,738	
	PATU8988S	췌 장	394,800	216,650	606,250	102,503	

도면22



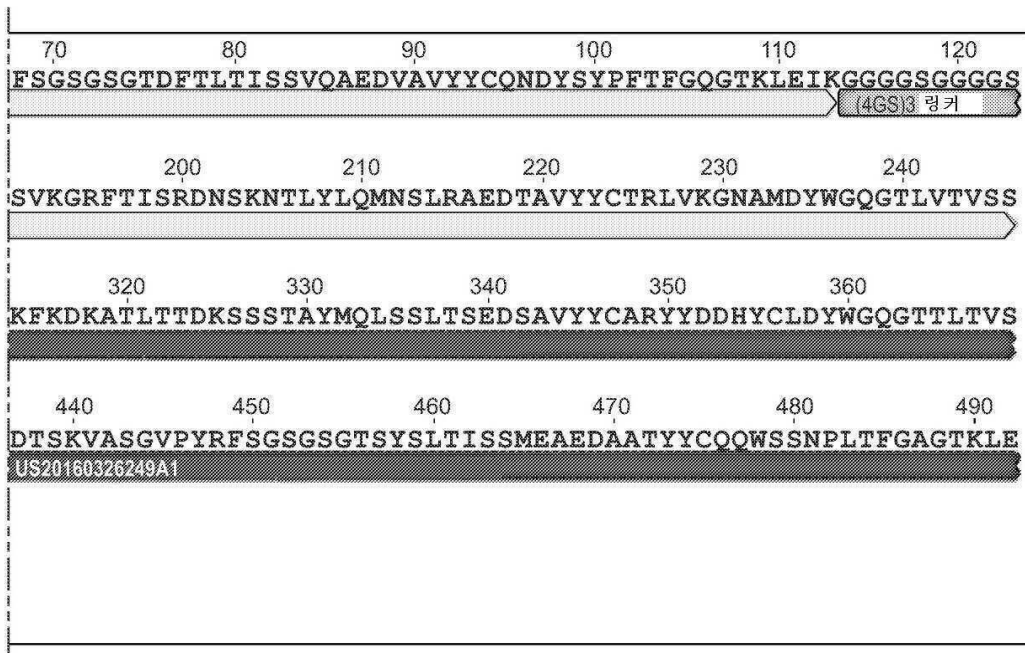
도면23aa

A



도면23ab

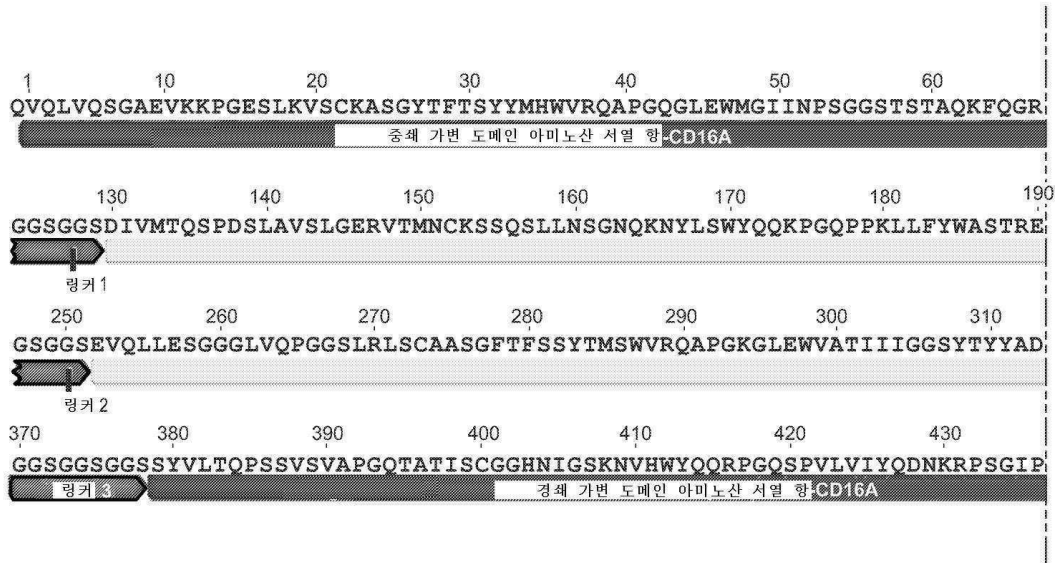
A



도면23ba

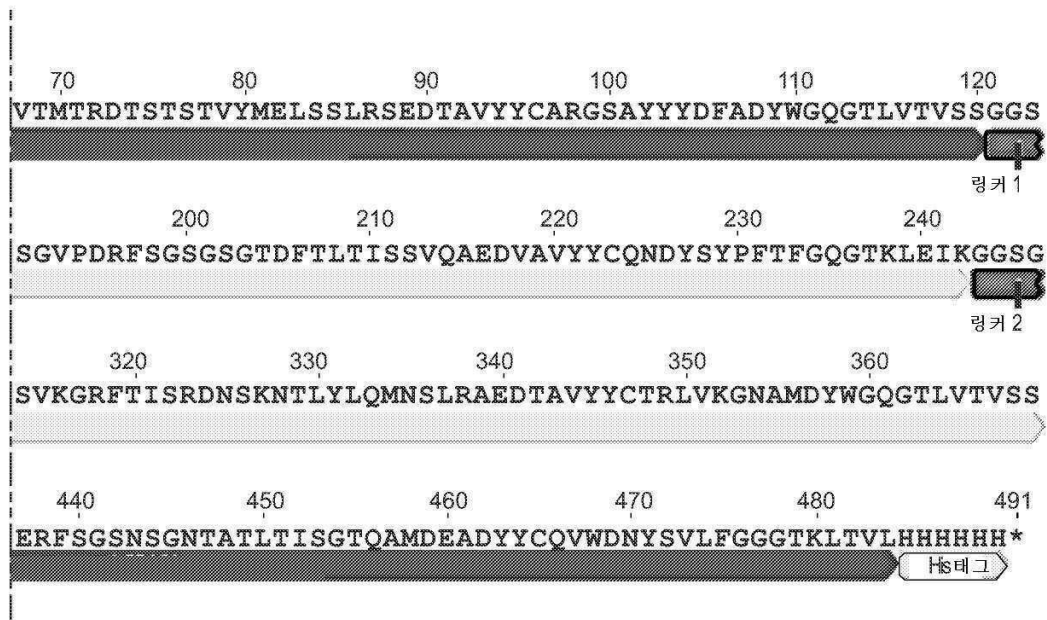
B

02-0307-h4-CD16A_His (서열번호 144)



도면23bb

B



도면23ca

C

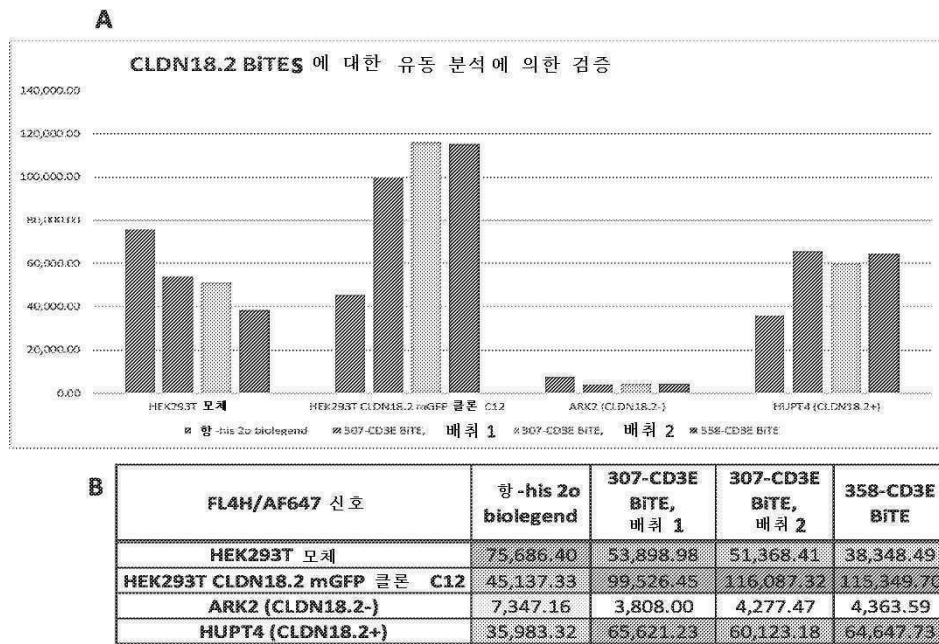
명칭	설명	서열
02-0307-h4-Bs 서열번호 143	CLDN18.2 - CD3E BiTE (이 중 특이성 T 세포 관여자)	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLNSGNQKNYLSWYQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDFR SGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGVQLLESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSSWVRQAPGKLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCTRLVKGNAMDYWGQGLTVTVSSGGGSDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTS GYTFTRYTMHWWKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSLSLTSSEDAVY YCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGSGGGSGGVDDIQLTQSPAIMASAPGEKVTMT SSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWSSNP LTFGAGTKLELKHSHHHH*
02-0307-h4-CD16A_His 서열번호 144	CLDN18.2 - CD16A TandAb	QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGSAYYDFADYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGSDIVMTQS PDSLAVSLGERVTMNCSSQSLNSGNQKNYLSWYQQKPGQPPKLLFYWASTRESGVPDFRSGSGSGT DFTLTISSVQAEDVAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIKGGSGGGSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSSYTMSSWVRQAPGKLEWVATIIIGGSYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCTRLVKGNAMDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGSYVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVH YQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSYVLFGGGTL TVLHHHHHHH*

도면23cb

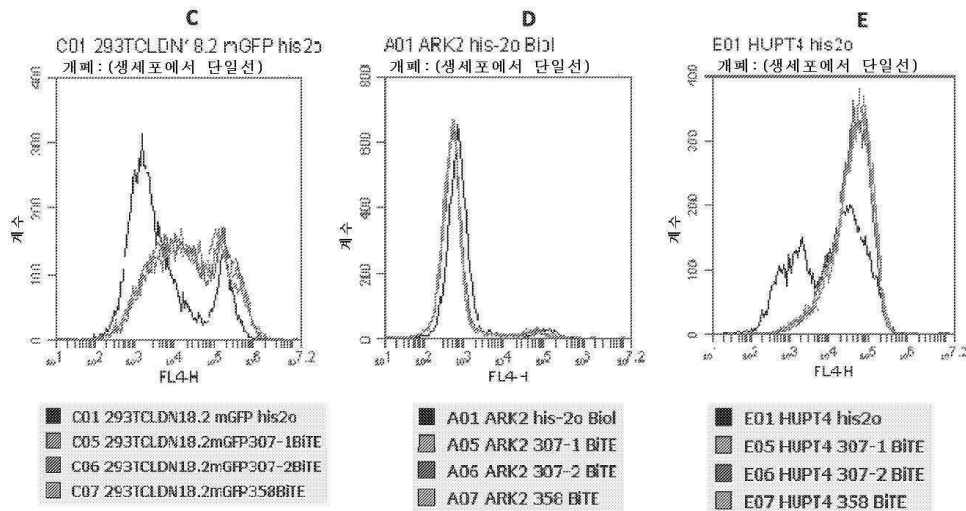
C

02-0358-h3-Bs 서열번호 145	CLDN18.2 - CD3E BiTE	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDFR SGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCQNVYIPLTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAVSGFTFSSFGMHVWRQAPGKLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRSYYGNSLDYWGQGLTVTVSSGGGSDIKLQQSGAELARPGASVKMSCK TSGYTFTRYTMHWWKQRPQGQLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSLSLTSSEDA VYYCARYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGGSGGGSGGVDDIQLTQSPAIMASAPGEKVTMT RASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWSS NPLTFGAGTKLELKHSHHHH*
02-0358-h3-CD16A_His 서열번호 146	CLDN18.2 - CD16A TandAb	QVQLVQSGAEVKKPGESLKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGSAYYDFADYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGSDIVMTQS PDSLAVSLGERVTMNCSSQSLFNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDFRSGSGSGT DFTLTISSVQAEDVAVYYCQNVYIPLTFGQGTKLEIKGGSGGGSGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAV SGFTFSSFGMHVWRQAPGKLEWVAYISSGTTNIYYADSVKGRFTVSRDNKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCVRSYYGNSLDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGSYVLTQPSVSVAPGQTATISCGGHNIGSKNVH WYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQVWDNYSYVLFGGG TLTVLHHHHHHH*

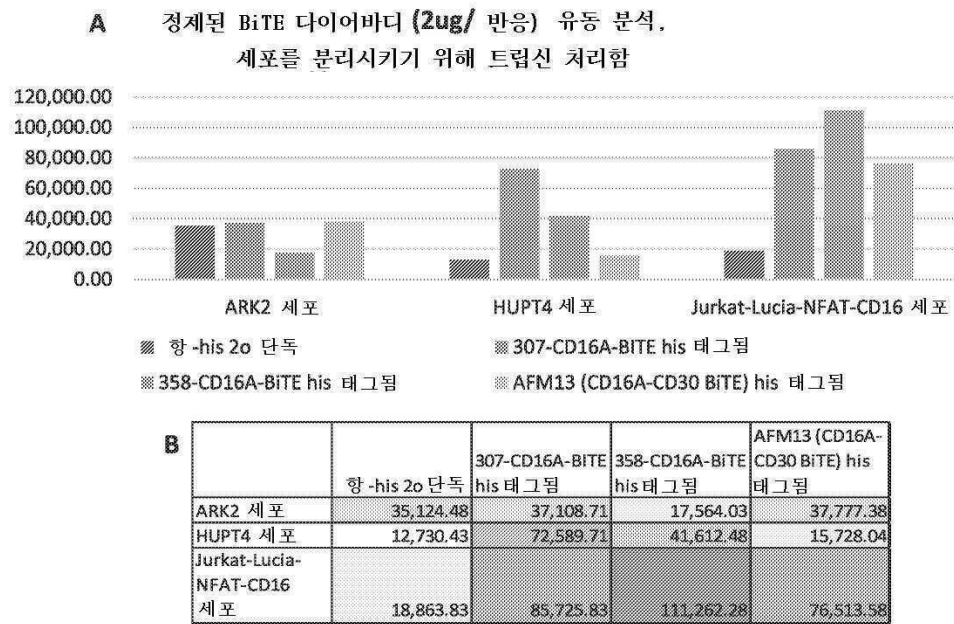
도면24ab



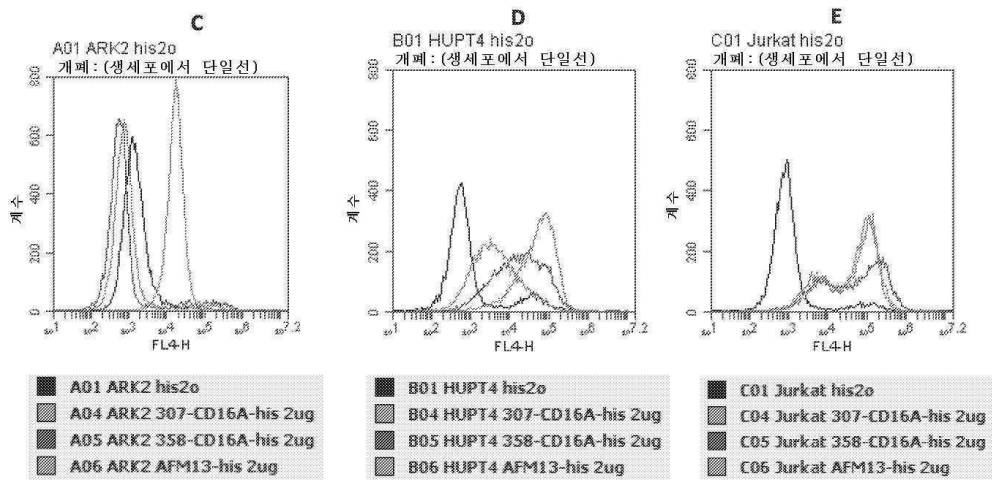
도면24ce



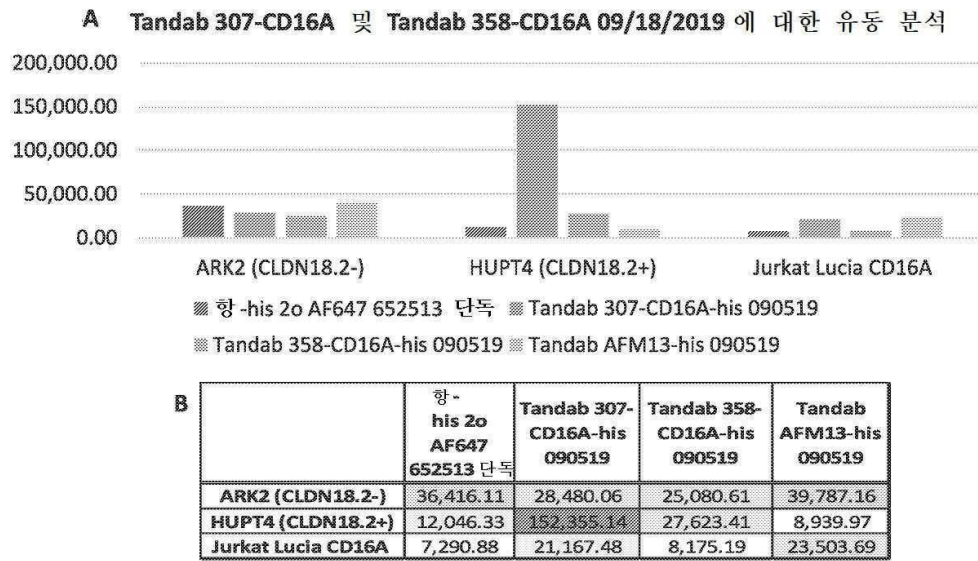
도면25ab



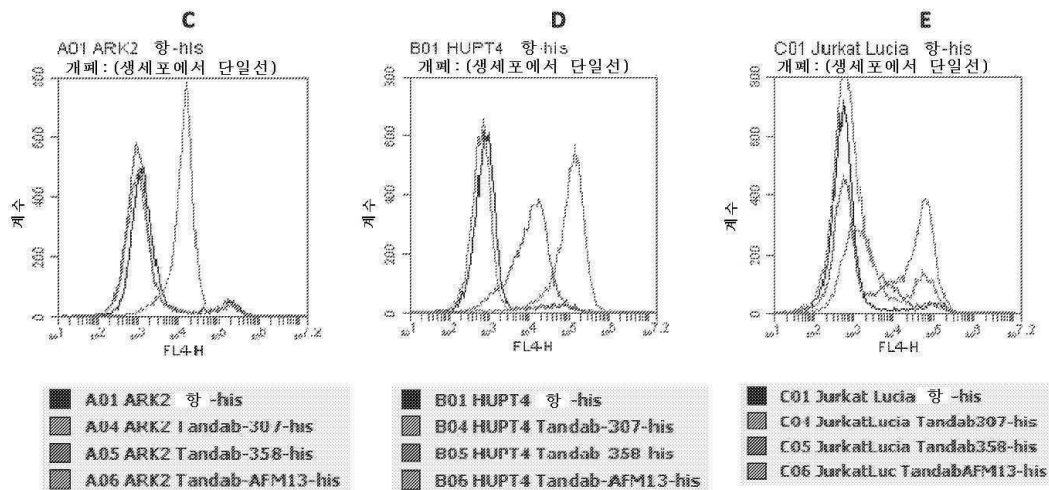
도면25ce



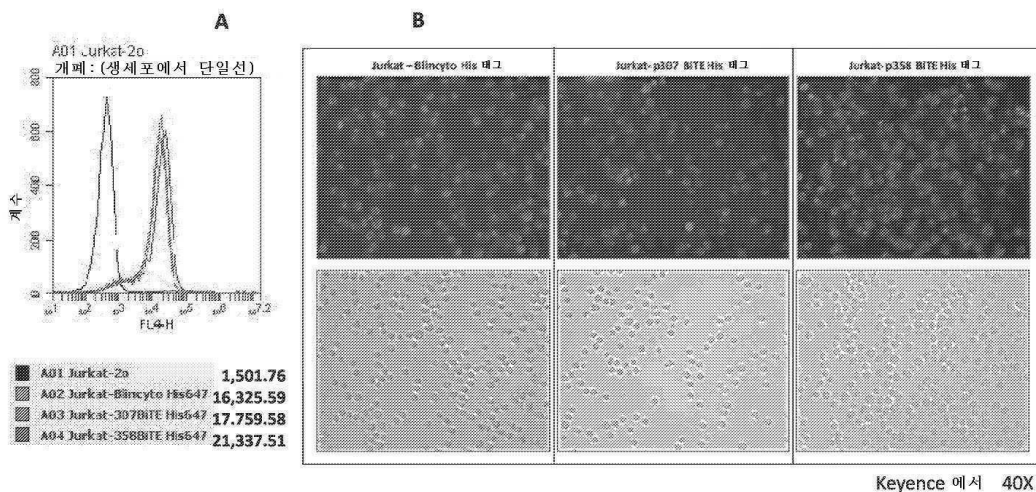
도면26ab



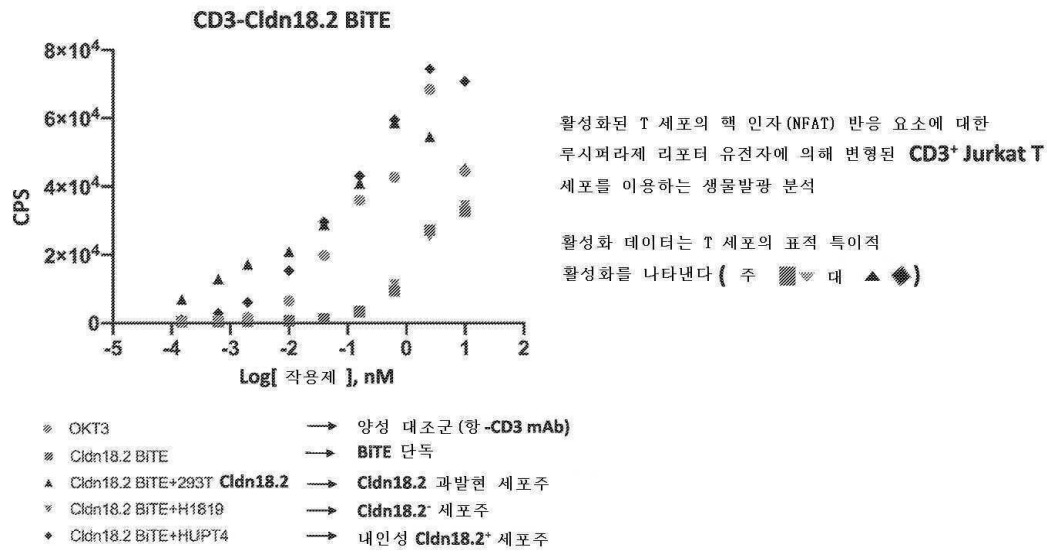
도면26ce



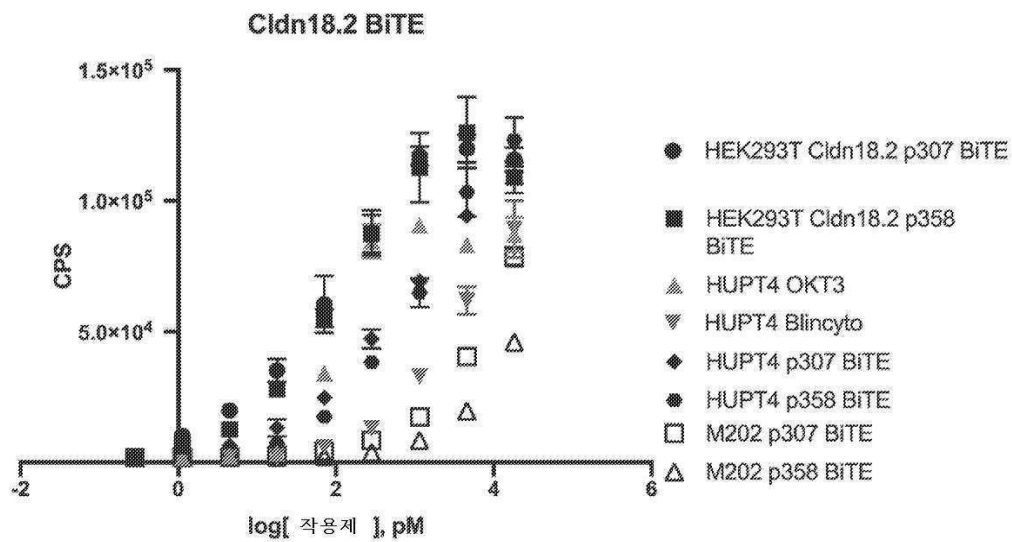
도면27



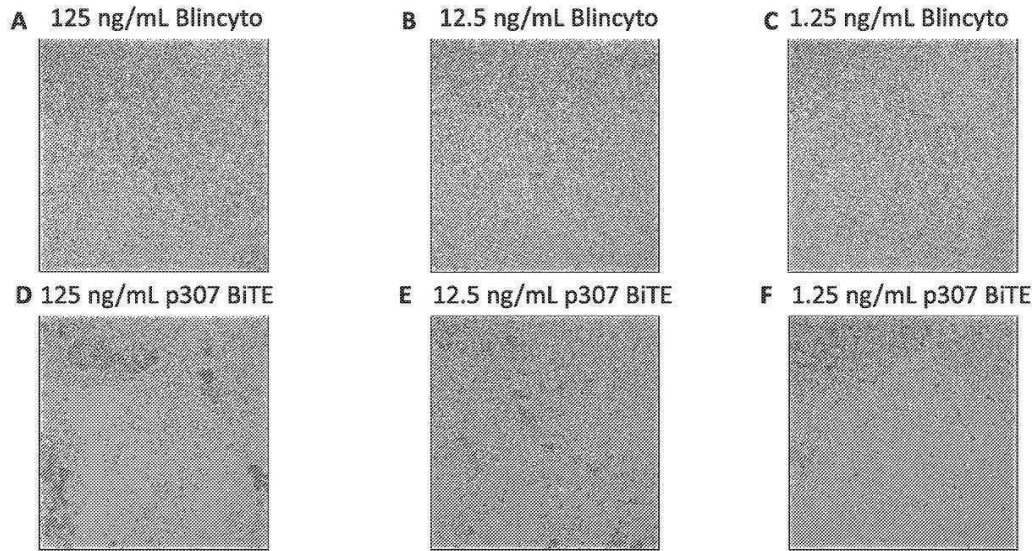
도면28



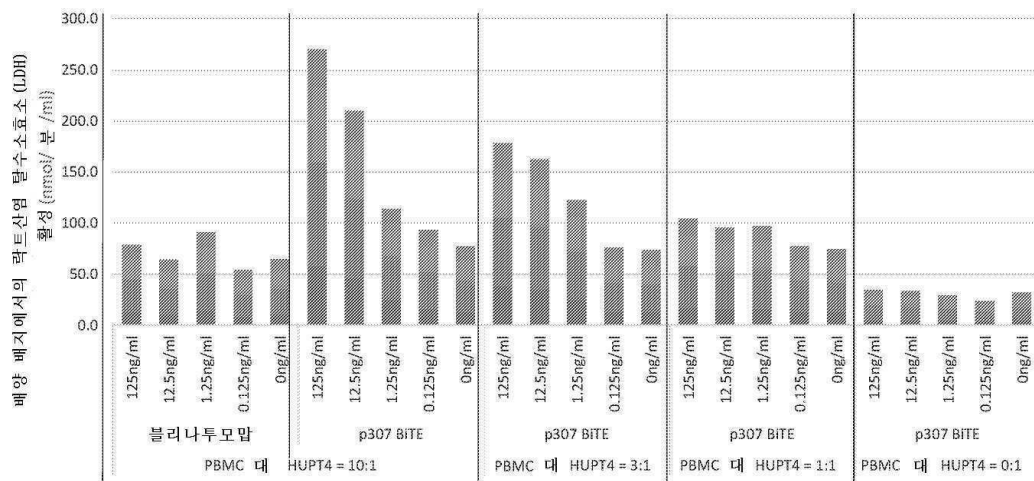
도면29



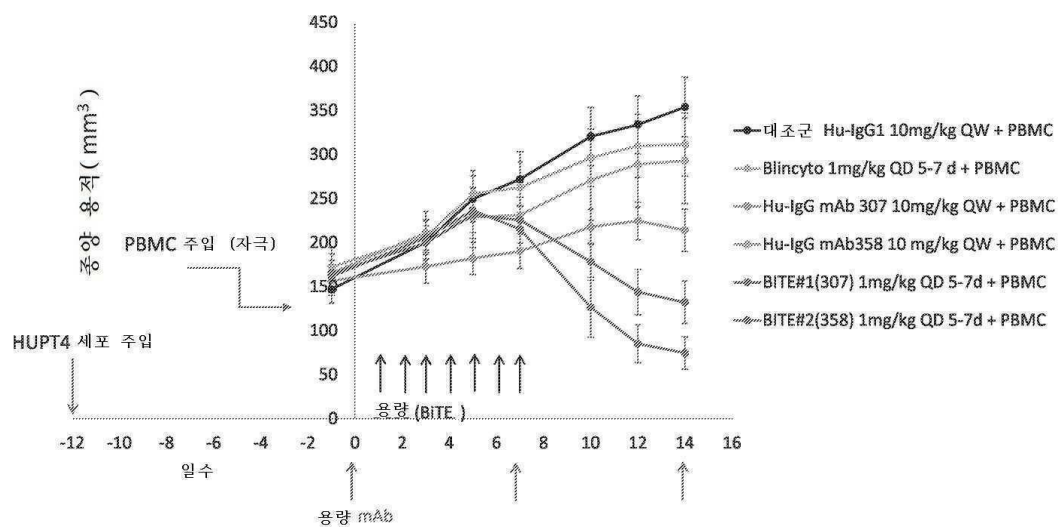
도면30



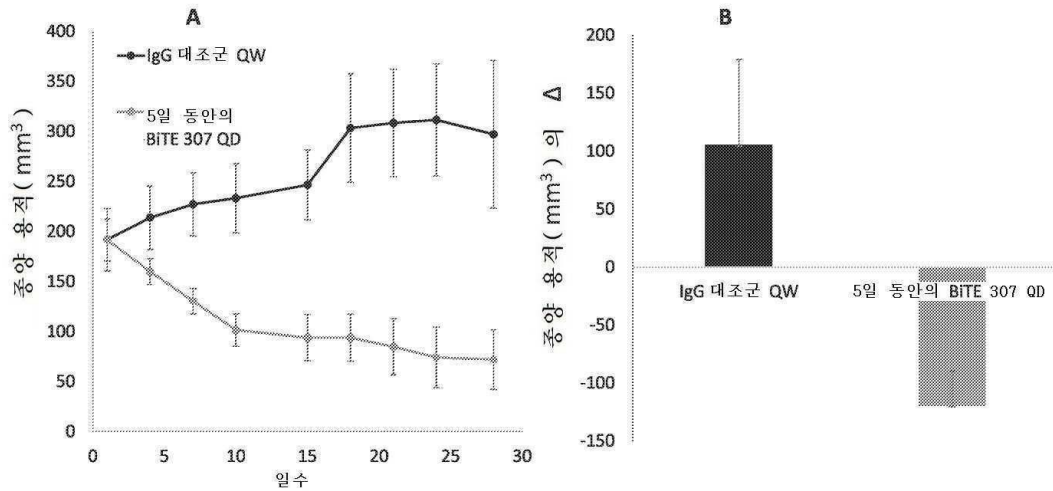
도면31



도면32



도면33



서열 목록

<110> THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

<120> CLAUDIN18 ANTIBODIES AND METHODS OF TREATING CANCER

<130> IPP21-146-D1

<150> 62/875,416

<151> 2019-07-17

<160> 159

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 261

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

1 5 10 15

Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr

20 25 30

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

35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg

50 55 60

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

65						70						75						80	
Ala	Leu	Met	Ile	Val	Gly	Ile	Val	Leu	Gly	Ala	Ile	Gly	Leu	Leu	Val				
					85					90					95				
Ser	Ile	Phe	Ala	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Ile	Gly	Ser	Met	Glu	Asp	Ser				
					100					105					110				
Ala	Lys	Ala	Asn	Met	Thr	Leu	Thr	Ser	Gly	Ile	Met	Phe	Ile	Val	Ser				
					115					120					125				
Gly	Leu	Cys	Ala	Ile	Ala	Gly	Val	Ser	Val	Phe	Ala	Asn	Met	Leu	Val				
					130					135					140				
Thr	Asn	Phe	Trp	Met	Ser	Thr	Ala	Asn	Met	Tyr	Thr	Gly	Met	Gly	Gly				
145					150					155					160				
Met	Val	Gln	Thr	Val	Gln	Thr	Arg	Tyr	Thr	Phe	Gly	Ala	Ala	Leu	Phe				
					165					170					175				
Val	Gly	Trp	Val	Ala	Gly	Gly	Leu	Thr	Leu	Ile	Gly	Gly	Val	Met	Met				
					180					185					190				
Cys	Ile	Ala	Cys	Arg	Gly	Leu	Ala	Pro	Glu	Glu	Thr	Asn	Tyr	Lys	Ala				
					195					200					205				
Val	Ser	Tyr	His	Ala	Ser	Gly	His	Ser	Val	Ala	Tyr	Lys	Pro	Gly	Gly				
					210					215					220				
Phe	Lys	Ala	Ser	Thr	Gly	Phe	Gly	Ser	Asn	Thr	Lys	Asn	Lys	Lys	Ile				
225					230					235					240				
Tyr	Asp	Gly	Gly	Ala	Arg	Thr	Glu	Asp	Glu	Val	Gln	Ser	Tyr	Pro	Ser				
					245					250					255				
Lys	His	Asp	Tyr	Val															
					260														
<210>	2																		
<211>	261																		
<212>	PRT																		
<213>	Homo sapiens																		
<400>	2																		
Met	Ser	Thr	Thr	Thr	Cys	Gln	Val	Val	Ala	Phe	Leu	Leu	Ser	Ile	Leu				
1					5					10					15				

Gly Leu Ala Gly Cys Ile Ala Ala Thr Gly Met Asp Met Trp Ser Thr
 20 25 30
 Gln Asp Leu Tyr Asp Asn Pro Val Thr Ser Val Phe Gln Tyr Glu Gly
 35 40 45

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

 115 120 125
 Gly Leu Cys Ala Ile Ala Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val
 130 135 140
 Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly Gly
 145 150 155 160
 Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ala Leu Phe
 165 170 175
 Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly Val Met Met
 180 185 190

 Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Ala Pro Glu Glu Thr Asn Tyr Lys Ala
 195 200 205
 Val Ser Tyr His Ala Ser Gly His Ser Val Ala Tyr Lys Pro Gly Gly
 210 215 220
 Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Lys Asn Lys Lys Ile
 225 230 235 240
 Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser
 245 250 255
 Lys His Asp Tyr Val

260

<210> 3

<211> 264

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

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

1 5 10 15

Gly Phe Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr

20 25 30

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

35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Val Ile Gly Ile Leu Val

85 90 95

Ser Ile Phe Ala Leu Lys Cys Ile Arg Ile Gly Ser Met Asp Asp Ser

100 105 110

Ala Lys Ala Lys Met Thr Leu Thr Ser Gly Ile Leu Phe Ile Ile Ser

115 120 125

Gly Ile Cys Ala Ile Ile Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val

130 135 140

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Ser Gly Met Gly Gly

145 150 155 160

Met Gly Gly Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala

165 170 175

Ala Leu Phe Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly

180 185 190

Val Met Met Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Thr Pro Asp Asp Ser Asn

195 200 205

Phe Lys Ala Val Ser Tyr His Ala Ser Gly Gln Asn Val Ala Tyr Arg
 210 215 220
 Pro Gly Gly Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Arg Asn
 225 230 235 240
 Lys Lys Ile Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Asp Glu Gln Ser
 245 250 255
 His Pro Thr Lys Tyr Asp Tyr Val
 260

<210> 4

<211

> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys
 1 5 10 15
 Arg Phe Tyr Phe Thr Leu
 20

<210> 5

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Gly Tyr Phe Thr Leu Lys
 20

<210> 6

<211> 26

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val
 1 5 10 15

Phe Asn Tyr Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys

20

25

<210> 7

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Cys Arg Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Phe Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala

1

5

10

15

Val Arg

<210> 8

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 8

Cys Val Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met

1

5

10

15

Gly Gly Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala

20

25

30

<210> 9

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 9

Val Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly

1

5

10

15

Gly Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Cys

20

25

30

<210> 10

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 10

Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Leu Val Lys Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Ser Val Ala Val Ser Ser

115

<210> 11

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

Ile Ser Asn Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95
Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Arg

<210> 12

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 12

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

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

20 25 30
Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Leu Val Lys Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 13
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 13
 Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110
 Lys

<210> 14
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 14
 Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 15

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu

100 105 110

Lys

<210> 16

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 16

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

1 5 10 15

Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu His Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Pro Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 17

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 17

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser

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

Arg

<210> 18
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 18

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 19

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Cys Cys Gln Asn

85 90 95

Asn Tyr Tyr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gly Ile

100 105 110

Lys

<

210> 20

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 20

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

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

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

<210> 21

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 21

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

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

100 105 110

Lys

<

<210> 22

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 22

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Arg Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ser Tyr Leu Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 23

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 23

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Arg

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

<

<210> 24

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 24

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

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ala Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Asn Ile Asn Lys Asp Lys Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
 Arg Pro Thr Arg Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser

115
 <210> 25
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 25

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

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

<
 210> 26
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 26

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

1 5 10 15

Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Ile Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

<210> 27

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Asn

85 90 95
 Asp Tyr Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<

<210> 28

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 28

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Leu Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Ala Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Gly Asp Tyr Trp Ser Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

<210> 29

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 29

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

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

<

210> 30
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<220><221> MOD_RES
<222> (95)
<223> Any naturally occurring amino acid
<400> 30

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

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

<210> 31
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 31

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

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

<
210> 32
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 32

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Tyr Gly Ile Asn Tyr Asn Val Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Ala Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Ile Val Ser Ser

100 105 110

<210> 33

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Asn
85 90 95
Asp Tyr Gly Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys

<

<210> 34
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 34

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

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

<210> 35
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 35

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

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

<

<210> 36
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 36

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

Gly Val Ile Asn Pro Asn Tyr Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Gln Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Glu Asp Tyr Tyr Asn Ile Arg Gly Ala Ser Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115 120

<210> 37

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 37

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

1 5 10 15

Gln Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Ser Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 38

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 38

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

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

115 120
 <210> 39
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 39

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Lys Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 40

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 40

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

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

<

210> 41

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 41

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

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

<210> 42

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 42

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

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

Thr Arg Leu Val Lys Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 43

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 43

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

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20

25

30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35

40

45

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

50

55

60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65

70

75

80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85

90

95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100

105

110

Lys

<

210> 44

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 44

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

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

<

<210> 45

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 45

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

Pro Pro Lys Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<

<210> 46

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 46

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

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

115

<210> 47

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 47

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<

210> 48

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

<

<210> 49

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 49

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

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

115

<210> 50

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 50

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<

210> 51

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

<

210> 52
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 52

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

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

<210> 53

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 53

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Asn

85 90 95

Asp Tyr Gly Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<

210> 54

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 54

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

<

<210> 55
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 55

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

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

<210> 56

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 56

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 57

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ser Tyr Leu Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

115
<210> 58
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 58

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

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

<
210> 59
<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Ser Trp Arg Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 60

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 60

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

<

210> 61
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 61

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

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

115

<210> 62
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 62
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

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

<
 210> 63
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 63
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Ser Trp Arg Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 64

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser

1 5 10

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 65

Thr Ile Ile Ile Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr

1 5 10

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 66

Leu Val Lys Gly Asn Ala Met Asp Tyr

1 5

<

210> 67
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 67
 Thr Ile Ser Ser Gly Val Ser Tyr Thr Tyr
 1 5 10
 <210> 68
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 68
 Leu Thr Lys Gly Asn Ala Met Asp Tyr
 1 5
 <210> 69
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 69
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His
 1 5 10
 <210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 70
 Tyr Ile Ser Ser Gly Thr Thr Asn Ile Tyr
 1 5 10
 <210> 71
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 71
 Ser Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 72

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Leu Met His

1 5 10

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Mus musculus

<400> 73

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn

1 5 10

<210> 74

<211> 3

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 74

Gly Asp Tyr

1

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 75

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asp Val Ile Ser

1 5 10

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 76

Glu Ser Tyr Leu Arg Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 77

Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr

1 5

<210> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 78

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ser

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 79

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 80

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 81

<211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 81
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15
 Thr

<210> 82
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 82
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu
 1 5 10 15
 Thr

<210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 83
 Gln Asn Val Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr

1 5
 <210> 84
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 84
 Trp Ala Ser Ile Arg Gln Ser
 1 5
 <210> 85
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 85

Leu Asn Asp Tyr Gly Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 86

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 86

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

1 5 10 15

Thr

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 87

Gln Asn Ala Tyr Tyr Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 88

Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Thr Met Ser

1 5 10

<210> 89

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 89

Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Ile Ser

1	5	10
<210>	90	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Mus musculus	
<400>	90	
Glu Ile Tyr Pro Arg Asn Gly Asn Thr Tyr		
1	5	10
<210>	91	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Mus musculus	
<400>	91	
Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr Gly Val Ser		
1	5	10
<210>	92	
<211>		
>	9	
<212>	PRT	
<213>	Mus musculus	
<400>	92	
Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn		
1	5	
<210>	93	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	Mus musculus	
<400>	93	
Pro Thr Arg Gly Asn Ala Met Asp Tyr		
1	5	
<210>	94	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Mus musculus	
<400>	94	

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ile Met His

1 5 10

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 95

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Leu Ile His

1 5 10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 96

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Ala Thr Tyr

1 5 10

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 97

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Met His

1 5 10

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 98

Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys

1 5 10

<210> 99

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus
 <400> 99
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe Leu Ile His
 1 5 10
 <210> 100
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 100
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Tyr Gly Ile Asn
 1 5 10
 <210> 101
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 101
 Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Val Met His
 1 5 10
 <210> 102
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 102
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Ile Lys
 1 5 10
 <210> 103
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 103
 Val Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn Met Asn
 1 5 10
 <210> 104
 <211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 104

Val Ile Asn Pro Asn Tyr Gly Asn Thr Asn

1 5 10

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 105

Ser Glu Asp Tyr Tyr Asn Ile Arg Gly Ala Ser

1 5 10

<210> 106

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 106

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5 10

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 107

Glu Ile Ser Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 108

<211>

> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 108

Gly Val Ile Thr Thr Val Ile Pro Thr Asp Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10 15

<210> 109
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 109

Gly Tyr Ser Phe Thr Val Tyr Tyr Met Asn
 1 5 10

<210> 110
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 110

Glu Ile Asn Pro Ser Thr Gly Gly Thr Thr
 1 5 10

<210> 111
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 111

Trp Ala Asp Tyr
 1
 <210> 112
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 112

Trp Ala Ser Ser Arg Glu Ser
 1 5
 <210> 113
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 113

Gln Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Phe Thr

1 5
 <210> 114
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 114
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Arg Ser Tyr Leu

1 5 10 15
 Thr
 <210> 115
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 115
 Gln Asn Asn Tyr Asn Tyr Pro Phe Thr

1 5
 <210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 116
 Trp Ala Ser Thr Lys Lys Ser

1 5
 <210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 117
 Leu Asn Asp Tyr Ser Phe Pro Leu Thr

1 5
 <210> 118
 <211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 118

Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser

1 5

<210> 119

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 119

Trp Ala Ser Thr Gly Ala Ser

1 5

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 120

Ser Ala Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Met His

1 5 10

<210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 121

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Pro

1 5

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 122

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 123

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 123

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 124

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 124

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 125

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 125

Gln His Tyr Ser Lys Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 126

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 126

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 127

Trp Met Ser Thr Arg Ala Ser

1 5

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 128

Gln Gln Val Val Tyr Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 129

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 129

Trp Ala Ser Ile Arg Lys Ser

1 5

<210> 130

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 131

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 131

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

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

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

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

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

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

85 90 95
 Val Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 132

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 132

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

Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Ser Ser
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95
Val Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 133

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 133

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

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

20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

Val Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Gln Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 134

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 134

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 135

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Val Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 136

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 136

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

Lys

<210> 137

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 137

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

35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

100 105 110

Lys

<210> 138

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 138

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Leu Val Lys Gly Gln Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 139

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 139

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

115
<210> 140
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 140

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

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

<

210> 141
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 141
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

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

<

210> 142
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 142
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<

210> 143

<211> 500

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 143

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 130 135 140
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 145 150 155 160
 Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 165 170 175
 Ala Thr Ile Ile Ile Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 195 200 205
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Thr Arg Leu Val Lys Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 225 230 235 240
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Lys Leu Gln
 245 250 255
 Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser

260 265 270
 Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val
 275 280 285
 Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro
 290 295 300
 Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr
 305 310 315 320
 Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser
 325 330 335

Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp
 340 345 350
 Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val

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

405 410 415
 Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys
 420 425 430
 Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg
 435 440 445
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser
 450 455 460
 Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser
 465 470 475 480

Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys His His
 485 490 495
 His His His His

500
 <210> 144
 <211> 490
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
 <400> 144

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

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

 Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu
 130 135 140
 Gly Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

 165 170 175
 Gln Pro Pro Lys Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly
 180 185 190
 Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 195 200 205
 Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
 210 215 220
 Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 225 230 235 240

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

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Leu Val Lys

340 345 350

Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Arg

405 410 415

Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg Pro

420 425 430

Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala

435 440 445

Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr

450 455 460

Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys

465 470 475 480

Leu Thr Val Leu His His His His His His

485 490

<210> 145

<211> 501

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 145

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

1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Val Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 130 135 140
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 145 150 155 160

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

 225 230 235 240
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Lys Leu
 245 250 255

Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met
260 265 270

Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp
275 280 285

Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn
290 295 300

Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala
305 310 315 320

Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser
325 330 335

Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr
340 345 350

Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
355 360 365

Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met
385 390 395 400

Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser
405 410 415

Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro
420 425 430

Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr
435 440 445

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
450 455 460

Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser
465 470 475 480

Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys His
485 490 495

His His His His His
500

<210> 146
 <211> 491
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 146
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Tyr Asp Phe Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu
 130 135 140
 Gly Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 165 170 175
 Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly
 180 185 190
 Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 195 200 205

Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln

210

215

220

Asn Val Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu

225

230

235

240

Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val

245

250

255

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

260

265

270

Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val

275

280

285

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

290

295

300

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

305

310

315

320

Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser

325

330

335

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

340

345

350

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

355

360

365

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

370

375

380

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

385

390

395

400

Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln

405

410

415

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn Lys Arg

420

425

430

Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr

435

440

445

Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr

450 455 460
Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asn Tyr Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr
465 470 475 480
Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His

485 490

<210> 147
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 147
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

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

<210> 148
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 148

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

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Leu Gly Phe Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 149

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 149

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser

20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

 85 90 95
Val Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

 100 105 110
Lys

$\langle 210 \rangle$	150
$\langle 211 \rangle$	113
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	Artificial Sequence

<220><223>	Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
------------	---

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

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

$\langle 210 \rangle$	151
$\langle 211 \rangle$	34
$\langle 212 \rangle$	PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 151

Cys Asn Met Leu Val Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr

1 5 10 15

Thr Gly Met Gly Gly Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe

20 25 30

Gly Ala

<210> 152

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400>

> 152

Asn Met Leu Val Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr

1 5 10 15

Gly Met Gly Gly Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly

20 25 30

Ala Cys

<210> 153

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 153

Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys

1 5 10 15

Arg Gly Tyr Phe Thr Leu

20

<210> 154

<211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
 <400> 154

Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Gly Tyr Phe Thr Leu Lys
 20

<210> 155
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 155
 Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val
 1 5 10 15
 Phe Asn Tyr Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys
 20 25

<210> 156
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 156
 Cys Arg Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala
 1 5 10 15
 Val Arg

<210> 157
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 157

Gly Gly Phe Gly

1

<210> 158

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 158

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 159

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 159

Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10 15

Val Asp