



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0063825
(43) 공개일자 2014년05월27일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/12 (2006.01) A61K 39/40 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2014-7010064</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2012년09월10일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2014년04월16일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/GB2012/052222</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2013/038156
국제공개일자 2013년03월21일</p> <p>(30) 우선권주장
61/535,532 2011년09월16일 미국(US)
61/638,731 2012년04월26일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
유씨비 파마, 에스.에이.
벨기에 브뤼셀 알리 드 라 르쉐르쉐 60 (우:1070)</p> <p>(72) 발명자
험프리스 데이비드 폴
영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내
라이트우드 다니엘 존
영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
김진희, 김성기</p> |
|---|--|

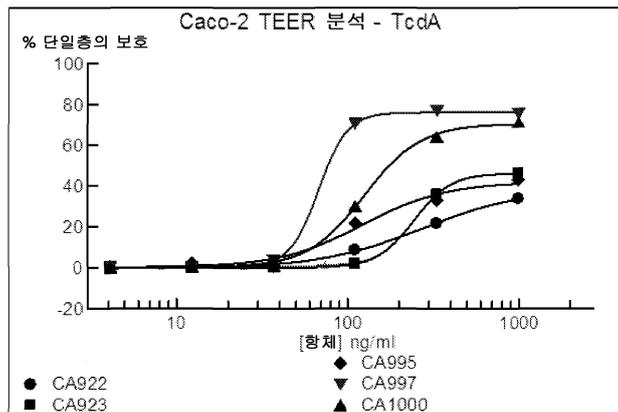
전체 청구항 수 : 총 41 항

(54) 발명의 명칭 클로스트리듐 디피실의 주요 외독소 TCDA 및 TCDB에 대한 중화 항체

(57) 요약

본 발명은 클로스트리듐 디피실(*Clostridium difficile*)의 주요 외독소 TcdA 및 TcdB를 중화시킬 수 있는 항체의 유도 및 선택을 기술한다. 또한, 본 발명은 개별 Mab들 및 이들의 혼합물의 신규 중화 및 항원 결합 성질도 기술한다.

대표도 - 도62a



(72) 발명자

타이슨 케리 루이스

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

나이트 데이비드 에드워드 오몬드

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

에르브 카린 자닌 마들렌

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

콕슨 조앤 엘리자베스

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

페이지 매튜 존 티모시

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

페인 앤드류 찰스

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

피셔 니콜라 루이스

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

메켄지 브렌든

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

콕스 매튜

영국 에스엘1 3더블유이 버크셔 슬라우 바스 로드
208 유씨비 셀텍 아이피디 내

특허청구의 범위

청구항 1

항원 TcdA 또는 TcdB에 대해 특이적인 단일클론 항체로서, 표적 항원에 대한 높은 친화성을 갖고 클로스트리듐 디피실(*Clostridium difficile*) 감염을 갖거나 상기 감염의 위험에 있는 환자에서 설사의 지속 및/또는 중증도, 이환률 및/또는 사망률을 감소시키는 데에 적합한 단일클론 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 독소가 LD₈₀ 이상으로 사용될 때 높은 효능, 예를 들면, 200 ng/ml 이하, 예컨대, 150 ng/ml 이하, 특히 100 ng/ml 이하의 EC₅₀을 갖는 것인 단일클론 항체.

청구항 3

제2항에 있어서, 독소가 LD₈₀ 이상으로 존재할 때 항체 EC₅₀이 0.1 ng/ml 내지 10 ng/ml인 단일클론 항체.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 독소가 LD₈₀ 이상으로 사용될 때 독소의 최대 억제도가 50% 내지 100%인 단일클론 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 항원에 다회 결합하는 것인 단일클론 항체.

청구항 6

제5항에 있어서, 표적 항원에 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회, 11회, 12회, 13회, 14회 또는 15회 이상 결합하는 것인 단일클론 항체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, TcdA에 대해 특이적인 것인 단일클론 항체.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, TcdB에 대해 특이적인 것인 단일클론 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 1 nM 이하, 예를 들면, 600 pM, 예컨대, 50 pM 내지 600 pM의 친화성을 갖는 것인 단일클론 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 고농도의 독소에서 특히 리보타입 003, 012, 027 및 078에 대해 효과적인 중화 항체를 비롯한 중화 항체인 단일클론 항체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 분석의 개시로부터 4시간 후 측정될 때 TEER 분석에서 60 ng/ml 내지 80 ng/ml 범위 내의 EC₅₀을 갖는 것인 단일클론 항체.

청구항 12

제1항에 있어서, 중쇄를 포함하는, TcdA에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 중쇄의 가변 도메인이 CDR-H1에 대해 서열번호 44에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-H2에 대해 서열번호 45에 제시된 서열을 갖

는 CDR 및 CDR-H3에 대해 서열번호 46에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 13

제12항에 있어서, 경쇄를 추가로 포함하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 경쇄의 가변 도메인이 CDR-L1에 대해 서열번호 41에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-L2에 대해 서열번호 42에 제시된 서열을 갖는 CDR 및 CDR-L3에 대해 서열번호 43에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 14

제13항에 있어서, 서열번호 49에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 47에 제시된 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단일클론 항체.

청구항 15

제1항에 있어서, 중쇄를 포함하는, TcdA에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 중쇄의 가변 도메인이 CDR-H1에 대해 서열번호 54에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-H2에 대해 서열번호 55에 제시된 서열을 갖는 CDR 및 CDR-H3에 대해 서열번호 56에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 16

제15항에 있어서, 경쇄를 추가로 포함하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 경쇄의 가변 도메인이 CDR-L1에 대해 서열번호 51에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-L2에 대해 서열번호 52에 제시된 서열을 갖는 CDR 및 CDR-L3에 대해 서열번호 53에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 17

제16항에 있어서, 서열번호 59에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 57에 제시된 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단일클론 항체.

청구항 18

제1항에 있어서, 중쇄를 포함하는, TcdB에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 중쇄의 가변 도메인이 CDR-H1에 대해 서열번호 124에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-H2에 대해 서열번호 125에 제시된 서열을 갖는 CDR 및 CDR-H3에 대해 서열번호 126에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 19

제18항에 있어서, 경쇄를 추가로 포함하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 경쇄의 가변 도메인이 CDR-L1에 대해 서열번호 121에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-L2에 대해 서열번호 122에 제시된 서열을 갖는 CDR 및 CDR-L3에 대해 서열번호 123에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 20

제19항에 있어서, 서열번호 129에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 127에 제시된 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단일클론 항체.

청구항 21

제1항에 있어서, 중쇄를 포함하는, TcdB에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 중쇄의 가변 도메인이 CDR-H1에 대해 서열번호 154에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-H2에 대해 서열번호 155에 제시된 서열을 갖는 CDR 및 CDR-H3에 대해 서열번호 156에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 22

제21항에 있어서, 경쇄를 추가로 포함하는 단일클론 항체로서, 이때 상기 경쇄의 가변 도메인이 CDR-L1에 대해

서열번호 151에 제시된 서열을 갖는 CDR, CDR-L2에 대해 서열번호 152에 제시된 서열을 갖는 CDR 및 CDR-L3에 대해 서열번호 153에 제시된 서열을 갖는 CDR 중 하나 이상의 CDR을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 23

제22항에 있어서, 서열번호 159에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 157에 제시된 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단일클론 항체.

청구항 24

제1항에 있어서, 중쇄 및 경쇄를 갖는, TcdA에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체로서, 이때 중쇄 가변 영역이 서열번호 9, 서열번호 19, 서열번호 29 및 서열번호 39로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역이 서열번호 7, 서열번호 17, 서열번호 27 및 서열번호 37로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 25

제1항에 있어서, 중쇄 및 경쇄를 갖는, TcdB에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체로서, 이때 중쇄 가변 영역이 서열번호 69, 서열번호 79, 서열번호 89, 서열번호 99, 서열번호 109, 서열번호 119, 서열번호 139, 서열번호 149 및 서열번호 159로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역이 서열번호 67, 서열번호 77, 서열번호 87, 서열번호 97, 서열번호 107, 서열번호 117, 서열번호 137, 서열번호 147 및 서열번호 157로 구성된 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 것인 단일클론 항체.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 정의된 하나 이상의 항체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 27

제26항에 있어서, TcdB에 대해 특이적인 2개 이상의 항체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 28

제26항에 있어서, TcdA에 대해 특이적인 2개 이상의 항체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 29

제26항에 있어서, 조성물 중의 하나 이상의 항체가 TcdA에 대해 특이적이고 조성물 중의 하나 이상의 항체가 TcdB에 대해 특이적인 것인 약학 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, TcdB에 대해 특이적인 적어도 제2 항체를 추가로 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 31

제26항 내지 30항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 항원 또는 항원들에 대한 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개의 상이한 항체들, 예컨대, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 항체들을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 32

제14항, 제20항 및 제23항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 약학 조성물 또는 혼합물.

청구항 33

제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 치료, 예를 들면, 클로스트리듐 디피실 감염 또는 이로부터의 합병

중의 치료 또는 예방에 사용되기 위한 단일클론 항체 또는 약학 조성물.

청구항 35

치료 유효량의 제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 따른 단일클론 항체 또는 제26항 내지 제33항 중 어느 한 항에 따른 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 클로스트리듐 디피실 감염을 갖거나 이 감염의 위험에 있는 환자를 치료하는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 치료가 예를 들면, 메트로니다졸, 반코마이신, 클린다마이신, 피다소미신 및 이들의 조합물을 포함하는 군으로부터 선택된 클로스트리듐 디피실 치료를 위한 추가 치료와 병용되는 것인 방법.

청구항 37

클로스트리듐 디피실 감염 또는 이로부터의 합병증의 치료 또는 예방용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 정의된 항체 또는 제26항 내지 제33항 중 어느 한 항에 정의된 조성물의 용도.

청구항 38

TEER(경상피(trans-epithelial) 전기 저항성)의 손실로부터의 보호를 측정하는 분석을 이용하여 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 정의된 항체를 선택하는 방법.

청구항 39

열안정성(Tm) 및 진탕 응집에 대한 저항성을 측정하는 분석을 이용하여 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 정의된 항체를 선택하는 방법.

청구항 40

독소 중화의 측정치, TEER 측정치, 열안정성 측정치(Tm), 진탕 응집 측정치 및 등전위(pI)를 조합하여 공제제화(coformulation)에 적합한, 클로스트리듐 디피실 감염의 치료용 항체 혼합물을 선택하는 방법.

청구항 41

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 예를 들면, 백신접종, 예컨대, 클로스트리듐 디피실 감염 또는 이로부터의 합병증의 치료 또는 예방에 사용되기 위한, 변성독소(toxoid) 또는 이를 포함하는 약학 조성물과 조합된 단일클론 항체.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 클로스트리듐 디피실(*Clostridium difficile*)의 외독소, 예를 들면, TcdA 및 TcdB에 대한 항체, 이를 포함하는 약학 조성물, 상기 항체 및 조성물의 제조 방법, 및 치료 및/또는 예방, 특히 클로스트리듐 디피실 감염, 가성막 결장염, 진격 결장염 및/또는 독성 메가결장의 치료 또는 예방에 있어서 상기 항체 및 조성물의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 2종의 주요 외독소 TcdA 및 TcdB는 다수의 시험관내 및 생체내 연구에서 클로스트리듐 디피실의 주요 병원성 결정인자로서 확립되어 있다. 비-독소발생 균주는 동물 및 인간에 대한 병원성을 나타내지 않는다(1 및 2). 현재 까지, 이원 독소의 역할의 명확한 이해는 아직 확립되어 있지 않다(3).

[0003] 상기 두 독소들은 장독성 및 세포독성을 나타내지만, 모든 증거는 TcdA가 TcdB보다 더 강력한 장독소라는 것을 암시하는 반면, TcdB는 전형적으로 TcdA보다 약 1000배 더 강한 세포독성을 나타내는 것으로 관찰된다(4). 상기 두 독소들은 염증 반응을 유도할 수 있지만, TcdA는 보다 강력한 염증성 TcdB가 장 점막 내로 더 깊게 이동하는 것을 돕는 듯하다(5).

[0004] 전체적으로, 30년 이상 동안 발생된 큰 데이터 수집물은 상기 두 독소들이 인간 질환 과정에서 중요할 것이라는

모델을 뒷받침한다. TcdA는 밀착 연결부의 손실 및 용모 접단의 파괴를 통한 초기(즉, TcdB 전) 신속한(즉, 1시간 내지 3시간) 장 손상을 개시하여 아마도 일부면에 의해 유발된 체액 손실을 통한 설사를 개시할 가능성이 있다. 장 내층의 통합성에 대한 이 손상은 TcdB가 보다 신속하고 효율적으로(즉, 조직, 대안적 세포 표적 및 전신적으로 접근된 손상 장기 내로 더 깊이) 그의 뛰어난 몰 효능(TcdB는 전형적으로 TcdA보다 1000배 더 강한 세포 독성을 나타내는 것으로서 언급되어 있음)을 발휘하게 할 수 있다. 상기 두 독소들 중 어느 한 독소가 시험관내에서 인간 또는 동물 세포 및 조직에 대해 단독으로 효과적일 수 있다. 상기 두 독소들 중 어느 한 독소가 다른 유발 인자, 예컨대, 물리적 손상, 장벽 과다하중 및 숙주 특이적 민감성에 따라 동물의 생체내에서 단독으로 효과적일 수 있다. 햄스터에서 클로스트리듐 디피실 장 감염에 의해 전달된 적어도 TcdA 또는 TcdB 단독이 사망을 야기할 수 있다는 것은 현재 명확하다(1). A-B+ 균주가 인간에서 증상 및 사망을 야기할 수 있다는 것은 잘 확립되어 있다(6 및 7). 그러나, 임상 균주들 중 대다수(약 95%)가 A+B+이므로, 클로스트리듐 디피실 감염(CDI)의 치료를 목적으로 하는 약물은 상기 두 독소들의 활성을 중화시킬 수 있고 상기 두 독소들을 효과적으로 제거할 수 있어야 한다.

[0005] CDI는 노인 환자 또는 합병 동반이환을 갖는 환자의 가장 전형적인 병원내 감염이다. 그러나, 지역사회 획득 감염의 증가가 인지되고 있다. 감염은 거의 항상 광범위 항생제의 사용과 관련되어 있거나 이러한 사용에 의해 유도된다. 건강관리 관련 비용은 미국에서만 해마다 10억 달러를 초과하는 것으로 추정된다. 이 비용은 주로 보다 오랫동안 병원에 입원하는 환자에 기인한다. 현재 치료는 장 내의 클로스트리듐 디피실 세포를 사멸하는 항생제, 예컨대, 클린다마이신, 반코마이신 또는 피다소미신의 사용을 수반한다. 현재 치료는 세균 감염을 다루지만, CDI 증상 및 사망에 대한 주요 기여자인 TcdA 및 TcdB에 의해 야기되는 유의한 발병기전을 다루거나 직접적으로 예방하지는 못한다.

[0006] 인간에서 CDI 증상은 경증 내지 중증 설사, 가성막 결장염(PMC) 및 전격 결장염 또는 소위 독성 메가결장을 포함한다. 현재 가장 우수한 관리를 제공받은 환자의 5% 내지 15%가 사망한다. 따라서, 현 시점에서 감염 후 클로스트리듐 디피실 독소에 의해 야기된 손상 및 상해를 예방하기 위해 환자가 이용할 수 있는 구체적인 치료는 없다.

[0007] 백신접종을 통한 항체 반응의 발생, 및 다중클론 항체 및 단일클론 항체의 비경구 투여는 모두 설사 증상 및 사망으로부터 동물을 보호할 수 있는 것으로 밝혀져 있다(8 내지 15). 햄스터에서의 초기 연구는 TcdA에 대한 항체 단독이 보호를 위해 필요한 전부라는 것을 암시하였다. 그러나, TcdA 또는 TcdB가 기능적으로 결실된 균주의 사용은 상기 두 독소들 중 어느 한 독소가 햄스터에서 질환을 야기할 수 있지만 상기 두 독소들이 함께 더 효과적이라는 것을 입증한다(1).

[0008] 치료 적용을 위해, 단일클론 항체들(Mab들)은 혈청 유래의 다중클론 항체 또는 혈청 유래의 과다면역 혈청에 비해 효능, 안전성, 제조 및 규제 이점을 제공할 수 있다. 이러한 이유로, 통상적으로 치료 제품을 위해 Mab를 선택하는 것이 바람직하다.

[0009] TcdA 및 TcdB에 대한 보호 Mab를 발생시키고자 하는 다수의 시도가 있었다. 임상에서 이들 중 가장 진보된 시도는 2개의 IgG1 Mab들(원래 MBL 및 메다렉스(Medarex)에 의해 개발된 CDA1 및 MDX1388로서 지칭된, TcdA에 대한 IgG1 Mab 및 TcdB에 대한 IgG1 Mab)의 혼합물이다. 이들은 급성 또는 재발 감염의 모델에서 햄스터를 완전히 보호할 수 없는 것으로 입증되었다(15). 이 Mab 조합물은 현재 머크 인코포레이티드(Merck Inc.)에 의해 MK3415A로서 개발되고 있다. 인간 II 기 시험에서 MK3415A는 질환 재발을 통계적으로 유의하게 감소시켰지만(p = 0.006)(문헌(Lowy et al., NEJM (2010) 362: 197-205) 또한 참조), 설사의 지속/중증도 또는 사망률에 영향을 미치지 못하였다(16). 이것은 이들 항체들이 감염의 재발을 예방하는 데에서만 유용할 수 있다는 것을 의미할 수 있다. 감염의 재발은 환자의 대략 25%에서 일어난다. 따라서, 이들 항체들이 효과적이지 않은 상당한 환자 집단이 존재할 것이다.

[0010] (예를 들면, TcdA로 인한 장 밀착 연결부에 대한 급성 손상의 결과로서) 설사 및 (예를 들면, TcdA보다 더 강력한 전신 독소 TcdB로 인한 장기적인 부족한 영양공급 상태, 탈수 스트레스 및 염증 캐스케이드의 개시, 장 내층에 대한 광범위한 해부학적 손상 및 가능하게는 멀리 떨어져 있는 장기에 대한 손상으로부터 비롯되는) 사망에 대한 긍정적인 영향을 미칠 수 있기 위해서는, 뛰어난 친화성, 독소 중화, TEER(경상피(trans-epithelial) 전기 저항성)의 손실의 뛰어난 예방, 항원 장식 및 항원 면역 제거 능력을 갖는 Mab가 요구된다.

발명의 내용

[0011] **본 발명의 요약**

- [0012] 본 발명은 클로스트리듐 디피실 감염(CDI)을 앓고 있는 인간에서 설사의 지속 및 중증도 및 사망률에 영향을 미칠 잠재력을 갖는, 매우 높은 수준의 시험관내 및 생체내 효능을 갖는 Mab(들)를 제공한다.
- [0013] 한 실시양태에서, 항원 TcdA 또는 TcdB에 대해 특이적인 단일클론 항체가 제공되고, 이때 상기 항체는 표적 항원에 대한 높은 친화성을 갖고 클로스트리듐 디피실 감염을 갖거나 상기 감염의 위험에 있는 환자에서 설사의 지속 및/또는 중증도 및 이환률을 감소시키는 데에 적합하다.
- [0014] 한 실시양태에서, TcdA 또는 TcdB에 대해 특이적인 Mab, 또는 2개 이상의 Mab들의 집단(TcdA에 대해 특이적인 하나 이상의 Mab 및 TcdB에 대해 특이적인 하나 이상의 Mab)이 제공되고, 이때 상기 또는 각각의 항체, 또는 항체들의 조합물의 EC₅₀은 200 ng/ml 이하, 예를 들면, 150 ng/ml 이하, 예컨대, 100 ng/ml이다.
- [0015] 본 개시의 항체들은 이들이 환자에서 일차 감염의 증상, 예컨대, 설사의 중증도 및 지속을 치료하거나 질환 증상의 재발만을 예방하지 않고 사망을 예방하는 수단을 제공할 것이기 때문에 유용하다.
- [0016] 적어도 몇몇 실시양태에서, 본 개시에 따른 항체는 고농도의 독소의 존재 하에서 효능의 감소를 보이지 않는다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1 내지 10은 다양한 항체 및 단편 서열을 보여준다.
- 도 11은 TcdA 및 TcdB에 대한 혈청 역가를 보여준다.
- 도 12는 단일 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 13은 단일 Mab들 및 쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 14 및 15는 쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 16 내지 18은 3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 19 및 20은 4개 및 5개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 21 및 22는 상이한 TcdA 농도에서 단일 Mab들 및 쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 23 및 24는 상이한 TcdA 농도에서 단일 Mab 및 5개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 25 및 26은 단일 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 27 내지 30은 쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 31 내지 33은 3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 34 내지 40은 상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 41 내지 45는 상이한 상대적인 Mab 비 및 상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터를 보여준다.
- 도 46 내지 59는 단일 항체 및 항체 쌍에 대한 TcdB 중화 데이터를 보여준다.
- 도 60은 TcdA에 대한 아미노산 서열을 보여준다.
- 도 61은 TcdB에 대한 아미노산 서열을 보여준다.
- 도 62는 TcdA에 대한 TEER 분석 데이터를 막대그래프 형식으로 보여준다.
- 도 62a는 TcdA에 대한 TEER 분석 데이터를 선그래프 형식으로 보여준다.
- 도 63은 항체 997, 1125 및 1151의 조합물에 대한 메이어-카플란 곡선을 보여주는데, 이때 고농도는 50 mg/kg 이고, 저농도는 5 mg/kg이고, 50 mg/kg 용량은 11일째 날까지 100% 보호를 제공하였고 28일째 날까지 약 82% 보호를 제공하였다. 5 mg/kg 용량은 지속불가능하고 불완전한 보호를 발생시켰다.
- 도 64는 반코마이신으로 치료된 햄스터 및 비히클로 치료된 햄스터에 대한 체중 변화를 보여준다.

도 65는 저용량 항체 5 mg/kg 및 고용량 항체 50 mg/kg를 사용한 경우 체중을 보여준다.

도 66은 본 개시에 따른 항체를 사용한 치료를 제공받은 동물의 결장 사진을 대조군과 비교하여 보여준다.

도 67 및 68은 항체 안정성에 대한 보텍싱의 효과를 보여준다.

도 69는 다양한 항체들에 대한 응집 안정성의 비교를 보여준다.

도 70 내지 73은 다양한 리보타입에 대한 TcdA의 중화를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 본원에서 사용된 바와 같이 특이적 특이적 항원만을 인식하는 항체를 의미하거나, 비특이적 항원과의 결합에 비해 특이적 항원에 대해 상당히 더 높은 결합 친화성, 예를 들면, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배 더 높은 결합 친화성을 갖는 항체를 의미하기 위한 것이다.
- [0019] 결합 친화성은 표준 분석, 예컨대, 표면 플라즈몬 공명, 예컨대, 비아코어(BIAcore)에 의해 측정될 수 있다.
- [0020] 한 실시양태에서, EC₅₀은 세포 배양 분석 및 환자에서 75, 70, 60, 65, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1.5 ng/ml 미만의 클로스트리듐 디피실 감염이다. 이것은 공지된 항체보다 상당히 더 낮고(더 강력하고) 본 개시의 항체가 치료를 받은 대상체의 생존에 유의한 긍정적인 영향을 미치는 이유에 대한 주요 요인인 것으로 생각된다.
- [0021] 본원에서 사용된 바와 같이 효능은 주어진 용량 또는 농도에서 적절한 생물학적 반응, 예를 들면, 유해한 독소 효과의 중화를 이끌어내는 항체의 능력이다. 효능의 예로는 독소 활성의 % 최대 중화(보호 정도), 항원에 대한 Mab의 가장 낮은 상대적 농도(예를 들면, EC₅₀), 중화 활성의 속도 및 지속성이 있다.
- [0022] 세포 배양 분석에서, 중화는 하기 효과들 중 하나 이상의 효과로서 관찰될 것이다: 독소와 세포의 결합 예방, 용액으로부터의 독소의 면역침전, 세포 형태 및 모양의 손실 예방, 세포골격 구조의 손실 예방, 세포 단일층 밀착 연결부 및 경상피 전기 저항성의 손실 예방, 세포 사멸의 예방, 아포토시스 및 전구염증성 사이토카인, 예컨대, TNF α , IL-1 β , IL-6 및 MIP1 α 의 생성.
- [0023] 조직 박편 및 이식편 분석에서, 중화는 예를 들면, 괴사 및/또는 부종액 축적의 예방으로서 관찰될 수 있다.
- [0024] 생체내 분석에서, 중화는 하기 효과들 중 하나 이상의 효과로서 관찰될 수 있다: 연결된 회장 고리에서의 체액 축적의 예방, 및 장 조직 괴사, 설사, 가성막 형성 또는 동물의 사망의 예방.
- [0025] 따라서, 한 실시양태에서, QASQISNALA(서열번호 1), SASSLAS(서열번호 2), QYTHYSHTSKNP(서열번호 3), GFTISSYYMS(서열번호 4), IISGGHFTWYANWAKG(서열번호 5) 및 AYVSGSSFNGYAL(서열번호 6)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 A 항체)가 제공된다.
- [0026] 한 실시양태에서, 서열 1 내지 3은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.
- [0027] 한 실시양태에서, 서열 4 내지 6은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.
- [0028] 한 실시양태에서, 서열번호 1은 CDR L1이고, 서열번호 2는 CDR L2이고, 서열번호 3은 CDR L3이다.
- [0029] 한 실시양태에서, 서열번호 4는 CDR H1이고, 서열번호 5는 CDR H2이고, 서열번호 6은 CDR H3이다.
- [0030] 한 실시양태에서, 서열번호 1은 CDR L1이고, 서열번호 2는 CDR L2이고, 서열번호 3은 CDR L3이고, 서열번호 4는 CDR H1이고, 서열번호 5는 CDR H2이고, 서열번호 6은 CDR H3이다.
- [0031] 한 실시양태에서, 서열번호 7의 하기 서열(항체 922 항-독소 A 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있고, 구축물은 본원에서 922.g1 VK(gL1)로서 지칭된다:
- DPVMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQISNALAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLASGVP
- [0032] SRFKGSQSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQYTHYSHTSKNPFGGGKVEIK
- [0033] 서열번호 7을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 1 및 이 도면의 서열번호 8에 제시되어 있다.
- [0034] 한 실시양태에서, 서열번호 9의 하기 서열(항체 922 항-독소 A 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역,

예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있고, 구축물은 본원에서 922.g1 VH(gH1)로서 지칭된다:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSYYMSWVRQAPGKGLEWIGIISSGGHFTW
YANWAKGRFTISSDSTTVYLQMNSLRDEDTATYFCARAYVSGSSFNGYALWGQGLVT
 VS

[0035]

서열번호 9를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 1 및 이 도면의 서열번호 10에 제시되어 있다.

[0036]

한 실시양태에서, 항체는 서열번호 7 및 9에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0037]

따라서, 한 실시양태에서, QASQISNYLA(서열번호 11), SASTLAS(서열번호 12), QYSHYGTGVFGA(서열번호 13), AFSLSNYYMS(서열번호 14), IISSGSNALKWYASWPKG(서열번호 15) 및 NYVSGSGSYGMDL(서열번호 16)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 A 항체)가 제공된다.

[0038]

한 실시양태에서, 서열 11 내지 13은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0039]

한 실시양태에서, 서열 14 내지 16은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0040]

한 실시양태에서, 서열번호 11은 CDR L1이고, 서열번호 12는 CDR L2이고, 서열번호 13은 CDR L3이다.

[0041]

한 실시양태에서, 서열번호 14는 CDR H1이고, 서열번호 15는 CDR H2이고, 서열번호 16은 CDR H3이다.

[0042]

한 실시양태에서, 서열번호 11은 CDR L1이고, 서열번호 12는 CDR L2이고, 서열번호 13은 CDR L3이고, 서열번호 14는 CDR H1이고, 서열번호 15는 CDR H2이고, 서열번호 16은 CDR H3이다.

[0043]

한 실시양태에서, 서열번호 17의 하기 서열(항체 923 항-독소 A 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있고, 구축물은 본원에서 CA923.g1 gL1로서 지칭된다:

[0044]

DVVMTQSPSSLSASVGDVRTITCQASQISNYLAWYQKPKGKPKLLIYSASTLASGVP
SRFKGSGSGTQFTLTISLQPEDVATYYCQYSHYGTGVFGAFGGGKVEIK

[0045]

서열번호 17을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 1 및 이 도면의 서열번호 18에 제시되어 있다.

[0046]

한 실시양태에서, 서열번호 19의 하기 서열(항체 923 항-독소 A 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있고, 구축물은 본원에서 CA923.g1 gH1로서 지칭된다:

[0047]

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAFSLSNYYMSWVRQAPGKGLEWIGIISSGSNAL
KWYASWPKGRFTISKDSTTVYLQMNSLRAEDTATYFCARNYVSGSGSYGMDLWGQG
 TLVTVS

[0048]

서열번호 19를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 2 및 이 도면의 서열번호 20에 제시되어 있다.

[0049]

한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 17 및 서열번호 19에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0050]

한 실시양태에서, QASQISSYFS(서열번호 21), GASTLAS(서열번호 22), QCTDYSGIYFGG(서열번호 23), GFSLSSYYMS(서열번호 24), IISGSSTFTWYASWAKG(서열번호 25) 및 AYGSSSYGFDP(서열번호 26)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 A 항체)가 제공된다.

[0051]

한 실시양태에서, 서열 21 내지 23은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0052]

한 실시양태에서, 서열 24 내지 26은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0053]

한 실시양태에서, 서열번호 21은 CDR L1이고, 서열번호 22는 CDR L2이고, 서열번호 23은 CDR L3이다.

[0054]

한 실시양태에서, 서열번호 24는 CDR H1이고, 서열번호 25는 CDR H2이고, 서열번호 26은 CDR H3이다.

[0055]

한 실시양태에서, 서열번호 21은 CDR L1이고, 서열번호 22는 CDR L2이고, 서열번호 23은 CDR L3이고, 서열번호 24는 CDR H1이고, 서열번호 25는 CDR H2이고, 서열번호 26은 CDR H3이다.

[0056]

한 실시양태에서, 서열번호 27의 하기 서열(항체 993 항-독소 A 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역,

[0057]

예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있고, 구축물은 본원에서 CA993.g1 gL1로서 지칭된다:

DVVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSISSYFSWYQQKPGKAPQLLIYGASTLASGV
SRFKGSSGTELTLISSLQPDDFATYYCQCTDYSGIYFGGFGGGTKVEIK

[0058]

서열번호 27을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 2 및 이 도면의 서열번호 28에 제시되어 있다.

[0059]

한 실시양태에서, 서열번호 29의 하기 서열(항체 993 항-독소 A 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있고, 구축물은 본원에서 CA993.g1 gH1로서 지칭된다:

EVQLVESGGGLVQPGGSLKSCTASGFSLSSYMSWVRQAPGKGLEWIGISSGSSTTF
TWYASWAKGRFTISKTSTTVYLQMNSLKTEDTATYFCARAYVGSSSYGFDPWGQGT
LVTVS

[0061]

서열번호 29를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 2 및 이 도면의 서열번호 30에 제시되어 있다.

[0062]

한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 27 및 서열번호 29에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0063]

한 실시양태에서, QASQSINNYFS(서열번호 31), GAANLAS(서열번호 32), QNNYGVHIYGAA(서열번호 33), GFSLSNYDMI(서열번호 34), FINTGGITYYASWAKG(서열번호 35) 및 VDDYIGAWGAGL(서열번호 36)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 A 항체)가 제공된다.

[0064]

한 실시양태에서, 서열 31 내지 33은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0065]

한 실시양태에서, 서열 34 내지 36은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0066]

한 실시양태에서, 서열번호 31은 CDR L1이고, 서열번호 32는 CDR L2이고, 서열번호 33은 CDR L3이다.

[0067]

한 실시양태에서, 서열번호 34는 CDR H1이고, 서열번호 35는 CDR H2이고, 서열번호 36은 CDR H3이다.

[0068]

한 실시양태에서, 서열번호 31은 CDR L1이고, 서열번호 32는 CDR L2이고, 서열번호 33은 CDR L3이고, 서열번호 34는 CDR H1이고, 서열번호 35는 CDR H2이고, 서열번호 36은 CDR H3이다.

[0069]

한 실시양태에서, 서열번호 37의 하기 서열(항체 995 항-독소 A 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

DVVMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNYFSWYQQKPGKAPKLLIYGAANLASGV
PSRFKGSGTEYTLTISSLQPDDFATYSCQNNYGVHIYGAAFGGGTKVEIK

[0071]

서열번호 37을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 3 및 이 도면의 서열번호 38에 제시되어 있다.

[0072]

한 실시양태에서, 서열번호 39의 하기 서열(항체 995 항-독소 A 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLSNYDMIWVRQAPGKGLEYIGFINTGGITYY
ASWAKGRFTISRDSSTVYLQMNSLRAEDTATYFCARVDDYIGAWGAGLWGQGTLVTV
S

[0074]

서열번호 39를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 3 및 이 도면의 서열번호 40에 제시되어 있다.

[0075]

한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 37 및 서열번호 39에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0076]

한 실시양태에서, QASQISSYLS(서열번호 41), RASTLAS(서열번호 42), LGVYGYSNDDGIA(서열번호 43), GIDLSSHMC(서열번호 44), VIYHFGSTYYANWATG(서열번호 45) 및 ASIAGYSAFDP(서열번호 46)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 A 항체)가 제공된다.

[0077]

한 실시양태에서, 서열 41 내지 43은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0078]

한 실시양태에서, 서열 44 내지 46은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0079]

한 실시양태에서, 서열번호 41은 CDR L1이고, 서열번호 42는 CDR L2이고, 서열번호 43은 CDR L3이다.

[0080]

한 실시양태에서, 서열번호 44는 CDR H1이고, 서열번호 45는 CDR H2이고, 서열번호 46은 CDR H3이다.

[0081]

- [0082] 한 실시양태에서, 서열번호 41은 CDR L1이고, 서열번호 42는 CDR L2이고, 서열번호 43은 CDR L3이고, 서열번호 44는 CDR H1이고, 서열번호 45는 CDR H2이고, 서열번호 46은 CDR H3이다.
- [0083] 한 실시양태에서, 서열번호 47의 하기 서열(항체 997 항-독소 A 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
ALVMTQSPSSFSASTGDRVITITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPS
RFSGSGSGTEYTLTISCLQSEDFATYYCLGVYGYSDDDGIAFGGGTKVEIK
- [0084] 서열번호 47을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 3 및 이 도면의 서열번호 48에 제시되어 있다.
- [0086] 한 실시양태에서, 서열번호 49의 하기 서열(항체 997 항-독소 A 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCTVSGIDLSSHMCWVRQAPGKGLYIGVIYHFGSTY
YANWATGRFTISKDSTTVYLQMNLSRAEDTATYFCARASIAGYSAFDPWGQGLVTVS
- [0087] 서열번호 49를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 4 및 이 도면의 서열번호 50에 제시되어 있다.
- [0088] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 47 및 서열번호 49에 제시된 가변 영역을 포함한다.
- [0090] 한 실시양태에서, QASQSIYSYLA(서열번호 51), DASTLAS(서열번호 52), QGNAYTSNSHDNA(서열번호 53), GIDLSSDAVG(서열번호 54), IATFDSTYYASWAKG(서열번호 55) 및 TGSWYYISGWGSYYGMDL(서열번호 56)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 A 항체)가 제공된다.
- [0091] 한 실시양태에서, 서열 51 내지 53은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.
- [0092] 한 실시양태에서, 서열 54 내지 56은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.
- [0093] 한 실시양태에서, 서열번호 51은 CDR L1이고, 서열번호 52는 CDR L2이고, 서열번호 53은 CDR L3이다.
- [0094] 한 실시양태에서, 서열번호 54는 CDR H1이고, 서열번호 55는 CDR H2이고, 서열번호 56은 CDR H3이다.
- [0095] 한 실시양태에서, 서열번호 51은 CDR L1이고, 서열번호 52는 CDR L2이고, 서열번호 53은 CDR L3이고, 서열번호 54는 CDR H1이고, 서열번호 55는 CDR H2이고, 서열번호 56은 CDR H3이다.
- [0096] 한 실시양태에서, 서열번호 57의 하기 서열(항체 1000 항-독소 A 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
EIVMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQSIYSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLASGVPS
SRFKGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQGNAYTSNSHDNAFGGGTKVEIK
- [0097] 서열번호 57을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 4 및 이 도면의 서열번호 58에 제시되어 있다.
- [0099] 한 실시양태에서, 서열번호 59의 하기 서열(항체 1000 항-독소 A 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
EVQLVESGGGLIQPGGSLRSLCTVSGIDLSSDAVGWVRQAPGKGLYIGIATFDSTYYA
SWAKGRFTISKASSTTVYLQMNLSRAEDTATYFCARTGWSWYYISGWGSYYGMDLW
GQGLVTVS
- [0100] 서열번호 59를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 4 및 이 도면의 서열번호 60에 제시되어 있다.
- [0102] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 57 및 서열번호 59에 제시된 가변 영역을 포함한다.
- [0103] 한 실시양태에서, RASKSVSTLMH(서열번호 61), LASNLES(서열번호 62), QQTWNDPWT(서열번호 63), GFTFSNYGMA(서열번호 64), SSISSGGSTYYRDSVKG(서열번호 65) 및 VIRGYVMDA(서열번호 66)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.
- [0104] 한 실시양태에서, 서열 61 내지 63은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.
- [0105] 한 실시양태에서, 서열 64 내지 66은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

- [0106] 한 실시양태에서, 서열번호 61은 CDR L1이고, 서열번호 62는 CDR L2이고, 서열번호 63은 CDR L3이다.
- [0107] 한 실시양태에서, 서열번호 64는 CDR H1이고, 서열번호 65는 CDR H2이고, 서열번호 66은 CDR H3이다.
- [0108] 한 실시양태에서, 서열번호 61은 CDR L1이고, 서열번호 62는 CDR L2이고, 서열번호 63은 CDR L3이고, 서열번호 64는 CDR H1이고, 서열번호 65는 CDR H2이고, 서열번호 66은 CDR H3이다.
- [0109] 한 실시양태에서, 서열번호 67의 하기 서열(항체 926 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
DTVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTLMHWFQQKPGQAPKLLIYLASNLESGVP
ARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQTWNDPWTFGGGKVEIK
- [0110]
- [0111] 서열번호 67을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 5 및 이 도면의 서열번호 68에 제시되어 있다.
- [0112] 한 실시양태에서, 서열번호 69의 하기 서열(항체 926 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
EVELLESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTFSNYGMAWVRQAPTKGLEWVTSISSSGGST
YYRDSVKGRFTISRDNKSSLYLQMNLSRAEDTATYYCTTVIRGYVMDAWGQGLTVT
 VS
- [0113]
- [0114] 서열번호 69를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 5 및 이 도면의 서열번호 70에 제시되어 있다.
- [0115] 한 실시양태에서, RASGSVSTLMH(서열번호 71), KASNLAS(서열번호 72), HQSWNSDT(서열번호 73), GFTFSNYGMA(서열번호 74), TINYDGRTHYRDSVKG(서열번호 75) 및 ISRSHYFDC(서열번호 76)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.
- [0116] 한 실시양태에서, 서열 71 내지 73은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.
- [0117] 한 실시양태에서, 서열 74 내지 76은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.
- [0118] 한 실시양태에서, 서열번호 71은 CDR L1이고, 서열번호 72는 CDR L2이고, 서열번호 73은 CDR L3이다.
- [0119] 한 실시양태에서, 서열번호 74는 CDR H1이고, 서열번호 75는 CDR H2이고, 서열번호 76은 CDR H3이다.
- [0120] 한 실시양태에서, 서열번호 71은 CDR L1이고, 서열번호 72는 CDR L2이고, 서열번호 73은 CDR L3이고, 서열번호 74는 CDR H1이고, 서열번호 75는 CDR H2이고, 서열번호 76은 CDR H3이다.
- [0121] 한 실시양태에서, 서열번호 77의 하기 서열(항체 927 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
DTQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASGSVSTLMHWYQQKPGKAPKLLIYKASNLASGV
PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAFYCHQSWNSDTIFGQGTRLEIK
- [0122]
- [0123] 서열번호 77을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 5 및 이 도면의 서열번호 78에 제시되어 있다.
- [0124] 한 실시양태에서, 서열번호 79의 하기 서열(항체 927 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMAWVRQAPGKGLEWVATINYDGRT
THYRDSVKGRFTISRDNKSTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTSISRSHYFDCWGQGLTVT
 VS
- [0125]
- [0126] 서열번호 79를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 5 및 이 도면의 서열번호 80에 제시되어 있다.
- [0127] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 77 및 서열번호 79에 제시된 가변 영역을 포함한다.
- [0128] 한 실시양태에서, KASKSISNHLA(서열번호 81), SGSTLQS(서열번호 82), QQYDEYPYT(서열번호 83), GFSLQSYTIS(서열번호 84), AISGGGSTYYNPLKLS(서열번호 85) 및 PRWYPRSYFDY(서열번호 86)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.
- [0129] 한 실시양태에서, 서열 81 내지 83은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

- [0130] 한 실시양태에서, 서열 84 내지 86은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.
- [0131] 한 실시양태에서, 서열번호 81은 CDR L1이고, 서열번호 82는 CDR L2이고, 서열번호 83은 CDR L3이다.
- [0132] 한 실시양태에서, 서열번호 84는 CDR H1이고, 서열번호 85는 CDR H2이고, 서열번호 86은 CDR H3이다.
- [0133] 한 실시양태에서, 서열번호 81은 CDR L1이고, 서열번호 82는 CDR L2이고, 서열번호 83은 CDR L3이고, 서열번호 84는 CDR H1이고, 서열번호 85는 CDR H2이고, 서열번호 86은 CDR H3이다.
- [0134] 한 실시양태에서, 서열번호 87의 하기 서열(항체 1099 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
DVQLTQSPSFLSASVGDVRTITCKASKSISNHLAWYQEKP GKANKLLIHSGSTLQSGTP
SRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQOYDEYPYTFGQGTRLEIKRT
- [0136] 한 실시양태에서, 서열번호 87의 마지막 2개 아미노산(RT)이 누락된다.
- [0137] 서열번호 87을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 6 및 이 도면의 서열번호 88에 제시되어 있다. 한 실시양태에서, 마지막 2개 아미노산(RT)을 코딩하는 코돈이 누락된다.
- [0138] 한 실시양태에서, 서열번호 89의 하기 서열(항체 1099 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
EVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGFSLQSYTISWVRQPPGKGLEWIAAISGGGSTYY
NLPLKSRVTISRDTSKSQVSLKLSVTAADTAVYYCTRPRWYPRSYFDYWGRGTLVTVS
- [0139] 서열번호 89를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 6 및 이 도면의 서열번호 90에 제시되어 있다.
- [0141] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 87 및 서열번호 89에 제시된 가변 영역을 포함한다.
- [0142] 한 실시양태에서, RASQRISTSIH(서열번호 91), YASQSI(서열번호 92), QQSYSSLYT(서열번호 93), GFTFSDSYMA(서열번호 94), SISYGGTIIQYGDVSKG(서열번호 95) 및 RQGTARYLDF(서열번호 96)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.
- [0143] 한 실시양태에서, 서열 91 내지 93은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.
- [0144] 한 실시양태에서, 서열 94 내지 96은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.
- [0145] 한 실시양태에서, 서열번호 91은 CDR L1이고, 서열번호 92는 CDR L2이고, 서열번호 93은 CDR L3이다.
- [0146] 한 실시양태에서, 서열번호 94는 CDR H1이고, 서열번호 95는 CDR H2이고, 서열번호 96은 CDR H3이다.
- [0147] 한 실시양태에서, 서열번호 91은 CDR L1이고, 서열번호 92는 CDR L2이고, 서열번호 93은 CDR L3이고, 서열번호 94는 CDR H1이고, 서열번호 95는 CDR H2이고, 서열번호 96은 CDR H3이다.
- [0148] 한 실시양태에서, 서열번호 97의 하기 서열(항체 1102 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
NIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQRISTSIHWYQKPGQAPRLLIKYASQSI
SGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQOYDEYPYTFGQGTRLEIKRT
- [0149] 서열번호 97을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 6 및 이 도면의 서열번호 98에 제시되어 있다.
- [0151] 한 실시양태에서, 서열번호 99의 하기 서열(항체 1102 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSDSYMAWVRQAPGKGLEWIASISYGGTIIQ
YGDVSKGRFTISRDNKSSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARRQGTARYLDFWGGTLV
TVS
- [0152] 서열번호 99를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 7 및 이 도면의 서열번호 100에 제시되어 있다.
- [0154] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 97 및 서열번호 99에 제시된 가변 영역을 포함한다.
- [0155] 한 실시양태에서, RASESVSTLLH(서열번호 101), KASNLAS(서열번호 102), HQSWNSPPT(서열번호 103), GFTFSNYGMA

(서열번호 104), IINYDASTTHYRDSVKG(서열번호 105) 및 YGRSHYFDY(서열번호 106)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.

[0156] 한 실시양태에서, 서열 101 내지 103은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0157] 한 실시양태에서, 서열 104 내지 106은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0158] 한 실시양태에서, 서열번호 101은 CDR L1이고, 서열번호 102는 CDR L2이고, 서열번호 103은 CDR L3이다.

[0159] 한 실시양태에서, 서열번호 104는 CDR H1이고, 서열번호 105는 CDR H2이고, 서열번호 106은 CDR H3이다.

[0160] 한 실시양태에서, 서열번호 101은 CDR L1이고, 서열번호 102는 CDR L2이고, 서열번호 103은 CDR L3이고, 서열번호 104는 CDR H1이고, 서열번호 105는 CDR H2이고, 서열번호 106은 CDR H3이다.

[0161] 한 실시양태에서, 서열번호 107의 하기 서열(항체 1114 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

ATQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVSTLLHWYQQKPGKAPKLLIYKASNLASGVP
SRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCHQSWNSPPTFGQGTKLEIK

[0162] 서열번호 107을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 7 및 이 도면의 서열번호 108에 제시되어 있다.

[0164] 한 실시양태에서, 서열번호 109의 하기 서열(항체 1114 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMAWVRQAPGKGLEWVAIINYDAST
THYRDSVKGRFTISRDNKSSLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRYGRSHYFDYWGQGTLV

[0165] TVS

[0166] 서열번호 109를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 7 및 이 도면의 서열번호 110에 제시되어 있다.

[0167] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 107 및 서열번호 109에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0168] 한 실시양태에서, RASESVSTLLH(서열번호 111), KASNLAS(서열번호 112), HQSWNSPPT(서열번호 113), GFTFSNYGMA(서열번호 114), IINYDASTTHYRDSVK(서열번호 115) 및 YGRSHYFDY(서열번호 116)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.

[0169] 한 실시양태에서, 서열 111 내지 113은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0170] 한 실시양태에서, 서열 114 내지 116은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0171] 한 실시양태에서, 서열번호 111은 CDR L1이고, 서열번호 112는 CDR L2이고, 서열번호 113은 CDR L3이다.

[0172] 한 실시양태에서, 서열번호 114는 CDR H1이고, 서열번호 115는 CDR H2이고, 서열번호 116은 CDR H3이다.

[0173] 한 실시양태에서, 서열번호 111은 CDR L1이고, 서열번호 112는 CDR L2이고, 서열번호 113은 CDR L3이고, 서열번호 114는 CDR H1이고, 서열번호 115는 CDR H2이고, 서열번호 116은 CDR H3이다.

[0174] 한 실시양태에서, 서열번호 117의 하기 서열(항체 1114 이식 8 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

DTVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVSTLLHWYQQKPGKAPKLLIYKASNLASGVP
SRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCHQSWNSPPTFGQGTKLEIK

[0175] 서열번호 117을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 8 및 이 도면의 서열번호 118에 제시되어 있다.

[0177] 한 실시양태에서, 서열번호 119의 하기 서열(항체 1114 이식 8 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMAWVRQAPGKGLEWVAIINYDAST
THYRDSVKGRFTISRDNKSSLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRYGRSHYFDYWGQGTLV

[0178] TVS

[0179] 서열번호 119를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 8 및 이 도면의 서열번호 120에 제시되어 있다.

- [0180] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 117 및 서열번호 119에 제시된 가변 영역을 포함한다.
- [0181] 한 실시양태에서, KASQNIYMYLN(서열번호 121), NTKLHT(서열번호 122), LQHKSFPYT(서열번호 123), GFTFRDSFMA(서열번호 124), SISYEGDKTYYGDSVKG(서열번호 125) 및 LTITTSVGS(서열번호 126)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.
- [0182] 한 실시양태에서, 서열 121 내지 123은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.
- [0183] 한 실시양태에서, 서열 124 내지 126은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.
- [0184] 한 실시양태에서, 서열번호 121은 CDR L1이고, 서열번호 122는 CDR L2이고, 서열번호 123은 CDR L3이다.
- [0185] 한 실시양태에서, 서열번호 124는 CDR H1이고, 서열번호 125는 CDR H2이고, 서열번호 126은 CDR H3이다.
- [0186] 한 실시양태에서, 서열번호 121은 CDR L1이고, 서열번호 122는 CDR L2이고, 서열번호 123은 CDR L3이고, 서열번호 124는 CDR H1이고, 서열번호 125는 CDR H2이고, 서열번호 126은 CDR H3이다.
- [0187] 한 실시양태에서, 서열번호 127의 하기 서열(항체 1125 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
- DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNIYMYLNWYQKPGKAPKRLIYNTNKLHTGV
 PSRFGSGSGTEYTLTISLQPEDFATYYCLQHKSFPYTFGQGTKLEIK
- [0188] 서열번호 127을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 8 및 이 도면의 서열번호 128에 제시되어 있다.
- [0189] 한 실시양태에서, 서열번호 129의 하기 서열(항체 1125 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
- EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFRDSFMAWVRQAPGKGLEWVASISYEGDK
 TYYGDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLTITTSVGSWVGQGMV
 TVSS
- [0190] 한 실시양태에서, 서열번호 129의 마지막 아미노산(S)은 누락된다.
- [0191] 서열번호 129를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 9 및 이 도면의 서열번호 130에 제시되어 있다. 한 실시양태에서, 마지막 아미노산 S를 코딩하는 코돈 AGC는 누락된다.
- [0192] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 127 및 서열번호 129에 제시된 가변 영역을 포함한다.
- [0193] 한 실시양태에서, KASQHVGTNVD(서열번호 131), GASIRYT(서열번호 132), LQYNYNPYT(서열번호 133), GFIFSNFGMS(서열번호 134), SISPSGGNAYYRDSVKG(서열번호 135) 및 RAYSSPFAF(서열번호 136)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.
- [0194] 한 실시양태에서, 서열 131 내지 133은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.
- [0195] 한 실시양태에서, 서열 134 내지 136은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.
- [0196] 한 실시양태에서, 서열번호 131은 CDR L1이고, 서열번호 132는 CDR L2이고, 서열번호 133은 CDR L3이다.
- [0197] 한 실시양태에서, 서열번호 134는 CDR H1이고, 서열번호 135는 CDR H2이고, 서열번호 136은 CDR H3이다.
- [0198] 한 실시양태에서, 서열번호 131은 CDR L1이고, 서열번호 132는 CDR L2이고, 서열번호 133은 CDR L3이고, 서열번호 134는 CDR H1이고, 서열번호 135는 CDR H2이고, 서열번호 136은 CDR H3이다.
- [0199] 한 실시양태에서, 서열번호 137의 하기 서열(항체 1129 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:
- DTQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQHVGTNVDWYQKPGKVPKLLIYGASIRYTG
 V
 PDRFTGSGSGTDFLTISLQPEDVATYYCLQYNYNPYTFGQGTKLEIK
- [0200] 서열번호 137을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 8 및 이 도면의 서열번호 138에 제시되어 있다.
- [0201] 한 실시양태에서, 서열번호 139의 하기 서열(항체 1129 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변

영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFIFSNFGMSWVRQAPGKGLEWVASISPSGGNA
YYRDSVKGRFTISRDNKSTTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRRAYSSPFAFWGQGLTVT
SS

[0205]

한 실시양태에서, 서열번호 139의 마지막 아미노산(S)은 누락된다.

[0207]

서열번호 139를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 8 및 이 도면의 서열번호 140에 제시되어 있다. 한 실시양태에서, 마지막 아미노산 S를 코딩하는 코돈 AGC는 누락된다.

[0208]

한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 137 및 서열번호 139에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0209]

한 실시양태에서, KASKSISNHLA(서열번호 141), SGSTLQP(서열번호 142), QQYDEYPYT(서열번호 143), GFSLNSYTIT(서열번호 144), AISGGGTYFNLSALKS(서열번호 145) 및 PRWYPRSYFDY(서열번호 146)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.

[0210]

한 실시양태에서, 서열 141 내지 143은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0211]

한 실시양태에서, 서열 144 내지 146은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0212]

한 실시양태에서, 서열번호 141은 CDR L1이고, 서열번호 142는 CDR L2이고, 서열번호 143은 CDR L3이다.

[0213]

한 실시양태에서, 서열번호 144는 CDR H1이고, 서열번호 145는 CDR H2이고, 서열번호 146은 CDR H3이다.

[0214]

한 실시양태에서, 서열번호 141은 CDR L1이고, 서열번호 142는 CDR L2이고, 서열번호 143은 CDR L3이고, 서열번호 144는 CDR H1이고, 서열번호 145는 CDR H2이고, 서열번호 146은 CDR H3이다.

[0215]

한 실시양태에서, 서열번호 147의 하기 서열(항체 1134 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

DVQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASKSISNHLAWYQEKPGKANKLLIHSGSTLQPGTP
SRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQYDEYPYTFGQGTRLEIK

[0216]

서열번호 147을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 9 및 이 도면의 서열번호 148에 제시되어 있다.

[0218]

한 실시양태에서, 서열번호 149의 하기 서열(항체 1134 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLNSYTITWVRQPPGKGLEWIAAISGGGTYFN
SALKSRVTISRDTSKSQVSLKLSVTAADTAVYYCTRPRWYPRSYFDYWGRGTLTVTS

[0219]

서열번호 149를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 9 및 이 도면의 서열번호 150에 제시되어 있다.

[0221]

한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 147 및 서열번호 149에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0222]

한 실시양태에서, KASQNVGNVA(서열번호 151), YASNRF(서열번호 152), QRVYQSTWT(서열번호 153), GFSLTSYYVH(서열번호 154), CIRTGGNTEYQSEFKS(서열번호 155) 및 GNYGFAY(서열번호 156)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.

[0223]

한 실시양태에서, 서열 151 내지 153은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0224]

한 실시양태에서, 서열 154 내지 156은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0225]

한 실시양태에서, 서열번호 151은 CDR L1이고, 서열번호 152는 CDR L2이고, 서열번호 153은 CDR L3이다.

[0226]

한 실시양태에서, 서열번호 154는 CDR H1이고, 서열번호 155는 CDR H2이고, 서열번호 156은 CDR H3이다.

[0227]

한 실시양태에서, 서열번호 151은 CDR L1이고, 서열번호 152는 CDR L2이고, 서열번호 153은 CDR L3이고, 서열번호 154는 CDR H1이고, 서열번호 155는 CDR H2이고, 서열번호 156은 CDR H3이다.

[0228]

한 실시양태에서, 서열번호 157의 하기 서열(항체 1151 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

AIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNVAWYQHKPGKAPKLLIYYASNRFTGV
PSRFTGGGYGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQRVYQSTWTFGQGTKVEIK

[0229]

서열번호 157을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 9 및 이 도면의 서열번호 158에 제시되어 있다.

[0230]

한 실시양태에서, 서열번호 159의 하기 서열(항체 1151 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

[0231]

EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTSYYVHWVRQPPGKGLEWMGCIRTGGNTE
YQSEFKSRVTISRDTSKNQVSLKLVSSVTAADTAVYYCARGNYGFAYWGQGLTVTS

[0232]

서열번호 159를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 9 및 이 도면의 서열번호 160에 제시되어 있다.

[0233]

한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 157 및 서열번호 159에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0234]

한 실시양태에서, KASQNKYLD(서열번호 161), NIQLHT(서열번호 162), FQHNSGW(서열번호 163), GFTFTQAAMF(서열번호 164), RISTKSNFATYYPDSVKG(서열번호 165) 및 PAYYDGTVPFAY(서열번호 166)로부터 선택된 CDR, 예컨대, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함하는 항체(예를 들면, 항-독소 B 항체)가 제공된다.

[0235]

한 실시양태에서, 서열 161 내지 163은 상기 항체의 경쇄에 존재한다.

[0236]

한 실시양태에서, 서열 164 내지 166은 상기 항체의 중쇄에 존재한다.

[0237]

한 실시양태에서, 서열번호 161은 CDR L1이고, 서열번호 162는 CDR L2이고, 서열번호 163은 CDR L3이다.

[0238]

한 실시양태에서, 서열번호 164는 CDR H1이고, 서열번호 165는 CDR H2이고, 서열번호 166은 CDR H3이다.

[0239]

한 실시양태에서, 서열번호 161은 CDR L1이고, 서열번호 162는 CDR L2이고, 서열번호 163은 CDR L3이고, 서열번호 164는 CDR H1이고, 서열번호 165는 CDR H2이고, 서열번호 166은 CDR H3이다.

[0240]

한 실시양태에서, 서열번호 167의 하기 서열(항체 1153 항-독소 B 항체; 경쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 경쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

[0241]

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNKYLDWYQKPGKVPKLLIYNIQLHTGIPS
RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCFQHNSGWTFGQGRLEIK

[0242]

서열번호 167을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 10 및 이 도면의 서열번호 168에 제시되어 있다.

[0243]

한 실시양태에서, 서열번호 169의 하기 서열(항체 1153 항-독소 B 항체 중쇄 가변 영역 서열)을 갖는 가변 영역, 예컨대, 중쇄 가변 영역이 제공되고, 이때 CDR들은 밑줄로 표시되어 있다:

[0244]

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFTQAAMFWVRQASGKGLEGIARISTKSNNF
ATYYPDSVKGRFTISRDDSKNTVYLMNSLKTEDTAVYYCTAPAYYYDGTVPFAYWG
QGLTVTS

[0245]

서열번호 169를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 도 10 및 이 도면의 서열번호 170에 제시되어 있다.

[0246]

한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열번호 167 및 서열번호 169에 제시된 가변 영역을 포함한다.

[0247]

한 실시양태에서, 서열번호 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 161, 162, 163, 164, 165 및 166으로부터 독립적으로 선택된 6개 CDR들을 포함하는 항체가 제공된다.

[0248]

한 실시양태에서, 서열번호 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 51, 52, 53, 54, 55 및 56으로부터 독립적으로 선택된 6개의 CDR들을 포함하는 항-TcdA 항체가 제공된다.

[0249]

한 실시양태에서, 서열번호 61, 62, 63, 64, 65, 66, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 121, 122, 123, 124,

[0250]

125, 126, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 161, 162, 163, 164, 165 및 166으로부터 독립적으로 선택된 6개의 CDR들을 포함하는 항-TcdB 항체가 제공된다.

- [0251] 한 실시양태에서, 서열번호 7, 9, 17, 19, 27, 29, 37, 39, 47, 49, 57, 59, 67, 69, 77, 79, 87, 89, 97, 99, 107, 109, 117, 119, 127, 129, 137, 139, 147, 149, 157 및 159로부터 독립적으로 선택된 2개의 가변 영역을 포함하는 항체가 제공된다.
- [0252] 한 실시양태에서, 서열번호 7, 9, 17, 19, 27, 29, 37, 39, 47, 49, 57 및 59로부터 독립적으로 선택된 2개의 가변 영역을 포함하는 항체가 제공된다.
- [0253] 한 실시양태에서, 서열번호 67, 69, 77, 79, 87, 89, 97, 99, 107, 109, 117, 119, 127, 129, 137, 139, 147, 149, 157 및 159로부터 독립적으로 선택된 2개의 가변 영역을 포함하는 항체가 제공된다.
- [0254] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 인간화되어 있다.
- [0255] 한 실시양태에서, 항체 또는 항체들은 TcdA 및/또는 TcdB 독소의 C 말단 "세포 결합" 부분에 관한 것이다.
- [0256] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 독소 A 또는 독소 B를 중화시키는 데에 적합하다.
- [0257] 본원에서 사용된 바와 같이 중화는 표적 독소의 유해한/해로운 효과의 제거 또는 감소, 예를 들면, 관련 유해한 효과의 50% 이상의 감소를 의미하기 위한 것이다.
- [0258] 본 발명자들은 본원에서 발견된 항체들 사이의 내부 비교, 및 당분야(Babcock et al. 2006; Lowy et al., 2010)에서 잘 공지된 항체들 사이의 비교를 이용함으로써 몇몇 항체들이 높은 독소 농도에서조차도 효과적인 중화(예를 들면, 낮은 EC₅₀ 및 높은 % 보호)를 유지하는 바람직한 특성을 갖는다는 것을 확립하였다. 당분야에서 공지된 항체들을 포함하는 다른 항체들은 높은 독소 농도에서 효과적인 독소 중화를 유지하지 못한다.
- [0259] 효과적인 독소 농도는 중화 항체의 부재 하에 적정 연구에서 '치사량'(LD)으로서 정의될 수 있다. 중화 분석은 전형적으로 완전한 세포 사멸의 50%의 LD(즉, LD₅₀)에서 수행되지만, LD₈₀에서 보다 엄격히 수행될 수 있다.
- [0260] 분석은 상당히 더 공격적인 조건, 예컨대, LD₉₀, LD₉₅ 및/또는 LD_{최대}(LD_{최대}는 분석 부피 및 최대 독소 농도/가용성에 의해 제한될 때 분석에 포함될 수 있는 최대 독소 양임) 하에서 수행될 수도 있다. 이러한 분석은 장 내에서의 클로스트리듐 디피실 생장이 견잡을 수 없고 설사 및 다른 증상으로부터 독소 농도가 그의 최고치에 있다는 가설이 도출될 때 인간 감염의 초기 단계를 모방하는 것을 목적으로 한다. 본 발명자들은 높은 독소 농도 조건 하에서 손상 독소 활성을 효과적으로 중화시키는 항체가 인간 감염에서 증상의 제어를 위한 특별한 임상적 가치를 갖는다고 생각한다. 한 실시양태에서, 본 개시의 항체 또는 항체들은 LD₈₀, LD₉₀, LD₉₅ 및/또는 LD_{최대} 중 하나 이상에 대해 유용한, 예를 들면, 낮은 EC₅₀ 값 및/또는 세포 사멸로부터의 높은 % 보호를 갖는다. 한 실시양태에서, 후자 상황들 중 하나 이상에서 EC₅₀은 15 ng/ml 이하, 예를 들면, 10 ng/ml 이하, 예컨대, 5 ng/ml 이하, 특히 1 ng/ml 이하이다. 한 실시양태에서, 세포 사멸로부터의 % 보호는 >90%, >75% 또는 >50%이다.
- [0261] 따라서, 한 실시양태에서, 본 개시는 예를 들면, 본원에서 제공된 분석에서 측정될 때 높은 수준의 독소의 존재 하에서조차도 독소 중화를 유지하는 항체 또는 항체들의 조합물을 제공한다.
- [0262] 독소의 유해한 효과는 예를 들면, 적합한 시험관내 분석에서 측정될 수 있다. 한 실시양태에서, 중화는 하기 실시예 1에서 제공된 분석에서 측정된다. 중화 분석에서 확인된 항체 또는 항체들도 제공되고, 예를 들면, 이때 항체의 효능은 높은 수준의 독소의 존재 하에서 유지된다.
- [0263] 독소 A는 TcdA와 상호교환가능하게 사용된다.
- [0264] 독소 B는 TcdB와 상호교환가능하게 사용된다.
- [0265] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 단일클론 항체 또는 이의 결합 단편이다.
- [0266] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 단일클론 항체는 매우 높은 효능 및 친화성으로 TcdA를 중화시킬 수 있다.
- [0267] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 단일클론 항체는 매우 높은 효능 및 친화성, 및 높은 친화력으로 TcdA를 중화시킬 수 있다.

- [0268] 본원에서 사용된 바와 같이 친화력은 다중 결합 친화성의 조합된 강도를 의미한다.
- [0269] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 단일클론 항체는 매우 높은 효능 및 친화성, 및 높은 친화력 및 높은 결합가로 TcdA를 중화시킬 수 있다.
- [0270] 본원에서 사용된 바와 같이 결합가는 항원에 다회 결합하는 단일클론 항체의 능력을 의미한다. 따라서, 높은 결합가는 항체에 의한 높은 수준의 항원 장식 및/또는 독소 분자의 높은 수준의 가교연결을 야기하고, 이것은 유리한 것으로 생각된다.
- [0271] 본 개시에 따른 항-TcdA Mab들은 예를 들면, 세포에 대한 TcdA의 초기 효과, 예컨대, 밀착 연결부의 손실을 중화시키는 데에 적합할 수 있다.
- [0272] 본원에서 사용된 바와 같이 밀착 연결부는 단일층 또는 해부학적 조직 구조 내의 세포들 사이의 투과불가능한 연결 대역을 의미하기 위한 것이다. 밀착 연결부가 그의 구조적 및 기능적 통합성을 보유할 때 체액 손실이 일어나지 않는다. 밀착 연결부의 손실은 세포가 독소에 의해 손상되었다는 표시이고 TcdA 및 TcdB의 독소 효과에 있어서 초기 단계인 것으로서 잘 기재되어 있고(25) 혈청, 면역글로불린 및 이온을 함유하는 체액의 손실을 초래한다(26 및 3). 밀착 연결부의 손실은 인간에서 설사의 발생에 대한 초기 단계인 것으로 생각된다.
- [0273] TEER 분석 시스템은 시험관내에서 밀착 연결부의 손실을 측정하는 데에 사용될 수 있다. TEER은 경상피 전기 저항성 분석에 대한 두문자어이고 장 내피 내층을 대표하는 분화된 세포층의 투과성을 측정하는 데에 일반적으로 사용된다. 그러나, 항체에 대한 스크리닝과 관련하여, TEER 손실은 밀착 연결부에 대한 손상을 지연시키거나 예방하여 설사를 유발하는 조직 손상으로부터의 보호를 위한 대용물인 항체를 확인하는 데에 사용될 수 있다.
- [0274] 종종 Caco-2 세포들은 이들이 인간 결장 세포로부터 유래되고 밀착 연결부에 의해 연결된 세포를 갖는 분화된 단일층을 형성하는 것으로 공지되어 있기 때문에 사용된다. Caco-2 바이오코트(BioCoat) HTS 플레이트 시스템 (비디 바이오사이언시스(BD Biosciences)/354802)으로 명명된 키트가 벡톤-딕킨슨(Becton-Dickinson)으로부터 상업적으로 입수될 수 있다. 상기 키트 내의 설명서는 본 문맥에서의 시험에 적합하다. 막의 저항성은 막이 손상되어 있을 때 변화한다.
- [0275] 일반적으로, 항체는 이 항체가 독소에 의해 야기된 막에 대한 손상을 예방할 수 있거나 지연시킬 수 있는지를 확립하기 위해 TEER 시스템에 첨가되기 전에 독소와 함께 예비항온처리될 것이다. 특정 시점에서 측정하면서 적합한 기간, 예를 들면, 24시간에 걸쳐 상기 분석을 수행할 수 있다. 본 발명자들은 4시간 시점이 특히 치료적으로 유용한 항체를 구별한다는 것을 확립하였다. TEER 분석에서 사용된 독소의 농도는 일반적으로 100 내지 200 ng/ml의 범위, 가장 바람직하게는 125 ng/ml이다.
- [0276] TEER 분석에서 사용된 항체(예를 들면, IgG1)의 농도는 일반적으로 4 내지 2000 ng/ml, 예를 들면, 50 내지 1000 ng/ml, 예컨대, 100 내지 500 ng/ml의 범위 내에 있다.
- [0277] 한 실시양태에서, 상기 조건에서 사용된 TEER 분석에서 항체의 EC₅₀은 200 ng/ml 이상, 예를 들면, 100 ng/ml 미만, 예컨대, 약 60 내지 80 ng/ml이다.
- [0278] 한 실시양태에서, 클로스트리듐 디피실 감염의 치료 또는 예방에 있어서 치료제로서 사용되기에 적합한 항-TcdA 항체 또는 항-TcdB 항체가 제공되고, 이때 상기 항체는 TEER 분석을 사용함으로써 스크리닝되고 선택되었다.
- [0279] 한 양태에서, 밀착 연결부의 손실을 지연시키거나 예방하는 능력에 대해 TEER 분석에서 항체를 스크리닝하는 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 스크리닝된 항체 또는 항체들은 항-TcdA 항체이다. 한 실시양태에서, 스크리닝된 항체 또는 항체들은 항-TcdB 항체이다. 한 실시양태에서, 스크리닝된 항체 또는 항체들은 항-TcdA 항체와 항-TcdB 항체의 조합물이다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 적절한 항체 또는 항체들을 확인하고 적합한 양의 상기 항체 또는 항체들을 발현시키는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 상기 항체 또는 항체들을 약학 제제로 제제화하는 추가 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 상기 항체 또는 항체들, 또는 상기 제제를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 추가 단계를 포함한다.
- [0280] 한 실시양태에서, 본 개시의 다수의 항체들은 표적 독소(TcdA 또는 TcdB)에 결합할 수 있고, 이것은 상기 독소의 면역 제거를 도울 수 있다.
- [0281] 본원에서 사용된 바와 같이 "다수의 항체들"은 동일한 서열을 갖는 다수의 카피의 항체, 동일한 아미노산 서열을 갖는 다수의 카피의 항체, 또는 동일한 표적 항원에 대해 특이적이되 상이한 아미노산 서열을 갖는 다수의 카피의 항체를 의미하기 위한 것이다.

- [0282] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 표적 항원에 대해 특이적, 예를 들면, 표적 항원의 에피토프에 대해 특이적이다.
- [0283] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 2개 이상의 위치, 예를 들면, 2개 또는 3개의 위치, 예컨대, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개 이상의 위치에서 표적 항원에 결합할 수 있다(예를 들면, 독소는 반복 도메인을 포함할 수 있으므로, 항체는 사실상 항원에 수회 존재할 수 있는, 즉 1개 초과 위치에서 존재할 수 있는 에피토프에 대해 특이적일 수 있다). 따라서, 주어진 항체는 항원의 상이한 위치들에서 동일한 에피토프에 다회 결합할 수 있다.
- [0284] 한 실시양태에서, 항체는 주어진 항원에 다회, 예를 들면, 2회 내지 20회, 예컨대, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회, 11회, 12회, 13회, 14회, 15회 또는 16회에 결합한다. 한 실시양태에서, 항체는 주어진 항원에 3회 이상 결합한다. 이 다중 결합은 독소의 중화 및/또는 제거에 있어서 중요한 것으로 생각된다. 이론에 의해 구속받고자 하지 않지만, 다중 결합, 예를 들면, 3회 이상의 결합, 즉 3개 이상의 Fc 단편들에 의한 장식은 주로 간 및 비장(27 및 28)을 통한 독소의 신속한 제거(24)를 유발하는 데에 있어서 중요하다고 생각된다.
- [0285] 한 실시양태에서, 항-TcdA 항체는 3회 이상, 예를 들면, 3회 내지 16회 결합한다.
- [0286] 한 실시양태에서, 항-TcdA 항체는 12회 결합한다.
- [0287] 한 실시양태에서, 항-TcdA 항체는 2회 결합한다.
- [0288] 한 실시양태에서, 항-TcdA 항체는 TcdA의 촉매 말단 세포 결합 도메인에서 결합한다.
- [0289] 한 실시양태에서, 항-TcdB 항체는 2회 이상, 예를 들면, 2회 결합한다.
- [0290] 한 실시양태에서, 항-TcdB 항체는 TcdB의 촉매 말단 세포 결합 도메인에서 결합한다.
- [0291] 한 실시양태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체들은 독소 분자를 가교연결할 수 있다(예를 들면, 항체 분자의 한 아암은 1개의 독소 분자에 결합하고 항체의 또 다른 아암은 상이한 독소 분자의 에피토프에 결합함으로써 일종의 면역 복합체를 형성한다). 후자의 형성은 관련 독소를 제거하여 상기 독소의 유해한 생체내 효과를 최소화하기 위한 면역 시스템의 활성화를 용이하게 할 수도 있다.
- [0292] 한 실시양태에서, 선천성 면역 반응, 예컨대, 보체가 활성화된다.
- [0293] 한 실시양태에서, 본 개시의 항체 또는 항체들은 상이한 리보타입, 예를 들면, 003, 027 및 078의 균주들로부터 유래된 독소들에 대한 높은 효능을 갖는다.
- [0294] 한 실시양태에서, TcdA에 대한 항체는 예를 들면, 리보타입 003, 027 및 078의 균주로부터 유래된 독소에 대해 LD₈₀ 내지 LD₉₅의 독소 농도에서 0.1 ng/ml 내지 100 ng/ml, 예컨대, 1 ng/ml 내지 10 ng/ml 범위 내의 EC₅₀ 및 50% 내지 100% 범위 내의 최대 억제력을 가질 수 있다.
- [0295] 한 실시양태에서, TcdA에 대한 항체는 예를 들면, 리보타입 003, 027 및 078의 균주로부터 유래된 독소에 대해 LD₈₀ 내지 LD₉₅의 독소 농도에서 0.1 ng/ml 내지 100 ng/ml, 예컨대, 1 ng/ml 내지 10 ng/ml 범위 내의 EC₅₀ 및 60% 내지 100%, 70% 내지 100%, 80% 내지 100% 또는 90% 내지 100% 범위 내의 최대 억제력을 가질 수 있다.
- [0296] 한 실시양태에서, TcdB에 대한 항체는 예를 들면, 리보타입 003의 균주로부터 유래된 독소에 대해 LD₈₀ 내지 LD₉₅의 독소 농도에서 0.1 ng/ml 내지 100 ng/ml, 예컨대, 1 ng/ml 내지 10 ng/ml 범위 내의 EC₅₀ 및 50% 내지 100% 범위 내의 최대 억제력을 가질 수 있다.
- [0297] 한 실시양태에서, TcdB에 대한 항체는 예를 들면, 리보타입 003의 균주로부터 유래된 독소에 대해 LD₈₀ 내지 LD₉₅의 독소 농도에서 0.1 ng/ml 내지 100 ng/ml, 예컨대, 1 ng/ml 내지 10 ng/ml 범위 내의 EC₅₀ 및 60% 내지 100%, 70% 내지 100%, 80% 내지 100% 또는 90% 내지 100% 범위 내의 최대 억제력을 가질 수 있다.
- [0298] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체들의 조합물, 예를 들면, TcdA에 대해 특이적인 항체들의 조합물, TcdB에 대해 특이적인 항체들의 조합물, 또는 TcdA에 대해 특이적인 항체와 TcdB에 대해 특이적인 항체의 조합물이 제공된다.
- [0299] TcdA에 대해 특이적인 항체들의 조합물은 일반적으로 표적 항원 TcdA 상의 상이한 에피토프들에 대해 유도된 항체들, 또는 적어도 상이한 결합 성질을 갖는 항체들의 조합물을 의미할 것이다.

- [0300] TcdB에 대해 특이적인 항체들의 조합물은 일반적으로 표적 항원 TcdB 상의 상이한 에피토프들에 대해 유도된 항체들, 또는 적어도 상이한 결합 성질을 갖는 항체들의 조합물을 의미할 것이다.
- [0301] 조합물은 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개 또는 15개의 상이한 항체들, 예를 들면, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 항체들을 포함할 수 있다.
- [0302] 한 실시양태에서, 1개의 항-TcdA 항체와 2개의 항-TcdB 항체의 조합물이 제공되고, 이때 상기 항-TcdA 항체는 997이고 항-TcdB 항체는 1125 및 1151이다.
- [0303] 구체적으로, 서열번호 49에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 47에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 1개의 항-TcdA 항체와 2개의 항-TcdB 항체(서열번호 129에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열번호 127에 제시된 경쇄 가변 영역을 갖는 제1 항-TcdB 항체 및 서열번호 159에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열번호 157에 제시된 경쇄 가변 영역을 갖는 제2 항-TcdB 항체)의 조합물이 제공된다.
- [0304] 본원에서 사용된 바와 같이 상이한 항체들은 표적 항원 상의 동일한 에피토프 또는 상이한 에피토프에 결합할 수 있는, 상이한 아미노산 서열을 갖는 항체들을 의미하기 위한 것이다.
- [0305] 본 발명은 본 발명에 의해 제공된 항체, 특히 서열번호 49에 제시된 중쇄 서열 및 서열번호 47에 제시된 경쇄 서열을 포함하는 항체에 의해 결합되는 TcdA의 특정 영역 또는 에피토프도 제공한다.
- [0306] 본 발명은 본 발명에 의해 제공된 항체, 특히 서열번호 129에 제시된 중쇄 서열 및 서열번호 127에 제시된 경쇄 서열을 포함하는 항체, 또는 서열번호 159에 제시된 중쇄 서열 및 서열번호 157에 제시된 경쇄 서열을 포함하는 항체에 의해 결합되는 TcdB의 특정 영역 또는 에피토프도 제공한다.
- [0307] TcdA 또는 TcdB의 이 특정 영역 또는 에피토프는 본 발명에 의해 제공된 항체들 중 어느 한 항체와 병용되는, 당분야에서 공지된 임의의 적합한 에피토프 맵핑에 의해 확인될 수 있다. 이러한 방법의 예로는 항체에 의해 인식되는 에피토프의 서열을 함유하는, 상기 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 가장 작은 단편을 사용하여 독소로부터 유래된 다양한 길이의 펩티드들을 본 발명의 항체와의 결합에 대해 스크리닝하는 방법이 있다. 상기 펩티드들은 화학적으로 제조될 수 있거나 독소 폴리펩티드의 단백질용해 분해에 의해 제조될 수 있다. 항체에 결합하는 펩티드는 예를 들면, 질량 분광측정 분석에 의해 확인될 수 있다. 또 다른 예에서, NMR 분광법 또는 X-선 결정학이 본 발명의 항체에 의해 결합되는 에피토프를 확인하는 데에 사용될 수 있다. 일단 확인되면, 본 발명의 항체에 결합하는 에피토프성 단편은 요구되는 경우 동일한 에피토프에 결합하는 추가 길항작용성 항체를 수득하기 위한 면역원으로 사용될 수 있다.
- [0308] 본 발명에 따른 항체의 결합을 교차차단하는 항체는 독소 활성을 중화시키는 데에 있어서 유사하게 유용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 전술된 항체들 중 어느 한 항체와 TcdA 또는 TcdB의 결합을 교차차단하고/하거나 이들 항체들 중 어느 한 항체에 의한 이들 독소들의 결합으로부터 교차차단되는, TcdA 또는 TcdB에 대한 특이성을 갖는 중화 항체도 제공한다. 한 실시양태에서, 이러한 항체는 상기 본원에 기재된 항체에 의해 결합되는 에피토프와 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 교차차단하는 중화 항체는 상기 본원에 기재된 항체에 의해 결합되는 에피토프와 경계를 형성하고/하거나 중첩되는 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 이 양태의 교차차단하는 중화 항체는 본 발명의 항체에 의해 결합되는 에피토프와 동일한 에피토프, 또는 상기 에피토프와 경계를 형성하고/하거나 중첩되는 에피토프에 결합하지 않는다.
- [0309] 교차차단하는 항체는 당분야의 임의의 적합한 방법을 이용함으로써, 예를 들면, 경쟁 ELISA 또는 비아코어 분석을 이용함으로써 확인될 수 있고, 이때 교차차단하는 항체와 TcdA 또는 TcdB의 결합은 본 발명의 항체의 결합을 방해하거나 본 발명의 항체와 TcdA 또는 TcdB의 결합은 교차차단하는 항체의 결합을 방해한다.
- [0310] 한 실시양태에서, 항-TcdA 또는 항-TcdB 항체, 특히 중화 항체, 및/또는 본원에 기재된 항체의 결합을 교차차단하는 항체를 발생시키는 방법으로서, 숙주를 적합한 항원, 예를 들면, 서열번호 173 내지 194 중 어느 한 서열번호에 제시된 항원 또는 이들의 조합물로 면역화시키는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 하나 이상의 후속 단계, 예를 들면, (특히, 기능적 분석, 예컨대, TEER 분석을 사용하여) 관심있는 항체를 확인하는 단계, 관심있는 항체를 발현시키는 단계, 및 임의적으로 상기 항체를 약학적으로 허용가능한 조성물로서 제제화하는 단계도 포함할 수 있다.
- [0311] 따라서, 한 양태에서, 본 개시는 숙주를 서열번호 173 내지 194에 제시된 아미노산 서열 또는 이들의 조합물로 면역화시키는 방법을 제공한다.
- [0312] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 표적 항원에 대한 10 nM 이하, 예를 들면, 1 nM 이하, 예컨대, 900

pM, 특히 800 pM, 700 pM, 600 pM 또는 500 pM, 예컨대, 60 pM의 친화성을 갖는다.

- [0313] 한 실시양태에서, 상기 친화성은 TcdA 또는 TcdB, 또는 이들의 단편에 대한 친화성이다. 한 예에서, 상기 단편은 TcdA의 잔기 S1827 내지 D2249에 상응하는 TcdA₁₂₃이다. 한 예에서, 상기 단편은 잔기 G2205 내지 R2608에 상응하는 TcdA₄₅₆이다. 한 실시양태에서, 상기 단편은 TcdB의 잔기 S1833 내지 E2366에 상응하는 TcdB₁₂₃₄이다.
- [0314] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체들 또는 이들의 조합물은 200 ng/ml 이하, 예를 들면, 150 ng/ml 이하, 예컨대, 100 ng/ml 이하, 예컨대, 0.1 내지 10 ng/ml 범위 내의 EC₅₀을 갖는다.
- [0315] 혼합물의 개별 성분 항체들은, 이들이 하나 이상의 항체와 병용될 때 조합물이 상기 범위 내의 EC₅₀을 갖는 한, 상기 범위 내의 EC₅₀을 가질 것이 요구되지 않는다.
- [0316] 유리하게는, 본 발명의 항체는 안정하다(예를 들면, 50°C 초과 온도, 예컨대, 60°C 또는 70°C에서 열적으로 안정하다).
- [0317] 본 발명에 따른 항체 및 조합물은 하기 유리한 성질들 중 하나 이상의 성질도 갖는다: 느린 해리 속도, 높은 친화성, 높은 효능, 표적 항원에 대해 결합하는 능력, 측정가능한 TEER 활성의 손실을 감소시키는 기작으로 독소를 중화시키는 능력, 숙주 천연 면역 반응을 자극하거나 보조하는 능력, 병원체(또는 독소)의 면역 제거를 촉진하거나 보조하는 능력, 및/또는 면역 시스템이 병원체(또는 독소)에 적절하게 반응하도록 훈련시키는 능력.
- [0318] 항체 가변 도메인 내의 잔기는 통상적으로 카바트(Kabat et al.)에 의해 고안된 시스템에 따라 넘버링된다. 이 시스템은 문헌(Kabat et al., 1987, in Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, USA)(이하, (상기) 문헌(Kabat et al.))에 기재되어 있다. 달리 표시되어 있는 경우를 제외하고 이 넘버링 시스템은 본 명세서에서 사용된다.
- [0319] 카바트 잔기 표기는 아미노산 잔기의 선형 넘버링에 항상 직접적으로 상응하지는 않는다. 실제 선형 아미노산 서열은 기본 가변 도메인 구조의 골격이든 아니면 상보성 결정 영역(CDR)이든 구조적 성분의 단축 또는 구조적 성분 내로의 삽입에 상응하는, 엄격한 카바트 넘버링에서보다 더 적은 또는 더 많은 아미노산을 함유할 수 있다. 주어진 항체에 대한 잔기의 정확한 카바트 넘버링은 항체 서열 내의 상동성 잔기와 "표준" 카바트 넘버링된 서열의 정렬에 의해 결정될 수 있다.
- [0320] 중쇄 가변 도메인의 CDR은 카바트 넘버링 시스템에 따른 잔기 31 내지 35(CDR-H1), 잔기 50 내지 65(CDR-H2) 및 잔기 95 내지 102(CDR-H3)에 위치한다. 그러나, 문헌(Chothia, C. and Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987))에 따라, CDR-H1과 동등한 루프가 잔기 26부터 잔기 32까지 걸쳐 있다. 따라서, 달리 표시되어 있지 않은 한, 본원에서 사용된 'CDR-H1'은 카바트 넘버링 시스템과 초티아 위상 루프 정의의 조합에 의해 기재된 바와 같이 잔기 26 내지 35를 의미하기 위한 것이다.
- [0321] 경쇄 가변 도메인의 CDR은 카바트 넘버링 시스템에 따른 잔기 24 내지 34(CDR-L1), 잔기 50 내지 56(CDR-L2) 및 잔기 89 내지 97(CDR-L3)에 위치한다.
- [0322] 본 발명에서 사용되는 항체는 당분야에서 공지된 임의의 적합한 방법을 이용함으로써 획득될 수 있다. 융합 단백질, 예를 들면, 독소-Fc 융합 단백질을 비롯한 독소 A 및/또는 독소 B 폴리펩티드/단백질, 또는 상기 폴리펩티드를 (재조합적으로 또는 천연적으로) 발현하는 세포(예컨대, 활성화된 T 세포)는 표적 독소를 특이적으로 인식하는 항체를 생성하는 데에 사용될 수 있다. 독소 폴리펩티드는 전장 폴리펩티드, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 유도체일 수 있다.
- [0323] 폴리펩티드는 발현 시스템을 포함하는 유전적으로 조작된 숙주 세포로부터 당분야에서 잘 공지된 방법에 의해 제조될 수 있거나 천연 생물학적 공급원으로부터 회수될 수 있다. 본원에서, 용어 "폴리펩티드"는 펩티드, 폴리펩티드 및 단백질을 포함한다. 달리 특정되어 있지 않은 한, 이들은 상호교환적으로 사용된다. 리보타입 027의 TcdA에 대한 서열은 서열번호 171(유니프롯(Uniprot) 등록번호 C9YJ37)에 제시되어 있고, 리보타입 027의 TcdB에 대한 서열은 서열번호 172(유니프롯 등록번호 C9YJ35)에 제시되어 있다.
- [0324] 항원 폴리펩티드는 몇몇 경우 보다 큰 단백질, 예컨대, 친화성 태그에 융합된 융합 단백질의 일부일 수 있다.
- [0325] 항원 폴리펩티드에 대해 발생된 항체는 동물의 면역화가 필요한 경우 잘 공지된 관용적인 프로토콜(예를 들면, 문헌(Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), Vol 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986) 참조)을 이용하여 상기 폴리펩티드를 동물, 바람직하게는 비인간 동물에게 투여함으로써

써 수득될 수 있다. 많은 온혈동물, 예컨대, 토끼, 마우스, 래트, 양, 소, 낙타 또는 돼지가 면역화될 수 있다. 그러나, 마우스, 토끼, 돼지 및 래트가 일반적으로 가장 적합하다.

- [0326] 단일클론 항체는 당분야에서 공지된 임의의 방법, 예컨대, 하이브리도마 기법(Kohler & Milstein, 1975, Nature, 256:495-497), 트리오마 기법, 인간 B 세포 하이브리도마 기법(Kozbor et al., 1983, Immunology Today, 4:72) 및 EBV-하이브리도마 기법(Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp77-96, Alan R Liss, Inc., 1985)에 의해 제조될 수 있다.
- [0327] 본 발명에서 사용되는 항체는 예를 들면, 문헌(Babcook, J. et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(15):7843-78481), 및 국제 특허출원 공보 제W092/02551호, 제W02004/051268호 및 제W02004/106377호에 기재된 방법에 의해 특정 항체의 생성에 대해 선택된 단일 림프구로부터 발생된 면역글로불린 가변 영역 cDNA를 클로닝하고 발현시켜 단일 림프구 항체 방법을 이용함으로써 발생될 수도 있다.
- [0328] (CDR 이식된 항체를 비롯한) 인간화된 항체는 비인간 종으로부터 유래된 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR들) 및 인간 면역글로불린 분자로부터 유래된 골격 영역을 갖는 항체 분자이다(예를 들면, 미국 특허 제5,585,089호 및 국제 특허출원 공보 제W091/09967호 참조). 전체 CDR보다는 CDR들의 특이성 결정 잔기를 전달하는 것만이 필요할 수 있다는 것이 인식될 것이다(예를 들면, 문헌(Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34) 참조). 인간화된 항체는 CDR들의 기원이 되는 비인간 종으로부터 유래된 하나 이상의 골격 잔기를 임의적으로 더 포함할 수 있다.
- [0329] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "인간화된 항체 분자"는 중쇄 및/또는 경쇄가 수용자 항체(예를 들면, 인간 항체)의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역 골격 내로 이식된, 공여자 항체(예를 들면, 무린 단일클론 항체)의 하나 이상의 CDR들(원하는 경우 하나 이상의 변경된 CDR들을 포함함)을 함유하는 항체 분자를 의미한다. 검토를 위해서는 문헌(Vaughan et al, Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998)을 참조한다. 한 실시양태에서, 전장 CDR을 전달하기보다는 상기 본원에 기재된 CDR들 중 어느 한 CDR의 특이성 결정 잔기들 중 하나 이상의 잔기만을 인간 항체 골격에 전달한다(예를 들면, 문헌(Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34) 참조). 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR들 중 하나 이상의 CDR의 특이성 결정 잔기만을 인간 항체 골격에 전달한다. 또 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 CDR들 각각의 특이성 결정 잔기만을 인간 항체 골격에 전달한다.
- [0330] CDR들 또는 특이성 결정 잔기를 이식하는 경우, CDR들의 기원이 되는 공여자 항체의 클래스/유형을 유념하면서 마우스, 영장류 및 인간 골격 영역을 비롯한 임의의 적절한 수용자 가변 영역 골격 서열을 사용할 수 있다. 적절하게는, 본 발명에 따른 인간화된 항체는 인간 수용자 골격 영역뿐만 아니라 본원에서 제공된 CDR들 중 하나 이상의 CDR도 포함하는 가변 도메인을 갖는다.
- [0331] 따라서, 한 실시양태에서, 독소 A 또는 독소 B에 결합하는 인간화된 항체가 제공되고, 이때 가변 도메인은 인간 수용자 골격 영역 및 비인간 공여자 CDR들을 포함한다.
- [0332] 본 발명에서 사용될 수 있는 인간 골격의 예는 KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY 및 POM(상기 문헌(Kabat et al.))이다. 예를 들면, KOL 및 NEWM은 중쇄를 위해 사용될 수 있고, REI는 경쇄를 위해 사용될 수 있고, EU, LAY 및 POM은 중쇄 및 경쇄 둘다를 위해 사용될 수 있다. 대안적으로, 인간 생식세포주 서열이 사용될 수 있고, 이들은 웹사이트(<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)에서 입수될 수 있다.
- [0333] 본 발명의 인간화된 항체에서, 수용자 중쇄 및 경쇄는 반드시 동일한 항체로부터 유래될 필요는 없고 원하는 경우 상이한 채로부터 유래된 골격 영역을 갖는 복합 채를 포함할 수 있다.
- [0334] 또한, 본 발명의 인간화된 항체에서, 골격 영역은 수용자 항체의 서열과 정확히 동일한 서열을 가질 필요는 없다. 예를 들면, 희귀 잔기를 그 수용자 채 클래스 또는 유형의 경우 더 빈번히 존재하는 잔기로 변화시킬 수 있다. 대안적으로, 수용자 골격 영역 내의 선택된 잔기들은 이들이 공여자 항체에서 동일한 위치에서 발견된 잔기에 상응하도록 변화될 수 있다(예를 들면, 문헌(Reichmann et al., 1998, Nature, 332, 323-324) 참조). 이러한 변화는 공여자 항체의 친화성을 회복하는 데에 필요한 최소한의 수준으로 유지되어야 한다. 변화될 필요가 있을 수 있는 수용자 골격 영역 내의 잔기를 선택하는 프로토콜은 국제 특허출원 공보 제W091/09967호에 기재되어 있다.
- [0335] 일반적으로, 본 명세서에 개시된 항체 서열은 인간화된다.
- [0336] 본 발명은 본원에 개시된 서열 또는 항체와 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 유사한 서열도 제공한다.

- [0337] 본원에서 사용된 바와 같이, "동일성"은 정렬된 서열들의 임의의 특정 위치에서 아미노산 잔기가 상기 서열들 사이에 동일하다는 것을 표시한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "유사성"은 정렬된 서열들의 임의의 특정 위치에서 아미노산 잔기가 상기 서열들 사이에 유사한 종류의 아미노산 잔기라는 것을 표시한다. 예를 들면, 류신은 이소류신 또는 발린 대신에 치환될 수 있다. 1개의 또 다른 잔기 대신에 종종 치환될 수 있는 다른 아미노산은 하기 아미노산들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다:
- [0338] - 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판(방향족 측쇄를 갖는 아미노산);
- [0339] - 라이신, 아르기닌 및 히스티딘(염기성 측쇄를 갖는 아미노산);
- [0340] - 아스파르테이트 및 글루타메이트(산성 측쇄를 갖는 아미노산);
- [0341] - 아스파라긴 및 글루타민(아미드 측쇄를 갖는 아미노산); 및
- [0342] - 시스테인 및 메티오닌(황 함유 측쇄를 갖는 아미노산). 동일성 및 유사성의 정도는 용이하게 계산될 수 있다 (Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991, the BLAST™ software available from NCBI (Altschul, S.F. et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W. & States, D.J. 1993, Nature Genet. 3:266-272. Madden, T.L. et al., 1996, Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F. et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J. & Madden, T.L. 1997, Genome Res. 7:649-656).
- [0343] 본 발명의 항체 분자는 전장 중쇄 및 경쇄를 갖는 완전한 항체 분자 또는 이의 단편을 포함하고, Fab, 변경된 Fab, Fab', 변경된 Fab', F(ab')₂, Fv, Fab-Fv, Fab-dsFv, 단일 도메인 항체(예를 들면, VH, VL 또는 VHH), scFv, 2가, 3가 또는 4가 항체, Bis-scFv, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 및 이들 중 임의의 분자의 에피토프 결합 단편일 수 있으나 이들로 한정되지 않는다(예를 들면, 문헌(Holliger and Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136) 및 문헌(Adair and Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217) 참조). 이들 항체 단편들을 생성하고 제조하는 방법은 당분야에서 잘 공지되어 있다(예를 들면, 문헌(Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181) 참조). 본 발명에서 사용되는 다른 항체 단편은 국제 특허출원 공보 제W02005/003169호, 제W02005/003170호 및 제W02005/003171호에 기재된 Fab 및 Fab' 단편을 포함한다. 다가 항체는 다중특이성, 예를 들면, 이중특이성을 포함할 수 있거나 단일특이적일 수 있다(예를 들면, 국제 특허출원 공보 제W092/22853호 및 제W005/113605호 참조). 2개의 독립적인 표적 단백질인 TcdA 및 TcdB를 중화시키는 것이 목적이기 때문에 이중특이적 항체 변이체 및 다중특이적 항체 변이체가 이 예에서 특히 고려된다. 본원에 개시된 항체의 가변 영역은 TcdA 및 TcdB에 결합하여 이들을 중화시킬 수 있는 단일 항체 변이체를 생성하는 방식으로 구성될 수 있다.
- [0344] 한 실시양태에서, 본 개시에 따른 항체는 예를 들면, 국제 특허출원 공보 제W02009/040562호에 기재된 바와 같이 면역글로불린 모이어티(moiety), 예를 들면, Fab 또는 Fab' 단편, 및 이에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된 1개 또는 2개의 단일 도메인 항체(dAb)를 포함하는 TcdA 또는 TcdB 결합 항체 융합 단백질로서 제공된다.
- [0345] 한 실시양태에서, 상기 융합 단백질은 예를 들면, 국제 특허출원 공보 제W02010/035012호에 기재된 바와 같이 임의적으로 이항화 결합에 의해 연결된, 예를 들면, 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL) 쌍으로서 2개의 도메인 항체를 포함한다.
- [0346] 한 실시양태에서, 상기 융합 단백질의 Fab 또는 Fab' 요소는 단일 도메인 항체 또는 항체들과 동일한 또는 유사한 특이성을 갖는다. 한 실시양태에서, Fab 또는 Fab'는 단일 도메인 항체 또는 항체들과 상이한 특이성을 갖는다(즉, 상기 융합 단백질은 다가 융합 단백질이다). 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 다가 융합 단백질은 알부민 결합 부위를 갖는다(예를 들면, 그 내부의 VH/VL 쌍이 알부민 결합 부위를 제공한다).
- [0347] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 다가 융합 단백질은 TcdA 및 TcdB에 결합한다.
- [0348] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 다가 융합 단백질은 다수의 위치에서 TcdB에 결합한다(예를 들면, 2개의 상이한 에피토프에 대해 특이적인 상이한 결합 영역을 갖는다).
- [0349] 본 발명의 항체 분자의 불변 영역 도메인은 존재하는 경우 항체 분자의 제안된 기능 및 특히 요구될 수 있는 이

펙터 기능을 유념하면서 선택될 수 있다. 예를 들면, 불변 영역 도메인은 인간 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM 도메인일 수 있다. 특히, 인간 IgG 불변 영역 도메인, 특히 항체 분자가 치료 용도를 위한 것이고 항체 이펙터 기능이 요구되는 경우 IgG1 및 IgG3 동종형의 불변 영역 도메인이 사용될 수 있다. 대안적으로, IgG2 및 IgG4 동종형은 항체 분자가 치료 목적을 위한 것이고 항체 이펙터 기능이 예를 들면, 단순히 항원의 중화 또는 작용화를 위해 요구되지 않는 경우 사용될 수 있다. 이들 불변 영역 도메인들의 서열 변이체들도 사용될 수 있다는 것이 인식될 것이다. 예를 들면, 문헌(Angal et al., *Molecular Immunology*, 1993, 30 (1), 105-108)에 기재된 바와 같이 위치 241에서 세린이 프롤린으로 변화되어 있는 IgG4 분자가 사용될 수 있다. 당업자는 항체가 다양한 번역 후 변형을 받을 수 있다는 것도 이해할 것이다. 이들 변형의 유형 및 정도는 종종 항체의 발현을 위해 사용된 숙주 세포주뿐만 아니라 배양 조건에 의해서도 좌우된다. 이러한 변형은 글리코실화, 메티오닌 산화, 디케토피페라진 형성, 아스파르테이트 이성질체화 및 아스파라긴 탈아미드화에서의 변형을 포함할 수 있다. 혼한 변형은 (문헌(Harris, R.J. *Journal of Chromatography* 705:129-134, 1995)에 기재된 바와 같이) 카복시펩티다제의 작용으로 인한 카복시 말단 염기성 잔기(예컨대, 라이신 또는 아르기닌)의 손실이다.

- [0350] 한 실시양태에서, 항체 중쇄는 CH1 도메인을 포함하고, 항체 경쇄는 카파 또는 람다 CL 도메인을 포함한다.
- [0351] 생물학적 분자, 예컨대, 항체 또는 단편은 산성 및/또는 염기성 작용기를 함유함으로써 순 양성 또는 음성 전하를 분자에 제공한다. 전체 "관찰된" 전하의 양은 물질의 절대 아미노산 서열, 3D 구조에서 하전된 기의 국소 환경, 및 분자의 환경 조건에 의해 좌우될 것이다. 등전점(pI)은 특정 분자 또는 이의 용매 접근가능한 표면이 순 전기 전하를 보유하지 않는 pH이다. 한 예에서, 본 발명의 항체 및 단편은 적절한 등전점을 갖도록 조작될 수 있다. 이것은 보다 강력한 성질, 특히 적합한 가용성 및/또는 안정성 프로파일 및/또는 개선된 정제 특성을 갖는 항체 및/또는 단편을 유발할 수 있다.
- [0352] 따라서, 한 양태에서, 본 발명은 기원이 되는 원래 확인된 항체의 등전점과 상이한 등전점을 갖도록 조작된 인간화된 항체를 제공한다. 상기 항체는 예를 들면, 아미노산 잔기를 치환시킴으로써, 예컨대, 산성 아미노산 잔기를 하나 이상의 염기성 아미노산 잔기로 치환시킴으로써 조작될 수 있다. 대안적으로, 염기성 아미노산 잔기가 도입될 수 있거나 산성 아미노산 잔기가 제거될 수 있다. 대안적으로, 분자가 허용불가능하게 높은 pI 값을 갖는 경우, 필요에 따라 산성 잔기를 도입하여 pI를 낮출 수 있다. pI를 조작할 때 항체 또는 단편의 바람직한 활성을 보유하도록 주의를 기울여야 한다는 것이 중요하다. 따라서, 한 실시양태에서, 조작된 항체 또는 단편은 "비변경된" 항체 또는 단편과 동일한 또는 실질적으로 동일한 활성을 갖는다.
- [0353] 프로그램, 예컨대, **ExpASY(http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html 및 http://www.iut-arles.univ-mrs.fr/w3bb/d_abim/compo-p.html)가 항체 또는 단편의 등전점을 예측하는 데에 사용될 수 있다.
- [0354] 당분야에서 공지된 임의의 적합한 방법을 이용하여 본 발명에 의해 제공된 항체의 친화성을 변경시킬 수 있다는 것이 인식될 것이다. 적절한 단리된 천연 또는 재조합 단백질 또는 적합한 용합 단백질/폴리펩티드를 사용하는 비아코어를 비롯한 당분야에서 공지된 임의의 적합한 방법을 이용하여 항체 또는 이의 변이체의 친화성을 측정할 수 있다.
- [0355] 따라서, 본 발명은 적절한 경우 TcdA 또는 TcdB에 대한 개선된 친화성을 갖는 본 발명의 항체 분자의 변이체에 관한 것이다. 이러한 변이체는 CDR들의 돌연변이유발(Yang et al., *J. Mol. Biol.*, 254, 392-403, 1995), 쇄서플링(Marks et al., *Bio/Technology*, 10, 779-783, 1992), 이. 콜라이의 돌연변이유발자 균주의 사용(Low et al., *J. Mol. Biol.*, 250, 359-368, 1996), DNA 셔플링(Patten et al., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 724-733, 1997), 파지 디스플레이(Thompson et al., *J. Mol. Biol.*, 256, 77-88, 1996) 및 성별 PCR(Cramer et al., *Nature*, 391, 288-291, 1998)을 비롯한 다수의 친화성 성숙 프로토콜에 의해 수득될 수 있다. (상기) 문헌(Vaughan et al.)에는 이들 친화성 성숙 방법들도 논의되어 있다.
- [0356] 이와 관련하여 본원에서 사용된 바와 같이 개선된 친화성은 출발 분자에 비해 개선을 의미한다.
- [0357] 원하는 경우 본 발명에서 사용되는 항체는 하나 이상의 이펙터 분자(들)에 접합될 수 있다. 이펙터 분자는 단일 이펙터 분자, 또는 본 발명의 항체에 부착될 수 있는 단일 모이어티를 형성하도록 연결된 2개 이상의 이러한 분자를 포함할 수 있다는 것이 인식될 것이다. 이펙터 분자에 연결된 항체 단편을 수득하고자 하는 경우, 이것은 항체 단편이 직접적으로 또는 커플링제를 통해 이펙터 분자에 연결되는 표준 화학적 또는 재조합 DNA 절차에 의해 제조될 수 있다. 이러한 이펙터 분자를 항체에 접합시키는 기법은 당분야에서 잘 공지되어 있다(예를 들면, 문헌(Hellstrom et al., *Controlled Drug Delivery*, 2nd Ed., Robinson et al., eds., 1987, pp. 623-53), 문헌(Thorpe et al., 1982, *Immunol. Rev.*, 62:119-58) 및 문헌(Dubowchik et al., 1999, *Pharmacology and*

Therapeutics, 83, 67-123) 참조). 특정 화학적 절차는 예를 들면, 국제 특허출원 공보 제W093/06231호, 제 W092/22583호, 제W089/00195호, 제W089/01476호 및 제W003031581호에 기재된 화학적 절차를 포함한다. 대안적으로, 이펙터 분자가 단백질 또는 폴리펩티드인 경우, 예를 들면, 국제 특허출원 공보 제W086/01533호 및 유럽 특허 제0392745호에 기재된 바와 같이 재조합 DNA 절차를 이용하여 연결을 달성할 수 있다.

- [0358] 본원에서 사용된 바와 같이 용어 이펙터 분자는 예를 들면, 생물학적 활성 단백질, 예를 들면, 효소, 다른 항체 또는 항체 단편, 합성 또는 천연 발생 중합체, 핵산 및 이의 단편, 예를 들면, DNA, RNA 및 이들의 단편, 방사성핵종, 특히 방사성요오드, 방사성동위원소, 킬레이팅된 금속, 나노입자 및 레포터 기, 예컨대, 형광 화합물, 또는 NMR 또는 ESR 분광법에 의해 검출될 수 있는 화합물을 포함한다.
- [0359] 다른 이펙터 분자는 킬레이팅된 방사성핵종, 예컨대, 111In 및 90Y, Lu177, 비스무쓰213, 캘리포늄252, 이리듐 192 및 텅스텐188/레늄188; 또는 약물, 예컨대, 알킬포스포콜린, 토포이소머라제 I 억제제, 탁소이드 및 수라민 (suramin)(그러나, 이들로 한정되지 않음)을 포함할 수 있다.
- [0360] 다른 이펙터 분자는 단백질, 펩티드 및 효소를 포함한다. 관심있는 효소는 단백질용해 효소, 하이드릴라제, 리아제, 이소머라제 및 트랜스퍼라제를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 관심있는 단백질, 폴리펩티드 및 펩티드는 면역글로불린, 독소, 예컨대, 애브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 또는 디프테리아 독소, 단백질, 예컨대, 인슐린, 종양 괴사 인자, α -인터페론, β -인터페론, 신경 성장인자, 혈소판 유래의 성장인자 또는 조직 플라스미노겐 활성화제, 혈전제 또는 항-혈관신생제, 예를 들면, 안지오스타틴 또는 엔도스타틴, 또는 생물학적 반응 변경제, 예컨대, 림포카인, 인터류킨-1(IL-1), 인터류킨-2(IL-2), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 (GM-CSF), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 신경 성장인자(NGF) 또는 다른 성장인자 및 면역글로불린을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.
- [0361] 다른 이펙터 분자는 예를 들면, 진단에서 유용한 검출가능한 물질을 포함할 수 있다. 검출가능한 물질의 예로는 다양한 효소, 보결분자단, 형광 물질, 발광 물질, 생체발광 물질, 방사성핵종, (양전자 방출 단층촬영에서 사용되는) 양전자 방출 금속, 및 비방사성 상자성 금속 이온이 있다. 일반적으로, 진단제로서 사용되는 항체에 접합될 수 있는 금속 이온에 대해서는 미국 특허 제4,741,900호를 참조한다. 적합한 효소는 호스라디슈 퍼록시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타 갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스터라제를 포함하고; 적합한 보결분자단은 스트렙타비딘, 아비딘 및 바이오틴을 포함하고; 적합한 형광 물질은 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 덴실 클로라이드 및 파이크에리스린을 포함하고; 적합한 발광 물질은 루미놀을 포함하고; 적합한 생체발광 물질은 루시페라제, 루시페린 및 애쿠오린을 포함하고; 적합한 방사성핵종은 125I, 131I, 111In 및 99Tc를 포함한다.
- [0362] 또 다른 예에서, 이펙터 분자는 생체내 항체의 반감기를 증가시킬 수 있고/있거나, 항체의 면역원성을 감소시킬 수 있고/있거나, 면역 시스템에 대한 상피 장벽을 가로지른 항체의 전달을 향상시킬 수 있다. 이러한 유형의 적합한 이펙터 분자의 예로는 중합체, 알부민, 알부민 결합 단백질 또는 알부민 결합 화합물, 예컨대, 국제 특허출원 공보 제W005/117984호에 기재된 알부민 결합 화합물이 있다.
- [0363] 이펙터 분자가 중합체인 경우, 상기 이펙터 분자는 일반적으로 합성 또는 천연 발생 중합체, 예를 들면, 임의적으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 폴리알킬렌, 폴리알케닐렌 또는 폴리옥시알킬렌 중합체, 또는 분지쇄 또는 비분지쇄 다당류, 예를 들면, 동종 또는 이종 다당류일 수 있다.
- [0364] 전술된 합성 중합체 상에 존재할 수 있는 구체적인 임의적인 치환기는 하나 이상의 하이드록시, 메틸 또는 메톡시기를 포함한다.
- [0365] 합성 중합체의 구체적인 예로는 임의적으로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 폴리(에틸렌글리콜), 폴리(프로필렌글리콜), 폴리(비닐알코올) 또는 이들의 유도체, 특히 임의적으로 치환된 폴리(에틸렌글리콜), 예컨대, 메톡시폴리(에틸렌글리콜) 또는 이들의 유도체가 있다.
- [0366] 구체적인 천연 발생 중합체는 락토스, 아밀로스, 텍스트란, 글리코젠 또는 이들의 유도체를 포함한다.
- [0367] 본원에서 사용된 바와 같이 "유도체"는 반응성 유도체, 예를 들면, 티올 선택적 반응성 기, 예컨대, 말레이미드 등을 포함하기 위한 것이다. 반응성 기는 직접적으로 또는 연결제 절편을 통해 중합체에 연결될 수 있다. 이러한 기의 잔기가 몇몇 경우 항체 단편과 중합체 사이의 연결기로서 생성물의 일부를 형성할 것이라는 것이 인식될 것이다.
- [0368] 중합체의 크기는 원하는 경우 변경될 수 있지만, 일반적으로 500 Da 내지 50000 Da, 예를 들면, 5000 Da 내지

40000 Da, 예컨대, 20000 Da 내지 40000 Da의 평균 분자량 범위 내에 있을 것이다. 중합체 크기는 특히 생성물의 의도된 용도, 예를 들면, 특정 조직, 예컨대, 종양으로 국소화되거나 순환 반감기를 연장시키는 능력에 기초하여 선택될 수 있다(검토를 위해서는 문헌(Chapman, 2002, Advanced Drug Delivery Reviews, 54, 531-545) 참조). 따라서, 예를 들면, 생성물이 순환계를 떠나 조직을 침투하기 위한 것, 예를 들면, 종양의 치료에 사용되기 위한 것인 경우, 저분자량 중합체, 예를 들면, 약 5000 Da의 분자량을 갖는 중합체를 사용하는 것이 유리할 수 있다. 생성물이 순환계에 남아있는 적용의 경우, 고분자량 중합체, 예를 들면, 20000 Da 내지 40000 Da 범위 내의 분자량을 갖는 중합체를 사용하는 것이 유리할 수 있다.

[0369] 적합한 중합체는 폴리알킬렌 중합체, 예컨대, 폴리(에틸렌글리콜) 또는 특히 메톡시폴리(에틸렌글리콜) 또는 이의 유도체, 및 특히 약 15000 Da 내지 약 40000 Da 범위 내의 분자량을 갖는 중합체를 포함한다.

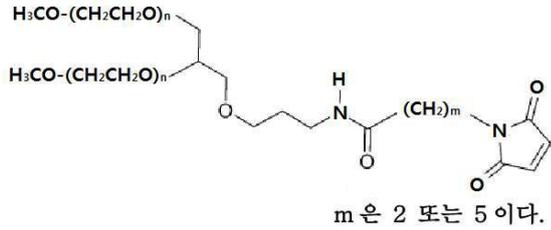
[0370] 한 예에서, 본 발명에서 사용되는 항체는 폴리(에틸렌글리콜)(PEG) 모이어티에 부착된다. 한 구체적인 예에서, 항체는 항체 단편이고, PEG 분자는 항체 단편에 위치하는 임의의 이용가능한 아미노산 측쇄 또는 말단 아미노산 작용기, 예를 들면, 임의의 자유 아미노, 이미노, 티올, 하이드록실 또는 카복실 기를 통해 부착될 수 있다. 이러한 아미노산은 항체 단편에서 천연적으로 존재할 수 있거나 재조합 DNA 방법의 이용을 통해 단편 내로 조작될 수 있다(예를 들면, 미국 특허 제5,219,996호 및 제5,667,425호, 및 국제 특허출원 공보 제W098/25971호 및 제W02008/038024호 참조). 한 예에서, 본 발명의 항체 분자는 변경된 Fab 단편이고, 이때 상기 변경은 이펙터 분자의 부착을 가능하게 하기 위해 하나 이상의 아미노산을 그의 측쇄의 C 말단에 추가하는 것이다. 적합하게는, 추가 아미노산은 이펙터 분자가 부착될 수 있는 하나 이상의 시스테인 잔기를 함유하는 변경된 힌지 영역을 형성한다. 다수의 부위들이 2개 이상의 PEG 분자를 부착시키는 데에 사용될 수 있다.

[0371] 적합하게는 PEG 분자는 항체 단편에 위치하는 하나 이상의 시스테인 잔기의 티올 기를 통해 공유연결된다. 변경된 항체 단편에 부착된 각각의 중합체 분자는 상기 단편에 위치하는 시스테인 잔기의 황 원자에 공유연결될 수 있다. 공유연결은 일반적으로 이황화 결합 또는 특히 황-탄소 결합일 것이다. 티올 기가 부착점으로서 사용되는 경우, 적절하게 활성화된 이펙터 분자, 예를 들면, 티올 선택적 유도체, 예컨대, 말레이미드 및 시스테인 유도체가 사용될 수 있다. 활성화된 중합체는 전술된 바와 같은 중합체-변경된 항체 단편의 제조에 있어서 출발 물질로서 사용될 수 있다. 활성화된 중합체는 티올 반응성 기, 예컨대, α-할로카복실산 또는 에스테르, 예를 들면, 요오도아세트아미드, 이미드, 예를 들면, 말레이미드, 비닐 설폰 또는 디설파이드를 함유하는 임의의 중합체일 수 있다. 이러한 출발 물질은 (예를 들면, 넥타르(Nektar)(이전 명칭: 웨어워터 폴리머스 인코포레이티드 (Shearwater Polymers Inc.), 미국 알라바마주 헨츠빌 소재)로부터) 상업적으로 입수될 수 있거나 통상적인 화학적 절차를 이용함으로써 상업적으로 입수될 수 있는 출발 물질로부터 제조될 수 있다. 구체적인 PEG 분자는 (넥타르(이전 명칭: 웨어워터); 랩 폴리머레(Rapp Polymere); 및 선바이오(SunBio)로부터 입수될 수 있는) 20K 메톡시-PEG-아민 및 (넥타르(이전 명칭: 웨어워터)로부터 입수될 수 있는) M-PEG-SPA를 포함한다.

[0372] 한 실시양태에서, 항체는 PEG화된, 즉 예를 들면, 유럽 특허 제0948544호 또는 제1090037호[문헌("Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications", 1992), 문헌(J. Milton Harris (ed), Plenum Press, New York, "Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications", 1997), 문헌(J. Milton Harris and S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC and "Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998) 및 문헌(M. Aslam and A. Dent, Grove Publishers, New York; Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54:531-545) 또한 참조]에 개시된 방법에 따라 PEG(폴리(에틸렌글리콜))가 공유부착되어 있는 변경된 Fab 단편 또는 diFab이다. 한 예에서, PEG는 힌지 영역 내의 시스테인에 부착된다. 한 예에서, PEG 변경된 Fab 단편은 변경된 힌지 영역에서 단일 티올 기에 공유연결된 말레이미드 기를 갖는다. 라이신 잔기가 말레이미드 기에 공유연결될 수 있고, 대략 20,000 Da의 분자량을 갖는 메톡시폴리(에틸렌글리콜) 중합체가 상기 라이신 잔기 상의 각각의 아민 기에 부착될 수 있다. 따라서, Fab 단편에 부착된 PEG의 총 분자량은 대략 40,000 Da일 수 있다.

[0373] 구체적인 PEG 분자는 (넥타르(이전 명칭: 웨어워터)로부터 입수될 수 있는) PEG2MAL40K로서도 공지되어 있는, N,N'-비스(메톡시폴리(에틸렌 글리콜) MW 20,000) 변경된 라이신의 2-[3-(N-말레이미도)프로피온아미도]에틸 아미드를 포함한다.

[0374] PEG 연결체의 대안적인 공급처는 GL2-400MA2(이때, 하기 구조에서 m은 5이고, n은 대략 450임) 및 GL2-400MA(이때, m은 2이고, n은 대략 450임)를 공급하는 NOF를 포함한다:



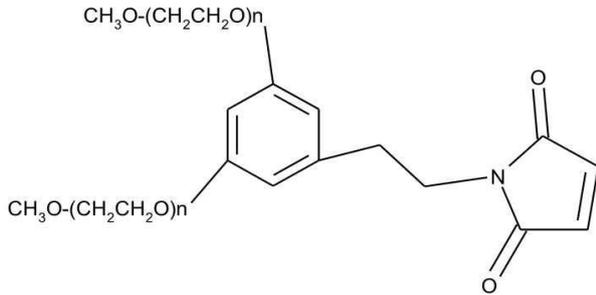
[0375]

[0376]

[0377]

즉, 각각의 PEG는 약 20,000 Da이다.

하기 유형의 추가 대안적인 PEG 이펙터 분자가 닥터 레디(Dr Reddy), NOF 및 젠켄(Jenkem)으로부터 입수될 수 있다:



[0378]

[0379]

한 실시양태에서, PEG(예를 들면, 본원에 기재된 PEG)가 (순차적인 넘버링에 따를 때) 쇠의 아미노산 226, 예를 들면, 중쇄의 아미노산 226에 존재하거나 아미노산 226 근처에 존재하는 시스테인 아미노산 잔기를 통해 부착됨으로써 PEG화된 항체가 제공된다.

[0380]

한 실시양태에서, 본 개시에 따른 일부 항체들은 하기 성질을 갖는다:

항체	친화성(pM)		결합가 TcdA, est.	EC ₅₀ (ng/ml)
	TcdA ₁₂₃	TcdA ₄₅₆		
CA922	4.06	2.59	16	1.21
CA923	64.7	312	12	160.42
CA995	nil	119	1	37.64
CA997	132	66.8	12	6.25
CA1000	73.3	84.1	2	19.73

[0381]

[0382]

본 발명은 본원에서 정의된 항체 또는 항체들의 조합물의 조성물, 예컨대, 약학 조성물도 제공한다.

[0383]

본 발명은 2개 이상의 본 발명에 따른 항체를 포함하는 조성물도 제공하고, 예를 들면, 이때 상기 조성물 중의 하나 이상의 항체가 TcdA에 대해 특이적이고 상기 조성물 중의 하나 이상의 항체가 TcdB에 대해 특이적이거나, 대안적으로 2개 이상의 항체가 TcdA에 대해 특이적이거나 2개 이상의 항체가 TcdB에 대해 특이적이다.

[0384]

한 실시양태에서, TcdA에 대해 특이적인 다수의 항체들 및 임의적으로 TcdB에 대해 특이적인 하나 이상의 항체를 포함하는 조성물이 제공된다.

[0385]

한 실시양태에서, TcdB에 대해 특이적인 다수의 항체들 및 임의적으로 TcdA에 대해 특이적인 하나 이상의 항체를 포함하는 조성물이 제공된다.

[0386]

따라서, 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개 또는 15개의 항체들, 즉 상이한 항체들을 포함하는 조성물이 제공된다.

[0387]

본 발명은 3개의 Mab들을 포함하는 한 특정 혼합물을 기술하는데, 이들 Mab들 중 1개의 Mab는 TcdA에 대해 특이적이고, 이들 Mab들 중 2개의 Mab들은 TcdB에 대해 특이적이다. 이 혼합물은 햄스터에서 치명적인 감염성 경구용량의 클로스트리듐 디피실로부터 비롯된 사망 및 장 염증으로부터 매우 높은 수준의 보호를 나타내었다.

- [0388] 구체적으로, 서열번호 49에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 47에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 1개의 항-TcdA 항체와 2개의 항-TcdB 항체(서열번호 129에 제시된 중쇄 영역 및 서열번호 127에 제시된 경쇄 영역을 갖는 제1 항-TcdB 항체, 및 서열번호 159에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열번호 157에 제시된 경쇄 가변 영역을 갖는 제2 항-TcdB 항체)의 조합물을 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0389] 조성물이 3개의 항체들, 예컨대, 1개의 항-TcdA 항체 및 2개의 항-TcdB 항체들을 포함하는 한 실시양태에서, 상기 항체들은 그들의 총 항체 함량의 각각 50%, 25% 및 25%의 비로 존재한다.
- [0390] 한 실시양태에서, TcdA에 대해 특이적인 2개, 3개, 4개 또는 5개의 항체들 및 임의적으로 TcdB에 대해 특이적인 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 항체들을 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0391] 한 실시양태에서, 본 발명에 따라 제공된 조성물은 잘 정의되어 있고, 예를 들면, 단순히 면역화된 또는 면역 전능 숙주로부터 유래된 다중클론 조성물보다는 단일클론 항체들의 혼합물이다.
- [0392] 한 실시양태에서, 항체들의 조성물은 200 ng/ml 이하, 예를 들면, 150 ng/ml 이하, 예컨대, 100 ng/ml 이하, 예컨대, 0.1 내지 10 ng/ml의 EC₅₀을 갖는다.
- [0393] 유리하게는, 본원에 기재된 항체는 매우 높은 수준의 생체물리학적 안정성을 가지므로 항체들의 혼합물에 포함되기에 적합하다.
- [0394] 한 양태에서, 본 발명에 따른 약학 제제 또는 조성물은 약학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함한다.
- [0395] 치료 조성물 중의 약학적으로 허용가능한 담체는 액체, 예컨대, 물, 식염수, 글리세롤 및 에탄올을 추가로 함유할 수 있다. 또한, 보조 물질, 예컨대, 습윤화제, 유화제 또는 pH 완충 물질이 이러한 조성물에 존재할 수 있다. 이러한 담체는 약학 조성물이 환자에 의해 섭취될 정제, 환제, 당의정, 캡슐제, 액체, 겔, 시럽, 슬러리 및 현탁액으로서 제제화될 수 있게 한다.
- [0396] 투여에 적합한 제형은 예를 들면, 주사 또는 관주, 예를 들면, 볼루스 주사 또는 연속 관주에 의한 비경구 투여에 적합한 제형을 포함한다. 생성물이 주사 또는 관주를 위한 생성물인 경우, 상기 생성물은 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁액, 용액 또는 유화액의 형태를 취할 수 있고 제제화제, 예컨대, 현탁제, 보존제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체 분자는 사용 전에 적절한 멸균 액체로 재구성될 건조된 형태로 존재할 수 있다.
- [0397] 일단 제제화되면, 본 발명의 조성물은 대상체에게 직접적으로 투여될 수 있다. 치료될 대상체는 동물일 수 있다. 그러나, 하나 이상의 실시양태에서, 조성물은 인간 대상체에게 투여되도록 개조된다.
- [0398] 적합하게는, 본 개시에 따른 제제에서 최종 제제의 pH는 항체 또는 단편의 등전점의 값과 유사하지 않지 않다(예를 들면, 상기 제제의 pH가 7인 경우, 8 내지 9 이상의 pI가 적절할 수 있다). 이론에 의해 구속받거나 하지 않지만, 이것은 궁극적으로 개선된 안정성을 갖는 최종 제제를 제공할 수 있다(예를 들면, 항체 또는 단편은 용액에서 유지된다)고 생각된다.
- [0399] 한 실시양태에서, 본 개시의 조성물 또는 제제는 1 mg/ml 내지 200 mg/ml(즉, 예를 들면, 150 mg/ml 이하, 예컨대, 100 mg/ml 이하, 특히 90 mg/ml, 80 mg/ml, 70 mg/ml, 60 mg/ml, 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml 또는 10 mg/ml 이하의 조합된 항체 함량)의 항체를 포함한다.
- [0400] 한 실시양태에서, 본 개시에 따른 조성물 또는 제제는 그 내부에 20 mg/ml의 각각의 항체를 포함한다.
- [0401] 한 실시양태에서, 서열번호 49에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 47에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 33 mg/ml 이하의 1개의 항-TcdA 항체, 서열번호 129에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열번호 127에 제시된 경쇄 가변 영역을 갖는 28 mg/ml 이하의 제1 항-TcdB 항체, 및 서열번호 159에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열번호 157에 제시된 경쇄 가변 영역을 갖는 25 mg/ml의 제2 항-TcdB 항체를 포함하는 제제가 제공된다.
- [0402] 한 실시양태에서, 4.0 내지 7.0 범위 내의 pH에서 약학 제제는 1 mg/ml 내지 200 mg/ml의 본 개시에 따른 항체, 1 mM 내지 100 mM의 완충제, 0.001% 내지 1%의 계면활성제, a) 10 mM 내지 500 mM의 안정화제, b) 5 mM 내지 500 mM의 긴장성 조절제, 또는 c) 10 mM 내지 500 mM의 안정화제 및 5 mM 내지 500 mM의 긴장성 조절제를 포함한다.
- [0403] 한 실시양태에서, 본 개시에 따른 조성물 또는 제제는 완충제로서 인산염 완충된 식염수를 포함한다.

- [0404] 예를 들면, 대략 pH 6에서 상기 제제는 1 mg/ml 내지 50 mg/ml의 항체, 20 mM의 L-히스티딘 HCl, 240 mM의 트레할로스 및 0.02%의 폴리소르베이트 20을 포함할 수 있다. 대안적으로, 대략 pH 5.5에서 제제는 1 내지 50 mg/ml의 항체, 20 mM의 시트레이트 완충제, 240 mM의 수크로스, 20 mM의 아르기닌 및 0.02%의 폴리소르베이트 20을 포함할 수 있다.
- [0405] 본 발명의 약학 조성물은 경구, 정맥내, 근육내, 동맥내, 수질내, 경막내, 심실내, 경피, 경피부(예를 들면, 국제 특허출원 공보 제W098/20734호 참조), 피하, 복강내, 비강내, 장, 국소, 설하, 질내 또는 직장 경로를 포함하나 이들로 한정되지 않는 임의의 수의 경로에 의해 투여될 수 있다. 피하분사기(hypospray)도 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 데에 사용될 수 있다. 전형적으로, 치료 조성물은 액체 용액 또는 현탁액으로서 주사가능한 조성물로서 제조될 수 있다. 주사 전에 액체 비히클 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 제형도 제조될 수 있다.
- [0406] 조성물의 직접적인 전달은 일반적으로 피하, 복강내, 정맥내 또는 근육내로 주사에 의해 달성될 것이거나 조직의 간질 공간으로 전달될 것이다.
- [0407] 또한, 조성물은 병소 내로 투여될 수 있거나, 예를 들면, 삼키기 위한 캡슐화된 경구 용량에 의해, 위 또는 회장까지 연결된 코위관을 통해, 직장관 또는 관장 용액을 통해, 또는 직장 캡슐에 의해 위장관 내로 직접적으로 투여될 수 있다. 용량 치료는 단회 용량 스케줄 또는 다회 용량 스케줄일 수 있다.
- [0408] 조성물 중의 활성 성분은 항체 분자일 것이라는 것이 인식될 것이다. 따라서, 상기 활성 성분은 위장관에서의 분해에 민감할 것이다. 따라서, 조성물이 위장관을 이용하는 경로에 의해 투여되는 경우, 상기 조성물은 분해로부터 항체를 보호하되, 일단 상기 항체가 위장관으로부터 흡수되면 상기 항체를 방출하는 물질을 함유할 필요가 있을 것이다.
- [0409] 약학적으로 허용가능한 담체의 철저한 논의는 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991))에서 입수될 수 있다.
- [0410] 본 발명은 치료, 예를 들면, 클로스트리듐 디피실 감염 또는 이와 관련된 합병증, 예컨대, 설사, 결장염, 특히 가성막 결장염, 고창증, 복부 통증 및 독성 메가결장의 치료 또는 예방을 위한, 본원에 기재된 항체 또는 항체 조합물, 또는 이를 포함하는 조성물도 제공한다.
- [0411] 예방은 백신을 생성하기 위해 불활성화된 독소 항원(변성독소) 및 항체로 구성된 미리 형성된 복합체의 투여에 의해 달성될 수도 있다.
- [0412] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체, 이의 조합물 및 이를 포함하는 조성물은 클로스트리듐 디피실의 소위 수퍼 균주, 즉 고병독성 균주, 예컨대, 리보타입 027에 의한 감염을 치료하는 데에 적합하다.
- [0413] 본 발명에 따른 항체 및 조성물은 일차 감염 동안 관련 클로스트리듐 디피실 독소의 급성 및/또는 만성 효과의 치료 또는 예방에 사용되기에 적합하다.
- [0414] 본 발명에 따른 항체 및 조성물은 이차 감염 또는 재감염 동안 관련 클로스트리듐 디피실 균주의 효과의 치료 또는 예방에 사용되기에 적합하다. 국제 지침은 일차 감염 후 시간 간격을 규정하여 종종 재발로서 기재되는 기존 증상의 연속과 상이한 감염으로서 이차(또는 반복) 감염을 정의한다(29). 연구는 이차 감염이 일차 감염과 동일한 균주 또는 리보타입의 결과일 수 있다는 것을 밝혔다. 이러한 경우, 재발보다는 반복이 약정된 시간적 제한에 의존한다. 그러나, 연구는 이차 감염이 일차 감염의 균주 또는 리보타입과 상이한 균주 또는 리보타입의 감염의 결과일 수도 있다는 것도 명확히 보여준다. 한 연구에서, 질환 반복의 48%는 제1 감염을 야기한 균주와 상이한 제2 균주의 결과이었다(30). 또 다른 연구에서, 질환 반복의 56% 초과는 제1 감염을 야기한 균주와 상이한 제2 균주의 결과이었다(31).
- [0415] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체, 이의 조합물 및 이를 포함하는 조성물은 손상, 예를 들면, 결장의 상피에 대한 장기간 구조적 손상의 예방에 사용되기에 적합하다.
- [0416] 한 실시양태에서, 상기 항체, 조합물 및 조성물은 감염, 특히 병원내 감염의 반복을 포함하는 클로스트리듐 디피실 감염을 예방하는 데에 적합하다.
- [0417] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체, 이의 조합물 및 이를 포함하는 조성물은 클로스트리듐 디피실 감염의 반복의 위험을 감소시키는 데에 적합하다.
- [0418] 유리하게는, 본 개시의 항체는 이 항체가 특이성을 나타내는 독소의 부재 하에서 상기 항체가 대상체의 신체 조

직과 불리한 상호작용을 야기하지 않으면서 신체로부터 단순히 제거되기 때문에 감염 또는 재감염을 예방하기 위해 예방적으로 투여될 수 있다.

- [0419] 유리하게는, 본 개시의 항체는 투여 후 신속한 반응을 이끌어내는 듯한데(예를 들면, 투여한지 1일 또는 2일 이내에 표적 독소의 신속한 제거가 유발되는데), 이것은 중추적인 장기, 예컨대, 폐, 심장 및 신장이 손상되는 것을 예방할 수 있다. 이것은 급성 클로스트리듐 디피실 감염 단계에서 독소 A 및/또는 B에 의한 환자의 손상 또는 상해를 예방하는 데에 사용될 수 있는 물질이 이용가능하게 되었다는 첫 번째 보고이다.
- [0420] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체, 이의 조합물 및 이를 포함하는 조성물은 필수적인 장기에 대한 손상을 예방하는 데에 적합하다.
- [0421] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 항체, 조합물 또는 제제는 독소에 의해 회복불가능한 손상이 발생하기 전에 적절한 기간 이내에 투여되는 경우 감염된 환자의 사망을 예방하는 데에 적합하다.
- [0422] 본 개시의 항체는 생체내에서 신속한 효과를 용이하게 하는 빠른 결합 속도를 갖는다.
- [0423] 한 실시양태에서, 환자 집단은 60세 초과, 예컨대, 65세 초과의 환자 집단이다.
- [0424] 한 실시양태에서, 환자 집단은 5세 이하의 환자 집단이다.
- [0425] 본 발명에 따른 항체는 항생제 치료, 예를 들면, 메트로니다졸, 반코마이신 또는 피닥소미신과 병용될 수 있다.
- [0426] 다양한 시험관내 데이터가 Mab들 및 Mab 혼합물의 성질을 예시한다. 본 발명자들은 3개의 Mab들의 한 혼합물(50% 몰량의 항-TcdA 및 50% 몰량의 항-TcdB 성분)이 치명적인 CDI로부터 햄스터를 보호할 수 있었다는 것을 보여준다.
- [0427] 한 실시양태에서, 예를 들면, 클로스트리듐 디피실 감염 또는 이와 관련된 합병증, 예컨대, 설사, 결장염, 특히 가성막 결장염, 고창증, 복부 통증 및 독소 메가결장의 치료 또는 예방에 있어서 치료 유효량의 본원에 기재된 항체 또는 항체 조합물, 또는 이를 포함하는 조성물을 투여하여 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0428] 한 실시양태에서, 항체, 조합물 또는 제제는 비경구 경로, 예를 들면, 피하, 복강내, 정맥내 또는 근육내로 투여된다. 햄스터에서 발생한 실시예의 데이터는 이 경로에 의해 투여된 용량이 장에 도달하여 치료 효과를 발생시킬 수 있다는 것을 표시한다.
- [0429] 한 실시양태에서, 항체, 조합물 또는 제제는 경구, 예를 들면, 장코팅된 제제로 투여된다.
- [0430] 한 실시양태에서, 클로스트리듐 디피실 감염의 치료 또는 예방용 약제의 제조를 위한 본원에 기재된 항체, 조합물 또는 제제의 용도가 제공된다.
- [0431] 한 실시양태에서, 투여되는 용량은 1 mg/kg 내지 1000 mg/kg, 예를 들면, 10 mg/kg 내지 75 mg/kg, 예컨대, 20 mg/kg 내지 50 mg/kg의 범위 내에 있다.
- [0432] 한 실시양태에서, 마우스 및 햄스터의 생체내에서 항체 또는 항체들의 반감기는 건강한(비감염된) 동물에서 6일 내지 8일의 범위 내에 있으므로 인간에서 14일 내지 28일의 범위 내에 있는 반감기를 가질 것으로 예측된다.
- [0433] 한 실시양태에서, 항체 또는 항체들은 1회 용량으로서만 제공된다.
- [0434] 한 실시양태에서, 항체 또는 항체들은 1주 또는 2주 용량으로서 제공된다.
- [0435] 한 실시양태에서, 항체 또는 항체들은 1일 1회 용량으로서 제공된다.
- [0436] 한 실시양태에서, 본원에서 정의된 하나 이상의 항-TcdA 항체와 함께 복합체를 형성하는 TcdA 또는 이의 면역원성 단편을 포함하는 복합체가 제공된다. 상기 복합체는 예를 들면, 인간에게 투여된 후 생체내에서 독소 A에 대한 보호 항체를 발생시키기에 적합한 백신 제제 중의 항원으로서 사용될 수 있다.
- [0437] 한 실시양태에서, 본원에서 정의된 하나 이상의 항-TcdB 항체와 함께 복합체를 형성하는 TcdB 또는 이의 면역원성 단편을 포함하는 복합체가 제공된다. 상기 복합체는 예를 들면, 인간에게 투여된 후 생체내에서 독소 B에 대한 보호 항체를 발생시키기에 적합한 백신 제제 중의 항원으로서 사용될 수 있다.
- [0438] 본 발명에서 사용되기에 적합한 항원보강제를 생성하도록 제제화될 수 있는 Th1 유형의 면역자극제는 하기 면역자극제들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

- [0439] 한 실시양태에서, TcdA 또는 이의 면역원성 단편 및 TcdB 또는 이의 면역원성 단편을 포함하는 복합체가 제공되고, 이때 각각의 독소 또는 단편은 이에 대해 특이적인 하나 이상의 항체와 함께 복합체를 형성하고, 이때 상기 복합체는 백신 제제로서 투여되기에 적합하다.
- [0440] 항체:항원 복합체는 Fc 수용체 매개 과정에서 면역 시스템에 의해 흡수되는 것으로 공지되어 있고(27 및 28), 항체:항원 복합체의 미리 형성된 복합체는 인간 임상 시험에서 백신으로서 성공적으로 사용되었다(22).
- [0441] 하나 이상의 실시양태에서, 백신 제제는 면역자극제로서 항원보강제를 추가로 포함한다.
- [0442] 모노포스포릴 지질 A, 특히 3-데-0-아실화된 모노포스포릴 지질 A(3D-MPL)가 본 발명에서 사용되기에 바람직한 Th1 유형의 면역자극제이다. 3D-MPL이 리비 이뮤노켄(Ribi Immunochem)(몬타나 소재)에 의해 제조된 잘 공지된 항원보강제이다. 화학적으로, 이 물질은 종종 3-데-0-아실화된 모노포스포릴 지질 A와 4개, 5개 또는 6개의 아실화된 쇠의 혼합물로서 공급된다. 상기 물질은 디포스포릴 지질 A 및 이의 3-0-탈아실화된 변이체의 제조도 개시하는 영국 특허 제2122204B호에 교시된 방법에 의해 정제되고 제조될 수 있다. 다른 정제된 합성 지질다당류도 기재되어 있다(미국 특허 제6,005,099호; 유럽 특허 제0 729 473 B1호; 문헌(Hilgers et al., 1986, Int. Arch. Allergy. Immunol., 79(4):392-6); 문헌(Hilgers et al., 1987, Immunology, 60(1):141-6); 및 유럽 특허 제0 549 074 B1호). 3D-MPL의 바람직한 형태는 직경 0.2 mm 미만의 작은 입자 크기를 갖는 미립자 제제의 형태로 존재하고, 이의 제조 방법은 유럽 특허 제0 689 454호에 개시되어 있다.
- [0443] 사포닌도 본 발명에 따른 바람직한 Th1 면역자극제이다. 사포닌은 잘 공지된 항원보강제이고 문헌(Lacaille-Dubois, M and Wagner H., 1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. Phytomedicine vol 2 pp 363-386)에 교시되어 있다. 예를 들면, (남아메리카 나무 퀴라자 사포나리아 몰리나(Quillaja Saponaria Molina)의 나무껍질로부터 유래된) 퀴(Quil) A 및 이의 분획이 미국 특허 제5,057,540호, 문헌("Saponins as vaccine adjuvants", Kensil, C. R., Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 1996, 12 (1-2):1-55) 및 유럽 특허 제0 362 279 B1호에 기재되어 있다. 용혈 사포닌 QS21 및 QS17(퀴 A의 HPLC 정제된 분획)은 강력한 전신 항원보강제로서 기재되어 있고, 이들의 제조 방법은 미국 특허 제5,057,540호 및 유럽 특허 제0 362 279 B1호에 개시되어 있다. 이들 참고문헌들에는 전신 백신을 위한 강력한 항원보강제로서 작용하는 QS7(퀴 A의 비용혈성 분획)의 사용도 기재되어 있다. QS21의 사용은 문헌(Kensil et al., 1991. J. Immunology vol 146, 431-437)에도 기재되어 있다. QS21과 폴리소르베이트 또는 사이클로덱스트린의 조합물도 공지되어 있다(국제 특허출원 공보 제W099/10008호). 퀴 A의 분획, 예컨대, QS21 및 QS7을 포함하는 미립자 항원보강제 시스템은 국제 특허출원 공보 제W096/33739호 및 제W096/11711호에 기재되어 있다. 이러한 한 시스템은 이스코른(Iscorn)으로서 공지되어 있고 하나 이상의 사포닌을 함유할 수 있다.
- [0444] 또 다른 바람직한 면역자극제는 비메틸화된 CpG 디뉴클레오티드("CpG")를 함유하는 면역조절 올리고뉴클레오티드이다. CpG는 DNA에 존재하는 사이토신-구아노신 디뉴클레오티드 모티프에 대한 약어이다. CpG는 전신 경로 및 점막 경로 둘다에 의해 투여될 때 항원보강제인 것으로서 당분야에서 공지되어 있다(국제 특허출원 공보 제W096/02555호, 유럽 특허 제468520호, 문헌(Davis et al., J. Immunol, 1998, 160(2):870-876) 및 문헌(McCluskie and Davis, J. Immunol., 1998, 161(9):4463-6). 역사적으로, BCG의 DNA 분획이 항-종양 효과를 발휘할 수 있다는 것이 관찰되었다. 추가 연구에서, BCG 유전자 서열로부터 유래된 합성 올리고뉴클레오티드는(시험관내 및 생체내 둘다에서) 면역자극 효과를 유도할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 이들 연구들의 연구진들은 중심 CG 모티프를 비롯한 특정 팔린드롬성(palindromic) 서열이 이 활성을 보유한다는 결론을 도출하였다. 면역 자극에 있어서 CG 모티프의 증추적인 역할은 추후 문헌(Krieg, Nature 374, p546 1995)에서 규명되었다. 상세한 분석은 CG 모티프가 특정 서열 환경에 존재해야 하고 이러한 서열이 세균 DNA에서는 흔하지만 척추동물 DNA에서는 드물다는 것을 밝혔다. 면역조절 서열은 종종 퓨린, 퓨린, C, G, 피리미딘, 피리미딘이고, 이때 CG 모티프는 메틸화되어 있지 않지만, 다른 비메틸화된 CpG 서열이 면역조절성을 나타내는 것으로 공지되어 있고 본 발명에서 사용될 수 있다.
- [0445] 6개 뉴클레오티드들의 특정 조합에서, 팔린드롬성 서열이 존재한다. 이들 모티프들 중 여러 개의 모티프들이 한 모티프의 반복부 또는 상이한 모티프들의 조합물로서 동일한 올리고뉴클레오티드에 존재할 수 있다. 하나 이상의 이들 면역조절 서열 함유 올리고뉴클레오티드의 존재는(인터페론 g를 생성하고 세포용해 활성을 갖는) 천연 살해 세포 및 대식세포를 비롯한 다양한 면역 서브셋을 활성화시킬 수 있다(Wooldrige et al Vol 89 (no. 8), 1977). 이러한 컨센서스 서열을 갖지 않는 다른 비메틸화된 CpG 함유 서열도 면역조절성을 나타내는 것으로 현재 밝혀져 있다.
- [0446] CpG는 백신으로 제제화될 때 일반적으로 자유 항원과 함께(국제 특허출원 공보 제W096/02555호 및 상기 문헌

(McCluskie and Davis)) 또는 항원에 공유접합된(국제 특허출원 공보 제W098/16247호) 자유 용액 상태, 또는 담체, 예컨대, 수산화알루미늄으로 제제화된 상태((간염 표면 항원) 상기 문헌(Davis et al.) 및 문헌(Brazolot-Millan et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1998, 95(26), 15553-8))로 투여된다.

- [0447] 전술된 이러한 면역자극제는 담체, 예컨대, 리포솜, 수중유 유화액, 및/또는 알루미늄 염(예컨대, 수산화알루미늄)을 비롯한 금속성 염과 함께 제제화될 수 있다. 예를 들면, 3D-MPL은 수산화알루미늄(유럽 특허 제0 689 454호) 또는 수중유 유화액(국제 특허출원 공보 제W095/17210호)과 함께 제제화될 수 있고, QS21은 유리하게는 콜레스테롤 함유 리포솜(국제 특허출원 공보 제W096/33739호), 수중유 유화액(국제 특허출원 공보 제W095/17210호) 또는 명반(국제 특허출원 공보 제W098/15287호)과 함께 제제화될 수 있고, CpG는 명반(상기 문헌(Davis et al.) 및 상기 문헌(Brazolot-Millan)) 또는 다른 양이온성 담체와 함께 제제화될 수 있다.
- [0448] 면역자극제들의 조합물, 구체적으로 모노포스포릴 지질 A와 사포닌 유도체의 조합물(국제 특허출원 공보 제W094/00153호, 제W095/17210호, 제W096/33739호, 제W098/56414호, 제W099/12565호 및 제W099/11241호), 보다 구체적으로 국제 특허출원 공보 제W094/00153호에 개시된 바와 같은 QS21과 3D-MPL의 조합물도 바람직하다. 대안적으로, CpG와 사포닌, 예컨대, QS21의 조합물도 본 발명에서 사용되는 강력한 항원보강제를 형성한다. 대안적으로, 사포닌은 리포솜 또는 이스코른 내에 제제화될 수 있고 면역자극 올리고뉴클레오티드와 조합될 수 있다.
- [0449] 따라서, 적합한 항원보강제 시스템은 예를 들면, 모노포스포릴 지질 A, 바람직하게는 3D-MPL과 알루미늄 염의 조합물을 포함한다.
- [0450] 따라서, 한 실시양태에서, 항원보강제는 수중유 또는 리포솜 제제 중의 QS21과 3D-MPL의 조합물이다.
- [0451] 향상된 시스템은 모노포스포릴 지질 A와 사포닌 유도체의 조합물, 특히 국제 특허출원 공보 제W094/00153호에 개시된 바와 같은 QS21과 3D-MPL의 조합물, 또는 국제 특허출원 공보 제W096/33739호에 개시된 바와 같이 QS21이 콜레스테롤 함유 리포솜(DQ) 중에 캡핑되어 있는 보다 낮은 반응유발성 조성물을 포함한다. 이 조합물은 면역자극 올리고뉴클레오티드를 추가로 포함할 수 있다.
- [0452] 수중유 유화액 중의 QS21, 3D-MPL 및 토코페롤을 포함하는 특히 강력한 항원보강제 제제는 국제 특허출원 공보 제W095/17210호에 기재되어 있고 본 발명에서 사용되기에 바람직한 또 다른 제제이다.
- [0453] 또 다른 바람직한 제제는 단독으로 존재하거나 알루미늄 염과 함께 존재하는 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다.
- [0454] 본 발명의 추가 양태에서, 본원에 기재된 백신 제제의 제조 방법이 제공되고, 이때 상기 방법은 본 발명에 따른 폴리펩티드를 적합한 항원보강제와 혼합하는 단계를 포함한다.
- [0455] 본 발명에 따른 제제에서 사용되기에 특히 적합한 항원보강제 조합물은 다음과 같다:
- [0456] i) 리포솜 중의 3D-MPL + QS21
- [0457] ii) 명반 + 3D-MPL
- [0458] iii) 명반 + 리포솜 중의 QS21 + 3D-MPL
- [0459] iv) 명반 + CpG
- [0460] v) 3D-MPL + QS21 + 수중유 유화액
- [0461] vi) CpG.
- [0462] 본원에서 사용된 바와 같이, 본 명세서와 관련하여 용어 "포함하는"은 "비롯한"으로서 해석되어야 한다.
- [0463] 실시양태 및 바람직한 요소는 기술적으로 적절한 경우 조합될 수 있다.
- [0464] 본원의 개시는 특정 정수를 포함하는 실시양태를 기술한다. 또한, 본 개시는 상기 정수로 구성되거나 본질적으로 상기 정수로 구성된 동일한 실시양태까지 확장된다.
- [0465] **실시예**
- [0466] **항체 발생**
- [0467] 다양한 넓은 면역 반응을 제공하고 (표 1에 나열된) 단일클론 항체의 확인 및 특징규명을 용이하게 하기 위해

다양한 상이한 면역원들 및 스크리닝 시약들을 구입하였거나 통상적인 이. 콜라이 발현 기법으로 제조하였다. 재조합 단백질 또는 펩티드가 발생하는 경우, 서열은 리보타입 027에 기초하였다. 리보타입 027의 TcdA에 대한 서열은 서열번호 171(유니프룻 등록번호 C9YJ37)에 제시되어 있고, 리보타입 027의 TcdB에 대한 서열은 서열번호 172(유니프룻 등록번호 C9YJ35)에 제시되어 있다.

[0468] 스프라그 다울리 래트 및 하프-톱(half-top) 토끼를 TcdA 및 TcdB 전장 독소 둘다에 공통된 영역에 맵핑되는 합성 펩티드, 포름알데하이드-불활성화된 변성독소 A, 독소 A의 결합 도메인 단편(CROPs1,2,3 또는 CROPs4,5,6) 또는 독소 B의 결합 도메인 단편(CROPs1,2,3,4), 또는 몇몇 경우 이들의 조합물로 면역화시켰다. 2회 내지 6회 면역화 후, 동물을 희생시켰고, PBMC, 비장 및 골수를 채취하였다. 독소 A 도메인, 독소 B 도메인, 독소 또는 변성독소와의 결합에 대해 혈청을 ELISA로 모니터링하였다. 이러한 2회 면역화의 혈청 역가는 도 11에 제시되어 있다.

[0469] UCB SLAM을 단일클론 항체를 발생시키기 위한 수단으로서 사용하였다. 면역화된 동물로부터 B 세포를 직접적으로 배양하였다(Zubler et al., 1985). 이 단계는 B 세포 레퍼토리의 대부분의 샘플링을 가능하게 하였다. 선택된 림프구 항체 방법(SLAM)(Babcock et al., 1996)을 도입함으로써 양성 배양 웰을 찾아내고 항원 특이적 항체 분비 세포를 확인할 수 있었다. 여기서, 본 발명자들은 형광 기초 방법을 이용하여 배양 웰로부터 항원 특이적 B 세포를 확인하는 SLAM의 변경된 버전(UCB SLAM (Tickle et al. 2009))을 이용하였다. B 세포 배양을 준비하였고 어플라이드 바이오시스템(Applied Biosystem) 8200 세포 검출 시스템을 이용하여 비드 기초 분석에서 상정액을 관련 정제된 독소 도메인(결합, 전위 또는 촉매)에 결합하는 그들의 능력에 대해 스크리닝하였다. 이것은 IgG, 스트렙타비딘 비드 상에 코팅된 바이오티닐화된 독소 도메인 및 염소 항-래트/토끼 Fc-Cy5 접합체를 함유하는 B 세포 배양 상정액을 사용하는 균질한 분석이었다. 이 분석으로부터 TcdA 또는 TcdB 성분과의 결합에 대해 양성을 나타내는 세포 배양물을, 독소-유도된 세포독성의 중화제를 확인하기 위한 세포 기초 기능 분석에서 사용하기 위해 선택하였다.

[0470] 총 40 x 50 플레이트 실험으로부터 일차 결합 스크린에서 대략 12,000개의 독소 특이적 양성 배양물을 확인하였다. 이것은 대략 5억 개의 B 세포의 스크리닝에 해당하였다. 역전사(RT)-PCR 후 대략 100개의 독소 중화 웰로부터 미세조작에 의해 수집된 단일 세포로부터 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자 쌍을 분리하였다. 그 다음, 이들 V 영역 유전자들을 래트 가변 영역에 대한 마우스 IgG1/카파 전장 항체 및 토끼 가변 영역에 대한 토끼 IgG/카파 전장 항체로서 클로닝하였다. 항체들을 HEK-293 일시적 발현 시스템에서 다시 발현시켰다. 그 다음, 이들 재조합 항체들을 세포 기초 분석에서 독소를 중화시키는 그들의 능력에 대해 다시 시험하였다. 재조합 항체도 비아코어로 스크리닝하여 주어진 독소 도메인에 대한 친화성을 측정하고 특이성 및 항체와 독소의 대략적인 결합 횟수도 측정하였다. 세포 기초 분석에서의 시험관내 활성 및 친화성 측정에 기초하여, 인간화를 위해 선두 후보들을 선택하였다. 달리 기재되어 있지 않은 한, 인간화된 항체를 사용하여 본원의 모든 데이터를 발생시켰다.

[0471] 이. 콜라이에 의해 생성된 재조합 독소 단편(TcdA)의 패널, 클로스트리듐 디피실로부터 유래된 독소 또는 변성 독소(A) 및 합성 펩티드(B)를 발생시켰거나 상업적 공급처로부터 구입하였다.

표 1

스크리닝 및 면역화를 위한 독소 A(TcdA) 서열 관련 시약들

단편	잔기 번호	공급원
TcdA 촉매	M1-E659	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA 전위	K577-D1350	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROPS ₁₂₃ (TcdA123)	S1827-D2249	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROPS ₄₅₆ (TcdA456)	G2205-R2608	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROP ₁	S1827-N1978	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROP ₂	G1966-N2133	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROP ₃	G2100-D2249	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROP ₄	G2213-N2381	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROP ₅	G2328-N2494	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROP ₆	G2462-N2609	UCB 이. 콜라이 발현
TcdA CROP ₇	R2554-D2701	UCB 이. 콜라이 발현
TcdB 촉매	M1-A593	UCB 이. 콜라이 발현
TcdB 전위	R576-D1349	UCB 이. 콜라이 발현
TcdB 결합(TcdB ₁₂₃₄)	S1833-E2366	UCB 이. 콜라이 발현
TcdB CROP ₁	S1833-S1981	UCB 이. 콜라이 발현
TcdB CROP ₂	G1968-D2113	UCB 이. 콜라이 발현
TcdB CROP ₃	G2100-E2247	UCB 이. 콜라이 발현
TcdB CROP ₄	G2234-E2366	UCB 이. 콜라이 발현
독소 A	전장	구입됨
독소 B	전장	구입됨
변성독소 A	전장	구입됨

[0472]

표 2

스크리닝 및 면역화를 위한 독소 B(TcdB) 서열 관련 시약들

독소 도메인	아미노산 서열	
촉매	SPVEKNLHFVWIGGEVSD	서열번호 173
촉매	NLAAASDIVRL	서열번호 174
촉매	CGGVYLDVDMLPGIH	서열번호 175
촉매	CGGVYLDVDMLPGIHSDFK	서열번호 176
촉매	CWEMIKLEAIMKYK	서열번호 177
촉매	CTNLVIEQVKNR	서열번호 178
촉매	PEARSTISLSGP	서열번호 179
촉매	CSNLIVKQIENR	서열번호 180
촉매	TEQEINSLWSFDQA	서열번호 181
촉매	TEQEINSLWSFDPEARSTISLSGPC	서열번호 182
전위	NVEETYPGKLLC	서열번호 183
전위	Acetyl-CANQYEVRLINSEGR	서열번호 184
전위	VNTLNAAFFIQSLIC	서열번호 185
전위	YAQLFSTGLNTIC	서열번호 186
전위	CAGISAGIPSLVNNEL	서열번호 187
전위	DDLVISEIDFNNSIC	서열번호 188
전위	MEGGSGHTVT	서열번호 189
전위	AVNDTINVLPITITEGPIVSTILDGINLGAAIKEL	서열번호 190
결합	CGFEYFAPANTDANNIEGQA	서열번호 191
결합	CGYKYFAPANTVNDNIYGQA	서열번호 192
결합	CKYYFNTNTAEA	서열번호 193
결합	CKYYFDEDTAEA	서열번호 194

[0473]

[0474] 클로스트리듐 디피실 항-독소 Mab들의 발현 및 정제

[0475] 별도의 경쇄 포유동물 발현 플라스미드 및 중쇄 포유동물 발현 플라스미드를 등물 비로 조합하여 HEK-293 또는 CHO-S 세포를 형질감염시키는 데에 사용하였다. 소규모 발현 연구를 위해 리포펙타민 및 HEK-293 세포를 사용한 반면, 보다 큰 회분의 IgG의 생성을 위해 CHO-S 내로의 전기천공이 바람직하였다.

[0476] 배양 상청액을 (pH 7.4의 PBS에서) MabSelect SuRe 컬럼 상에 적재하였다. 항체를 100%의 0.1 M 시트르산나트륨(pH 3.4) 완충제로 용출하였다. 샘플을 트리스.Cl(pH 8.0)로 pH 7.4까지 중화시켰다. 응집체를 pH 7.4의 PBS에서 수퍼텍스 200 겔 여과 컬럼으로 제거하였다.

표 3

항체	세포 유형	SN의 부피(ℓ)	발현 유형	정제된 양(mg)
CA164_00997.g1_P3	CHO	10	일시적	755.93
CA164_00922.g1_P3	CHO	0.5	일시적	129.36
CA164_01125.g2_P3	CHO	10	일시적	498.96
CA164_01151.g4_P3	CHO	5	일시적	262.43

[0477]

[0478] 실시예 1: 정제된 Mab들에 의한 TcdA 활성의 시험관내 중화

[0479] 모든 중화 스크리닝 분석을 96웰 폴리스티렌 플레이트에서 수행하였다. 상기 분석은 MEM + 20% FCS, 2 mM Q 및 NEAA에서 성장되고 스크리닝된 CACO-2 세포를 사용한다. 달리 기재되어 있지 않은 한, 임의의 항체 조합물은 등물 비로 존재한다. **1일:** 세포를 50 μℓ의 배지에 웰 당 3000개씩 플레이팅하고 24시간 동안 항온처리하였다. **2일:** 인간화된 Mab의 정제된 샘플을 96웰 환저 폴리프로필렌 멸균 플레이트에 첨가하였다. 적절한 치사량, 즉 LD₈₀ 이상을 발생시키기에 충분한 농도로 독소 A를 PP 플레이트에 소량 첨가하고 37°C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 50 μℓ의 이 혼합물을 세포 플레이트에 첨가하고 96시간 동안 항온처리하였다. **5일:** 메틸렌 블루(0.5% 메틸렌 블루 50% 에탄올)를 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 세포를 1% N-라우릴 사르코신으로 용해시키고 405 nm에서 바이오텍 시너지2 플레이트 판독기 상에서 판독하였다. 결과는 도 12 내지 24에 제시되어 있다. 제시된 TcdA 활성의 EC₅₀ 및 % 최대 중화는 선택된 항체들이 단일 물질로서 매우 높은 효능을 갖는다는 것을 확인시켜준다. 이들 중 2개 내지 5개의 항체들의 조합물은 가장 우수한 EC₅₀ 또는 % 최대 중화를 개선하지 못하였다. Mab들 즉, CA922, CA923, CA995, CA997 및 CA1000을 조합할 때 임의의 상승작용의 결여는 중요한 관찰결과이고, 각각의 항체 단독이 이례적으로 높은 수준의 친화성 및 효능을 갖는다는 사실에 기인할 수 있다. 실시예 5의 뒷받침 데이터도 Mab들 중 일부(예를 들면, CA997)가 TcdA 서브도메인에 다회 결합할 수 있다는 것을 보여준다. 따라서, 이들 5개의 Mab들이 TcdA의 C 말단 세포 결합 도메인을 표적화할 때 달성될 수 있는 최대 친화성, 효능 및 결합가를 나타낼 가능성이 있는 듯하다. 상기 항체들은 LD₈₀ 내지 LD₉₅(LD_{최대}) 초과의 매우 높은 독소 농도를 중화시키는 데에 있어서도 효과적이었지만, EC₅₀에서의 약간의 증가(즉, 효능의 감소)가 매우 높은 수준의 [TcdA]을 사용할 때 관찰되었다. 다른 연구들이 상승된 TcdA 농도를 시험할 때 효능의 상당한 감소를 보여주었기 때문에(20) 이들 데이터도 놀라운 결과이다.

[0480] 본원에 기재된 Mab들, 예를 들면, CA997의 높은 효능 및 친화성은 그들의 높은 결합가에만 기인하지 않는다. 다른 문헌(20 및 국제 특허출원 공보 제006/071877호)에는 최대 14회까지 결합할 수 있는 항-TcdA Mab들이 기재되어 있다. 이들 Mab들은 단지 0.3 nM 내지 100 nM 범위 내의 친화성을 가졌고 단독으로(26% 내지 63% 보호) 또는 쌍으로(31% 내지 73% 보호) TcdA 매개 세포 사멸에 대한 불완전한 보호를 보였다. 따라서, TcdA에 대한 높은 결합가가 반드시 TcdA에 대한 높은 결합 친화성 또는 TcdA의 중화를 이끌어내지는 않는다는 것이 입증되었다. TcdA에 대한 결합 친화성 및 결합가 중 어느 것도 Mab CDA-1(18 및 미국 특허 제7625559호)에 대해 기재되어 있지 않다. 따라서, 본원에 기재된 Mab들은 놀라운 친화성, 효능 및 결합가를 갖는다.

표 4

단일 TcdA 농도(LD₈₀)에서 항-TcdA 1, 2 및 3 Mab 조합물

항체	최종(최고) Mab 농도 ng/ml	EC ₅₀ (ng/ml)
922	500	1.21
923	500	160.42
995	500	37.64
997	500	6.25
1000	500	19.73
922+ 923	500	3.58
922+ 925	500	3.326
922+ 997	500	2.88
922+ 1000	500	2.64
923+ 995	500	60.23
923+ 997	500	7.54
923+ 1000	500	9.24
995+ 997	500	7.29
995+ 1000	500	19.63
997+ 1000	500	4.46
922+ 923+ 995	500	4.72
922+ 923+ 997	500	3.23
922+ 923+ 1000	500	3.21
922+ 995+ 997	500	2.22
922+ 995+ 1000	500	2.85
922+ 997+ 1000	500	2.22
923+ 995+ 997	500	5.04
923+ 995+ 1000	500	9.49
995+ 997+ 1000	500	5.84
922+ 923+ 995+ 997	500	2.75
922+ 923+ 995+ 1000	500	3.75
922+ 995+ 997+ 1000	500	3.46
923+ 995+ 997+ 1000	500	4.81
922+ 923+ 997+ 1000	500	3.06
922+ 923+ 995+ 997+ 1000	500	4.72

[0481]

표 5

다양한 TcdA 농도에서 항-TcdA 단일 Mab 조합물, 쌍을 형성한 Mab 조합물 및 삼중 Mab 조합물(이때, TcdA는 그의 LD₈₀, LD₉₀, LD₉₅ and LD₉₉대로 존재함)

독소 TcdA	샘플	최종 Mab 농도 ng/ml	EC ₅₀ (ng/ml)
@ 3000 pg/ml(LD ₉₉)	922	500	4.89
	997	500	10.99
	1000	500	50.17
	922+ 997	500	7.18
	922+ 1000	500	6.99
	997+ 1000	500	9.437
	922+ 997+ 1000	500	10.80
	922+ 997+ 1000+ 995	500	15.03
	922+ 997+ 1000+ 995+ 923	500	7.16
@ 1000 pg/ml(LD ₉₅)	922	500	1.24
	997	500	3.42
	1000	500	9.60
	922+ 997	500	1.85
	922+ 1000	500	2.51
	997+ 1000	500	3.61
	922+ 997+ 1000	500	2.40
	922+ 997+ 1000+ 995	500	2.74
	922+ 997+ 1000+ 995+ 923	500	2.38
@ 700 pg/ml(LD ₉₀)	922	500	0.84
	997	500	2.40
	1000	500	6.23
	922+ 997	500	1.19
	922+ 1000	500	1.33
	997+ 1000	500	2.68
	922+ 997+ 1000	500	1.84
	922+ 997+ 1000+ 995	500	2.17
	922+ 997+ 1000+ 995+ 923	500	2.06
@ 350 pg/ml(LD ₈₀)	922	500	0.39
	997	500	1.18
	1000	500	2.76
	922+ 997	500	0.67
	922+ 1000	500	0.85
	997+ 1000	500	2.06
	922+ 997+ 1000	500	0.83
	922+ 997+ 1000+ 995	500	0.97
	922+ 997+ 1000+ 995+ 923	500	0.98

[0482]

[0483] 실시예 2: 정제된 Mab에 의한 항-TcdB 시험관내 증화

[0484] 분석 방법 설명:

[0485] 모든 증화 스크리닝 분석을 96웰 폴리스티렌 플레이트에서 수행하였다. 상기 분석은 MEM + 20% FCS, 2 mM Q 및 NEAA에서 성장되고 스크리닝된 CACO-2 세포를 사용한다. 달리 기재되어 있지 않은 한, 모든 Ab 조합물은 등물 비로 존재한다.

- [0486] • 1일: 세포를 50 μl의 배지에 웰 당 3000개씩 플레이팅하고 24시간 동안 항온처리한다.
- [0487] • 2일: 인간화된 Mab의 정제된 샘플을 96웰 환저 폴리프로필렌 멸균 플레이트에 첨가하였다.
- [0488] • 독소 B 로트 # 031을 PP 플레이트에 소량 첨가하고 37°C에서 1시간 동안 항온처리한다.
- [0489] • 50 μl의 이 혼합물을 세포 플레이트에 첨가한다.
- [0490] • 96시간 동안 항온처리한다.
- [0491] • 5일: 메틸렌 블루(0.5% 메틸렌 블루 50% 에탄올)를 첨가한다.

- [0492] • 실온에서 1시간 동안 항온처리한다.
- [0493] • 세포를 1% N-라우릴 사르코신으로 용해시킨다.
- [0494] • 405 nm에서 바이오텍 시너지2 플레이트 판독기 상에서 판독한다.

[0495] 도 25 내지 33의 데이터는 단일 Mab들 단독이 % 최대 중화 및 활성(EC₅₀)의 관점에서 TcdB를 중화시키는 데 있어서 상대적으로 비효과적이었다는 것을 보여준다. 그러나, 항체들을 2개 및 3개씩 조합하였을 때, % 최대 중화 및 활성(EC₅₀) 둘다에서의 상당한 개선이 관찰되었다. 다른 우수한 쌍들(1125+1153, 1125+1134)이 관찰되었지만 1125와 1151을 가장 우수한 쌍으로서 선택하였다.

[0496] Mab들 중 가장 효과적인 쌍을 실험적으로 선택하였고 각각의 Mab의 개별 효능을 고려할 때 예상외로 놀라운 조합을 만든다는 것을 소급적으로 발견하였다. 예를 들면, 표 6에서 CA927만이 정의된 EC₅₀을 발생시킬 수 있는 TcdB 중화력을 가졌지만, CA1125 및 CA1151 둘다의 TcdB 중화력은 이들 분석 조건 하에서 정의된 EC₅₀을 발생시키기에는 불충분하였다. 그러나, CA927은 조합물 내에서 사용되기에 가장 효과적인 Mab인 것으로 발견되지 않았다. 가장 우수한 CA927 함유 조합물은 13.5 ng/ml의 EC₅₀을 가진 반면, 다른 2개의 Mab 조합물들은 2.59 ng/ml 및 4.71 ng/ml만큼 낮은 EC₅₀을 가졌다. 또 다른 예로서, 표 8에서 CA1099는 이용된 분석 조건 하에서 가장 낮은 TcdB 중화 EC₅₀을 가졌다. 그러나, CA1099는 조합물 내에서 사용되기에 가장 효과적인 Mab인 것으로 발견되지 않았다. 가장 우수한 CA1099 함유 조합물은 6 ng/ml의 EC₅₀을 가진 반면, 다른 2개의 Mab 조합물들은 2 ng/ml 및 1 ng/ml만큼 낮은 EC₅₀을 가졌다. 본 발명자들은 Mab들의 가장 효과적인 쌍이 특히 비중첩 에피토프를 갖는 것에 의해 한정된 그들의 협력적 결합 양상에 의해 한정된다고 생각한다.

표 6

일정한 독소 농도에서 항-TcdB Mab 조합물 및 상대적인 Mab 비

샘플	최종 Mab 농도 ng/ml	EC ₅₀ (ng/ml)
1125.g2	1000	>1000
1134.g5	1000	>1000
927.g2	1000	12.89
1153.g8	1000	>1000
1102.g4	1000	>1000
927+ 1099	1000	>1000
927+ 1102	1000	>1000
927+ 1114	1000	>111.111
927+ 1125	1000	13.55
927+ 1134	1000	51.58
1099+ 1114	1000	>1000
1102+ 1114	1000	>333.333
1102+ 1125	1000	15.51
1114+ 1134	1000	19.70
1114+ 1151	1000	25.69
1114+ 1153	1000	27.48
1125+ 1134	1000	2.59
1125+ 1151	1000	4.71
1125+ 1153	1000	21.23
1125+ 1134+ 1114	1000	3.77
1125+ 1134+ 927	1000	2.63
1125+ 1151+ 1114	1000	4.90
1125+ 1151+ 927	1000	5.69
1125.g2+ 1134.g5+ 927.g2	1000	5.83
1125.g2+ 1134.g5+ 1153.g8	1000	9.89
1125.g2+ 1134.g5+ 1102.g4	1000	2.72

[0497]

[0498]

실시예 3: 정제된 Mab의 조합물에 의한 TcdB의 중화

[0499]

모든 중화 스크리닝 분석을 96웰 폴리스티렌 플레이트에서 수행하였다.

[0500]

상기 분석은 MEM + 20% FCS, 2 mM Q 및 NEAA에서 성장되고 스크리닝된 CACO-2 세포를 사용한다.

[0501]

- 1일: 세포를 50 μ l의 배지에 웰 당 3000개씩 플레이팅하고 24시간 동안 항온처리한다.

[0502]

- 2일: 인간화된 Mab의 정제된 샘플을 96웰 환저 폴리프로필렌 멸균 플레이트에 첨가하였다.

[0503]

- 독소 B(VPI 10463)를 PP 플레이트에 소량 첨가하고 37°C에서 1시간 동안 항온처리한다.

[0504]

- 50 μ l의 이 혼합물을 세포 플레이트에 첨가한다.

[0505]

- 72시간 동안 항온처리한다.

[0506]

- 5일: 메틸렌 블루(0.5% 메틸렌 블루 50% 에탄올)를 첨가한다.

[0507]

- 실온에서 1시간 동안 항온처리한다.

[0508]

- 세포를 1% N-라우릴 사르코신으로 용해시킨다.

[0509]

- 405 nm에서 바이오텍 시너지2 플레이트 판독기 상에서 판독한다.

[0510]

결과는 도 34 내지 45에 제시되어 있다.

[0511]

이들 데이터는 다양한 독소 농도에서 TcdB를 중화시키는 데에 있어서 가장 우수한 쌍의 Mab들이 CA1125와 CA1151이었다는 것을 보여준다. 더욱이, 1125+1151 조합물은 1125+1153과 대조적으로 상대적인 물 비에서의 변화에 의해 거의 영향을 받지 않았다.

표 7

3개의 상이한 독소 농도에서 항-TcdB Mab 조합물 및 상대적인 Mab 비

항체 조합물	EC ₅₀ 값(ng/ml)		
	TcdB LD ₆₀	TcdB LD ₇₇	TcdB LD ₈₅
1125.g2 + 927.g2 (50:50)	2.8	6	11.3
1125.g2 + 1102.g4 (50:50)	4	13	44
1125.g2 + 1114.g8 (50:50)	3.5	7.1	25.4
1125.g2 + 1134.g5 (50:50)	0.48	1.4	4
1125.g2 + 1151.g4 (50:50)	0.85	0.85	1.5
1125.g2 + 1153.g8 (50:50)	2.7	5.2	25.2
1125.g2 + 1134.g5 (25:75)	<0.15	0.84	7.2
1125.g2 + 1151.g4 (25:75)	0.73	1	2.1
1125.g2 + 1153.g8 (25:75)	7	10	27
1125.g2 + 1134.g5 (75:25)	0.66	1.2	2.5
1125.g2 + 1151.g4 (75:25)	1.4	1.2	8.3
1125.g2 + 1153.g8 (75:25)	2.9	7.5	30

[0512]

[0513]

상기 데이터는 가장 활성적인 특정 쌍의 조합물 조차도 서로에 대해 놀라울 정도로 예측불가능하게 상이한 성질을 갖는다는 것을 보여준다. 등물 비의 CA1125와 CA1151의 바람직한 조합물의 EC₅₀은 증가하는 [TcdB]에 의해 거의 영향을 받지 않는다. 시험된 Mab들의 3개의 상대적인 물 비(즉, 25:75 대 50:50 대 75:25)는 서로 매우 유사한 EC₅₀을 갖는데, 이것은 CA1125와 CA1151이 특히 상보적인 작용 방식을 갖는다는 것을 암시한다. 이것은 보다 높은 [TcdB]를 사용할 때 EC₅₀의 증가(즉, 효능의 감소)가 보다 더 상당하고 3개의 Mab 물 비가 동등하게 효과적이지 않은(25:75의 CA1125:CA1134 비는 50:50 및 75:25보다 현저히 덜 강력함) 경우인 CA1125와 CA1134의 조합물과 대조된다. 이것은 CA1125+CA1134의 조합된 효능이 CA1125 성분에 의해 더 좌우된다는 것을 암시한다. CA1125와 CA1153의 모든 3개의 물 조합물들의 EC₅₀은 증가하는 [TcdB]에 의해 실질적으로 영향을 받는데, 이것

은 CA1153이 CA1125와의 조합에 덜 적합한 파트너라는 것을 암시한다. 전체적으로, 이들 데이터는 가장 높은 효능이 다양한 Mab 및 TcdB 몰 비에 걸쳐 유지되기 때문에 CA1125와 CA1151이 특히 유리한 조합이라는 것을 보여 준다.

표 8

TcdB 중화 - 일정한 독소 용량(LD₈₀)에서 1개 또는 2개 항-TcdB Mab

항체	IC ₅₀ (ng/ml)
1099	2
1102	N/A
1114	103
1125	N/A
1134	8
1151	182
1153	260
926	N/A
927	N/A
1099 + 1125	6
1114 + 1125	7
1151 + 1125	2
1134 + 1125	1
1102 + 1125	6
1125 + 1153	12
926 + 1125	42
927 + 1125	4

[0514]

표 9

TcdB 중화 - 다양한 TcdB 용량에서 1개 또는 2개 항-TcdB Mab

항체 조합물	EC ₅₀ 값(ng/ml)			최대 중화		
	TcdB LD ₇₅	TcdB LD ₈₆	TcdB LD ₉₀	TcdB LD ₇₅	TcdB LD ₈₆	TcdB LD ₉₀
1125.g2	n/a	n/a	n/a	40%	25%	15%
1114.g8	n/a	n/a	n/a	45%	25%	15%
1134.g5	n/a	n/a	n/a	45%	25%	15%
1151.g4	n/a	n/a	n/a	45%	25%	20%
1153.g8	28.3	n/a	n/a	65%	35%	28%
1125.g2 + 1114.g8 (50:50)	10.1	243.8	n/a	85%	65%	40%
1125.g2 + 1134.g5 (50:50)	1.7	22.6	n/a	87%	60%	40%
1125.g2 + 1153.g8 (50:50)	6.1	32.2	n/a	95%	75%	48%
1125.g2 + 1151.g4 (50:50)	0.8	2.8	19.1	85%	80%	55%
1125.g2 + 1151.g4 (25:75)	1.2	2.8	47.2	85%	75%	60%
1125.g2 + 1151.g4 (75:25)	2.9	3.8	2.6	75%	70%	60%

[0515]

[0516] 이들 데이터는 Mab들의 조합물, 특히 CA1125와 CA1151의 조합물이 EC₅₀에 의해 측정된 효능뿐만 아니라 % 최대 보호에 의해 측정된 효능 둘다를 개선한다는 것을 보여준다. Mab:TcdB 혼합물이 긴 시간(72시간) 동안 세포와 함께 항온처리되기 때문에 % 최대 보호가 이 분석 방법에서 특히 적절하다. TcdB가 2시간 내지 4시간 이내에 pg/ml의 범위 내에서 Caco-2 세포에 대한 독성을 나타내기 때문에, 이 측정은 Mab 중화 능력의 매우 어려운 시험인 것으로 간주될 수 있고 결합 반응속도 또는 양상과 관련하여 Mab 혼합물의 능력을 반영할 수 있다. 그 다음, 이것은 긴 시간 동안 조직 내에 상당한 양의 TcdB가 존재할 수 있을 때 확립된 감염 동안 TcdB의 효과로부터 보호하는 Mab 혼합물의 능력을 반영할 수 있다.

[0517] 표 6 내지 9로부터 선택된 데이터는 도 46 내지 59에 더 예시되어 있다.

[0518] 실시예 4: TcdB 서브도메인에 대한 Mab들의 결합가

[0519] 항-클로스트리듐 디피실 TcdB 항체와 TcdB₁₂₃₄의 결합의 몰 수를 비아코어 3000(지이 헬스케어(GE Healthcare)) 상에서 표면 플라즈몬 공명(SPR)으로 측정하였다. 아민 커플링을 통해 스트렙타비딘을 약 4000 RU의 수준까지 CM5 센서 칩(지이 헬스케어) 상에 고정시켰고, 바이오틴화된 TcdB₁₂₃₄를 500 내지 600 RU에서 결합시켰다. 동일한 항-TcdB 항체 혼합물의 2개 20 μl 주입물(각각의 항체의 최종 농도는 500 nM이었음)을 이 표면 상에 10 μl

/분의 속도로 주입하였고, 포화 결합 반응을 기록하였다. 매 주기 후 HCl을 사용하여 상기 표면을 재생시켰다. 스트렙타비딘 단독 기준 유동셀에 대한 반응을 이용하여 모든 데이터를 배경 결합에 대해 보정하였다.

표 10

TcdB₁₂₃₄ 상의 IgG 결합 부위의 수의 표면 플라즈몬 공명 분석

항체 조합물	결합 주기 반복 수	결합 공명(RU)	CA927 평균 반응에 비해 상대적인 결합
CA1125.g2	10	750	0.9
CA1151.g4	10	1232	1.6
CA1125_CA1151	4	1941	2.5
CA1125_CA927	3	1570	2.0
CA1151_CA927	3	1959	2.5
CA927	8	791	1.0

[0520]

[0521]

CA927이 TcdB₁₂₃₄에 1회만 결합하는 Mab를 대표하는 것으로 보이기 때문에, 모든 반응들을 CA927 평균 반응의 상대적인 배수(표 10의 마지막 칸)로 표현하였다.

[0522]

고정된 CA1125는 TcdB₁₂₃₄에 결합되어 있을 때 CA1125가 더 결합하는 것을 허용하지 않는데, 이것은 CA1125가 TcdB₁₂₃₄ 상에서 1개의 결합 부위를 갖고 이 부위가 포화된 후 CA1125에 대한 다른 결합 부위가 발견될 수 없다는 견해를 뒷받침한다. 그러나, TcdB₁₂₃₄가 CA1125에 의해 포화되어 있을 때, CA1151은 여전히 결합할 수 있다. 이것은 CA1151이 CA1125에 의해 점유된 부위에 대한 대안적인 부위에 결합한다는 것을 입증한다. 이들 데이터는 함께 CA1125가 TcdB₁₂₃₄의 단일 결합제인 반면, 1151 IgG가 TcdB₁₂₃₄에 1회 초과, 가장 가능하게는 2회 결합한다는 것을 보여준다. 따라서, CA1125와 CA1151의 혼합물은 TcdB₁₂₃₄에 대략 3회 결합할 수 있다.

[0523]

모든 항체 조합물들은 이들 조합물들에 의해 결합된 TcdB₁₂₃₄ 상의 2개 이상의 비경쟁적 부위들이 존재한다는 것을 보여주는 추가 결합 반응을 갖는다.

[0524]

실시예 5: TcdA 서브도메인에 대한 Mab들의 결합가

[0525]

항-클로스트리듐 디피실 TcdA 항체와 TcdA₁₂₃ 및 A₄₅₆의 결합의 몰 수를 비아코어 3000(지이 헬스케어) 상에서 표면 플라즈몬 공명(SPR)으로 측정하였다. 아민 커플링을 통해 스트렙타비딘을 약 4000 RU의 수준으로 CM5 센서 칩(지이 헬스케어) 상에 고정시켰고, 바이오티닐화된 TcdA₁₂₃을 1개의 유동셀에 결합시켰고, TcdA₄₅₆을 약 500 RU의 반응 수준으로 상이한 유동셀에 결합시켰다. 1 μM의 동일한 항-TcdA 항체의 2개 30 μl 주입물을 상기 두 유동셀 상에 10 μl/분의 속도로 주입하였고, 포화 결합 반응을 기록하였다. 매 주기 후 HCl을 사용하여 상기 표면을 재생시켰다. 스트렙타비딘 단독 기준 유동셀에 대한 반응을 이용하여 모든 데이터를 배경 결합에 대해 보정하였다.

표 11

고정된 TcdA₁₂₃ 및 TcdA₄₅₆에 대한 IgG의 결합 반응의 SPR 분석

	CA997	CA1000	CA997/CA1000 비
TcdA ₁₂₃	1069	166	6
TcdA ₄₅₆	1285	407	3

[0526]

[0527]

항체 CA997 및 CA1000은 6개 CA997 대 1개 CA1000의 비로 TcdA₁₂₃에 결합하는 반면, 이들은 3개 CA997 대 1개 CA1000의 비로 TcdA₄₅₆에 결합한다(표 2).

[0528]

분자량 및 고정된 독소 수준에 대해 보정된, CA997에 대한 최대 항체 반응은 TcdA₁₂₃ 및 TcdA₄₅₆에 대해

유사하다. 이것은 CA997이 TcdA₄₅₆에 6회 결합하고 CA1000이 TcdA₄₅₆에 2회 결합한다는 것을 암시한다. 따라서, 항체 CA997은 TcdA 전체 독소(TcdA)에 대략 12회 결합할 것이다.

[0529] 종합하건대, CA997은 A₁₂₃에 6회 이상 결합하고 A₄₅₆에 6회 이상 결합하는 반면, CA1000은 A₁₂₃에 1회 이상 결합하고 A₄₅₆에 2회 결합한다.

[0530] TcdA 및 TcdB에 대한 증가된 결합가는 생체내에서 2종의 중요한 효과를 나타낼 수 있다. 첫 번째 효과는 TcdB에 1회 초과된 빈도로 결합할 수 있는 임의의 Mab 또는 Mab 혼합물이 독소간 결합을 형성하는 증가된 잠재력 및 이에 따른 면역침전을 가질 것이라는 것이다. 면역침전은 독소의 가용성을 감소시키고 매우 큰 거대분자 복합체를 형성하여 독소의 효과적인 작용 농도를 감소시킴으로써 효능에 기여할 수 있다. 이러한 큰 단백질 복합체는 조직에 체류하는 대식세포 및 단핵세포에 의해 흡수될 수 있고 증강된 숙주 면역 반응에 기여할 수 있다. Fc 단편을 보유하는 항원:항체 복합체는 특히 장 병원체에 대한 숙주 면역 반응을 프라이밍할 수 있는 것으로 밝혀져 있다(21). 또한, 가용성 항원:항체 복합체는 인간 임상 시험에서 항원에 대해 유도된 백신으로서 성공적으로 사용되었다(22). 추가로, Fc 보유 IgG에 의한 독소의 면역 장식은 간 및 비장을 통한 정상적인 기작을 이용한 면역 제거에 기여할 수 있다. 일반적으로, 항원의 보다 높은 수준의 Fc 장식은 보다 빠르고 보다 완전한 수준의 제거를 유발한다(23). 임계적으로, 독소 당 2개 이상의 Mab Fc 도메인, 특히 독소 당 3개의 Fc 도메인의 존재는 독소의 매우 빠르고 실질적인 제거를 위해 요구되는 Fc의 임계적 수를 나타낼 수 있을지도 모른다(24). 항-TcdA Mab CA997은 TcdA에 12회까지 결합할 수 있을 것이고, CA1125와 CA1151의 조합물은 TcdB에 3회 결합할 수 있을 것이다. 그러므로, 3개 Mab 혼합물은 생체내에서 이들 종류의 추가 효능 기작을 제공할 수 있는 가능성이 매우 높다.

[0531] **실시예 6: TcdA에 의해 야기된 TEER의 손실의 Mab 중화**

[0532] 벡톤-딕킨슨(BD) Caco-2 바이오코트 HTS 플레이트 시스템을 사용하여 클로스트리듐 디피실 단일층 통합성 분석을 수행한다.

[0533] **1일** - 플레이트 삽입체의 웰 당 2×10^5 /ml의 Caco-2 세포를 (BD에 의해 제공된) 500 μ l 기저 시딩 배지에 시딩한다. 35 ml의 기저 시딩 배지를 영양세포 트레이에 첨가한다. 세포를 37°C에서 24시간 동안 항온처리한다. **2일** - 기저 시딩 배지를 삽입체 및 영양세포 트레이로부터 제거하고 (BD에 의해 공급된) Entero-STIM 분화 배지로 교체한다. 웰 삽입체 당 500 μ l를 첨가하고 35 ml를 영양세포 트레이에 첨가한다. 세포를 37°C에서 추가 72시간 동안 항온처리한다. **5일** - 폴리프로필렌 플레이트의 분석 웰에서 사용된 항체에 비해 상대적인 2배 농도의 항체 및 독소를 제조한다. 독소 A를 125 ng/ml의 농도로 항체에 첨가하고 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 항온처리한다. 1 ml의 Caco-2 성장 배지(MEM + 20% FCS, 2 mM Q, NEAA)를 표준 24웰 TC 플레이트의 각각의 웰에 첨가한다. 바이오코트 삽입체 플레이트를 24웰 TC 플레이트로 옮긴다. Entero-STIM 배지를 삽입체로부터 제거하고 400 μ l의 독소:Ab 혼합물로 교체한다.

[0534] 장 세포들 사이의 밀착 연결부의 손실은 세포 단일층 및 장 조직 구획에 대한 TcdA의 핵심 초기 효과이고 설사의 일차 원인이다. 알부민 및 다른 혈청 단백질은 동반되는 혈청 유체와 함께 장 내강 내로 손실된다. 단일층을 형성한 분화된 배양 세포에서 경상피 전기 저항성의 손실은 TcdA의 급성 효과로부터의 보호에 유용한 대용물이다. 제시된 3개의 항체들은 TEER 손실로부터 우수한 수준의 보호를 갖는다(도 62). TEER 분석에서 이들 3개의 Mab들의 능력이 세포 증식 분석에서 측정될 때 독소 중화에서 관찰된 능력을 반영하지 않는다는 것은 주목할만하고 놀라운 결과이다. CA922는 세포 증식 분석에서 가장 우수한 성능을 갖지만(EC₅₀ = 1.21 ng/ml), 세포 증식 분석에서 >10배 더 낮은 효능을 갖는(EC₅₀ = 19.73 ng/ml) 항체(CA1000)가 TEER 분석에서 CA922를 상당히 능가한다. CA997은 높은 수준의 보호를 가졌고 보다 낮은 Mab 농도에서 이것을 유지하였기 때문에 TEER 분석에서 가장 우수한 성능을 가졌다. CA997은 4시간에서 80%에 도달하는 최대 억제 및 대략 80 ng/ml의 EC₅₀으로 TEER 손실을 중화시키는 상당한 잠재력을 가졌다. 해당 Mab들이 모두 TcdA 도메인에 대한 높은 친화성을 가졌기 때문에 (CA922 약 4 pM, CA997 약 132 pM, CA1000 약 73 pM), 이들 관찰결과는 예상되지 않는다. 이들 데이터는 CA997 및 CA1000이 TEER 손실에서 중요한 에피토프를 인식하고 다른 Mab들과 상이한 기작으로 TcdA를 중화시킨다는 것을 암시한다. 나아가, CA1000이 홀로독소에 2회(TcdA₁₂₃에서 1회 및 TcdA₄₅₆에서 1회) 결합하는 것으로 추정되기 때문에, CA1000은 백신 면역원을 한정하는 데에 있어서 특히 가치가 있을, TcdA 세포 결합 영역 내의 'TEER 임계적' 에피토프를 한정할 수 있다. 결과는 도 62에 제시되어 있다.

[0535] 실시예 7: TcdA 및 TcdB의 서브도메인(TcdA₁₂₃, TcdA₄₅₆ 및 TcdB₁₂₃₄)에 대한 항-클로스트리듐 디피실 독소 항체의 친화성

[0536] 항-클로스트리듐 디피실 TcdA 및 TcdB 항체들의 상호작용에 대한 반응속도 상수를, CM5 센서 칩을 이용하여 비아코어 3000 상에서 수행된 표면 플라즈몬 공명으로 측정하였다. 모든 실험들을 25°C에서 수행하였다. 어피니퓨어(Affinipure) F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG(Fc 단편 특이적 항체)(잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch))를 아민 커플링 화학반응을 통해 약 7000 반응 유닛(RU)의 포획 수준으로 CM5 센서 칩(지이) 상에 고정시켰다. HBS-EP 완충제(10 mM HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% 계면활성제 P20, 비아코어 AB)를 10 µl/분의 유속으로 런닝 완충제로서 사용하였다. 1 µg/ml 이하의 각각의 항체의 10 µl 주입물을 고정된 항-인간 IgG Fc에 의한 포획용으로 사용하였다. TcdA₁₂₃, TcdA₄₅₆ 또는 TcdB₁₂₃₄를 12.5 nM로부터 2배 희석 비로 30 µl/분의 유속으로 포획 정제된 항체에 대해 적정하였다. 배양 상청액에 존재하는 항체의 경우, 단일 농도인 12.5 nM의 TcdA₁₂₃ 또는 TcdA₄₅₆ 및 50 nM의 TcdB₁₂₃₄를 30 µl/분의 유속으로 상기 항체에 통과시켰다. n=2에 대한 반응속도를 계산하였다. 40 mM HCl의 2개 10 µl 주입물 및 5 mM NaOH의 5 µl 주입물을 사용하여 10 µl/분의 유속으로 표면을 재생시켰다.

[0537] 표준 절차 후 비아에발루이션(BIAevaluation) 소프트웨어(버전 3.2)를 이용하여 이중 기준 배경 차감된 결합 곡선을 분석하였다. 반응속도 파라미터를 피팅 알고리즘으로부터 결정하였다.

표 12

항-TcdA Mab 친화성 및 결합 반응속도

	항체 ID	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	KD(pM)	물질/분석
TcdA ₁₂₃	CA164_00922.g1	1.09E+06	4.43E-06	4.06E-12	4.06	정제된 Mab 5개 점 적정
	CA164_00923.g1	5.36E+05	3.47E-05	6.47E-11	64.7	
	CA164_00995.g1	결합 부재			결합 부재	
	CA164_00997.g1	7.84E+05	1.03E-04	1.32E-10	132	
	CA164_01000.g1	1.33E+05	9.78E-06	7.33E-11	73.3	
	CA164_00993.g1	9.00E+05	5.00E-06	5.56E-12	5.56	상청액 2x 1개 점 적정
TcdA ₄₅₆	CA164_00922.g1	1.29E+06	3.33E-06	2.59E-12	2.59	정제된 Mab 5개 점 적정
	CA164_00923.g1	6.16E+05	1.92E-04	3.12E-10	312	
	CA164_00995.g1	2.87E+05	3.42E-05	1.19E-10	119	
	CA164_00997.g1	9.21E+05	6.15E-05	6.68E-11	66.8	
	CA164_01000.g1	3.55E+05	2.98E-05	8.41E-11	84.1	
	CA164_00993.g1	1.25E+06	5.00E-06	4.00E-12	4.00	상청액 2x 1개 점 적정

[0538]

표 13

항-TcdB Mab 친화성 및 결합 반응속도

	항체 ID	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD(M)	KD (pM)	물질/분석
TcdB ₁₂₃₄	CA164_1125.g2	2.64E+05	3.23E-05	1.22E-10	122	정제된 Mab 3개 점 적정
	CA164_1151.g4	7.49E+05	4.13E-04	5.51E-10	551	정제된 Mab 3개 점 적정
	CA164_926.g1	1.38E+05	7.12E-05	5.16E-10	516	상청액 2x 1개 점 적정
	CA164_927.g2	3.97E+05	3.61E-05	9.11E-11	91	정제된 Mab 3개 점 적정
	CA164_1099.g2	5.24E+05	1.63E-05	3.10E-11	31	정제된 Mab 3개 점 적정
	CA164_1102.g4	1.17E+05	3.78E-04	3.25E-09	3250	상청액 2x 1개 점 적정
	CA164_1114.g2	2.87E+05	1.97E-03	6.87E-09	6870	상청액 2x 1개 점 적정
	CA164_1114.g8	2.55E+05	1.85E-03	7.25E-09	7250	상청액 2x 1개 점 적정
	CA164_1129.g1	1.89E+05	2.30E-04	1.22E-09	1220	상청액 2x 1개 점 적정
	CA164_1134.g5	5.09E+05	2.45E-05	4.81E-11	48	정제된 Mab 3개 점 적정
	CA164_1153.g8	1.43E+05	4.48E-05	3.14E-10	314	정제된 Mab 3개 점 적정

[0539]

[0540]

항-TcdA 친화성은 특히 다른 Mab들의 공개된 친화성에 비해 특히 높다. 본 발명자들은 4 pM만큼 낮은 친화성이 달성될 수 있다는 것을 입증한다. 바람직한 CA997은 132 pM의 친화성을 갖고, CA1125는 122 pM의 친화성을 갖고 CA115는 551 pM의 친화성을 갖는다. CA995는 CROPs A₁₂₃에 결합하지 않는다는 것을 명확히 보여줌으로써, 여기서 제시된 Mab가 놀랍고 예상되지 않은 방식으로 서로 상이한 성질을 갖는다는 것을 입증한다. CA922, CA923, CA997 및 CA1000은 CROPs A₁₂₃ 및 A₄₅₆에 1회 이상 결합한다. 따라서, 이들 4개의 Mab들은 각각이 할로독소에 2회 이상 결합해야 한다는 것을 확인시켜준다. 본 발명자들은 기술적인 제한으로 인해 할로독소에 대한 이들 Mab들의 결합 친화성을 유도할 수 없었다. 그러나, 항-TcdA Mab들에 대해 입증된 높은 친화성 및 결합가를 고려할 때, 할로독소에 대한 기능적 친화성은 독소 서브도메인들과의 결합에 대해 예증된 기능적 친화성보다 훨씬 더 강할 수 있다는 것을 추측할 수 있다.

[0541]

항-TcdB Mab들은 31 pM만큼 낮은 수준에 도달하는 강한 친화성도 나타내었다. 특히, CA1125, CA1151, CA927, CA1099, CA1134 및 CA1153은 다른 Mab들에 의해 나타난 친화성을 능가하는 친화성을 보인다.

[0542]

실시예 8: 클로스트리듐 디피실 항-독소 인간화된 IgG1 분자의 생체물리학적 특징규명

[0543]

분석된 분자

[0544]

항-TcdA IgG1:

[0545]

CA164_00922.g1

[0546]

CA164_0923.g1

[0547]

CA164_0995.g1

[0548]

CA164_0997.g1

[0549]

CA164_01000.g1

[0550]

항-TcdB IgG1

[0551]

CA164_01125.g1

- [0552] CA164_01125.g2
- [0553] CA164_01134.g4
- [0554] CA164_01134.g5
- [0555] CA164_01134.g6
- [0556] CA164_01102.g1
- [0557] CA164_01102.g4
- [0558] CA164_01151.g4
- [0559] 항체 조합물은 장기간 저장 동안 잠재적인 응집 위험을 감소시키기 위해 높은 수준의 안정성을 갖는 Mab들로 구성될 필요가 있다. 열안정성(T_m)은 한 척도로 사용된다. 물리적 응력, 예컨대, 교반 또는 진탕으로 인해 응집하는 Mab 혼합물들의 성향을 측정하는 것이 Mab 혼합물들의 경우 특별한 가치가 있다. 응집체는 저장 수명을 감소시킬 수 있고 특정 수준에서 환자에게 안전성 위험을 제기할 수 있기 때문에 약물 조성물의 바람직하지 않은 성분이다. T_m 데이터는 모든 5개의 항-TcdA Mab들이 높은 T_m을 갖지만, 3개의 Mab들(CA922, CA923 및 CA997)이 79°C 내지 81°C 범위 내의 매우 높은 T_m을 갖는다는 것을 보여준다. 시험된 항-TcdB Mab들 중 2개의 Mab들을 제외한 모든 Mab들이 매우 높은 T_m을 갖는다. 햄스터 감염 연구(실시에 9)에서 시험된 CA997, CA1125 및 CA1151이 이들을 Mab 혼합물에서 사용되기에 적합하게 만드는 매우 높은 T_m(각각 79.2°C, 79.3°C 및 80.8°C)을 가졌다는 것을 주목한다.
- [0560] 진탕 응집 분석에서, CA997 및 CA922는 5개의 항-TcdA Mab들 중 가장 낮은 응집 성향을 가졌다. 유사하게, CA115 및 1151은 항-TcdB Mab들 중 가장 낮은 응집 성향을 가졌다. 따라서, Mab 혼합물로서 CA997, CA1125 및 CA1151의 사용은 이들이 공제제화 및 높은 단백질 농도에서의 저장을 견뎌낼 가능성이 보다 높기 때문에 특별한 가치를 가질 수 있다.
- [0561] **모세관 IEF에 의한 등전점(pI)의 추정**
- [0562] 하기 물질들을 혼합하여 샘플을 제조하였다: 2 mg/ml의 30 μ l 단백질 샘플, 0.35% 메틸셀룰로스, 4% pH 3 내지 10 양성체(파마라이트(Pharmalyte)), 합성 pI 마커(4.65 및 9.77), 1 μ l의 각각의 원액, 및 최종 부피를 200 μ l까지 채우는 HPLC 등급 물. 그 다음, iCE280 IEF 분석기(1500 V에서 1분 동안 예비포커싱한 후 3000 V에서 6분 동안 포커싱)를 이용하여 혼합물을 분석하였다. 그 다음, 엠폰워(Empower) 소프트웨어(위터스)를 이용하여 보정된 전기영동도를 적분하였다.
- [0563] **써모플루오르(ThermoFluor) 분석을 통해 측정된 열안정성(T_m)**
- [0564] 이 방법은 사이프로(Sypro) 오렌지 형광 염료를 사용하여 단백질 도메인의 비폴딩 과정을 모니터링한다. 상기 염료는 방출 스펙트럼에 대한 변화를 야기하는 비폴딩의 결과로서 노출되게 되는 노출된 소수성 영역에 결합한다.
- [0565] 샘플(1 mg/ml의 5 μ l)을 5 μ l의 사이프로 오렌지 원액(30배)과 혼합하고, PBS(pH 7.40)를 사용하여 부피를 50 μ l까지 채웠다.
- [0566] 이 용액의 10 μ l 분취액을 384웰 플레이트의 웰에 적용한다(n=4).
- [0567] 정확한 온도 조절을 위해 가열 장치를 함유하는 7900HT 신속 실시간 PCR 시스템 내에 상기 플레이트를 배치한다. 온도를 20°C부터 99°C까지 증가시킨다(1.1°C/분의 상승 속도). CCD 장치는 웰 내의 형광 변화를 동시에 모니터링한다. 알고리즘을 이용하여 강도 데이터를 처리하고 다수의 전이를 참작한다.
- [0568] **교반에 의한 샘플의 응력**
- [0569] 제조 동안 항체 샘플은 펌핑 및 여과와 같은 과정에 의해 발생된 기계적 응력을 받는다. 이것은 공기-액체 계면에서의 단백질의 노출 및 전단력으로 인해 변성 및 결과적으로 응집을 야기하여, 궁극적으로 생체활성의 손실을 초래할 수 있다. 보텍싱에 의한 응력은 응집 안정성의 예측을 위해 항체 샘플의 강인성을 스크리닝하는 방법이다.
- [0570] 25°C 및 1400 rpm에서 에펜도르프 써모믹서 컴포트(Eppendorf Thermomixer Comfort)를 이용하여 교반 또는 보텍싱으로 항-TcdA 및 항-TcdB IgG1 분자 둘다에 응력을 인가하였다. 샘플 크기는 1.5 ml 원추형 에펜도르프 양

식 캡핑된 튜브(플라스틱) 내의 PBS(pH 7.4) 중의 250 μl (샘플 당 x3)이었다. (서열로부터 계산된 흡광 계수를 이용하여) 각각의 샘플을 1 mg/ml의 농도로 조절하였고, 바리안 캐리(Varian Cary) 50-바이오 분광광도계의 이용에 의해 최대 24시간 동안의 간격으로 측정된, 340 nm 및/또는 595 nm에서의 흡광도로 응집을 모니터링하였다.

[0571] **결과:** 표 14는 항-TcdA 및 항-TcdB IgG1 분자 둘다에 대해 측정된 pI 및 Tm 데이터의 요약을 제공한다.

표 14

pI 및 Tm 데이터의 편집

	측정된 pI	PBS에서의 Tm(Fab)	Tm(CH2)
항-TcdA IgG1			
CA164_00922.g1	8.8	81	69.2
CA164_0923.g1	9.2	79	69.3
CA164_0995.g1	8.5	71	데이터 부재*
CA164_0997.g1	8.3	79.2	68.4
CA164_01000.g1	7.74	70.5	데이터 부재*
항-TcdB IgG1			
CA164_01125.g1	9.2	79.3	69.4
CA164_01125.g2	9.2	79.5	69.3
CA164_01134.g4	9.3	78.4	69.4
CA164_01134.g5	9.2	76.4	69.2
CA164_01134.g6	9.2	76.6	69.6
CA164_01102.g1	9.1	69	데이터 부재*
CA164_01102.g4	9.1	69.1	데이터 부재*
CA164_01151.g4	9.2	80.8	69.8

*Fab 도메인과 CH2 도메인을 구별할 수 없었다는 것을 표시한다.

[0572]

[0573] **측정된 pI**

[0574] 분자의 측정된 pI는 (CA164_01000.g1_P3을 제외하고) 높았고 체제화 완충제, 예컨대, PBS(pH 7.4) 및 50 mM 아세트산나트륨/125 mM 염화나트륨(pH 5)의 pH로부터 멀리 떨어져 있었다. 이것은 2개 이상의 Mab들의 공제제화에 적합한 pH를 갖는 완충제를 선택할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.

[0575] **써모플루오르 분석을 통해 측정된 열안정성(Tm)**

[0576] 모든 분자들이 IgG1이기 때문에, Fc 도메인의 Tm(Tm(CH2))은 동일하다. 상기 분자들 사이의 열안정성의 차이는 Fab' 도메인의 Tm(Tm(Fab))에 의해 결정될 수 있다.

[0577] 항-TcdA 분자의 경우 등급 순위(첫 번째가 가장 높은 안정성을 보임)는 CA922 \geq 997>923>995>1000이었고, 항-TcdB 분자의 경우 등급 순위(첫 번째가 가장 높은 안정성을 보임)는 CA1151.g4>1125.g1,g4>1134.g4>1134.g5 \geq 1134.g6>1102.g1=1102.g4이었다.

[0578] **교반에 의한 샘플의 응력**

[0579] 상이한 항체들 사이의 상이한 응집 안정성을 측정할 수 있었다.

[0580] 도 67은 PBS(pH 7.4) 중의 상이한 항-TcdA IgG1 분자들에 대한 보텍싱을 통한 교반의 효과를 보여준다.

[0581] 등급 순위(첫 번째가 가장 높은 응집 안정성을 보임)를 결정할 수 있었다: CA922 \geq 997>923 \geq 995>1000.

[0582] 도 68은 상이한 항-TcdB 분자들에 대한 보텍싱을 통한 교반의 효과를 보여준다.

[0583] 응집 안정성의 등급 순위를 결정할 수 있었는데, 예컨대, CA1125 이식편은 CA1102 분자보다 더 안정한 CA1134 분자보다 더 안정한 듯하였다.

[0584] 항-TcdB 분자(CA1151.g4)의 응집 안정성을 보다 안정한 분자 CA1125.g2(도 2 참조) 및 보다 응집 안정한 항-TcdA 분자(CA922.g1 및 CA997.g1)와 직접적으로 비교하기 위해 추가 연구를 수행하였다. 결과는 도 69에서 볼 수 있다.

- [0585] 이들 4개의 Mab들에 대한 추가 결과는 도 67 및 68에도 제시되어 있다.
- [0586] 항-TcdA 분자의 경우, CA1000과 별개로 모든 분자들이 치료 IgG1로서 사용되기에 적합한 후보인 것으로 간주될 수 있었지만. 상기 분석들에 기초할 때 CA922.g1, CA977.g1 및 CA922가 바람직하였다.
- [0587] 항-TcdB 분자의 경우, 생체물리학적 특성은 응집 안정성 및 Tm에 기초하여 이식편의 패밀리 내에서 분류될 수 있었는데, 예컨대, CA1125 이식편은 잠재적으로 더 안정한 것으로 입증되었다. CA1102 이식편은 가장 좋지 않은 Tm 데이터를 보였고 교반에 의한 응력을 통해 응집하는 가장 큰 성향도 보였다.
- [0588] CA1151.g4를 사용한 연구는 이 분자가 CA11125.g2에 비해 상대적으로 약간 증가된 응집 안정성을 나타내고 TcdA 분자들(CA922.g1 및 CA997.g1)과 동등한 것으로 보인다는 것을 보여주었다. 모든 4개의 분자들은 동등한 Tm 값을 보였다. CA997, CA1125 및 CA1151은 매우 높은 수준의 열안정성, 및 교반 후 매우 낮은 수준의 응집 형성을 보인다.
- [0589] **실시예 9: 항-클로스트리듐 독소 Mab 햄스터 감염 연구**
- [0590] 햄스터 감염 연구는 리세르카 바이오사이언시스 엘엘씨(Ricerca Biosciences LLC, 미국 오하이오주 클리블랜드 소재)에 의해 수행되었다. 연구 프로토콜은 리세르카 IACUC 위원회에 의해 승인되었다. 계획된 28일의 연구 기간의 완결 후까지 활성 성분 및 대조군 성분(조성물 및 용량)은 리세르카 직원에게 공개되지 않았다.
- [0591] 골든 시리안 수컷 햄스터(체중 82 g 내지 103 g, 54일령)를 HEPA 여과된 일회용 우리에서 개별적으로 사육하였고 테클라드 글로бал 다이어트(Teklad Global Diet) 2016 및 물을 임의로 공급하였다. 순화 후, Mab 혼합물 또는 PBS(비히클 대조군)를 햄스터에게 4일 동안 매일(-3일째 날, -2일째 날, -1일째 날 및 0일째 날) 1일 1회 미리 투여하였다(복강내). 2회 용량의 Mab를 조사하였다: 고용량 = 각각 50 mg/kg의 항-TcdA 및 항-TcdB 성분, 및 저용량 = 각각 5 mg/kg의 항-TcdA 및 항-TcdB 성분.
- [0592] 시험된 약물 조합물은 주사된 단백질의 50%를 차지하는 1개의 항-TcdA 항체(CA997.g1), 및 주사된 단백질의 50%를 함께 차지하되 주사된 단백질의 25%를 단독으로 차지하는 2개의 항-TcdB 항체(CA1125.g2 및 CA1151.g4)로 구성되었다. 햄스터를 PBS 중의 50 mg/kg의 클린다마이신 인산염으로 감각하고(-1일째 날)(피하), 1일 후(0일째 날) 균주 ATCC43596으로부터 유래된 3.4×10^6 c.f.u.의 영양 세포로 챌린지하였다. 반코마이신을 1일째 날, 2일째 날, 3일째 날, 4일째 날 또는 5일째 날에 5일 동안 1일 2회 5 mg/kg의 용량으로 투여하였다(경구).
- [0593] 동물에 대한 생존력 검사를 1일 2회 수행하였고, 죽어가는 것으로 발견된 동물을 안락사시키고 죽은 동물로서 수를 세었다. 체중을 투약일마다 측정 한 후, 주 당 2회 및 생존자를 안락사시키기 전에 측정하였다. 모든 동물들에 대한 육안 부검을 수행하였다. 생존 곡선을 카플란 및 메이에르의 방법으로 생성하였다. P = 0.005의 본페로니 보정된 역치와 비교된 로그 등급 검정으로부터의 P 값을 이용하여 생존 곡선을 분석하였다. 반코마이신 치료군은 분석에 포함되지 않았다. 프리즘 v5.04를 이용하여 모든 통계학적 검정을 수행하였다. 5마리의 동물들을 함유하는 반코마이신 대조군을 제외한 모든 군들은 11마리의 동물을 함유하였다.
- [0594] 생존 곡선은 도 63에서 볼 수 있다. PBS(대조군)를 제공받은 햄스터는 +2일째 날 및 +3일째 날에 모두 사망한 반면, 5일 동안 반코마이신 치료를 제공받은 햄스터는 +10일째 날 및 +11일째 날에 모두 사망하였다. 고용량의 UCB Mab 혼합물을 제공받은 햄스터는 +11일째 날까지 모두 생존한 후, 28일 연구의 종결 시까지 2마리의 동물만이 사망하였다. 저용량의 UCB Mab 혼합물을 제공받은 햄스터는 +3일째 날까지 모두 생존한 후, 모두가 사망한 때인 +16일째 날까지 상기 동물은 꽤 꾸준히 사망하였다. 데이터는 햄스터에서 항-독소 Mab들의 사용에 대한 공개된 데이터(18)와 비교될 때 예상외의 보호 수준 및 지속을 보여준다. 이들 생체내 데이터는 중화 및 안정성에 대한 매우 높은 수준의 성능이라는 시험관내 관찰결과를 뒷받침한다.
- [0595] 감염의 급성 기간(1일째 날 내지 5일째 날) 동안 사망과 체중 사이의 명확한 연관성은 없다(도 64 및 65). 따라서, 햄스터가 TcdA 및 TcdB의 압도적인 직접적 및 간접적 효과로 인해 사망했다고 추정할 수 있다. 중화 Mab들의 부분적인 보호(UCB 저용량)로 인해 급성 기간 동안 생존한 햄스터는 아마도 장 손상 및 변경된 영양공급 상태로 인해 체중을 손실하였다. UCB 고용량 Mab들의 보호 효과로 인해 28일의 연구 기간 동안 계속 생존한 햄스터들의 대다수는 체중 손실로부터 회복되었고 실제로 심지어 체중을 획득하였다는 것이 주목할만하였다. 이것은 UCB Mab들의 보다 우수한 보호 효과가 장으로 하여금 정상적으로 기능할 수 있게 한다는 증거로서 간주될 수 있다.

표 15

육안 병상 점수

군	검은 맹장	어두운 적색 맹장	적색 맹장	핑크 맹장	정상 맹장	회음 염색 '젖은-꼬리'	적색 소장
PBS 대조군	1	9	1	0	0	1	1
UCB 저용량	0	4	5	2	0	4	1
UCB 고용량	0	0	1	1	9	3	0

[0596]

[0597]

[0598]

[0599]

[0600]

[0601]

[0602]

[0603]

UCB Mab들이 TcdA 및 TcdB에 의해 야기된 혈액 삼출로부터 대장 및 소장을 보호할 수 있었다는 것은 분명하다.

결과는 도 63 내지 66에 제시되어 있다.

도 66의 사진은 TcdA 및 TcdB에 의해 야기된 맹장의 팽윤 및 혈액 삼출(좌측 영상, PBS 대조군, 2일째 날에 동물 사망) 및 UCB 고용량 Mab들에 의한 보호 후 정상적인 대변 충전된 맹장(우측 영상, UCB 고용량, 28일째 날까지 동물 생존)에 대한 전형적인 육안 병상을 보여준다. 이들 데이터는 고용량의 UCB Mab들을 사용한 보호 후 대장이 정상적인 형태 및 기능을 회복할 수 있다는 것을 보여준다.

실시예 10: 정제된 Mab에 의한 상이한 리보타입 균주의 TcdA의 중화

다양한 상이한 균주들로 임상적 감염을 야기한다. 리보타입핑이 핵심인 다수의 상이한 방법들을 이용하여 균주 차이를 특징구명한다. 상이한 리보타입 균주들은 상이한 병원성, 감염 및 포자형성 성질을 갖는 것으로 관찰된다. 상기 제시된 모든 TcdA 중화가 VPI10463으로서 공지된 균주로부터 정제된 TcdA를 사용하였다. 그러나, 발병과 관련된 우세한 공격적 병원성 균주는 리보타입 027로 지칭된다. 다른 핵심 리보타입은 078, 001 및 106을 포함한다. 상이한 리보타입들에 의해 생성된 독소들 사이에 아미노산 서열 차이가 관찰되었으므로, Mab들이 다양한 임상적 단리물 세트의 독소를 중화시킬 수 있다는 것은 중요하다. CA922, CA997 및 CA1000을 균주 027 및 078의 TcdA를 중화시키는 그들의 능력에 대해 시험하고 VPI10463의 TcdA에 대한 그들의 능력과 비교하였다. Mab들을 4개의 [TcdA]에서 시험하였고 LD₈₀, LD₉₀ 및 LD₉₅에서 유의한 차이 없이 모든 독소들을 중화시킬 수 있다는 것을 발견하였다.

표 16

항체	EC ₅₀ 값(ng/ml) - TcdA 균주 VPI 10463			
	LD ₈₀	LD ₉₀	LD ₉₅	LD _{최대}
CA164 922	0.27	0.9	1.2	>500
CA164 997	1	2.5	3.5	25.4
CA164_1000	3.6	13.5	19.3	>500

표 17

항체	EC ₅₀ 값(ng/ml) - TcdA 리보타입 027			
	LD ₈₀	LD ₉₀	LD ₉₅	LD _{최대}
CA164 922	0.19	0.25	0.41	1.46
CA164 997	0.92	1.27	1.75	7.19
CA164_1000	2.25	2.49	3.52	16.32

표 18

항체	EC ₅₀ 값(ng/ml) - TcdA 리보타입 078			
	LD ₈₀	LD ₉₀	LD ₉₅	LD _{최대}
CA164_922	0.11	0.12	0.25	0.68
CA164_997	0.33	0.64	1.11	2.57
CA164_1000	2.04	2.41	5.03	14.16

[0604]

[0605] 실시예 11: PK 데이터

[0606] 인간 IgG1(20 mg/kg)의 PK 연구를 건강한 햄스터에서 수행하였다. 햄스터 PK는 마우스 또는 래트에서의 Mab들과 유사한 반감기(t_{1/2} 6일 내지 8일)를 갖는 것으로 발견되었다. 복강내 및 피하 투약은 본질적으로 동일하였다.

[0607] hIgG1 Mab의 약동학 및 장애의 분포를 '정상'(감염되지 않은) 골든 시리안 햄스터에서 연구하였다. 케어 리서치 엘엘씨(CARE Research LLC, 미국 콜로라도주 포트 콜린스 소재)가 정제된 Mab를 수컷 햄스터(120 g 내지 135 g)에게 투여하였고, 유씨비 파마(UCB Pharma)가 샘플을 분석하였다. 케어 IACUC 위원회가 연구를 승인하였다. 8마리의 동물들 각각은 단회 용량의 20 mg/kg IgG1을 제공받았는데, 이들 중 4마리는 복강내로 투약받았고 4마리는 피하로 투약받았다. 투약으로부터 1시간, 3시간, 8시간, 24시간, 48시간, 72시간, 103시간 및 168시간 후 혈액을 채취하고 혈청을 분리한 후 -80℃에서 저장하였다. 분석 대조군을 제공하기 위해 2마리의 비치료된 햄스터로부터도 혈액을 채취하였다. 안락사 후, 각각의 햄스터로부터 2 cm 길이의 결장을 맹장 연결부로부터 전방으로 절단하였다. 결장 박편을 세척 완충제(50%(부피/부피) 시그마 프로테아제 억제제 카테일(P2714)을 함유하는 50%(부피/부피) PBS)로 씻어낸 후 개방하였고 기저 근육으로부터 점막을 분리하고 제거하였다. 점막 샘플을 가시적으로 균일할 때까지 균질화된 0.5 ml의 세척 완충제에 넣고 4℃에서 저장한 직후 젖은 얼음 상에서 운반하였다. 항-인간 IgG1 ELISA를 위해, 넉크 맥시소르프 96웰 플레이트를 0.1 M NaHCO₃(pH 8.3)에서 염소 F(ab')₂ 항-인간 IgG-Fc γ 단편(잭슨 109-006-098)으로 밤새 코팅하였고, 플레이트를 PBS-트윈(PBS/0.1%(부피/부피) 트윈 20)으로 세척한 후 PBS 중의 1.0%(중량/부피) BSA 및 0.1%(부피/부피) 트윈으로 차단하였다. 혈청 샘플을 샘플-접합체 완충제(PBS 중의 1%(중량/부피) BSA 및 0.2% 트윈)로 희석하고 세척한 후, 2.5 M H₂SO₄ 정지 용액과 함께 샘플-접합체 완충제 중의 염소 항-인간 카파-HRP(캠브리지 바이오사이언스 2060-05) 및 TMB를 사용하여 가시화하였다.

[0608] 장, 점막 및 혈청 수준:

[0609] 168시간 시점에서 채취된 혈액으로부터 혈청 샘플을 수집한 후 결장 샘플을 분리하였다.

[0610] 168시간에서 20 mg/kg 복강내

샘플	점막 cm 당 ng/ml	혈청 µg/ml
1001	23.2	75.0
1002	13.7	90.8
1003	21.8	70.5
1004	53.8	119.4

[0611]

[0612] 168시간에서 20 mg/kg 피하

샘플	점막 cm 당 ng/ml	혈청 µg/ml
2001	41.4	108.7
2002	62.1	76.6
2003	35.6	163.7
2004	37.3	153.3

[0613]

[0614] 혈청 데이터

		햄스터 복강내		햄스터 피하	
		평균	평균의 SE	평균	평균의 SE
C_{max} :	$\mu\text{g/ml}$	202	12	186	21
T_{max} :	hr	36	7	76	16
$AUC_{(last)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/ml}$	22626	1378	22371	2258
$AUC_{(inf)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/ml}$	43287	7169	61290	17637
% 외삽:		43.7	9.2	54	11.7
CL/F	ml/hr/kg	0.50	0.07	0.43	0.13
MRT_{inf}	h	223	53	310	88
$t_{1/2}$:	h	149.2	36.9	188.5	61.9

[0615]

[0616] 상기 데이터는 도 70 및 71에도 제시되어 있다.

햄스터 ID		평균	SE
IP 혈청 반응속도			
C_{max} :	$\mu\text{g/ml}$	202	12
T_{max} :	hr	36	7
$AUC_{(last)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/ml}$	22626	1378
$AUC_{(inf)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/ml}$	43287	7169
% 외삽:		43.7	9.2
CL/F	ml/hr/kg	0.50	0.07
MRT_{inf}	h	223	53
$t_{1/2}$:	h	149.2	36.9
SC 혈청 반응속도			
햄스터 ID		평균	SE
C_{max} :	$\mu\text{g/ml}$	186	21
T_{max} :	hr	76	16
$AUC_{(last)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/ml}$	22371	2258
$AUC_{(inf)}$:	$\text{hr}\cdot\mu\text{g/ml}$	61290	17637
% 외삽:		54	11.7
CL/F	ml/hr/kg	0.43	0.13
MRT_{inf}	h	310	88
$t_{1/2}$:	h	188.5	61.9

[0617]

[0618] hIgG1이 장의 '찰과표본'에서 발견될 수 있었다는 것(즉, hIgG1이 건강한 장의 혈관구조 내로 들어가 '예방 투약'에 있어서 보호 효과를 나타낼 수 있었다는 것)도 밝혀졌다. 이들이 동족 hFcRn을 갖기 때문에 이 효과는 인간에서 훨씬 더 강할 것이다.

[0619] **실시예 12: 클로스트리듐 디피실 감염을 갖는 햄스터에서의 혈청 수준**

[0620] 본 연구는 골든 시리안 햄스터에서 복강내 투여 후(하기 상세히 기재된 다양한 용량) CA725.0, CA726.0, CA997.g1, CA1125.g2 및 CA01151.g4의 혈청 농도를 측정하는 것이었다.

[0621] 트립신 분해 후 액체 크로마토그래피 탠덤 질량 분광측정(LC-MS/MS) 분석을 이용하여 인간화된 Mab들을 정량하였다. 정량은 내부 표준물질로서 사용된 소량 첨가된 말 미오글로빈과 함께 블랭크 매트릭스 내로 공지된 농도로 소량 첨가된 진정한 표준 물질과의 비교에 의해 달성되었다.

[0622] 조사된 모든 인간화된 Mab들에 공통된 독특한("프로테오타입") 펩티드를 선택하였고(DTLMISR, CH2 영역 펩티드), 두 샘플들 및 보정 샘플을 요약된 바와 같이 트립신으로 분해하였다. 아세토니트릴/트리스(2-카복시에틸)

포스핀을 사용한 변성/환원 및 요오도아세트아미드(시그마-알드리치, 영국 폴 소재)를 사용한 카브아미도-메틸화 후 서열분석 등급의 변경된 트립신(프로메가, 영국 사우쓰햄튼 소재)을 사용하여 5 μ l 혈청 샘플의 트립신 분해를 수행하였다.

[0623] LC-MS/MS 시스템은 전자분사 모드로 작동되는 터보 V 이온 공급원을 갖춘, CTC HTS-x 자동샘플러(씨티씨 어날리티क्स(CTC Analytics, 스위스 즈빙겐 소재)), 아질런트 1290 LC 시스템(아질런트 테크놀로지스(Agilent Technologies, 영국 스톡포트 소재)) 및 시엑스(Sciex) 5500 QTrap MS 시스템(AB 시엑스, 영국 워링톤 소재)으로 구성되었다. 6분에 걸쳐 1.5 ml/분의 유속으로 전달된 2% 내지 95%(부피/부피) 물/아세트니트릴(0.1% 포름산)의 구배를 갖는 오닉스(Onyx) 모놀리틱(Monolithic) C18 컬럼(100x4.6 mm, 페노메넥스(Phenomenex, 영국 맥클레스필드 소재))을 사용하여 분석물을 분리하였다. 주입 부피는 10 μ l이었고, 모든 용출물을 질량 분광계 공급원 내로 도입하였다. 질량 분광계 공급원의 온도를 600°C에서 유지하였고, 다른 공급원 파라미터(예를 들면, 충돌 에너지, 디클러스터링 전위, 커튼 기체압 등)를 최적화하여 관심있는 펩티드에 대한 최대 민감성을 달성하였다. 관심있는 각각의 프로테오타입 펩티드에 대한 선택적 전이를 모니터링하였다.

[0624] 독특한("프로테오타입") 펩티드를 모든 관심있는 분석물들에 대해 선택하였고, 트립신 분해 후 샘플을 분석하였다.

[0625] 모니터링된 펩티드들에 기초하여 계산된 혈장 농도는 하기 요약되어 있다.

[0626] CA164_00997 및 CA164_01151의 경우, MRM 추적기록에서 간접 피크가 관찰되었다. 이러한 이유로, 이들 2개의 분석물들을 샘플에서 정량할 수 없었다.

[0627] 관심있는 모든 분석물들에 공통된 펩티드를 사용하여 모든 샘플들에서 총 h-IgG를 정량하였다. 모든 5개의 분석물들의 조합된 표준 곡선을 이용하여 이것을 수행하였다. 이 방법의 유효성은 CA164_00725 및 CA164_00726의 경우 관찰된 농도의 합계가 총 h-IgG의 경우 관찰된 농도와 (실험 오차 내에서) 잘 일치한다는 사실에 의해 입증된다.

[0628] 이 방법을 이용하여 CA164_00997, CA164_01125 및 CA164_01151이 투여된 동물의 샘플에서 h-IgG의 총 농도를 측정하였다.

[0629] 종합하건대, 수득된 데이터는 관심있는 모든 5개의 분석물들의 노출이 주어진 용량에 대해 유사하였다는 것을 표시한다.

연구군

맹검 표지		실제 치료	투약일	치료 성분		
군	치료			항-독소 A	항-독소 B	
4	치료 3	비허탈 PBS 5 mg/kg 복강내	3, -2, -1, 0			
2	반코마이신	반코마이신 5 mg/kg 1 일 2 회 경구	1, 2, 3, 4, 5			
1	치료 1	UCB LD* 5 mg/kg A 5 mg/kg 복 강내	3, -2, -1, 0	CA997.g1_P3 5 mg/kg	CA1125.g2_P3 2.5 mg/kg	CA1151.g4_P3 2.5 mg/kg
5	치료 4	UCB HD* 50 mg/kg A 50 mg/kg 복강내	3, -2, -1, 0	CA997.g1_P3 50 mg/kg	CA1125.g2_P3 25 mg/kg	CA1151.g4_P3 25 mg/kg
6	치료 5	경쟁자 LD* 5 mg/kg A 5 mg/kg 복강내	3, -2, -1, 0	CA726_P3 5 mg/kg	CA725_P3 5 mg/kg	
3	치료 2	경쟁자 HD* 50 mg/kg A 50 mg/kg 복강내	3, -2, -1, 0	CA726_P3 50 mg/kg	CA725_P3 50 mg/kg	

[0630]

표 19

군/시간	일	동물 번호	용량	혈청 농도 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 총 h-IgG
1	1	44	5 mg/kg 997, 2.5 mg/kg 1125, 2.5 mg/kg 1151	280
	1	45		302
	1	46		182
	6	45		61
	6	47		71
	6	49		45
3	1	60	50 mg/kg 725, 50 mg/kg 726	3040
	1	61		3330
	1	62		2990
	6	62		583
	6	63		913
	6	64		1240
	28	64		199
	28	65		36
4	1	71	비허클	nd
	1	72		nd
	1	73		nd
5	1	82	50 mg/kg 997, 25 mg/kg 1125, 25 mg/kg 1151	3050
	1	83		2790
	1	84		2370
	6	82		838
	6	83		645
	6	84		855
	28	82		116
	28	83		65
	28	84		66
	28	85		44
	28	86		101
	28	87		89
	28	88		27
	28	89		31
28	90	66		
6	1	93	5 mg/kg 725, 5 mg/kg 726	335
	1	94		322
	1	95		260
	6	200		103
	6	202		62
	6	203		79
	28	203		nd

nd - 검출되지 않았다(모든 분석물들에 대해 LOQ = 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

na - 분석되지 않았다; 997 및 1151의 경우 샘플에서 간섭이 관찰되었다.

[0631]

표 20

항체 CA725는 종래기술의 항체 MDX1388이다. 항체 CA726은 기재된 바와 같은 종래기술의 항체 CDA1이다. 이 데이터의 요약은 도 72에 제시되어 있다.

군	맹장 병상					소장 병상	
	흑색	어두운 적색	적색	핑크	정상	어두운 적색	적색
PBS 대조군	1	9	1	0	0	0	1
MDX 고용량 50 mg/kg x4	0	1	4	4	2	1	0
UCB 고용량 50 mg/kg x4	0	0	1	1	9	0	0

[0632]

[0633] 참조문헌

1. Kuehne, S et al., "The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* Infection" *Nature* (2010) 467: 711-713.
2. Davies AH et al., "Super toxins from a super bug: structure and function of *Clostridium difficile* toxins" *Biochem. J* (2011) 436: 517-526.
3. Rothman, S et al., "Differential Cytotoxic Effects of Toxins A and B Isolated from *Clostridium difficile*" *Infect. Imm.* (1984) 46: 324-331.
4. Du, T and Alfa, MJ "Translocation of *Clostridium difficile* toxin B across polarized Caco-2 cell monolayers is enhanced by toxin A" *Can J Infect Dis.* (2004) 15: 83-88.
5. Kim, Iaconis and Rolfe. "Immunization of Adult Hamsters against *Clostridium difficile*-Associated Ileocectitis and Transfer of Protection to Infant Hamsters" *Infect. Imm.* (1987) 55:2984-2992
6. Rupnik *JCM* (2003) 41:1118-1125
7. Chaves-Olarte *JBC* (1999) 274:11046-11052.
8. Lylerly, DM et al., "Passive Immunization of Hamsters against Disease Caused by *Clostridium difficile* by Use of Bovine Immunoglobulin G Concentrate" *Infection and Immunity* (1991) 59:2215-2218.
9. Lylerly, DM et al., "Vaccination against Lethal *Clostridium difficile* Enterocolitis with a Nontoxic Recombinant Peptide of Toxin A" *Current Microbiology* (1990) 21:29-32.
10. Lylerly, DM et al., "Characterization of Toxins A and B of *Clostridium difficile* with Monoclonal Antibodies" *Infect. Imm.* (1986) 54:70-76.
11. Corthier et al., "Protection against Experimental Pseudomembranous Colitis in Gnotobiotic Mice by Use of Monoclonal Antibodies against *Clostridium difficile* Toxin A" *Infect. Imm.* (1991) 59: 1192-1195.
12. Kink JA and Williams JA, "Antibodies to Recombinant *Clostridium difficile* Toxins A and B Are an Effective Treatment and Prevent Relapse of *C. difficile*-Associated Disease in a Hamster Model of Infection" *Infect. Imm.* (1998) 66:2018-2025.
13. Ma D, et al., Progenics inc. ASM Poster 27th May 2010
14. Hansen, G and Demarest, SJ. WO 2006/0718877 A2

[0634]

15. Babcock GJ, et al., "Human monoclonal antibodies directed against toxins A and B prevent *Clostridium difficile*-induced mortality in hamster" *Infect. Imm.*(2006) 74:6339-6347.
16. Lowy I et al., "Treatment with Monoclonal Antibodies against *Clostridium difficile* Toxins" *NEJM* (2010) 362: 197-205.
17. Zubler, R. H., Erard, F., Lees, R. K., Van, L. M., Mingari, C., Moretta, L. & MacDonald, H. R. (1985). Mutant EL-4 thymoma cells polyclonally activate murine and human B cells via direct cell interaction. *J. Immunol.* 134, 3662-3668
18. Babcock, J. S., Leslie, K. B., Olsen, O. A., Salmon, R. A. & Schrader, J. W. (1996). A novel strategy for generating monoclonal antibodies from single, isolated lymphocytes producing antibodies of defined specificities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 93, 7843-7848
19. Tickle, S., Adams, R., Brown, D., Griffiths, M., Lightwood, D. & Lawson, A. (2010). High-Throughput Screening for High Affinity Antibodies ., pp. 303-307.
20. Demarest et al., *mAbs* (2010) 2:190-198
21. Yoshida et al., *J. Clin. Invest.* (2006) 116: 2142-2151
22. Xu et al., *Vaccine* (2005) 23:2658-2664.
23. Yousaf et al., *Clin. Exp. Immunol.* (1986) 66:654-660
24. Mannik et al., *J. Exp. Med.* (1971) 133: 713-739
25. Nusrat et al., *Infection and Immunity* (2001) 69:1329-1336
26. Lima et al., *Infect Immun* (1988) 56:582-588
27. Ravichandran et al *J of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* (2006) 318: 1343-1351
28. Takahashi et al., (2009) *Vaccine* 27:2616-2619
29. Cohen et al., *Infect. Cont. and Hosp. Epidem.* (2010) 31: 431-455
30. Barbut et al., *J. Clin. Microbiol.* (2000) 38: 2386-2388
31. Wilcox et al., *J. Hospital Infection* (1998) 38: 93-100.

[0635]

도면

도면1

서열번호: 8 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 922.g1 VK (gL1)

```
GACCTGTGA TGACCCAGAG TCCGAGCACT CTTTCTGCCT CCGTGGGAGA CCGCGTGACC
ATTACATGTC AGGCTTCACA AAGTATCTCC AATGCTCTGG CCTGGTATCA GCAGAAACCC
GGCAAAGCCC CTAAGCTGCT CATCTACTCT GCATCAAGCC TGGCTAGCGG CGTGCCAAGC
CGATTCAAGG GGAGCGGTTT TGGCACTGAG TTTACGCTGA CCATCAGTAG CTTGCAGCCT
GACGATTTTG CAACCTATTA CTGCCAGTAC ACACACTACT CCCATACATC TAAAAACCCA
TTCCGAGGGG GTAATAAGGT CGAAATAAAG
```

서열번호: 10 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 922.g1 VH (gH1)

```
GAAGTGCAAT TGGTGAAAG TGGCGGAGGA CTGGTGCAAC CCGGGGGTAG TCTGCGACTG
AGCTGTGCTG CCTCCGGCTT TACCATTAGC TCCTACTATA TGAGCTGGGT TCGACAGGCC
CCTGGAAAAG GACTCGAATG GATCGGCATC ATATCTCCG GTGGGCATT CACCTGGTAC
GCAAAGTGGG CTAAGGGGAG ATTCACGATT AGCAGCGACT CCACAACCGT GTACCTGCAA
ATGAACAGCC TGAGGGATGA GGCACTGCC ACATATTTCT GCGCACGCGC TTACGTGAGC
GGAAGCTCAT TTAATGGCTA TGCACTGTGG GGGCAAGGAA CACTCGTGAC TGTCTCG
```

서열번호: 18 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 CA923.g1 gL1

```
GACGTCGTGATGACTCAGAGCCCATCTAGTCTGAGCGCTAGCGTCCGGAGACCGAGTCACAATTACC
TGTCAGCCCTCCAGAGCATCTCCAACACTCTGGCTGGTACCAACAGAAACCTGGCAAGGTGCC
AAGCTGCTGATCTATAGTGCCTCCACACTCGCAAGCGGCGTTCCGTCACGCTTTAAGGGATCTGGC
TCTGGCACTCAGTTACCTTGACGATCTCAAGCCTGCAGCCAGAAGATGTGGCCACCTATTACTGC
CAGTATCCCACTACGGGACTGGGGTGTTCGGTGCCTTTGGAGGTGGGACCAAAGTGGAGATAAAG
```

도면2

서열번호: 20 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 CA923.g1 gH1

GAAGTTCAACTTGTGGAATCTGGAGGCGGGCTCGTGCAGCCTGGTGGAAAGCCTTAGACTGAGCTGC
GCTGCATCCGCATTTCCCTGTCCAACTACTACATGAGCTGGGTGCGACAAGCACCAGGCCAAGGGA
CTGGAATGGATTGGCATCATAAGCTCCGGTTCCAATGCCCTGAAATGGTACGCATCATGGCCGAAA
GGCCGCTTTACCATAAGCAAGGACTCCACCACCGTCTATCTGCAGATGAACTCATTGCGTGCCGAG
GACACTGCAACGTACTTCTGTGCTCGCAACTACGTGGGAAGCGGATCTTATATGGCATGGATCTG
TGGGGACAAGGTACTCTGTGACCGTCTCG

서열번호: 28 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 CA993.g1 gL1

GATGTCGTGA TGACTCAGTC CCCCTCTACA TTGAGTGCCT CTGTCCGTGA TCGAGTTACC
ATCACCTGTC AAGCAAGCCA GAGCATCAGC TCCTACTTCT CTGTTGTACCA GCAAAAGCCG
GGAAGAGCCC CTCAACTGCT GATTTATGGG GCCTCAACAC TGGCTTCTGG CGTGCCATCA
AGATTCAAGG GATCTGGCTC CGGCACTGAG CTTACTACTGA CCATTAGCTC CCTGCAACCT
GACGATTTTG CTACCTACTA CTGCCAGTGC ACCGACTATA GTGGGATATA TTTCGGCGGA
TTTGGGGGAG GGACGAAAGT GGAATCAAG

서열번호: 30 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 CA993.g1 gH1

GAAGTTCAGC TGGTCGAGAG CCGAGGCGGA CTGGTGCAAC CTGGTGGTAG CTGAAACTC
TCTTGACTG CCTCCGGGT TTCCCTGAGC TCTTACTATA TGTGATGGGT GAGACAGGCT
CCCGGAAAG GATTGGAATG GATCGGGATT ATCTCCTCG GCTCTTCCAC CACTTTCACA
TGGTACGCCT CATGGGCAAA GGGGAGGTT ACCATAAGCA AGACAAGCAC GACCGTGAT
CTTCAGATGA ACTCCCTGAA GACGGAGGAT ACTGCCACCT ACTTTGCGC TCGGGCCTAT
GTGGGCTCAA GCTCTTACTA TGGCTTCGAC CCATGGGGAC AGGGCACACT TGTGACCGTC
TCG

도면3

서열번호: 38 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 995.g1 VL 영역

GACGTCGTGA TGACACAGAG CCCTTCAACA CTGTCTGCAA GCGTGGGCGA TAGGGTCACC
ATAACGTGCC AGGCTCTCA ATCCATCAAC AACTATTTTA GCTGGTACCA GCAGAAGCCA
GGCAAGGCTC CGAAACTTCT GATCTACGGA GCTGCCAACC TGGCAAGTGG CGTGCCATCA
CGGTTC AAGG GATCCGGGAG CCGTACTGAG TATACCCTGA CCATTTTCATC TCTCCAACCC
GACGATTTTC CCACCTACTC CTGCCAGAAT AATTACGGCG TGACATCTA TGGAGCTGCC
TTTGGCGGTG GGACAAAAGT GGAATTAAG

서열번호: 40 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 995.g1 VH 영역

GAAGTTCAGC TGGTCGAGAG TGGGGGAGGG CTTGTGCAAC CTGGTGGCTC CCTCCGTCTG
AGCTGTACTG CTTCTGGATT CTCACTGAGC AATTACGACA TGATCTGGGT GCGACAGGCA
CCCGCAAAG GACTGGAGTA CATTGGCTTC ATCAACACCG GGGGTATAAC GFACTATGCC
TCATGGGCTA AGGGGCGCTT TACAATTAGT AGGGATTCCCT CTACCGTGTA CCTGCAGATG
AACTCACTGA GAGCCGAGGA CACTGCCACA TATTCTGCG CTCGGGTGGA TGACTATATC
GGGGCCTGGG GCGCCGATT GTGGGGCCAA GGAACACTGG TCACCGTCTC G

서열번호: 48 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 997.g1 VL 영역

GCACCTCGTGATGACACAGAGCCCGAGTAGCTTTAGTGCTTCAACCGGTGATAGGGTCACTATTACT
TGCC AAGCCTCTCAGAGTATATCTAGCTATCTGAGCTGGTACCAGCAAAGCCCGGAAGGCTCCT
AAACTGCTGATCTACCGGGCTTCCACATTGGCCTCCGGCGTTCCCTCACGCTTTAGCGGCTCCGGA
TCCGGAACCGAGTACACCCTGACTATCTCTGCCTGCAATCTGAGGACTTCGCAACCTACTATTGT
CTGGGCGTCTACGGATATAGCAACGATACGGGATCGCCTTCGGCGGCGGTACCAAGTGGAAATT
AAG

도면4

서열번호: 50 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 997.g1 VH 영역

GAGGTGCAACTTGTGGAAAGCGGGGAGGACTGGTGCAGCCTGGGGCTCATTGAGACTGAGCTGC
 ACCGTTTCTGGTATTGACCTGAGCTCCCATCATATGTGCTGGGTGCGCCAGGCACCCGGAAAAGGA
 CTGGAATACATCGGCGTCATATAACCACTTTGGCTCTACATACTATGCCAAGTGGGCAACTGGGCGA
 TTCACAATTAGCAAGGACTCAACTACCGTTTACCTGCAAAATGAATAGCCTGAGGGCTGAGGATACT
 GCCACCTATTCTGTGCCCGGCTTCAATCGCCGGCTATTCTGCCTTTGATCCATGGGGCAAGGA
 ACACTCGTGACCGTCTCG

서열번호: 58 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1000.g1 VL 영역

GAAATCGTGA TGACGCAGTC ACCAAGCACA CTGAGCGCTT CTGTGGGAGA TCGGGTCACA
 ATAACCTGTC AGGCTCCCA GAGCATCTAC TCTTATCTGG CATGGTACCA GCAGAAGCCA
 GGGAAAGCTC CCAAGCTGCT GATTATGAC GCCAGCACTT TGGCTTCCGG TGTTCCTAGT
 AGGTTCAAAG AAGGCGGAAG CGGTACCGAG TTTACCCTGA CCATCTCATC TCTGCAACCC
 GATGACTTTG CCACATACTA TTGCCAGGGG AATGCCTACA CTCCAACCTC ACACGACAAC
 GCATTCGGGG GAGGCACCAA AGTCGAAATT AAG

서열번호: 60 항-독소 A 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1000.g1 VH 영역

GAAGTTCAGC TGGTCGAGAG CGGAGGGGGT TTGATTGAGC CCGGTGGCTC ACTTAGATTG
 AGCTGCACCG TGTCCGGAAT CGATCTGTCA TCTGATGCCG TGGGCTGGGT GCGACAGGCA
 CCTGGGAAAG GACTGGAGTA TATAGGGATC ATCGCCACCT TCGACTCCAC ATACTACGCT
 AGCTGGGCAA AAGGCGCTT TACGATTAGC AAGGCTCCT CTAATACCGT GTACCTCAA
 ATGAACTCAC TGAGGGCCGA GGACACTGCC ACTTATTCT GTGCTCGGAC CGGTAGCTGG
 TACTACATCT CTGGCTGGGG CTCCTACTAT TATGGCATGG ACCTGTGGGG ACAGGGGACA
 CTCGTGACCG TCTCG

도면5

서열번호: 68 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 926.g1 VL 영역

GATACCGTGTGACCCAGAGCCCTGTCTACATTGTCACTGAGCCCGGGGAGAGGGCCACATTGAGC
 TGCCGGGCTTCAAATCCGTGTCCACCCTCATGCACTGGTTTCAGCAAAAGCCCGGCAGGCCCA
 AAATGCTGATCTACCTCGCATCTAACCTTGAATCTGGCGTGCCGGCCCGCTTTAGTGGCTCCGGA
 AGCGGAACCGACTTCACACTGACGATTAGCTCCCTGGAGCCTGAGGATTCGCCGTGTACTATTGC
 CAGCAAACCTTGAATGACCCCTTGACTTTTCGGGGCGGTACTAAGGTCGAAATAAAG

서열번호: 70 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 926.g1 VH 영역

GAGGTGGAAGTGCCTGAACTGGTGGTGGGCTGGTGCAGCCCGGTGGATCTCTGAGATTGTCATGC
 GAGGCATCCGGCTTTACCTTTTCCAACCTACGGAATGGCCTGGGTGAGACAGGCCCAACGAAGGGG
 CTCGAATGGGTTACAAGCATCAGCTCTTCTGGGGGATCTACTTACTATCGGATAGCGTCAAAGGC
 CGGTTTACCATTAGCCGAGATAATGCCAATCAAGCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCT
 GAGGACACCCGCACATACTATTGTACAACCGTGATAAGGGGCTACGTGATGGACGCATGGGGACAG
 GGGACATTGGTTACCGTCTCG

서열번호: 78 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 927.g2 VL 영역

GACACACAGA TGACCCAGAG CCGATCCACT TTGTCTGCAT CCGTGGGCGA CCGAGTGACA
 ATCACCTGTA GAGCAAGCGG TTCCGTGAGC ACACTGATGC ATTGGTACCA GCAGAAGCCT
 GGGAAAGGCTC CCAAGCTGCT GATCTACAAA GCCAGCAACC TTGCCTCCGG CGTTCCAAGC
 CGGTTTAGCG GTTCCGGATC TGAACCCGAG TTCACCCTGA CCATATCAAG CCTGCAACCC
 GACGACTTCG CCACCTACTA TTGCCACCAG AGCTGGAATA GCGACACGTT CGGGCAAGGC
 ACAAGGCTGG AAATCAAA

서열번호: 80 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 927.g2 VH 영역

GAGGTGCAAC TTGTGGAAAG CGGAGGGGGC GTGGTCCAAC CCGGAAGAAG TCTCCGTCTT
 TCTTGCGCGG CAAGTGGCTT CACCTTTTCC AACTACGGAA TGGCCTGGGT TCGACAAGCT
 CCTGGGAAAG GATTGGAGTG GGTGGCCACT ATCAACTATG ACGGACGCAC GACACACTAC
 CGAGACTCTG TTAAGGGGCG CTTTACGATT TCCCGCGACA ATAGCAAGG CACCCTCTAC
 CTGCAAATGA ATAGCCTCCG GGCCGAGGAT ACTGCTGTGT ACTATTGTAC CTCCATCTCA
 CGGAGCCACT ACTTCGATTG CTGGGGACAA GGCACACTCG TGAAGTCTCTCG

도면6

서열번호: 88 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1099.g2 VL 영역

GACGTCCAGC TCACTCAATC TCCCTCCTTT CTGTCTGCTT CTGTGGGCGA TCGCGTGACA
ATAACCTGCA AGGCCTCCAA ATCAATTAGC AACCATCTGG CATGGTATCA GGAGAAGCCT
GGCAAAGCCA ATAAGCTGCT GATCCACTCC GGCTCAACTC TGCAATCCGG TACCCCAAGC
CGATTTAGCG GATCTGGGAG CGGAACCGAG TTCACACTTA CCATTAGCTC CCTGCAACCG
GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGCCAGCAA TACGACGAAT ACCCCTATAC GTTCGGCCAA
CCACCAACAT TCCAAATCAA CCTTAGC

서열번호: 90 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1099.g2 VH 영역

GAAGTTCAGC TGCAGGAATC TGGACCTGGC TTGGTGAAAC CAAGCGAGAC ACTTAGTCTC
ACTTGACACCG TTTCGGGCTT CTCCCTTCAA TCCTACACGA TCTCTGGGT GCGGCAACCA
CCCCGGAAAG GACTGGAATG GATCGCAGCC ATTAGCGGGG GAGGGAGCAC CTATTACAAC
TTGCCTCTCA AGAGCCGCGT GACCATATCC CGTGACACAA GCAAGAGCCA GGTTTCCTG
AAGCTGAGCT CCGTGAAGTC TGCCGATACG GCTGTTTACT ATTGCACCCG ACCTCGCTGG
TATCCCCGTT CCTATTTTCA CTACTGGGGA AGAGGCACAC TGTTTACCGT CTCG

서열번호: 98 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1102.g4 VL 영역

AACATCGTGC TGACACAGTC TCCTGCAACC CTTTCACTGT CTCCAGGTGA ACGAGCAACC
CTGAGTTGTA GAGCCAGTCA GAGGATCTCC ACGAGCATTC ACTGGTATCA GCAAAAGCCT
GGCAAGCTC CCAGACTCTT GATCAAGTAC GCCTCTCAGA GCATAAGTGG CATTCAGCT
AGGTTTAGCG GCTCAGGCTC AGGAACAGAC TTCACTCTGA CCATCAGCTC CCTGGAACCG
GAGGACTTTG CCGTCTATTA CTGCCAGCAA TCCTACTCCA GTCTGTACAC CTTCGGGCAG
GGTACTAAAC TGGAGATAAA G

도면7

서열번호: 100 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1102.g4 VH 영역

GAAGTGCAGC TGGTCGAATC CGGGGGAGGT TTGGTGCAAC CAGGTGGCTC ACTGAGACTG
AGCTGTGCCG TTTCGGGCTT TACGTTCTCA GACAGTTATA TGGCCTGGGT GCGTCAAGCA
CCTGGA AAAAG GGCTGGAGTG GATTGCCAGT ATCAGCTATG GTGGGACCAT AATCCAGTAC
GGGATAGCG TCAAGGGCAG GTTACTATC TCCAGGGACA ACGCCAAGTC AAGCCTTTAC
CTGCAGATGA ATTCCTCCG CGCAGAGGAT ACCGCTGTGT ATTACTGCGC TAGACGGCAG
GGAACCTACG CTCGATACCT GACTTCTGG GGTACGGGAA CACTCGTTAC AGTCTCG

서열번호: 108 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1114.g2 VL 영역

GCGACGCAAA TGAATCAGTC GCCCTCATCG CTTAGCGCGT CCGTCGGAGA TAGAGTGACG
ATCACCTGCC GCGCATCAGA GTCGGTGTCC AACTCCTCC ACTGGTATCA GCAGAAACCG
GGGAAGGCAC CAAAACCTCT GATCTACAAA GCCAGCAACC TTGCGTCCGG TGTCCTGTC
AGGTTCTCCG GGAGCGGTTT GGGGACAGAC TTTACTTTGA CCATTTCTGTC GCTTCAGCCG
GAGGACTTCG ACTCCTATTA CTGTCATCAG TCATGGAAC CACCTCCAC ATTTGGCCAG
GGAACGAAAC TCGAAATCAA G

서열번호: 110 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1114.g2 VH 영역

GAAGTACAAC TCGTAGAGTC AGGGGGTGGG CTGGTCCAAC CTGGCGGCTC CCTTCGGCTT
TCGTGTGCCG CCTCGGGATT CACGTTTAGC AATTACGGTA TGGCCTGGGT GAGGCAGGCA
CCAGGGAAGG GTCCTGAGTG GGTAGCGATC ATCAACTATG ATGCAAGCAC CACCCACTAC
AGGGATAGCG TCAAGGGACG CTTTACTATC AGCCGGGATA ATGCGAAATC CTCGCTCTAT
CTGCAGATGA ACTCCCTCAG AGCCGAGGAC ACCGCAGTGT ACTATTGCAC ACGATACGGA
CGCTCGCACT ATTTGACTA TTGGGGACAG GGGACGCTCG TAACTGTCTC G

도면8

서열번호: 118 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1114.g8 VL 영역
 GACACGGTCC TGACTCAGTC GCCCTCATCG CTTAGCGCGT CCGTCCGAGA TAGAGTGACC
 ATCACCTGCC GCGCATCAGA GTCGGTGTCC AACTCTCTCC ACTGGTATCA GCAGAAACCG
 GGGAAAGGCAC CAAAACCTTT GATCTACAAA GCCAGCAACC TTGCGTCCGG TGTCCCCTCA
 AGGTTCCTCC GGAGCGGTTC GGGGACAGAC TTTACTTTGA CCATTTCTGC GCTTCAGCCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGTCATCAG TCATGGAAC CACCTCCAC ATTTGGCCAG
 GGAACGAAAC TCGAAATCAA G

서열번호: 120 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1114.g8 VH 영역
 GAAGTACAAC TCGTAGAGTC AGGGGGTGGG CTGGTCCAAC CTGGCGGCTC CCTTCGGCTT
 TCGTGTGCCG CCTCGGGATT CACGTTTATG AATTACGGTA TGGCCTGGGT GAGGCAGGCA
 CCAGGGAAGG GTCTTGAGTG GGTAGCGATC ATCAACTATG ATGCAAGCAC CACCCACTAC
 AGGGATAGCG TCAAGGGACG CTTTACTATC AGCCGGGATA ATGCGAAATC CTCGCTCTAT
 CTGCAGATGA ACTCCCTCAG AGCCGAGGAC ACCGCAGTGT ACTATTGCAC ACGATACGGA
 CGCTCGCACT ATTTTCGACTA TTGGGGACAG GGGACGCTCG TAACTGTCTC G

서열번호: 128 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1125.g2 VL 영역
 GATATACAAA TGACTCAGAG CCCTAGCTCA CTGAGCGCTT CTGTGGGCGA TCGTGTGACA
 ATCACTTGCA AAGCAAGCCA GAACATCTAT ATGTACCTGA ATTGGTACCA GCAAAAACCG
 GGAAAAGCTC CCAAGCGCCT GATTTACAAC ACCAATAAGC TGATACCCGG CGTGCCAAGC
 CGTTTTAGCG GATCTGGCTC TGGAACCGAA TATACACTGA CCATAAGCTC CCTGCAACCG
 GAAGACTTTG CAACCTACTA TTGCCTCCAG CACAAATCCT TCCCCTATAC GTTCGGACAA
 GGGACCAAAC TGGAAATCAA A

서열번호: 130 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1125.g2 VH 영역
 GAAGTGCAGC TGGTCGAAAG CCGCGGAGGA TTGGTGCAAC CTGGTGGCTC TCTTCGCCTG
 TCTTTCGCTG CAAGCGGCTT TACGTTCCGC GATAGCTTTA TGGCTTGGGT GCGACAAGCT
 CCTGGGAAAG GGCTGGAATG GGTGCTAGC ATAAGCTACG AAGGCGACAA GACTTACTAT
 GGGGACTCTG TGAAAGGCCG ATTCACCATT AGCCGAGACA ACGCAAAGAA CTCCCCTGAC
 CTGCAGATGA ACTCCCTGCG TGCCGAAGAT ACCGCCGTGT ACTATTGCGC TAGGCTGACG
 ATCACTACAA GCGGAGATAG CTGGGGACAA GGGACAATGG TGACCGTCTC GAGC

서열번호: 138 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1129.g1 VL 영역
 GACACCCAGA TGACTCAGTC TCCGTCAAGC CTTTCTGCCT CTGTTGGAGA TCGAGTCACA
 ATTACGTGCA AGGCAAGCCA ACACGTGGGT ACCAACGTGG ACTGGTATCA ACAGAAGCCA
 GGGAAAGGTCC CCAAACCTGCT GATCTACGTT GCCAGTATC GCTATACCGG CGTGCCCTGAT
 CGCTTCACCG GAAGCGGGTC AGGGACCGAT TTCACACTGA CAATCAGCTC CCTGCAACCT
 GAAGACGTGG CTACTTACTA CTGCCTGCAG TACAACATA ATCCCTACAC CTTTGGCCAG
 GGCACCAAAC TGGAGATAAA G

서열번호: 140 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1129.g1 VH 영역
 GAGGTGCAAC TTGTGGAATC AGGAGGTGGC GTGGTTCAGC CCGGTAGATC ACTTCGTCTG
 AGTTGTGCAA CAAGCGGCTT TATCTTCTCC AACTTCGGGA TGCTTGGGT TAGACAGGCT
 CCTGGTAAGG CCCTCGAATG GGTGGCTAGT ATTAGCCCAA GCGGGGAA GCGCTACTAT
 AGGGACAGCG TGAAAGGACG CTTCACTATC AGCCGAGATA ACTCCAAGAC CACGCTGTAT
 CTGCAGATGA ATAGTCTGAG GGCCGAGGAT ACCGCAGTGT ACTACTGCAC TCGACGGGCC
 TATTCTTCCC CTTTTGCCTT TTGGGGACAG GGGACTCTGG TGACAGTCTC GAGC

도면9

서열번호: 148 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1134.g5 VL 영역
 GACGTCAGC TCACTCAATC TCCCTCCTTT CTGTCTGCTT CTGTGGGCGA TCGCGTGACA
 ATAACCTGCA AGGCCTCCAA ATCAATTAGC AACCATCTGG CATGGTATCA GGAGAAGCCT
 GGCAAAAGCCA ATAAGCTGCT GATCACTCC GGCTCAACTC TGCAACCCGG TACCCAAAGC
 CGATTTAGCG GATCTGGGAG CGGAACCGAG TTCACACTTA CCATTAGCTC CCTGCAACCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGCCAGCAA TACGACGAAT ACCCTATAC GTTCGGCCAA
 GGGACAAGAT TGGAAATCAA G

서열번호: 150 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1134.g5 VH 영역
 GAAGTTCAGC TGCAGGAATC TGGACCTGGC TTGGTGAAAC CAAGCGAGAC ACTTAGTCTC
 ACTTGACCG TTTCCGGCTT CTCCCTTAAT TCCTACACGA TCACTTGGGT GCGGCAACCA
 CCCGGGAAAG GACTGGAATG GATCGCAGCC ATTAGCGGGG GAGGGAGCAC CTATTTCAAC
 TCGGCTCTCA AGAGCCGCTG GACCATATCC CGTGACACAA GCAAGAGCCA GGTTCCTCTG
 AAGCTGAGCT CCGTGACTGC TGCCGATACG GCTGTTTACT ATTGCACCCG ACCTCGCTGG
 TATCCCGCTT CCTATTTGCA CTACTGGGGA AGAGGCACAC TGGTTACCGT CTCG

서열번호: 158 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1151.g4 VL 영역
 CGGATTCAAA TGACTCAGTC GCCCTCATCG CTTAGCGCGT CCGTCCGAGA TAGAGTGACC
 ATCACGTGCA AAGCATCACA AAATGTCGGG AACAAATGTGG CATGGTATCA GCATAAACCG
 GGGAAAGGCAC CAAAACCTTT GATCTACTAC GCCAGCAACA GGTTTACTGG TGTCCCCTCA
 AGGTTACCGG GAGGGGGTTA CGGGACAGAC TTTACTTTGA CCATTTCTGC GCTTCAGCCG
 GAGGACTTCG CCACCTATTA CTGTCAGAGG GTCTACCAGT CAACGTGGAC ATTTGGCCAG
 GGAACGAAAG TGGAAATCAA G

도면10

서열번호: 160 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1151.g4 VH 영역

```
GAAGTACAAC TCCAAGAGTC GGGGCCTGGT CTGGTCAAGC CGTCCGAAAC ACTTTCGCTG
ACCGTGACGG TATCAGGATT CTCACTTACA TCATACTACG TCCACTGGGT GAGGCAGCCA
CCCGGAAGG GTCTTGAGTG GATGGGCTGC ATTAGAACCG GAGGGAATAC CGAGTACCAG
AGCGAATTTA AGAGCCGCGT CACTATCAGC CGGATACGT CCAAAAACCA GGTGTCGCTC
AAATTGTCCT CCGTGACGGC CGCTGACACC GCAGTGTACT ATTGCGCGCG AGGAAACTAT
GGCTTTGCGT ATTGGGGACA GGGGACGCTC GTAACGTCT CG
```

서열번호: 168 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1153.g8 VL 영역

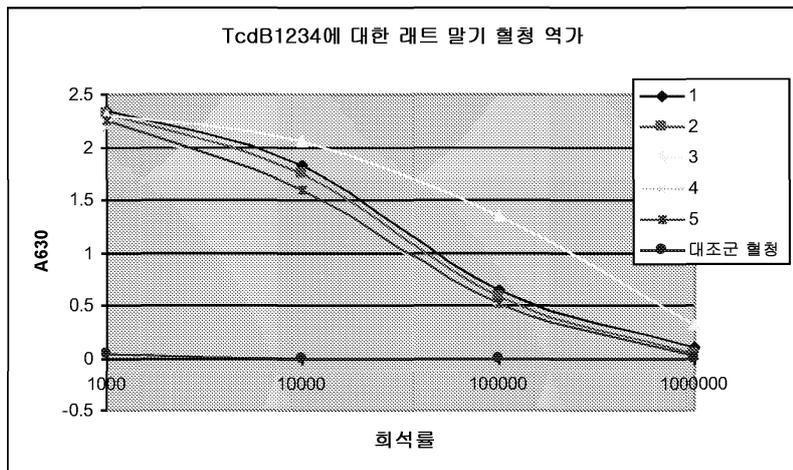
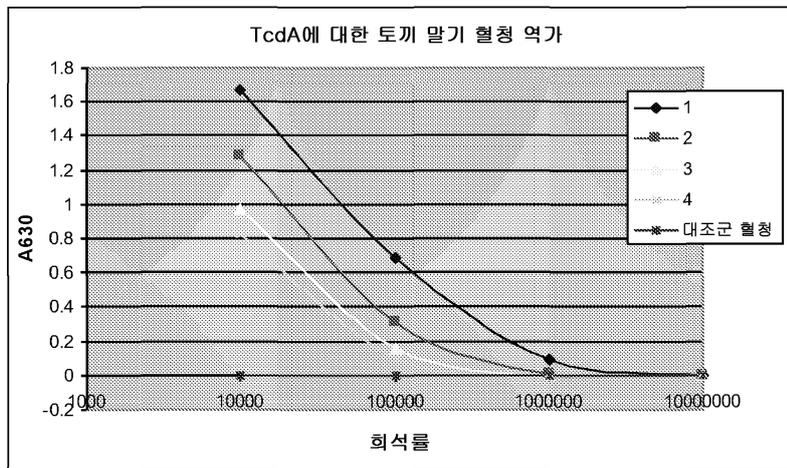
```
GATATACAGA TGA CTGATC CCCTTCTAGC CTTTCAGCTT CCGTGGGCGA TAGAGTGACT
ATCACGTGTA AGGCTAGTCA GAACATTAAC AAGTATCTGG ACTGGTACCA GCAGAAACCC
GGGAAGGTTT CCAAGCTGCT GATCTACAAC ATCCAGTCCC TGCATACAGG CATTCTTAGC
CGTTTTAGCG GATCTGGTTT AGGCGCGTTT ACCATTTCTC GCGATGACAG CAAGAACACC
GAAGACGTGG CCACCTATTA CTGCTTCCAG CACAATAGTG GCTGGACTTT TGGACAAGGT
ACCAGGCTGG AGATCAA
```

서열번호: 170 항-독소 B 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 1153.g8 VH 영역

```
GAGGTTTACG TGGTGAATC AGGAGGGGGT CTGGTGCAAC CAGGAGGCTC CCTGAAACTG
TCTTGCGCCG CAAGCGGCTT TACGTTTACC CAGGCCGCTA TGTCTGGGT TAGGCAGGCC
AGTGGGAAGG GTCTTGAAGG CATCGCAAGA ATCAGCACCA AGAGCAACAA TTTCGCTACG
TACTATCCGG ACTCCGTGAA AGGCGGGTTT ACCATTTCTC GCGATGACAG CAAGAACACC
GTGTACCTGC AGATGAACAG TCTCAAGACC GAGGACACAG CCGTGTACTA TTGTACTGCT
CCCGCCTATT ATTACGATGG CACAGTGCC TTCGCATACT GGGGACAGGG
TACTTTGGTG ACTGTCTCG
```

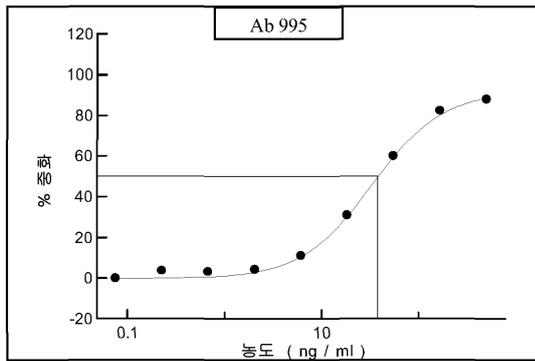
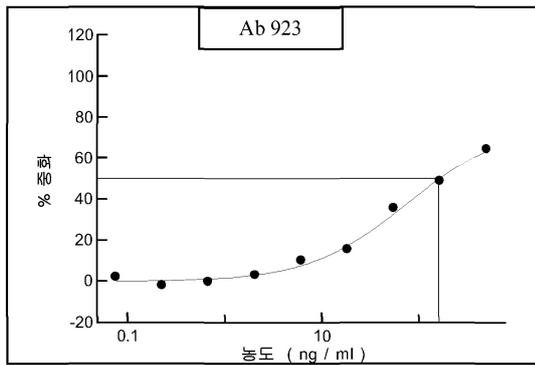
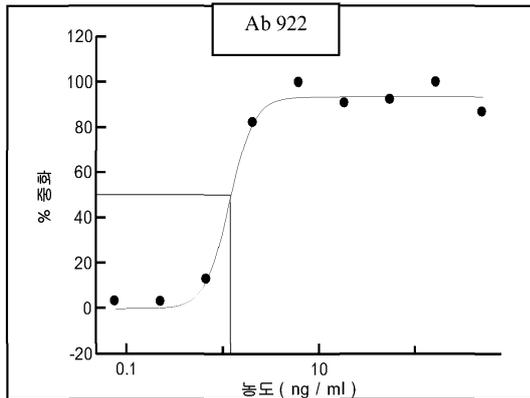
도면11

TcdA 변성독소로 면역화된 4마리의 토끼 및 TcdB 결합 도메인(TcdB1234)으로 면역화된 5마리의 래트로부터 수득된 혈청 역가. ELISA 플레이트 상에 코팅된 TcdA 독소 또는 TcdB 결합 도메인을 사용하여 발생시킨 ELISA 데이터



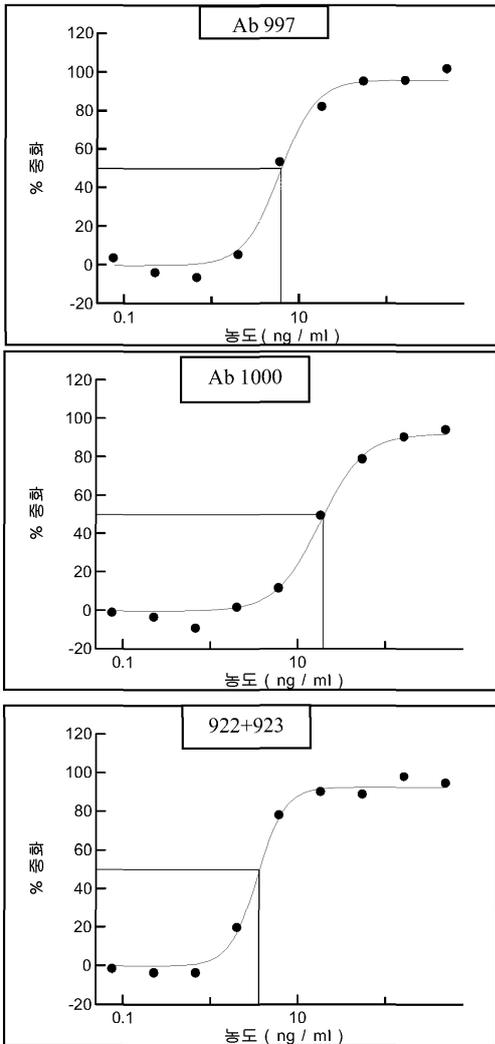
도면12

단일 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



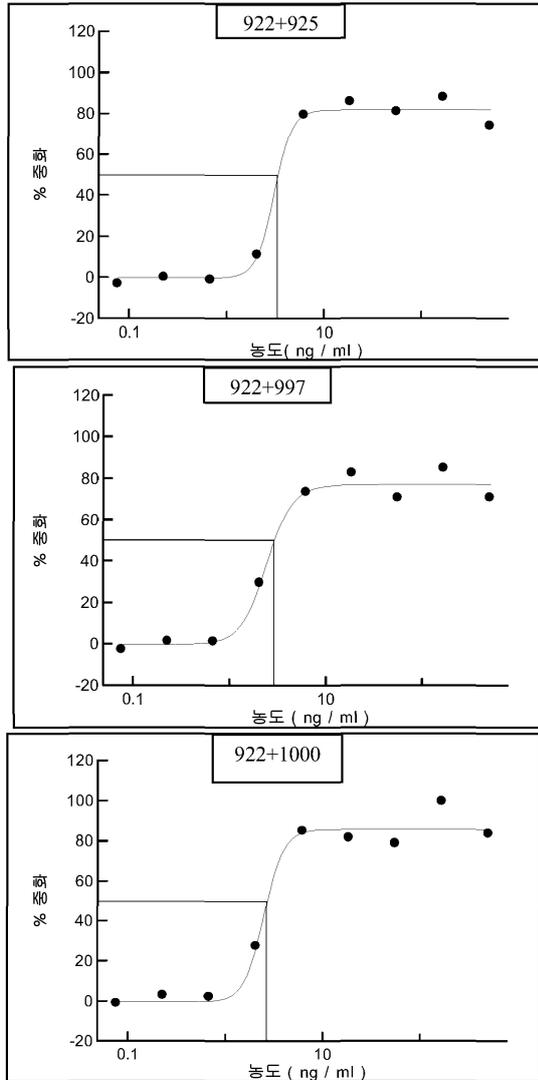
도면13

단일 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



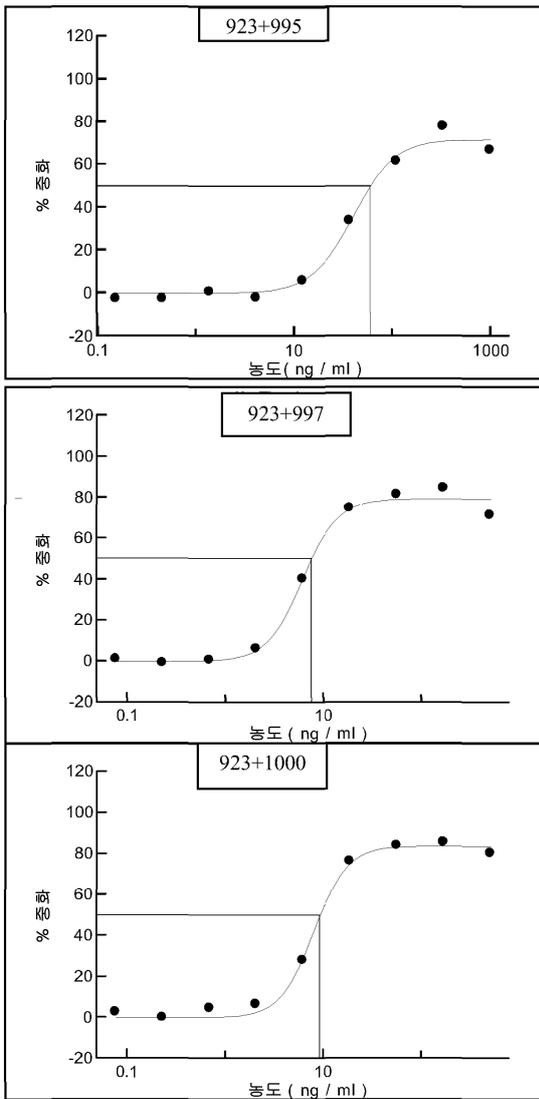
도면14

쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



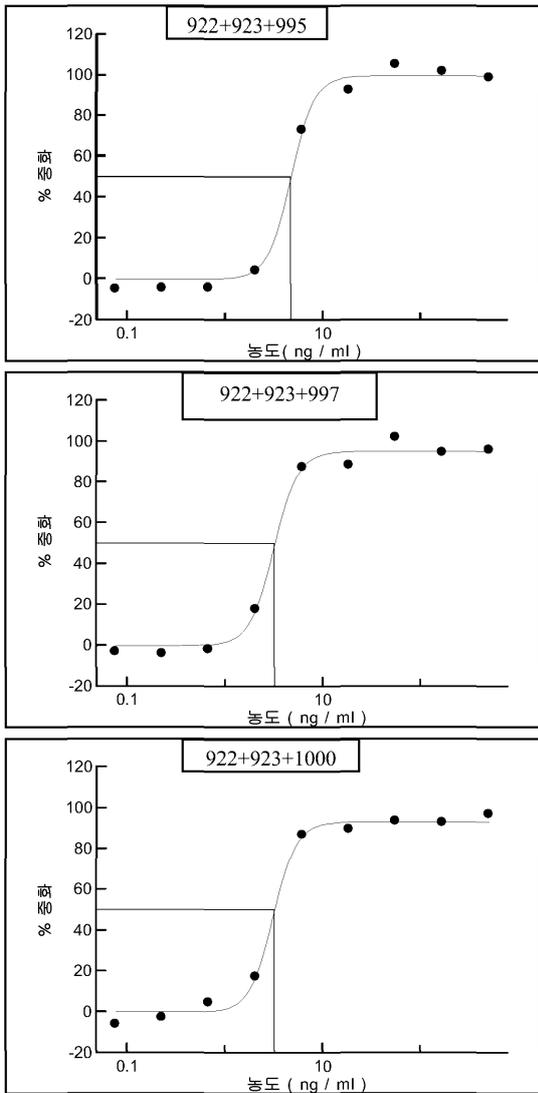
도면15

쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003)
시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



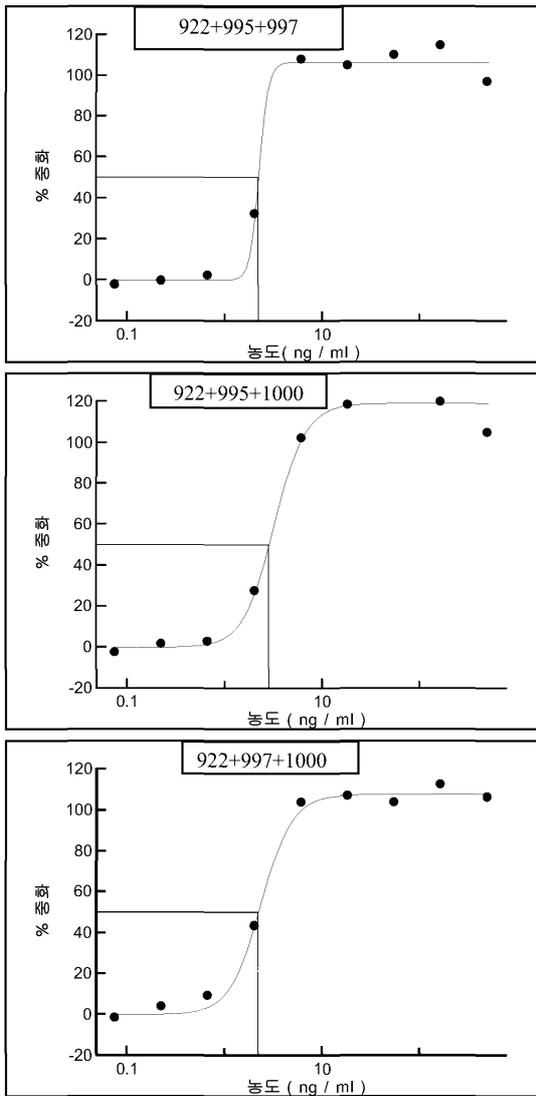
도면16

3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



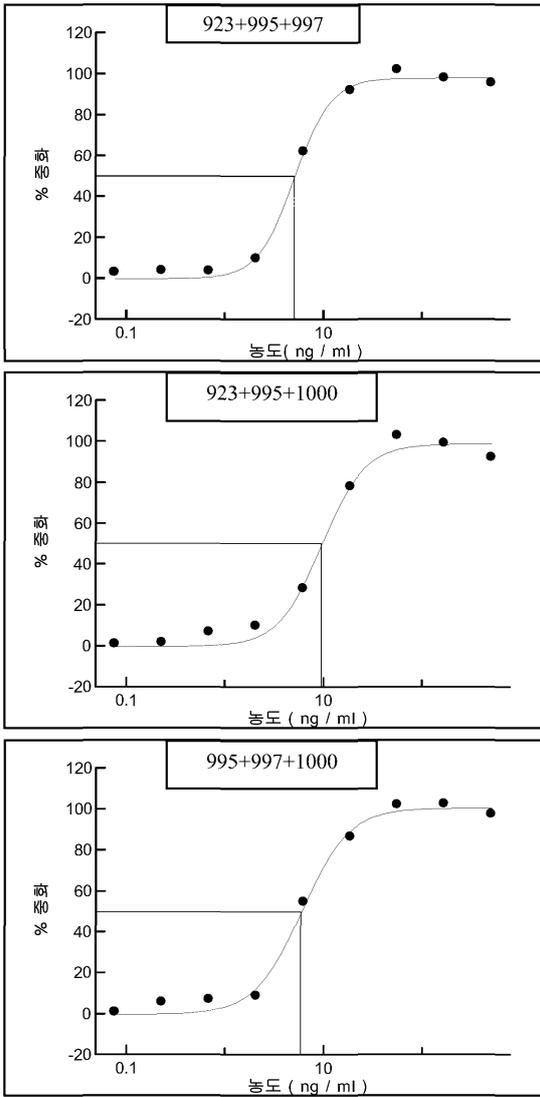
도면17

3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



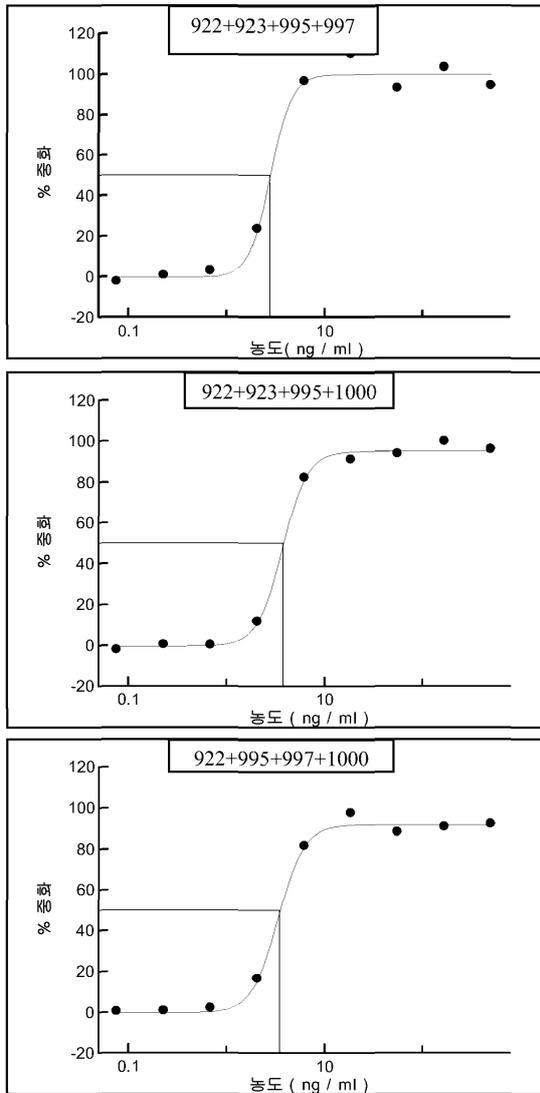
도면18

3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



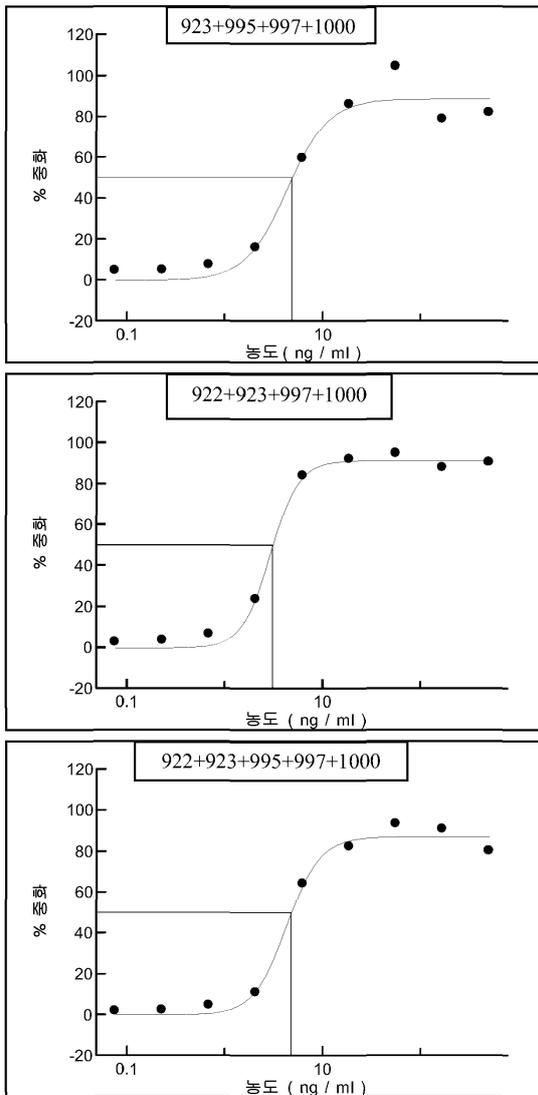
도면19

4개 Mab 및 5개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003)
 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



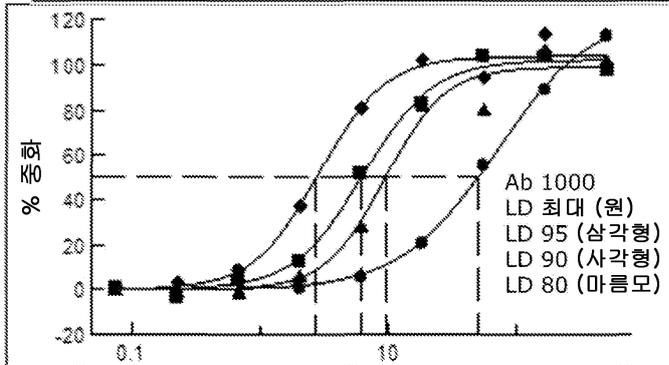
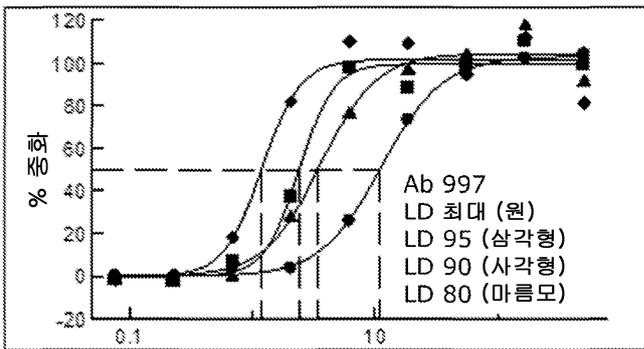
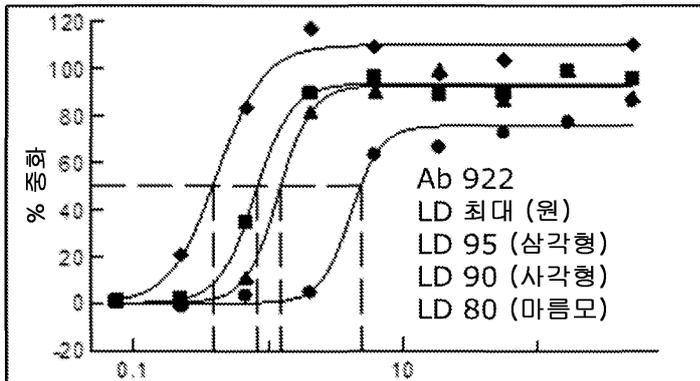
도면20

4개 Mab 및 5개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축 농도(ng/ml) 및 Y 축 % 중화)



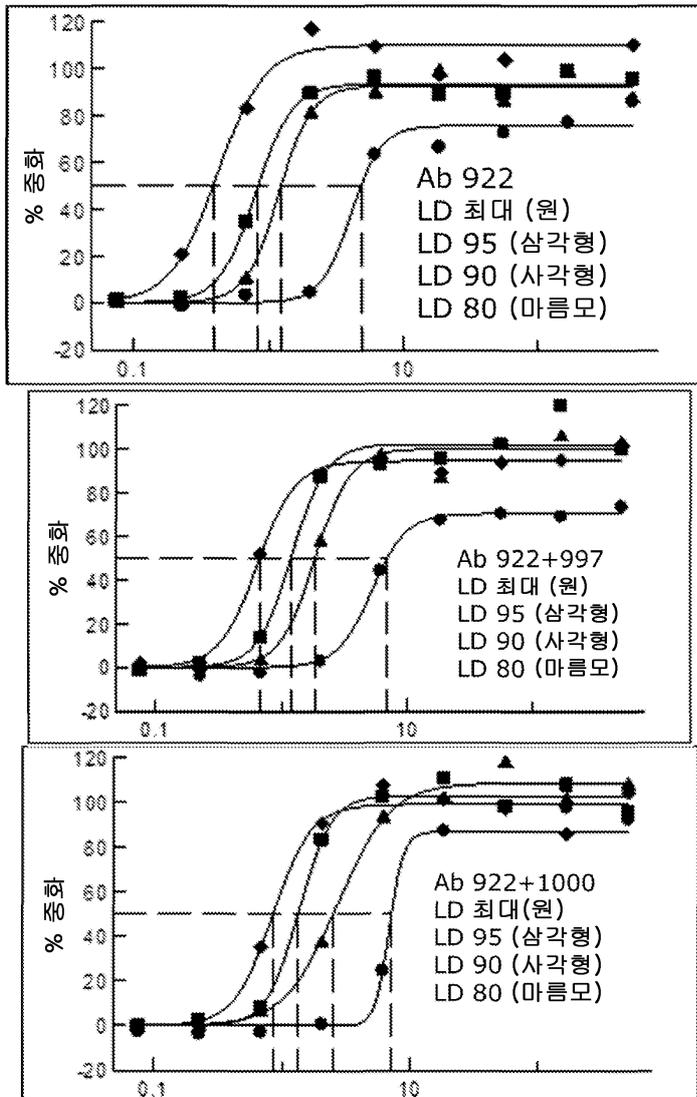
도면21

상이한 TcdA 농도에서 단일 Mab들 및 쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축은 농도(ng/ml)임)



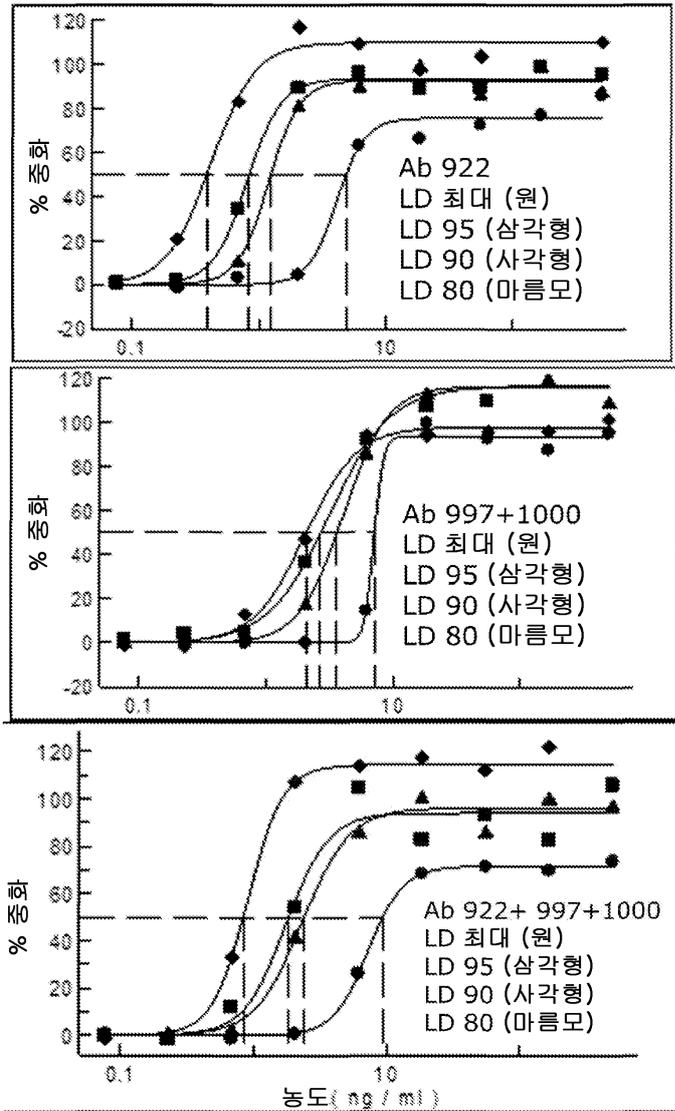
도면22

상이한 TcdA 농도에서 단일 Mab들 및 쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축은 농도(ng/ml)임)



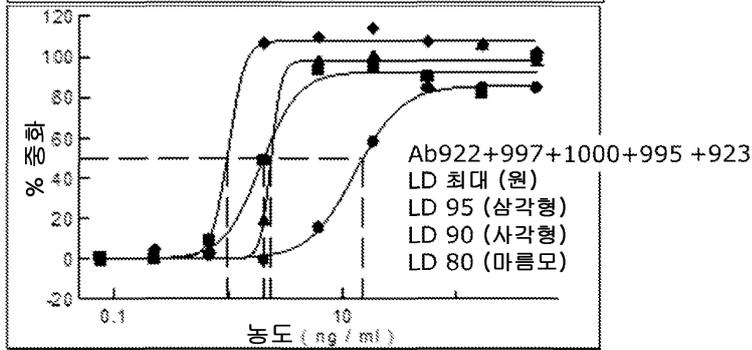
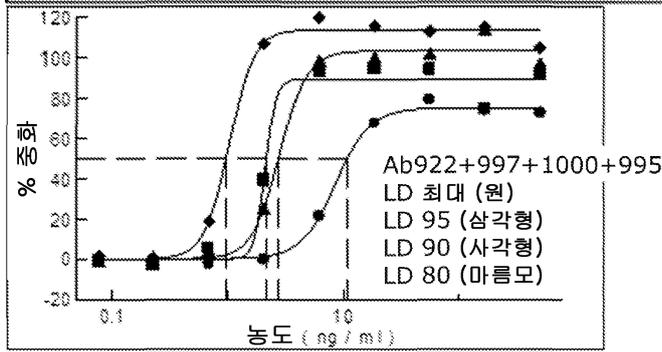
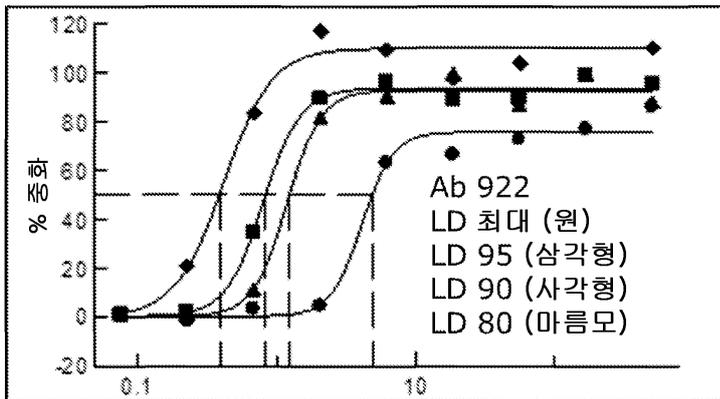
도면23

상이한 TcdA 농도에서 단일 Mab 및 5개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축은 농도(ng/ml)임)



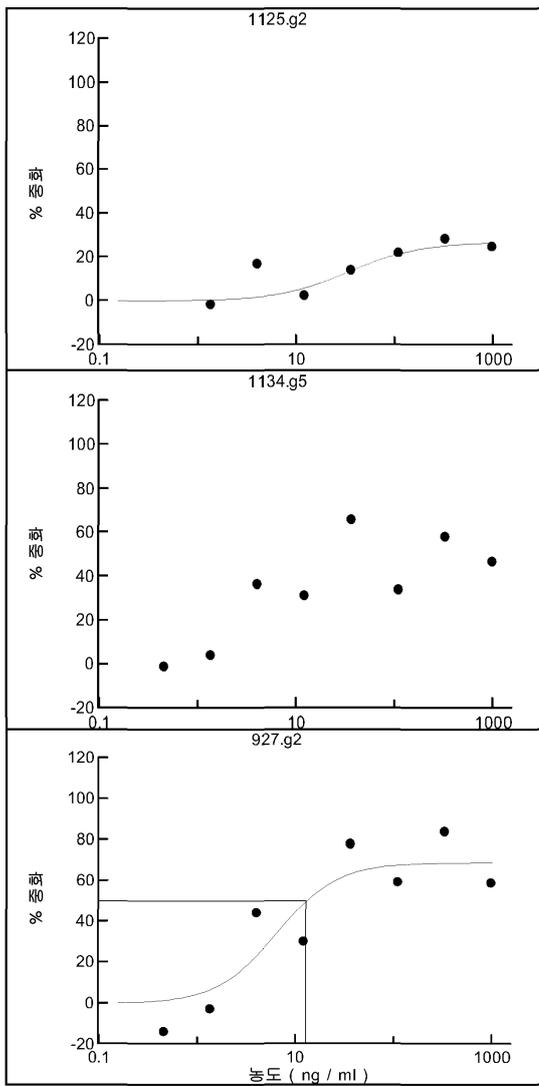
도면24

상이한 TcdA 농도에서 단일 Mab 및 5개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdA(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(X 축은 농도(ng/ml)임)



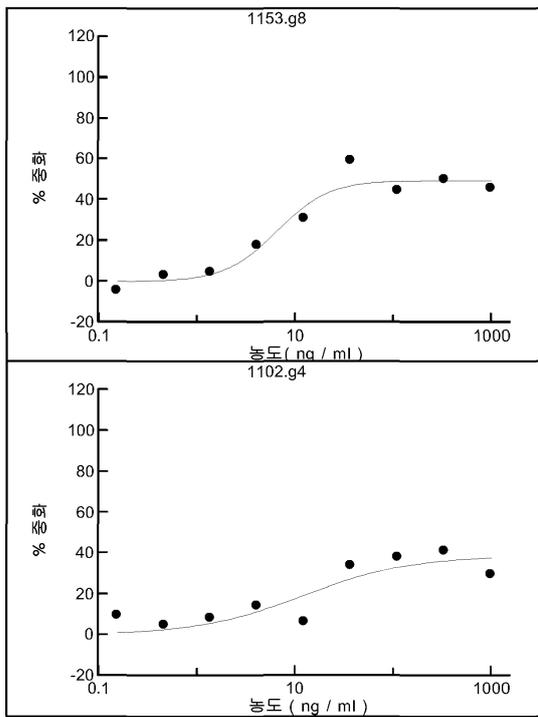
도면25

단일 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터
 (Y 축: 중화; X 축: 1125.g2, 1134.g5 및 927.g2 각각에 대한 농도(ng/ml))



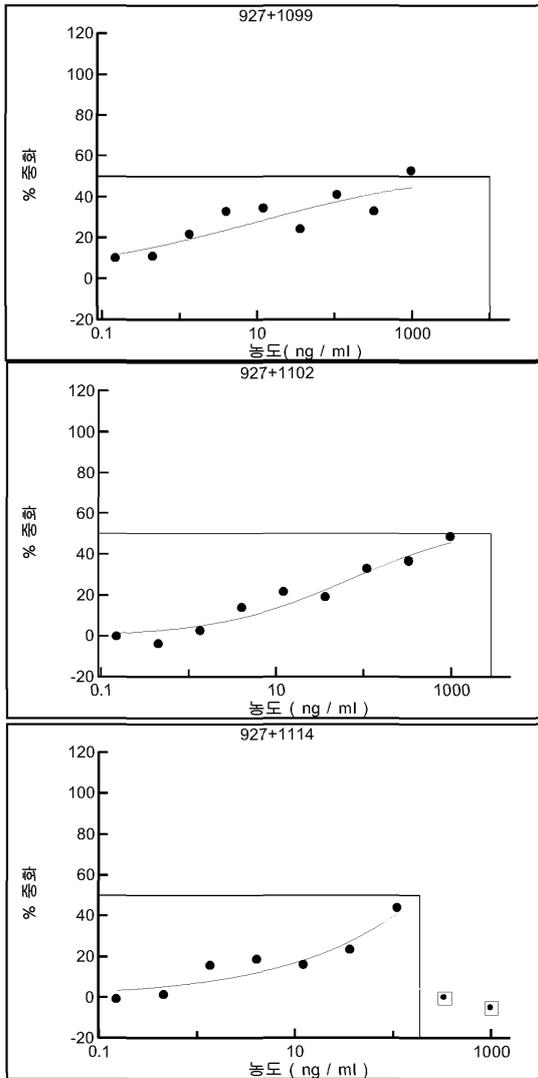
도면26

단일 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터
 (Y 축: 중화; X 축: 1153.g8 및 1102.g4 각각에 대한 농도(ng/ml))



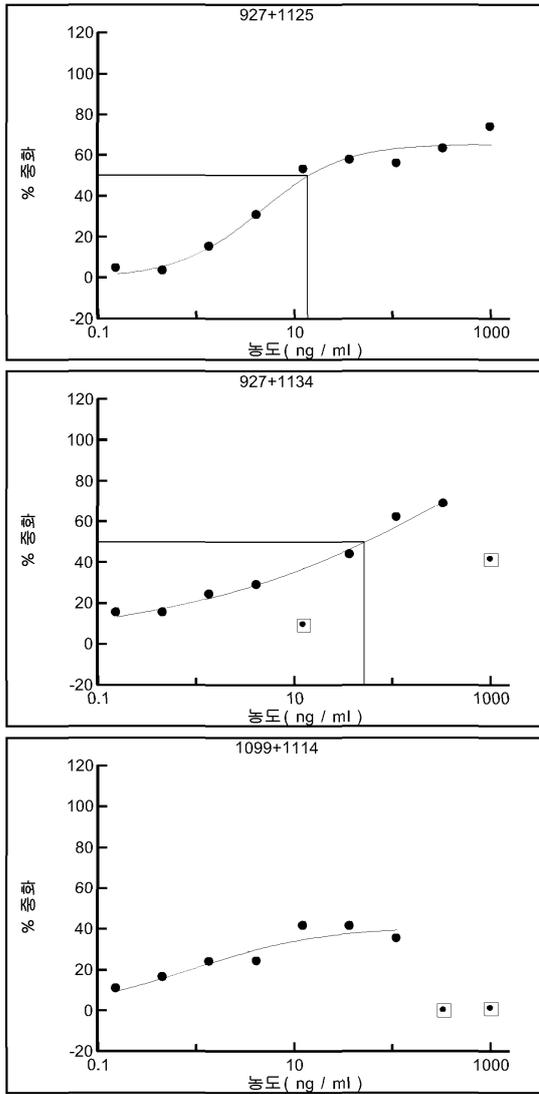
도면27

쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(Y 축: 중화; X 축: 조합물 927+1099, 927+1102, 927+1114 각각에 대한 농도(ng/ml))



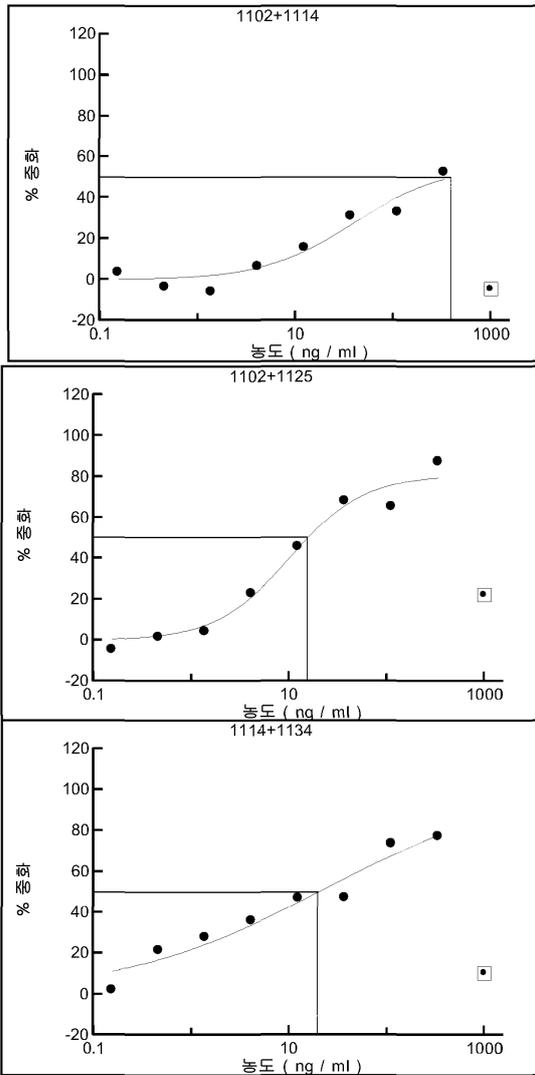
도면28

쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(Y 축: 중화; X 축: 조합물 927+1125, 927+1134, 1099+1114 각각에 대한 농도(ng/ml))



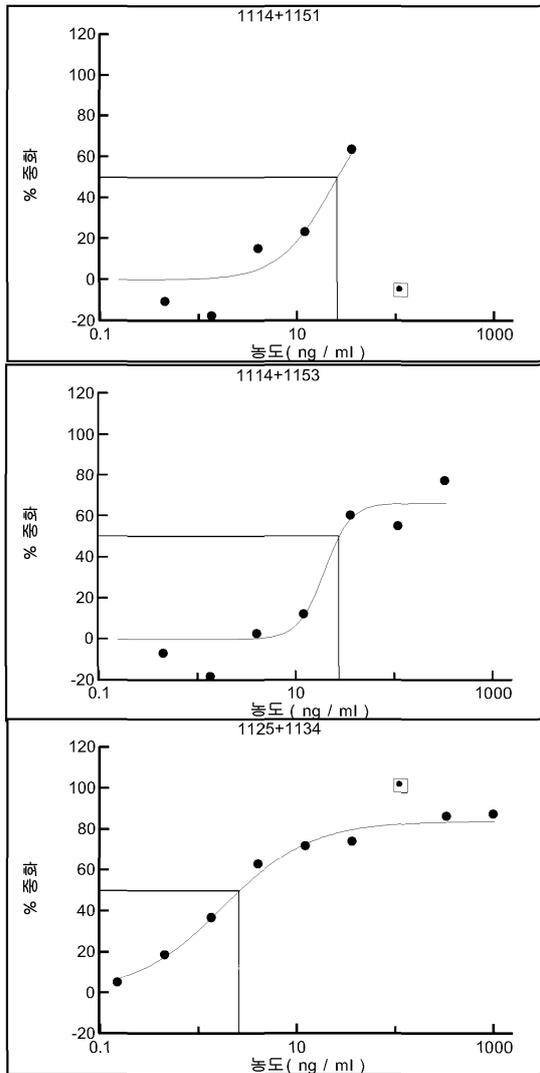
도면29

쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(Y 축: 중화; X 축: 조합물 1102+1114, 1102+1125, 1114+1134 각각에 대한 농도(ng/ml))



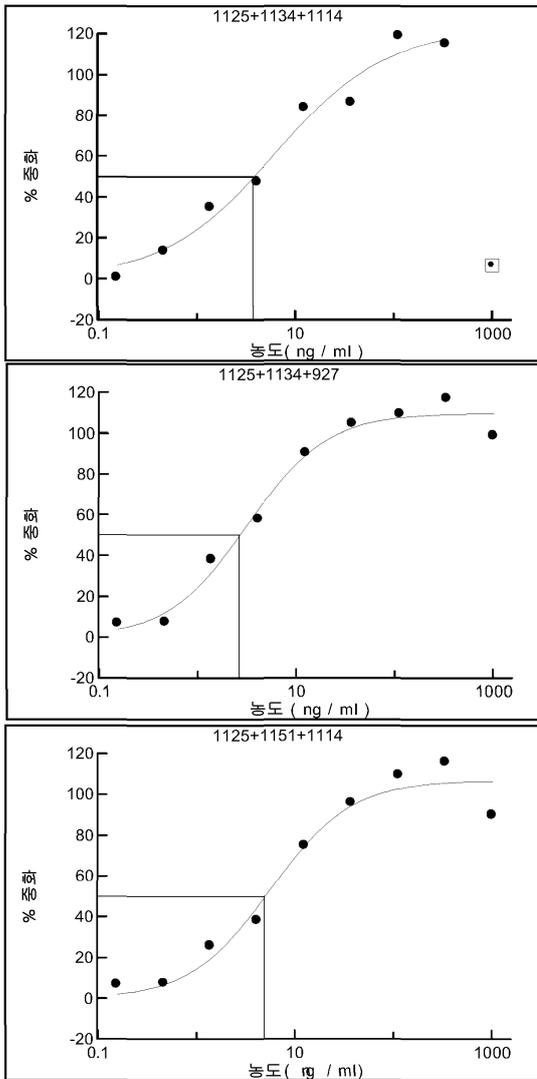
도면30

쌍을 형성한 Mab들에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터(Y 축: 중화; X 축: 조합물 1114+1151, 1114+1153, 1125+1134 각각에 대한 농도(ng/ml))



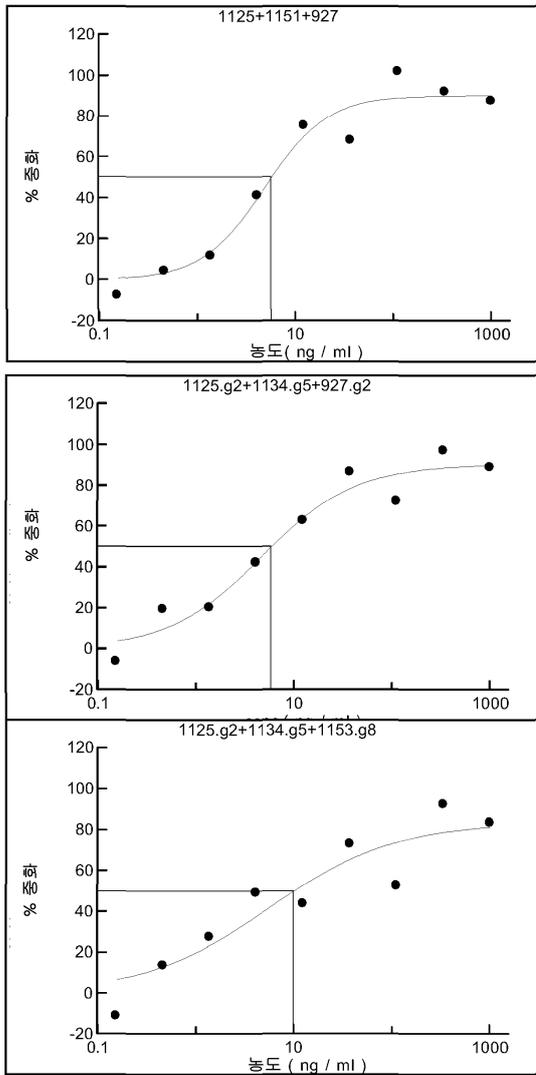
도면31

3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터
 (Y 축: 중화; X 축: 조합물 1125+1134+1114, 1125+1134+927,
 1125+1151+1114 각각에 대한 농도(ng/ml))



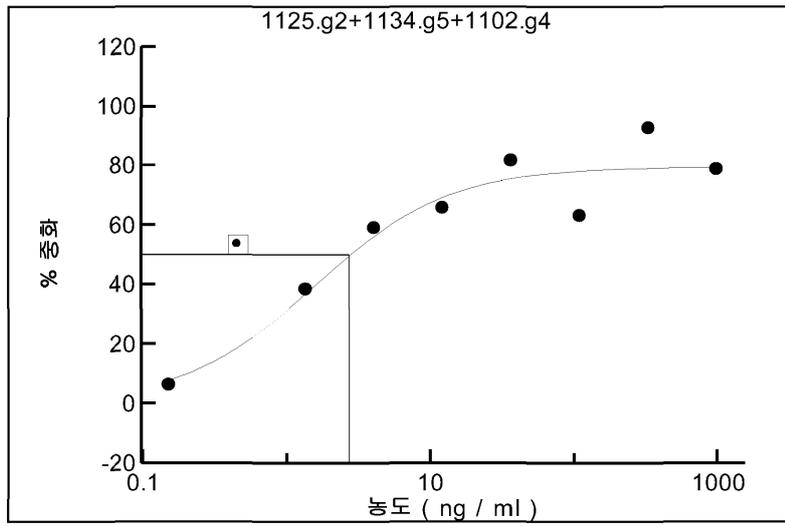
도면32

3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터
 (Y 축: 중화; X 축: 조합물 1125+1151+927, 1125.g2+1134.g5+927.g2,
 1125.g2+1134.g5+1153.g8 각각에 대한 농도(ng/ml))



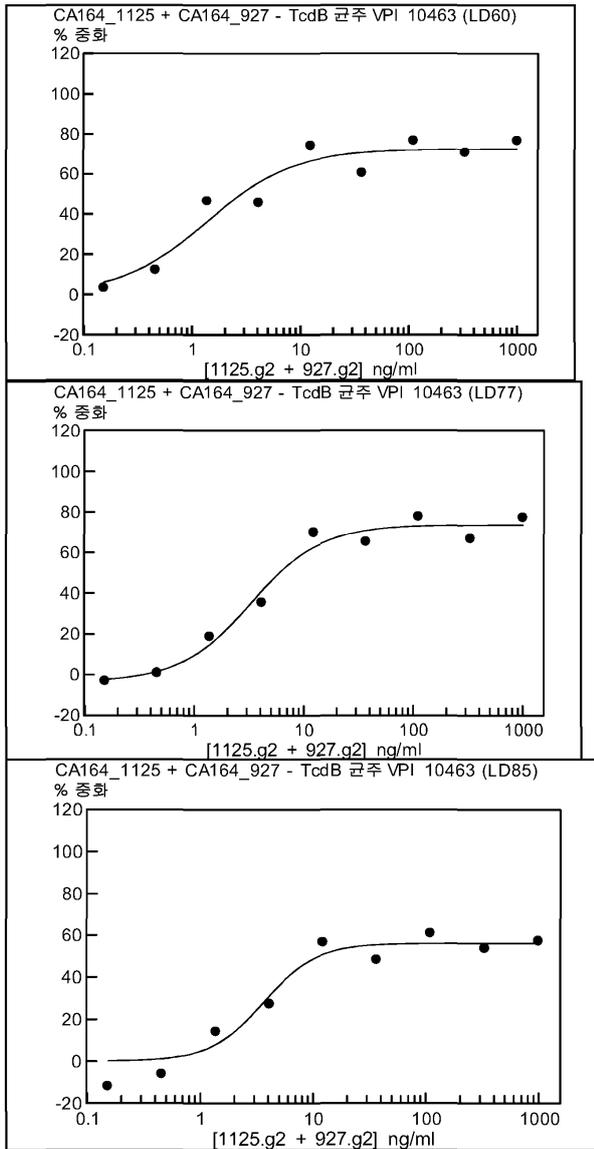
도면33

3개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



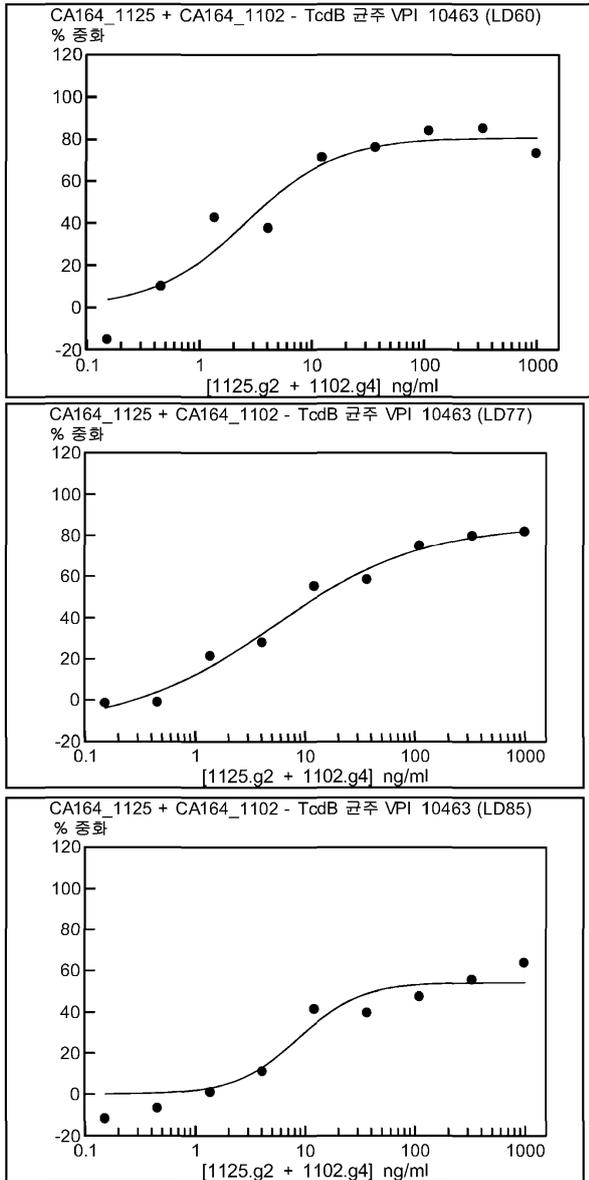
도면34

상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



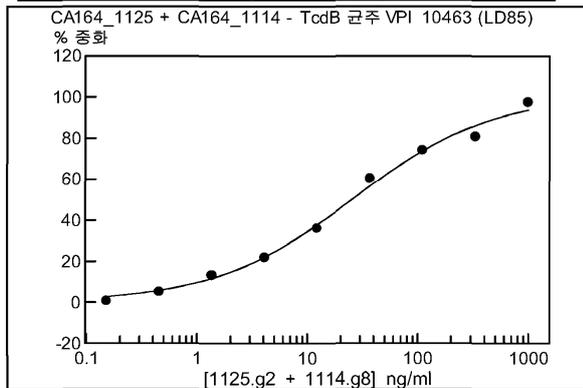
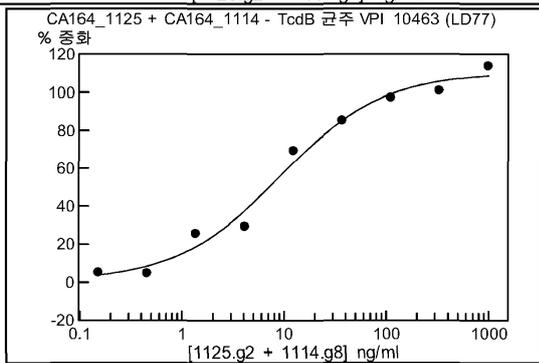
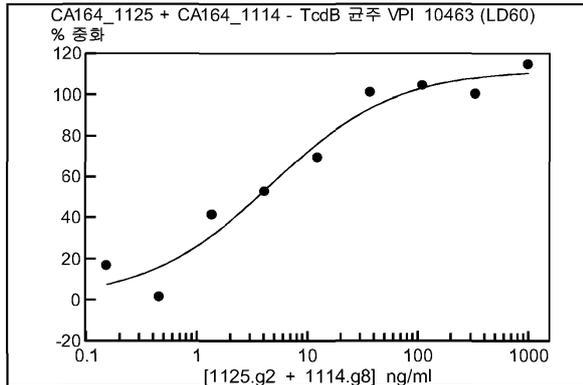
도면35

상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



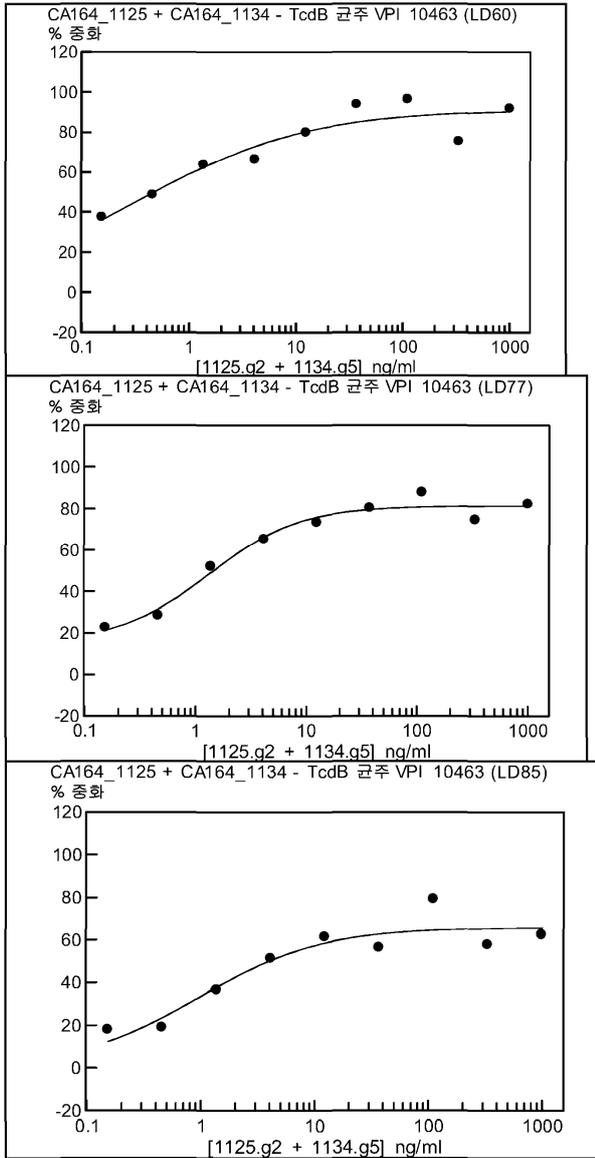
도면36

상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



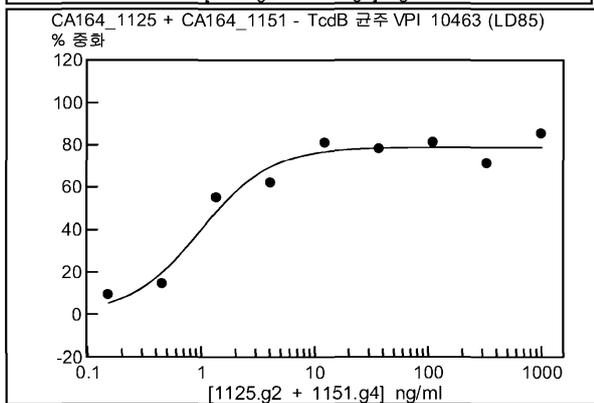
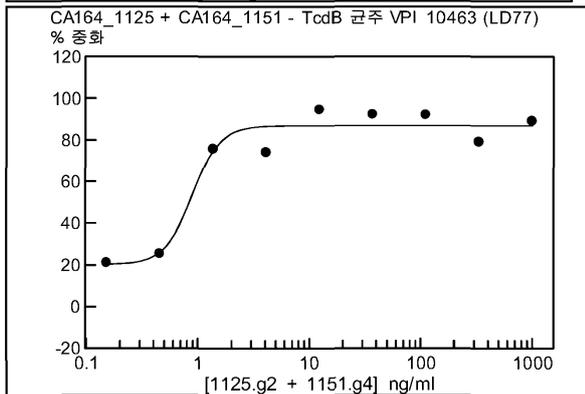
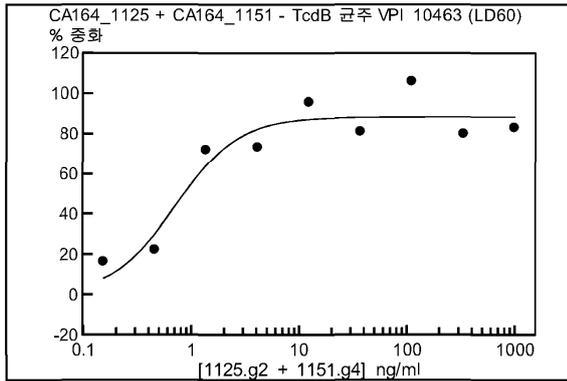
도면37

상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



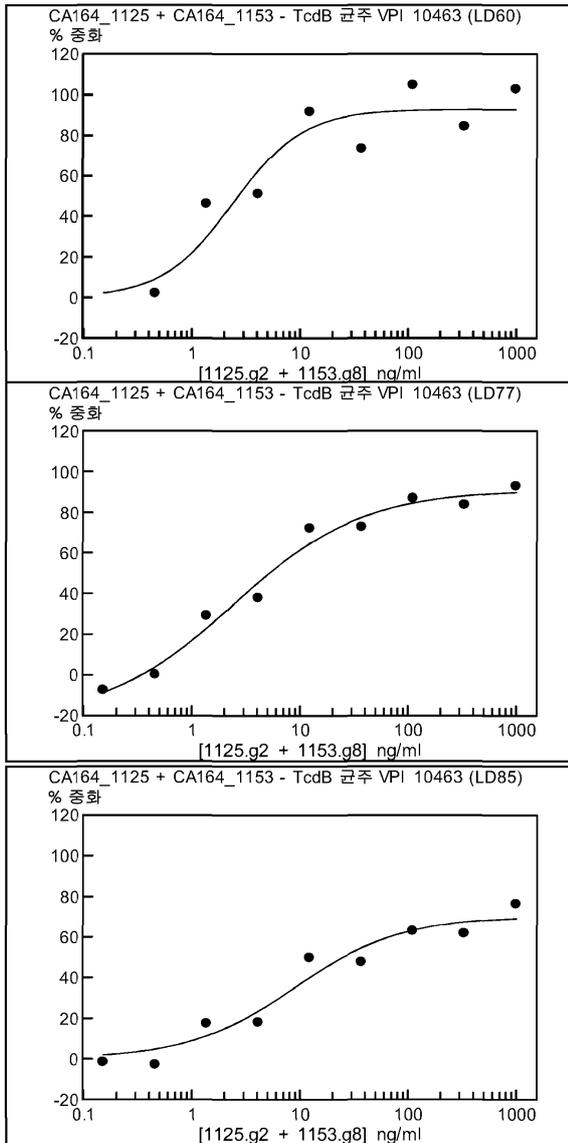
도면38

상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



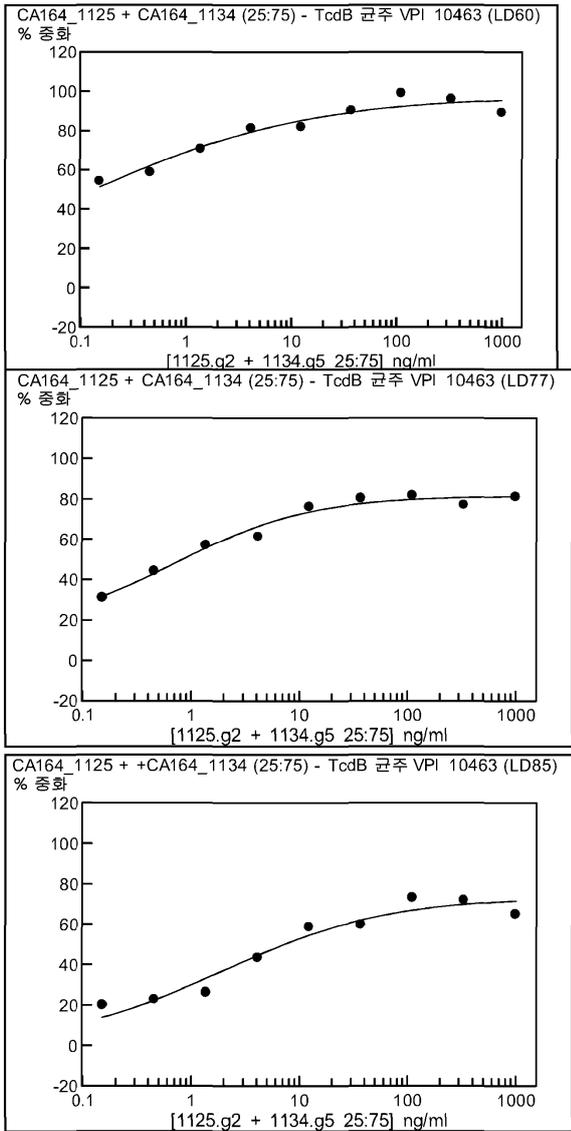
도면39

상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



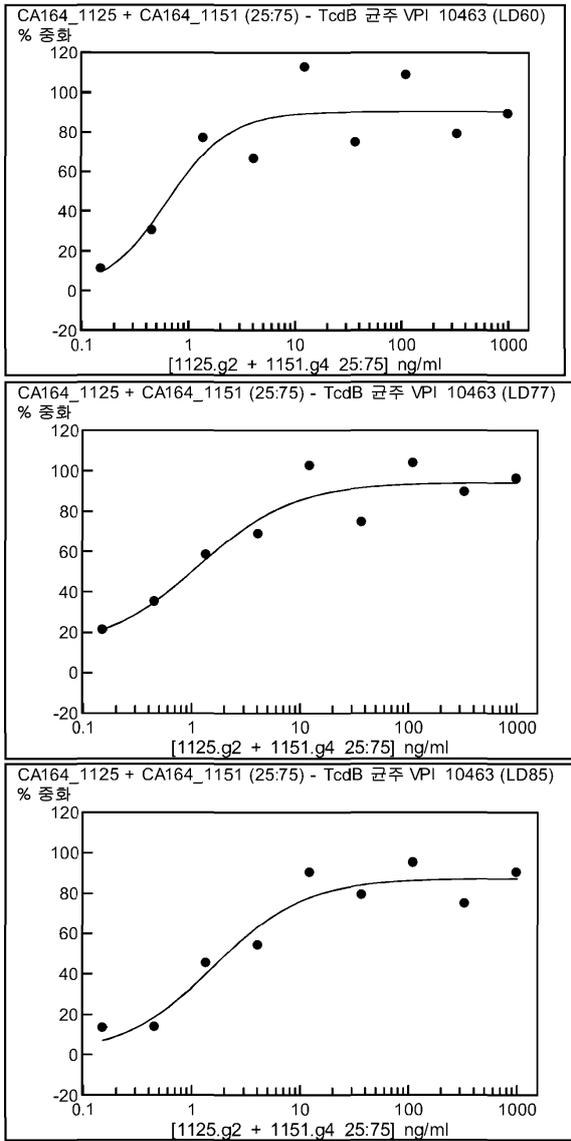
도면40

상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



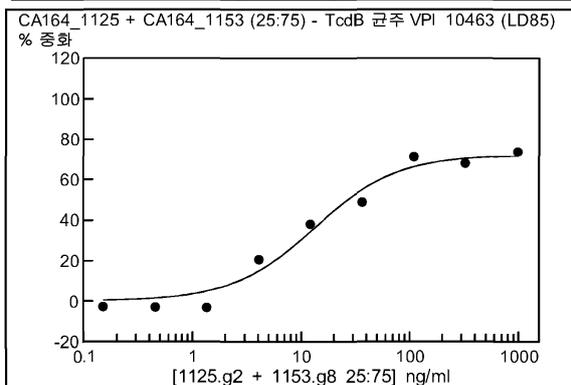
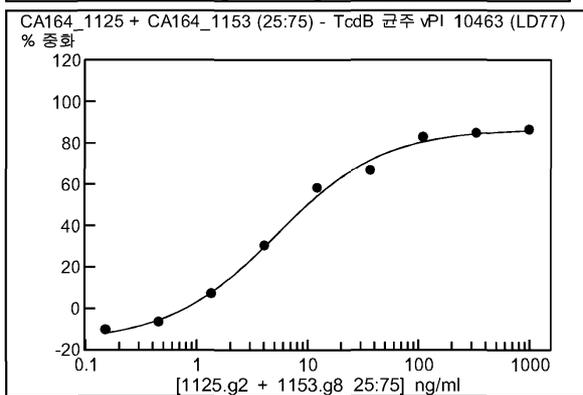
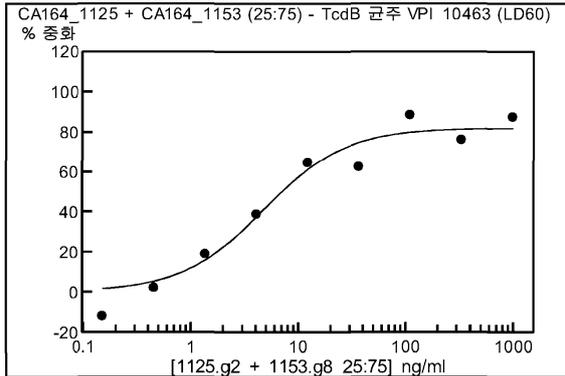
도면41

상이한 상대적인 Mab 비 및 상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



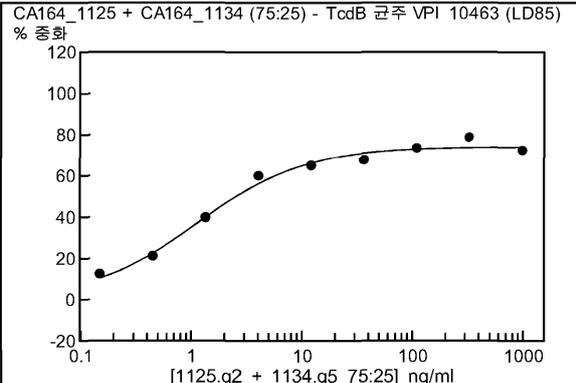
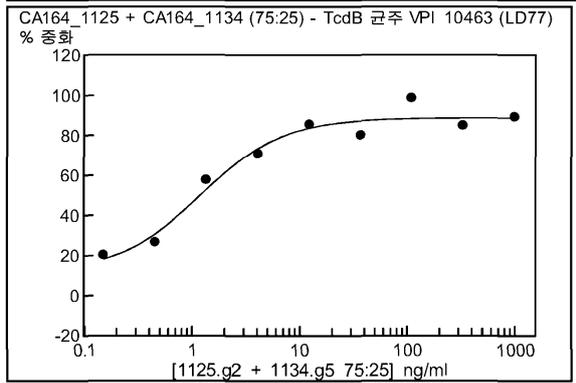
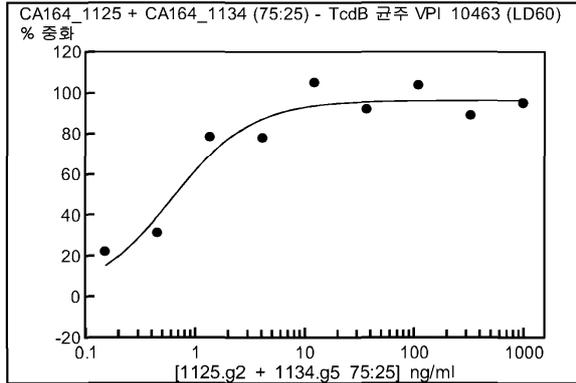
도면42

상이한 상대적인 Mab 비 및 상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



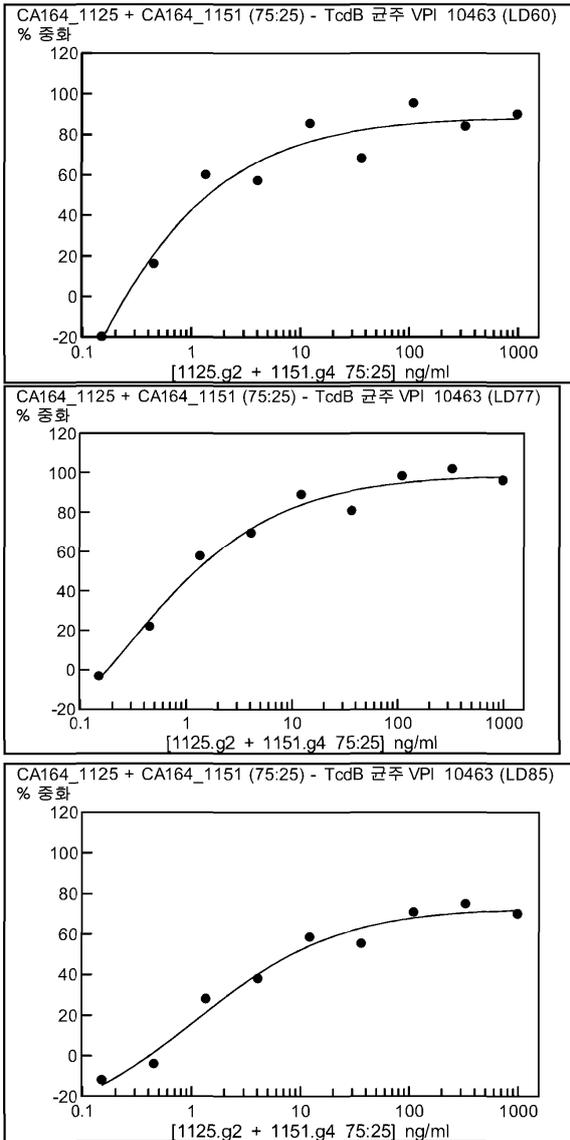
도면43

상이한 상대적인 Mab 비 및 상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



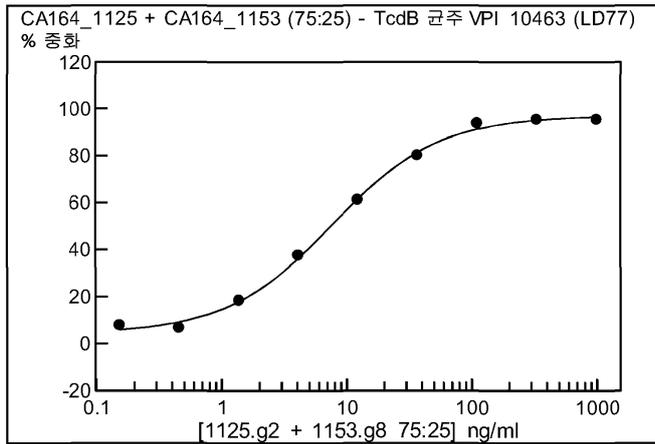
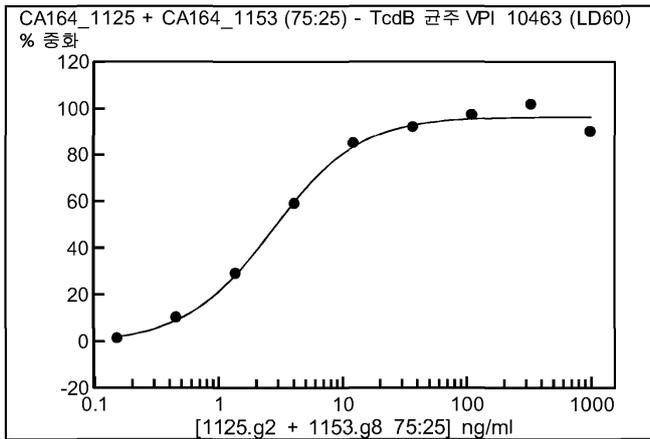
도면44

상이한 상대적인 Mab 비 및 상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



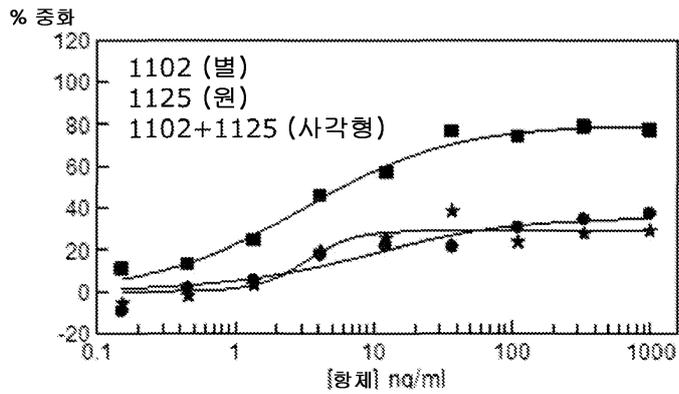
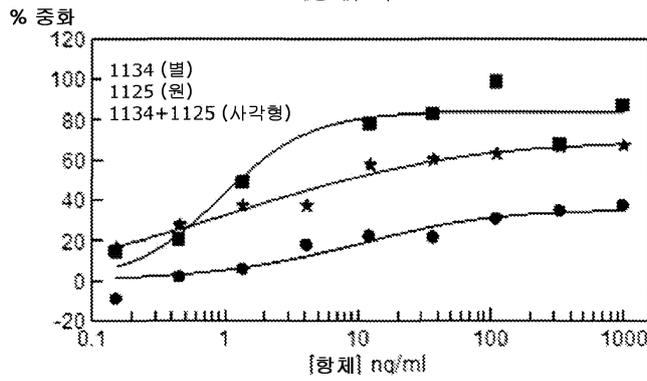
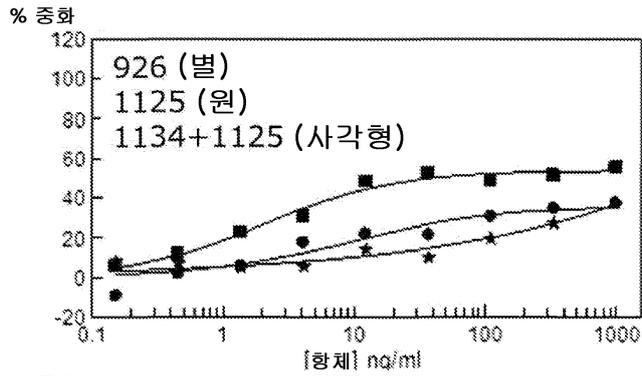
도면45

상이한 상대적인 Mab 비 및 상이한 독소 농도에서 2개 Mab 혼합물에 대한 항-TcdB(리보타입 003) 시험관내 중화 데이터



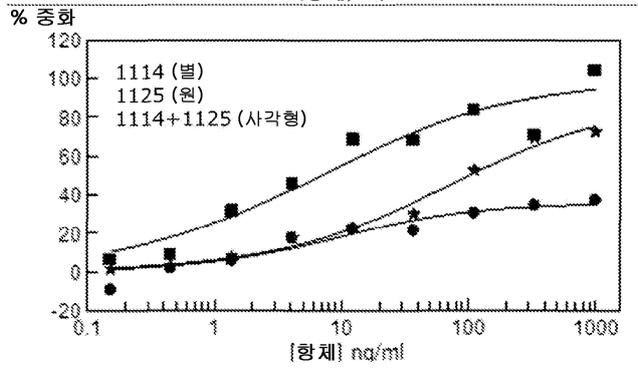
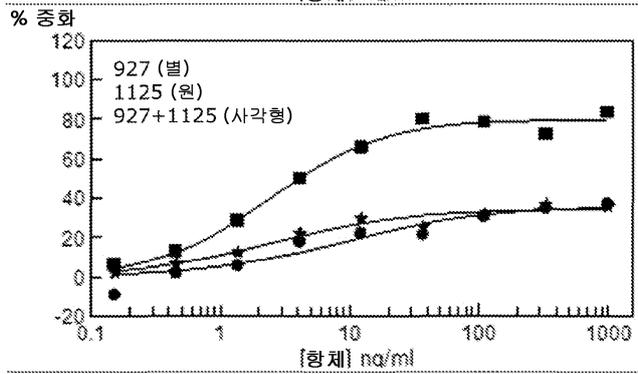
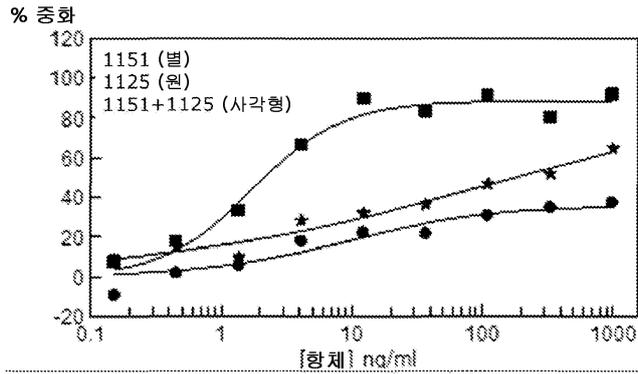
도면46

TcdB 균주 VPI 10463 중화, 항체 단일 및 쌍, 일정한 독소 용량(LD80)



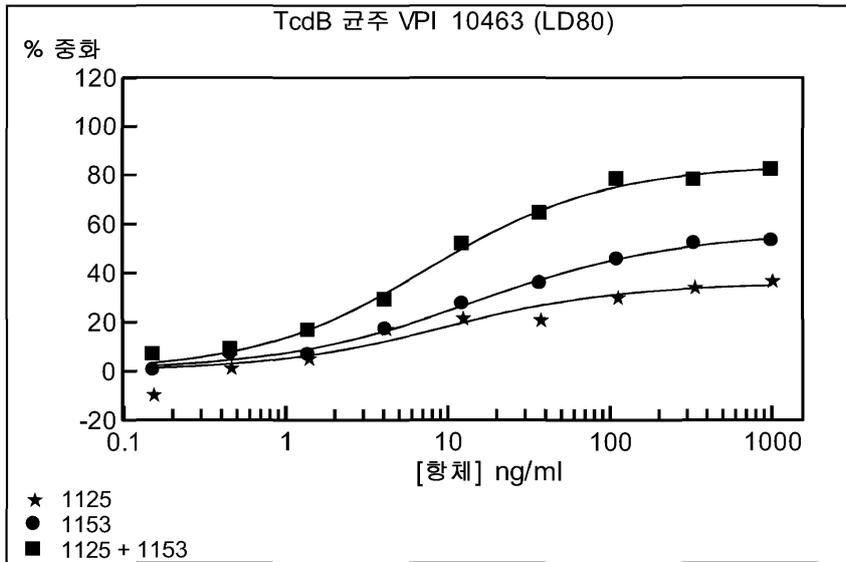
도면47

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 일정한 독소 용량(LD80)



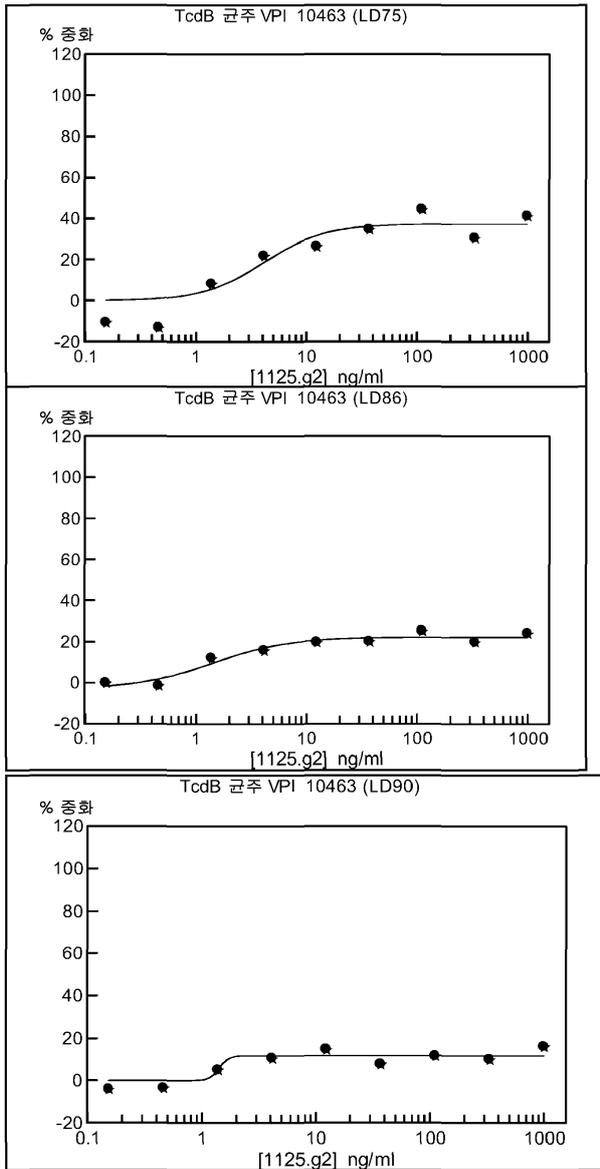
도면48

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 일정한 독소 용량(LD80)



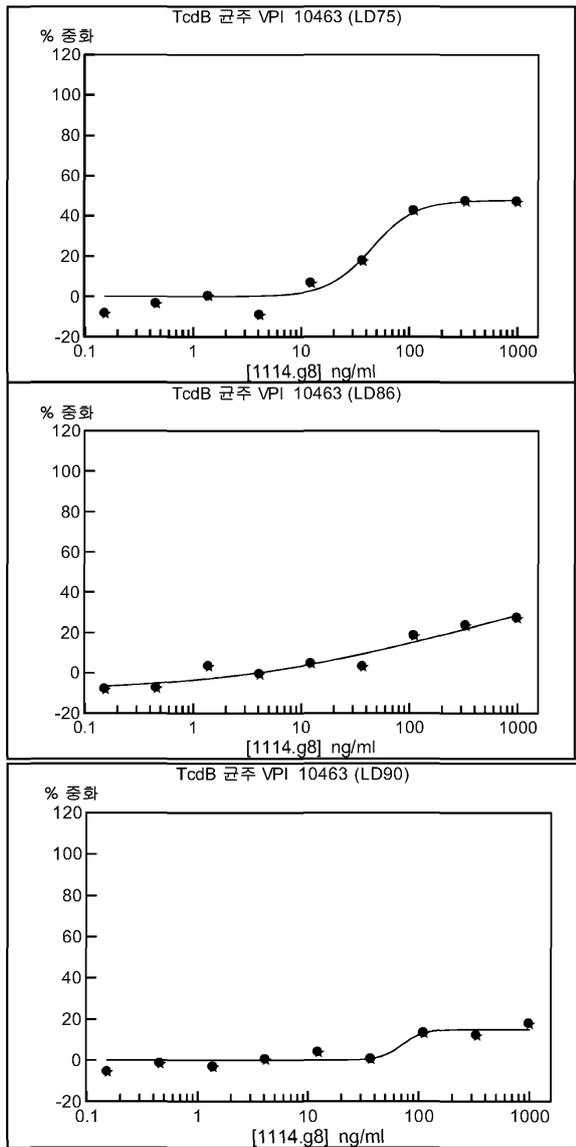
도면49

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(겉쳐있음)



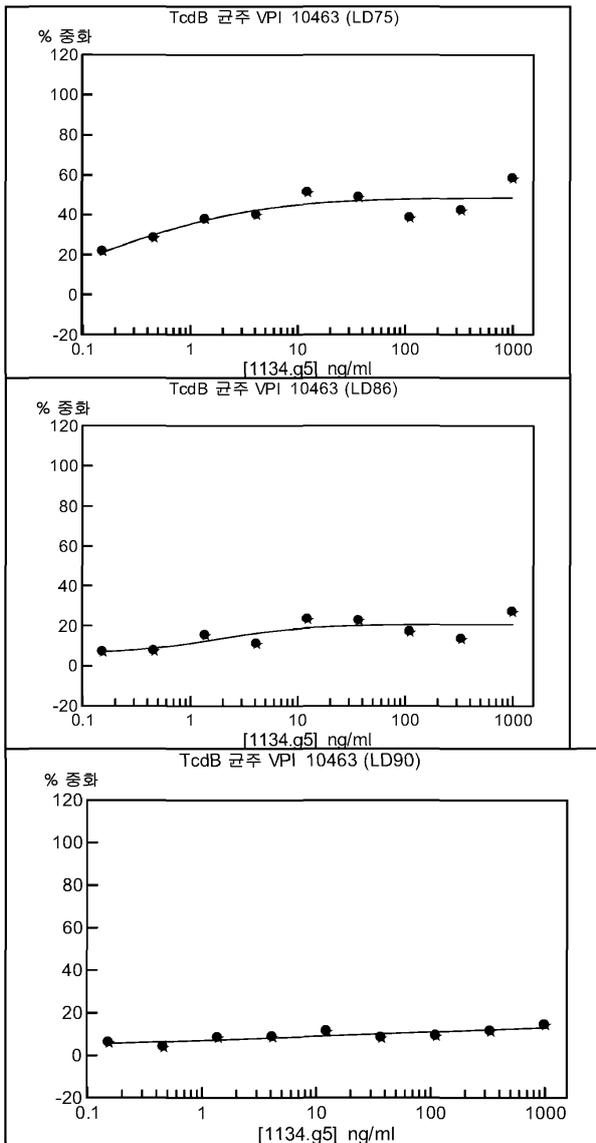
도면50

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



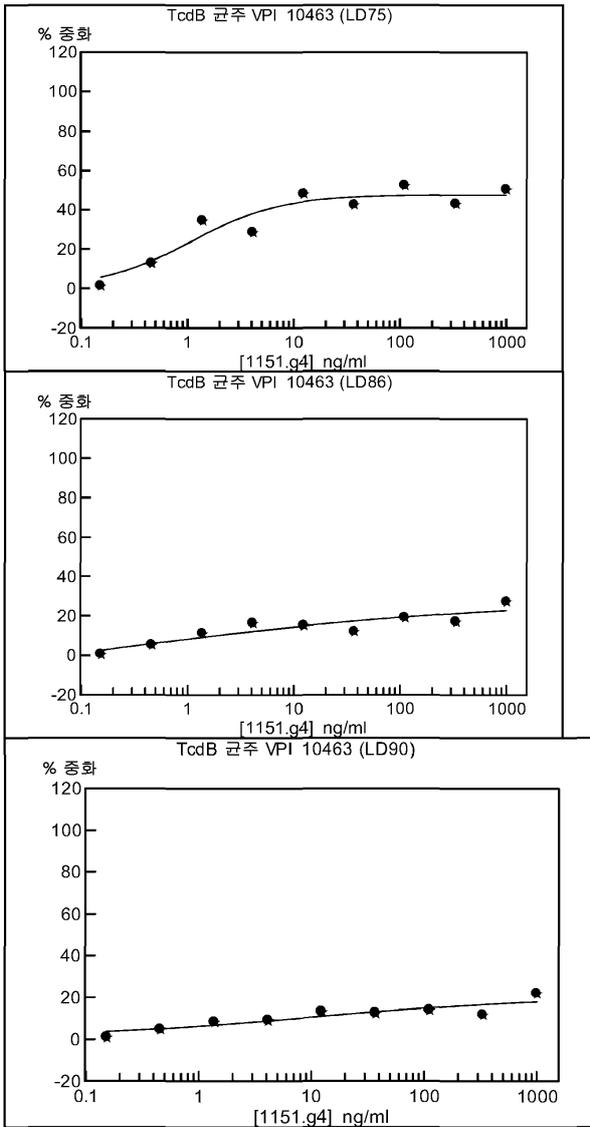
도면51

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



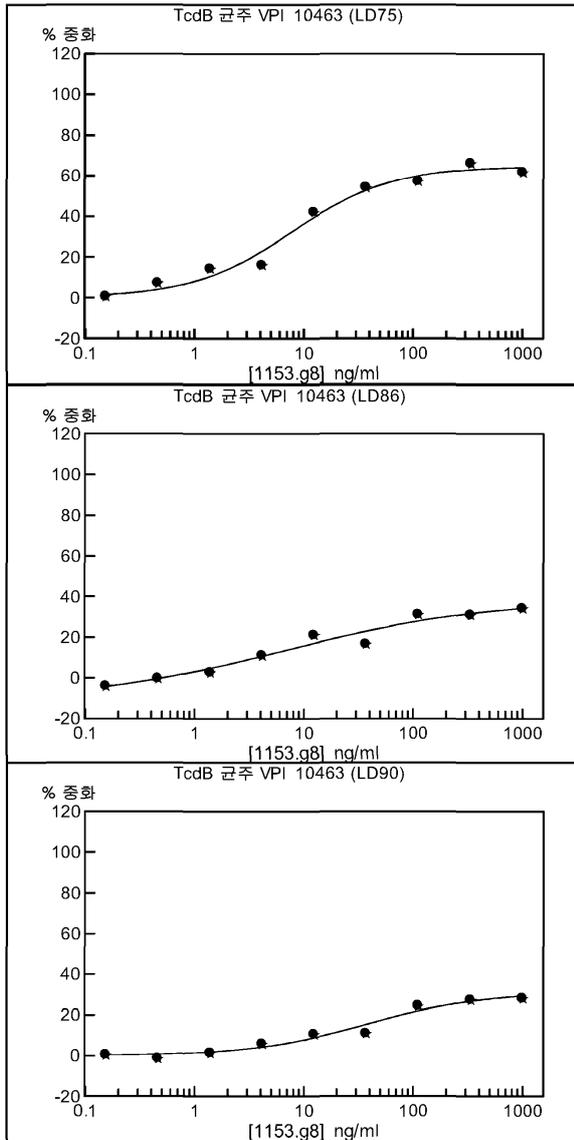
도면52

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



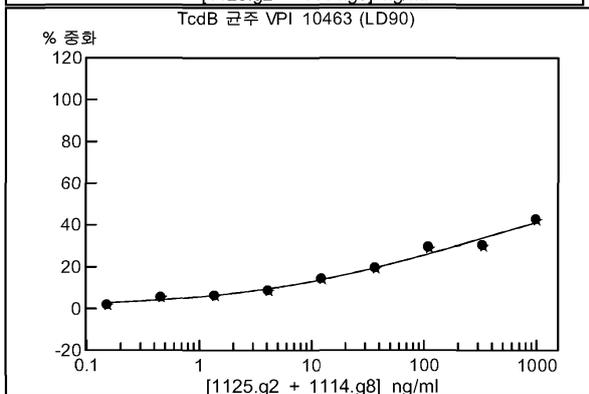
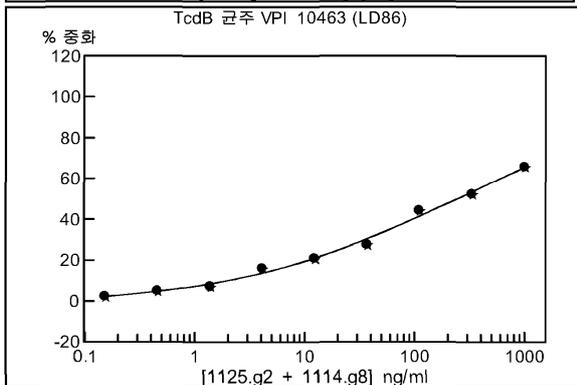
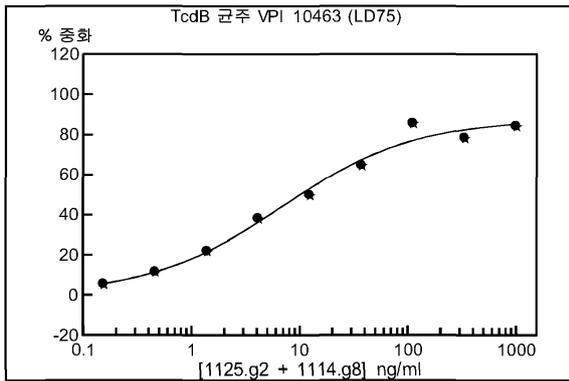
도면53

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



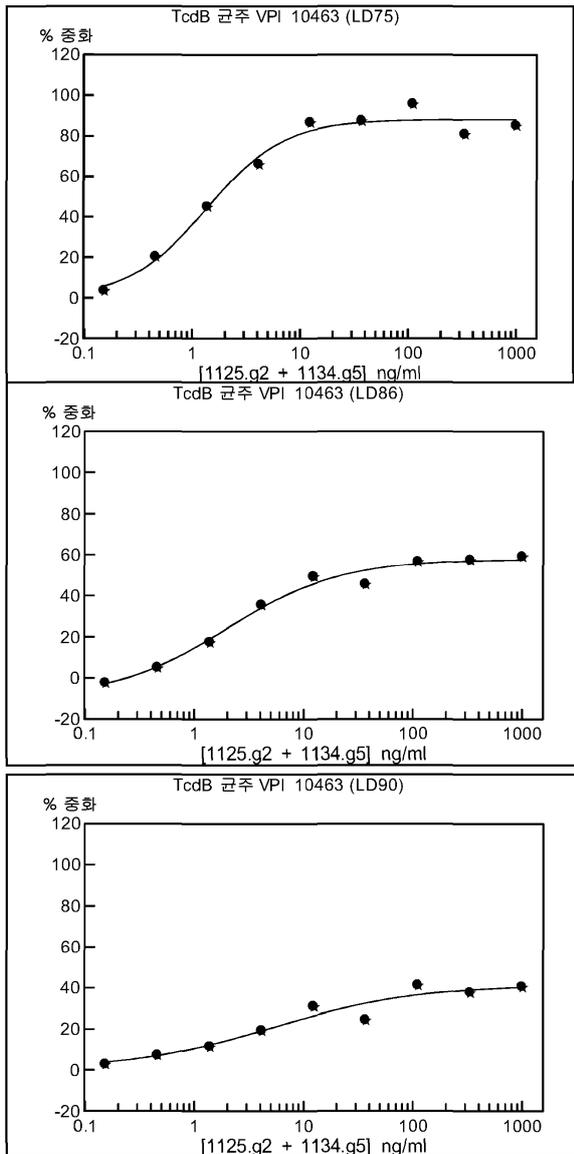
도면54

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



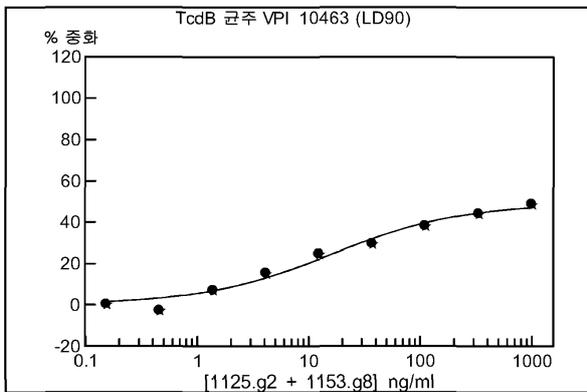
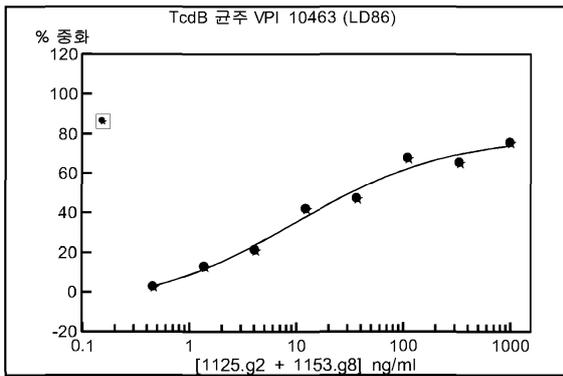
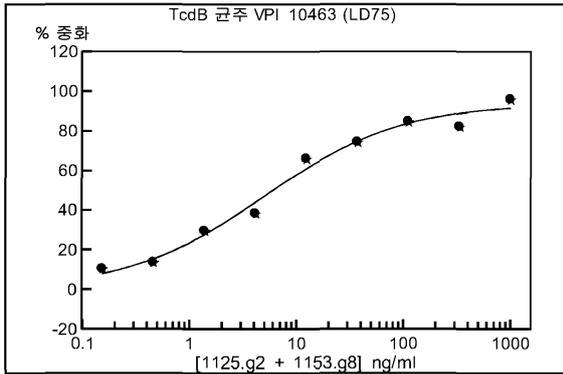
도면55

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



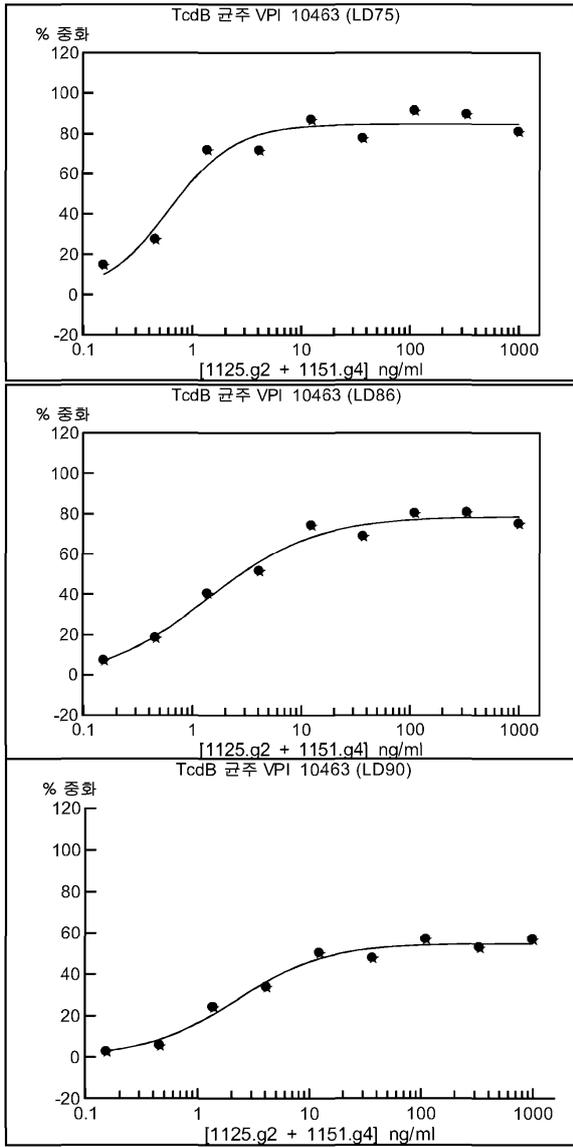
도면56

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



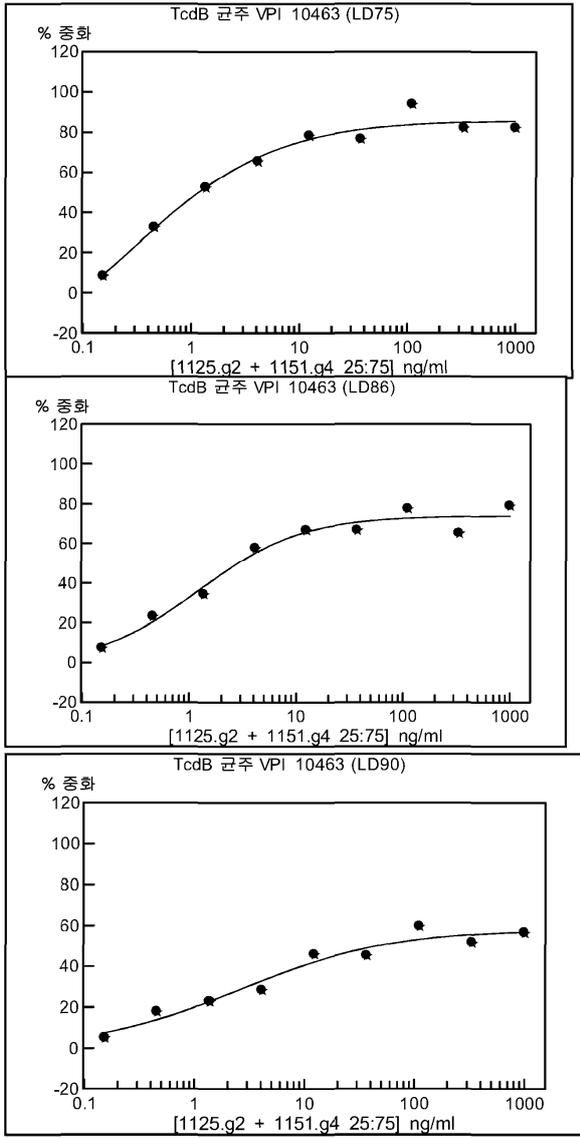
도면57

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



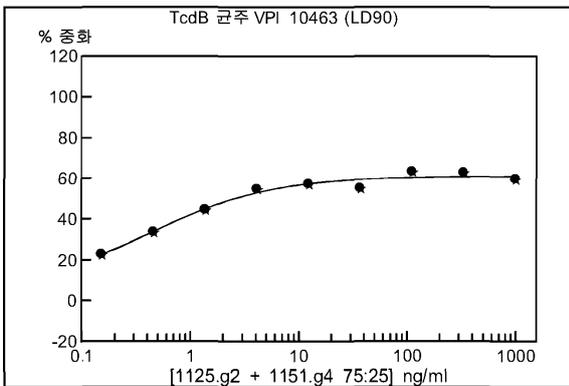
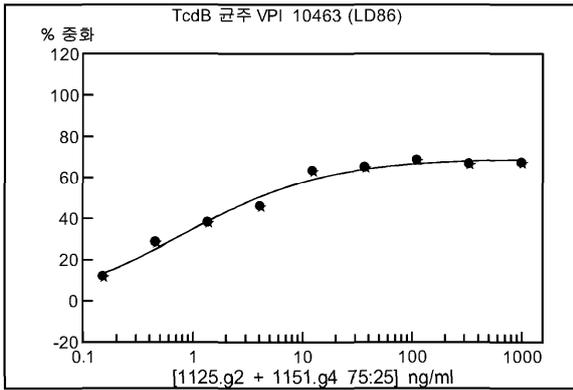
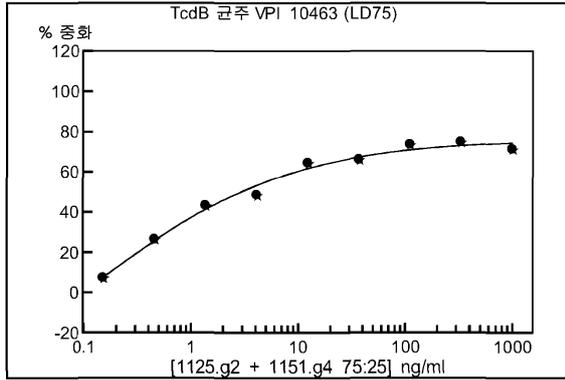
도면58

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



도면59

TcdB 중화, 항체 단일 및 쌍, 변화하는 독소 용량(걸쳐있음)



도면60a

TcdA 서열번호 171에 대한 아미노산 서열:

MSLISKEELI KLAYSIRPRE NEYKTILTNL DEYNKLTNN NENKYLQLKK LNESIDVFMN
 KYKTSSRNRA LSNLKKDILK EVILIKNSNT SPVEKNLHFV WIGGEVSDIA LEYIKQWADI
 NAEYNIKLMY DSEAFVNTL KKAIVESSTT EALQLLEEEI QNPQFDNMKF YKKRMEFIYD
 RQKRFINIYK SQINKPTVPT IDDIKSHLV SEYNRDETVL ESYRTNSLRK INSNHGIDIR
 ANSLFTEQEL LNIYSQELLN RGNLAAASDI VRLALKNFG GVYLDVDMLP GIHSDLFKTI
 SRPSSICLDR WEMIKLEAIM KYKKYINNYT SENFDKLDQQ LKDNFKLIIE SKSEKSEIFS
 KLENLNVSDL EIKIAFALGS VINQALISKQ GSYLTNLVIE QVKNRYQFLN QHLNPAIESD
 NNFTDITKIF HDSLFSATA ENSMFLTKIA PYLQVGFMPPE ARSTISLSGP GAYASAYYDF
 INLQENTIEK TLKASDLIEF KFPENNSQL TEQEINSLWS FDQASAKYQF EKYVRDYTCG
 SLSEDNGVDF NKNIALDKNY LLNKNIPSN VEEAGSKNYV HYIIQLQGDD ISYEATCNLF
 SKNPKNSIII QRNMNESAKS YFLSDDGESI LELNKYRIPE RLKNEKVKV TFIGHGKDEF
 NTSEFARLSV DLSNEISSF LDTIKLDISP KNVEVNLGCG NMFSYDFNVE ETYPCKLLLS
 IMDKITSTLP DVNKSITIG ANQYEVRRINS EGRKELLAHS GKWINKEEAI MSDLSSKEYI
 FFDSIDNKLK AKSKNIPGLA SISEDIKTLL LDASVSPDK FILNKLKNI ESSIGDYIYY
 EKLEPVKNII HNSIDDLIDE FNLENVSD ELYELKLNLD DEKYLISFED ISKNNSTYSV
 RFINKSNCGS VYVETEKEIF SKYSEHITKE ISTIKNSIIT DVNGNLLDNI QLDHTSQVNT
 LNAAFFIQSL IDYSSNRDVL NDLSTSVKQV LYAQLFSTGL NTIYDSIQLV NLISNAVNDT

INVLPITTEG IPIVSTILDG INLGAAIKEL LDEHDPLLKK ELEAKVGVLA INMSLSIAAT
 VASIVGIGAE VTIFLLPIAC ISAGIPSLVN NELILHDKAT SVVNYFNHLS ESKKYGPLKT
 EDDKILVPID DLVISEIDFN NNSIKLGTGN ILAMEGGSCH TVTGNIDHFF SSPSISSHIP
 SLSIYSAIGI ETENLDFSKK IMMLFNAPSR VFWWETGAVP GLRSLNDGT RLLDSIRDLY
 PGKFWRFYA FFDYAITTLK PVYEDTNIKI KLDKDIRNFI MPTITTNEIR NKLSYSPDGA
 GGTYSLLLSS YPISTNINLS KDDLWIFNID NEVREISIEN GTIKKGLIK DVLSKIDINK
 NKLIIGNQTI DFGSDIDNKG RYIFLTCELD DKISLIEIN LVAKSYSLLL SGDKNYLISN
 LSNTIEKINT LGLDSKNIAY NYTDESNNKY FGAISKTSQK SIIHYKDKS NILEFYNDST
 LEFNSKDFIA EDINVMKDD INTITGKYV DNNTDKSIDF SISLVSKNV KVNGLYLNES
 VYSSYLDFVK NSDGHHTSN FMNLPDNI FFKLFCFENI NFVIDKYFTL VGKTNLGYVE
 FICDNNKND IYFGWKTSS SKSTIFSGNG RNVVVEPIYN PDTGEDISTS LDFSYEPLYG
 IDRYINKVLI APDLYTSLIN INTNYSNEY YPEIIVLNP TFHKVNIINL DSSSEFYKWS
 TEGSDFILVR YLEESNKKIL QKIRIKGILS NTQSFNKMSI DFKDIKLSL GYIMSNKFSF
 NSENELDRDH LCFKIDNKT YYYDEDSKLV KCLININNSL FYFDPIEFNL VTGWQTINCK
 KYYFDINTCA ALTSYKLIING KHFYFNNDGV MQLGVFKGPD GFEYFAPANT QNNNIECQAI
 VYQSKFLTIN GKYYFPDNN KAVTCWRIIN NEKYYFNPNN AIAAVGLQVI DNNKYYFNPD
 TALISKGWQT VNGSRYYFDT DTAIAFNGYK TIDGKHFFYD SDCVVKIGVF STSNGFEYFA
 PANTYNNNIE CQAIYVQSKF LTLNCKKYYF DNNSKAVTGL QTIDSKKYYF NTNTAEAAATG

도면60b

WQTIDGKYY FNTNTAEAAAT GWQTIDGKYY YFNTNTAIAS TGYTIINCKH FYFNTDGMQ
 IGVFKGPNFG EYFAPANTDA NNIEGQAILY QNEFLTLNGK KYFSGDSKA VTGWRIINNK
 KYFNPNNAI AAIHLCTINN DKYYFSYDGI LQNGYITIER NNFYFDANNE SKMVTGVFKG
 PNGFEYFAPA NTHNNNIEGQ AIVYQNKFLT LNCKKYYFDN DSKAVTGWQT IDCKKYYFNL
 NTAEAAATGWQ TIDCKKYYFN LNTAEAAATGW QTIDGKYYF NTNTFIASTG YTSINGKHFY
 FNTDGMQIG VFKGPNFGFEY FAPANTDANN IEGQAILYQN KFLTLNGKKY YFGSDSKAVT
 GLRTIDGKYY YFNTNTAVAV TGWQTINGKK YFNTNTSIA STGYTIISGK HFYFNTDGM
 QIGVFKGPDG FEYFAPANTD ANNIEGQAIR YQNRFLYLHD NIYYFGNNSK AATGWVTIDG
 NRYFEPNTA MGANGYKTID NKNFYFRNGL PQIGVFKGSN GFEYFAPANT DANNIEGQAI

 RYQNRFLHLL CKIYFGNNS KAVTCWQTIN CKVYFMPDT AMAAAGLFE IDGVYFFGV
 DGVKAPGIYG

도면61a

TcdB 서열번호 172에 대한 아미노산 서열

```

MSLVNRKQLE KMANVRFRTO EDEYVAILDA LEEYHNMSEN TVVEKYLKLK DINSLTDIYI
DTYKKSCKRNK ALKKFKEYLV TEVLELKNNN LTPVEKNLHF VWIGGQINDT AINYINQWKD
VNSDYNVNVF YDSNAFLINT LKKTVVESAI NDTLESFREN LNDPRFDYNK FFRKRMEIYI
DKQKNFINY KAQREENPEL IIDDIVKTYL SNEYSKEIDE LNTYIEESLN KITQNSGNDV
RNFEEFKNGE SFNLYEQELV ERWNLAAASD ILRISALKEI GGMYLVDVDM LPGIQPDLFES
IEKPPSVTVD FWEWTKLEAI MKYKEYIPEY TSEHFDMLDE EVQSSFESVL ASKSDKSEIF
SSLGDMESP LEVKIAFNSK GIINQGLISV KDSYCSNLIV KQIENRYKIL NNSLNPASE
DNDFNTTNTT PIDSIMAEAN ADNGRFMMEL GKYLRVGFPP DVKTTINLSG PEAYAAAYQD
LLMFKEGSMN IHLLEADLRN FEISKTNISQ STEQEMASLW SFDDARAKAQ FEEYKRNYFE
GSLGEDDNDL FSQNIIVDKE YLEKISSLA RSSERGIYHY IVQLQGDKIS YEAAACNLFAK
TPYDSVLFQK NIEDSEIAYY YNPGDGEIQE IDKYKIPSI SDRPKIKLTF IGHGKDEFNT
DIFAGFDVDS LSTEIEAAID LAKEDISPKS IEINLLGCNM FSYVINVEET YPGKLLLVK

```

```

DKISELMPSI SQDSIIIVSAN QYEVIRINSEG RRELLDHSCE WINKEESI K DISKEYISF
NPKENKITVK SKNLPELSTL LQEIIRNNSNS SDIELEEKVM LTECEINVIS NIDTQIVEER
IEEAKNLTS D SINYIKDEFK LIESISDALC DLKQONELED SHFISFEDIS ETDEGFSIRF
INKETGESIF VETEKTI FSE YANHITTEIS KIKGTIFDTV NGKLVKKVNL DTTHEVNTLN
AAFFIQSLIE YNSSKESLSN LSVAMKVQVY AQLFSTGLNT ITDAAKVVEL VSTALDETID
LLPTLSEGLP IIATIIDGVS LGAAIKELSE TSDPLLRQEI EAKIGIMAVN LTTATTAIT
SSLGIASGFS ILLVPLAGIS AGIPSLV NNE LVLRDKATKV VDYFKHVS LV ETEGVFTLLD

```

도면61b

```

DKIMMPQDDL VISEIDFNNN SIVLGKCEIW RMEGGSCHTV TDDIDHFFSA PSITYREPHL
SIYDVLEVQK EELDLSKDL M VLPNAPNRVF AWETCWTPCL RSLENDGTKL LDRIRDNYEG
EFYWR YFAFI ADALITTLKP RYEDTNIRIN LDSNTRSFIV PIITTEYIRE KLSYSFYGSG
GTYALSLSQY NMGINIELSE SDVWIIDVDN VVRDVTIESD KIKKGD LIEG ILSLTSI EEN
KIILNSHEIN FSCEVNGSNG FVSLTFSILE GINAIIEVDL LSKSYKLLIS GELKILMLNS

```

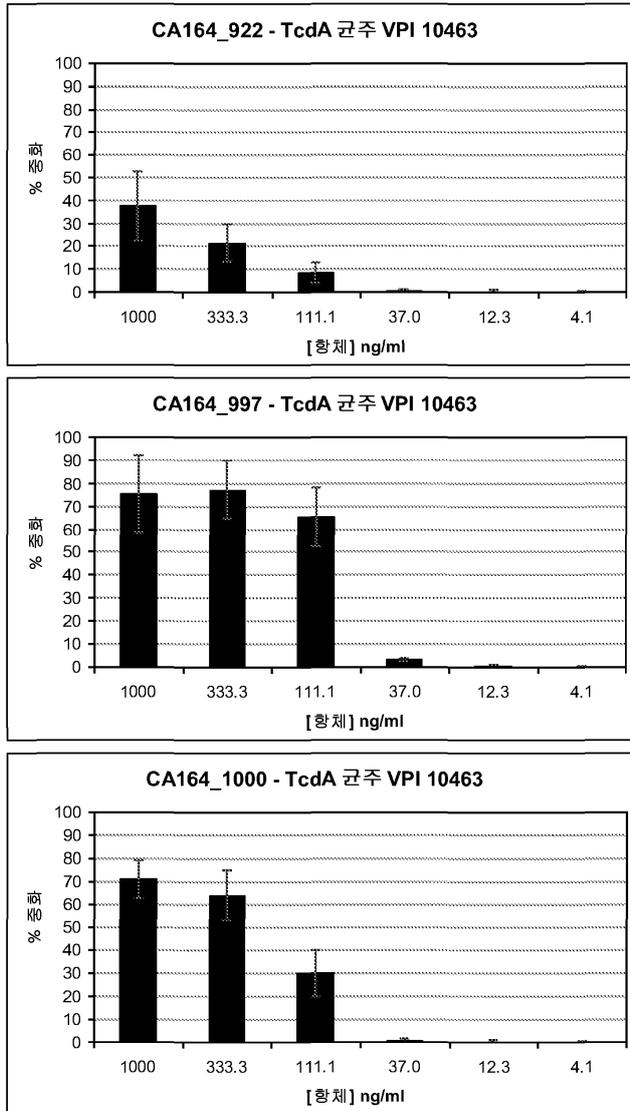
```

NHIQQKIDYI GFNSELQKNI PYSFVDSECK ENGFINGSTK EGLFVSEL PD VVLISKVYMD
DSKPSFGYYS NNLKDVKVIT KDNVNILTCY YLKDDIKISL SLTLQDEKTI KLSVHLD E S
GVAEILKFMN RKGNTNTSDS LMSFLESMNI KSIFVNF LQS NIKFILDANF IISGTSIGQ
FEFICDENDN IQPYFIKFNT LETNYTLVGC NRQNMIV EPN YDLDDSGDIS STVINFSQKY
LYCIDSCVNK VVISPNIYTD EINITPVYET NNTYPEVIVL DANYINEKIN VNINDLSIRY
VWSNDCNDFI LMSTSEENKV SQVKIRFVNV FKDKTLANKL SFNFSDKQDV PVSEIILSFT
PSYYEDGLIG YDLGLVSLYN EKFYINNEFM MVSGLIYIND SLYYFKPPVN NLITCFVTVG
DDKYFNPIN CGAASIGETI IDDKNYFFNQ SCVLQTCVFS TEDCFKYFAP ANTLDENLEG
EAIDFTGKLI IDENIYYFDD NYRGAV EWKE LDGEMHYFSP ETGKAFKGLN QIGDYKYYFN
SDGVMQKGFV SINDNKHYFD DSGVMKVGYT EIDGKHFFYA ENGEMQIGVF NTEDEGFKYFA
HHNEDLGNEE GEEISYSGIL NFNNKIYYFD DSFTAVVGWK DLEDGSKYYF DEDTAEAYIG
LSLINDGQYY FNDDGIMQVG FVTINDKV FY FSDSGIIESG VQNI DDNYFY IDDN GIVQIG
VPDTS DGYKY FAPANTVNDN IYQAVEYS G LVRVGEDVY Y FGETYTIETG WIYDMENESD
KYYFNPETKK ACKGINLIDD IKYYFDEKGI MRTGLISFEN NNYFNGENGE MQFGYINIED
KMFYFGEDGV MQIGVFNTPD GFKYFAHQNT LDENFE GESI NYTCWLDLDE KRY YFTDEYI
AATGSVIIDG EYYFDPDTA QLVISE

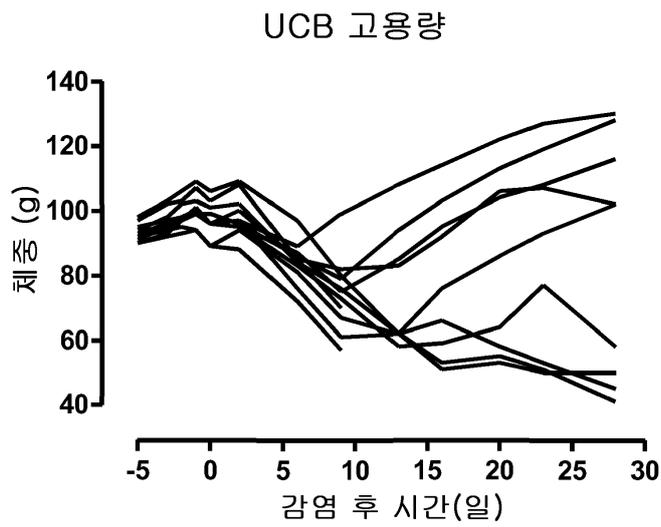
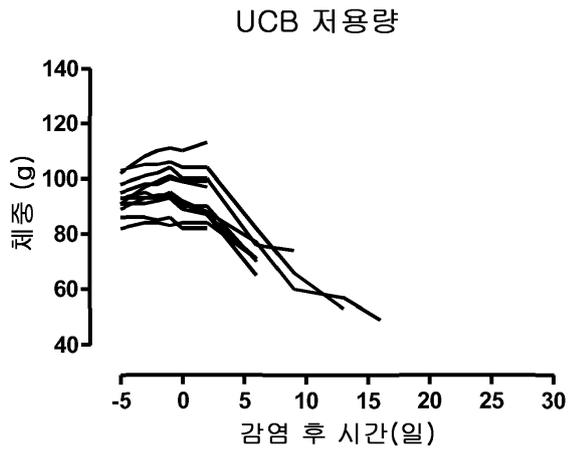
```

도면62

Caco-2 단일층(경상피 전기 저항) 데이터 - TcdA



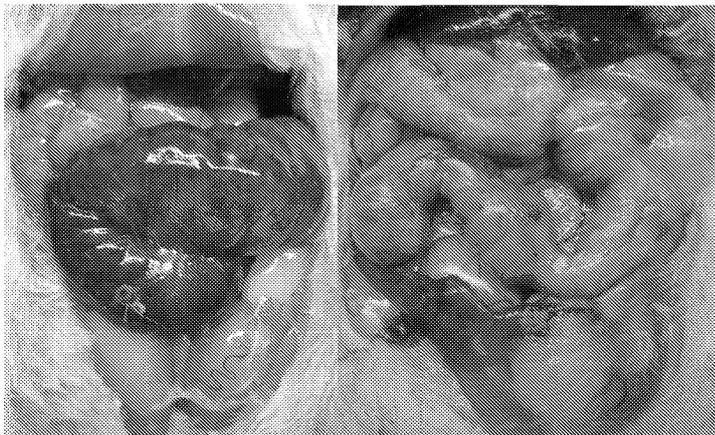
도면65



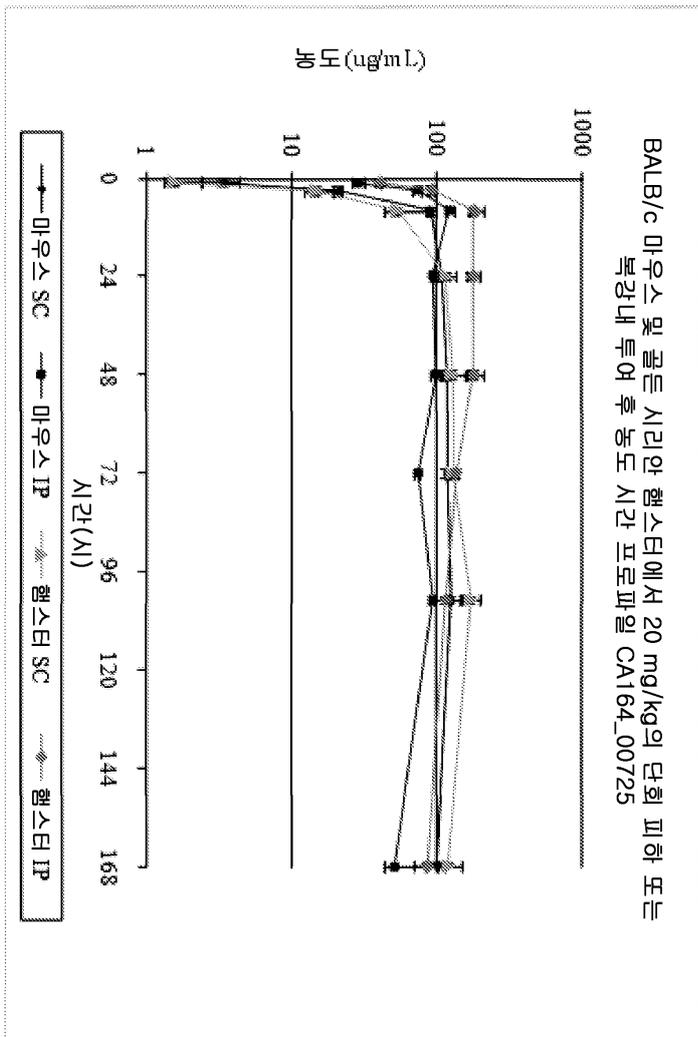
도면66

PBS 대조군

UCB 고용량

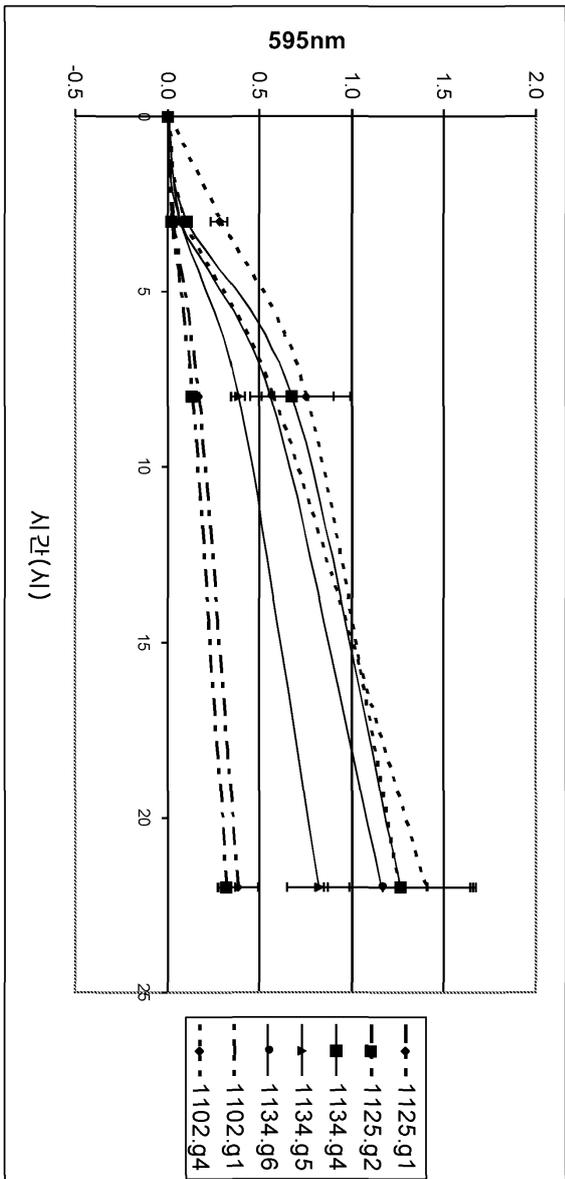


도면67



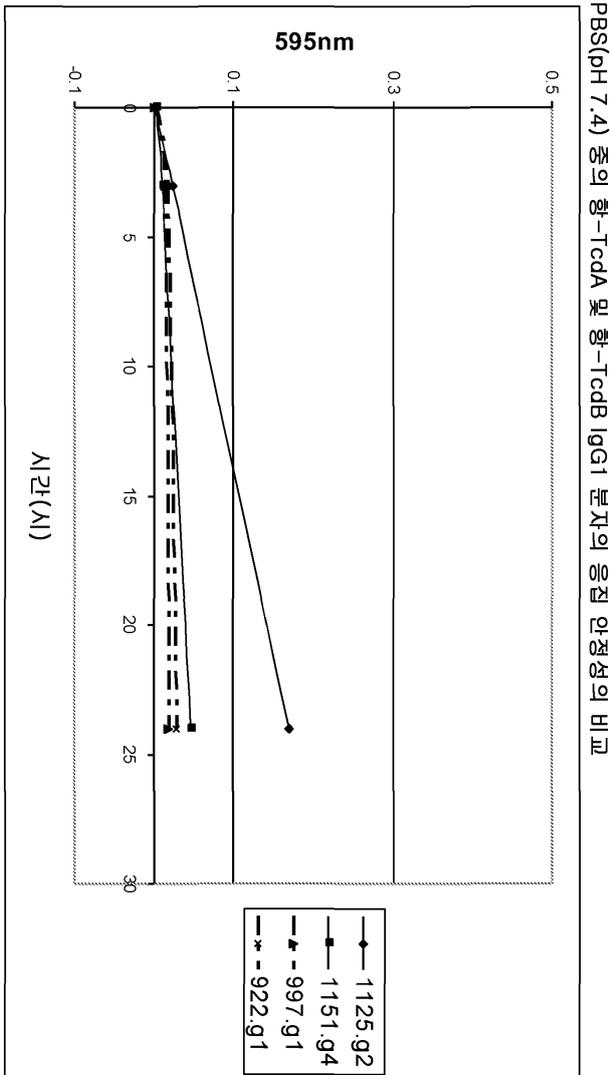
마우스 및 햄스터에서 인간 IgG1의 혈청 약동학

도면68



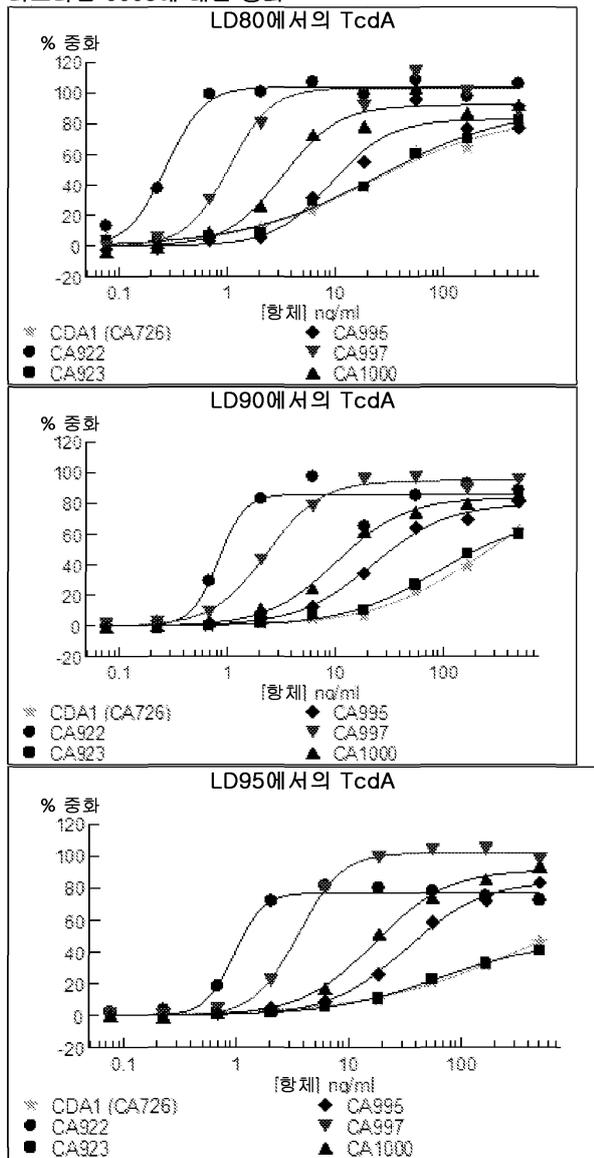
PBS(pH 7.4) 중의 항-TcdB IgG1 분자에 대한 보편성을 통한 교반의 효과(n=3)

도면69



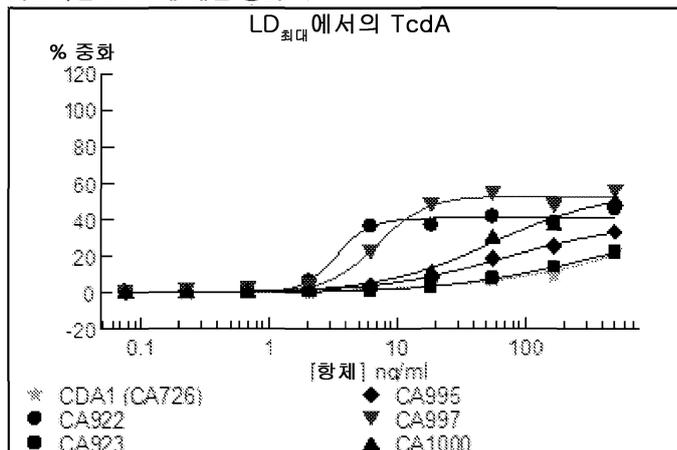
도면70

리보타입 0003에 대한 중화



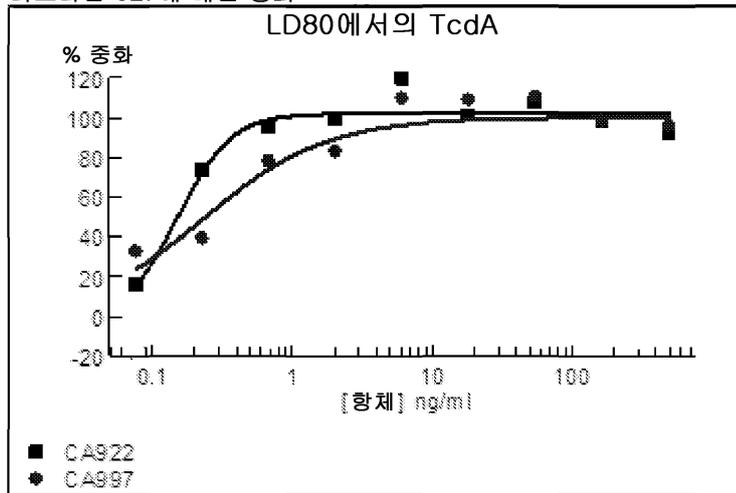
도면71

리보타입 0003에 대한 중화



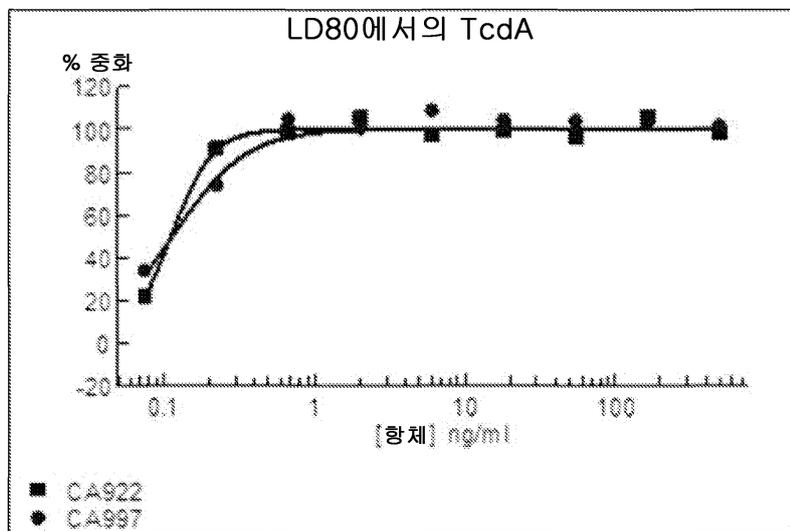
도면72

리보타입 027에 대한 중화



도면73

리보타입 078에 대한 중화



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> UCB Pharma S.A.
- <120> Antibodies capable of neutralising the major exotoxind TcdA and TcdB of Clostridium difficile
- <130> G0159-W0
- <150> US 61/535,532
- <151> 2011-09-16
- <150> US 61/638,731

<151> 2012-04-26

<160> 194

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 1

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 2

Ser Ala Ser Ser Leu Ala Ser

1 5

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 3

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

1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 4

Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 5

Ile Ile Ser Ser Gly Gly His Phe Thr Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 6

Ala Tyr Val Ser Gly Ser Ser Phe Asn Gly Tyr Ala Leu

1 5 10

<210> 7

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

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

<210> 8
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Polynucleotide encoding variable region of anti-TcdA antibody

922.g1

<400> 8
 gaccctgtga tgaccagag tccgagcact ctttctgcct ccgtgggaga cgcggtgacc 60
 attacatgtc aggcttcaca aagtatctcc aatgctctgg cctggatca gcagaaaccc 120
 ggcaaagccc ctaagctgct catctactct gcatcaagcc tggctagcgg cgtgccaagc 180
 cgattcaagg ggagcggttc tggcactgag tttacgctga ccatcagtag cttgcagcct 240
 gacgattttg caacctatta ctgccagtac acacactact cccatacatc taaaaaccca 300
 ttcggagggg gtactaaggt cgaaataaag 330

<210> 9
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 922

<400> 9
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Ile Ile Ser Ser Gly Gly His Phe Thr Trp Tyr Ala Asn Trp Ala

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Tyr Val Ser Gly Ser Ser Phe Asn Gly Tyr Ala Leu Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

115

<210> 10

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding variable region of anti-TcdA antibody

922 (heavy chain variable region)

<400> 10

gaagtcaat tggaggaaag tggcggagga ctggtgcaac ccgggggtag tctgcgactg 60

agctgtgctg cctccggctt taccattagc tcctactata tgagctgggt tcgacaggcc 120

cctggaaaag gactcgaatg gatcggcacc atatcttccg gtgggcattt cacctggtac 180

gcaaactggg ctaaggggag attcacgatt agcagcgact ccacaaccgt gtacctgcaa 240

atgaacagcc tgagggatga ggacactgcc acatatttct ggcacgcgc ttacgtgagc 300

ggaagctcat ttaatggcta tgcactgtgg gggcaaggaa cactcgtgac tgtctcg 357

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 11

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 12

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 13

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

1 5 10

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 14

Ala Phe Ser Leu Ser Asn Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 15

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 16

Asn Tyr Val Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Leu

1 5 10

<210> 17

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anitbody ariable region of anti-TcdA antibody 923

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Tyr Ser His Tyr Gly Thr Gly

85 90 95

Val Phe Gly Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 18

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdA

antibody 923.g1

<400> 18

gacgtcgtga tgactcagag cccatctagt ctgagcgcta gcgtcggaga ccgagtcaca 60
 attacctgtc aagcctccca gagcatctcc aactacctgg cctggtacca acagaaacct 120
 ggcaaggtgc ccaagctgct gatctatagt gcttccacac tcgcaagcgg cgttccgtca 180

cgctttaagg gatctggctc tggcactcag ttcaccttga cgatctcaag cctgcagcca 240
 gaagatgtgg ccacctatta ctgccagtat tcccactacg ggactggggg gttcggtgcc 300
 tttggagggtg ggaccaaagt ggagataaag 330

<210> 19

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 923

<400> 19

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

85 90 95
 Arg Asn Tyr Val Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Leu Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

115 120

<210> 20

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdA antibody 923.g1

<400> 20

gaagttcaac ttgtggaatc tggaggcggg ctctgtcagc ctggtggaag ccttagactg 60

agctgcgctg catccgcatt ttccctgtcc aactactaca tgagctgggt gcgacaagca 120

ccaggcaagg gactggaatg gattggcatc ataagctccg gttccaatgc cctgaaatgg 180

tacgcatcat ggccgaaagg ccgctttacc ataagcaagg actccaccac cgtctatctg 240

cagatgaact cattgcgtgc cgaggacact gcaacgtact tctgtgctcg caactacgtg 300

ggaagcggat cttattatgg catggatctg tggggacaag gtacactcgt gaccgtctcg 360

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 21

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Phe Ser

1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 22

Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 23

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

1 5 10

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 24

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Tyr Met Ser

1 5 10

<210> 25

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 25

Ile Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Thr Phe Thr Trp Tyr Ala Ser Trp

1 5 10 15

Ala Lys Gly

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 26

Ala Tyr Val Gly Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 27

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 993

<400> 27

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

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

<210> 28

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdA
 antibody 933.g1

<400> 28

gatgtcgtga tgactcagtc cccctctaca ttgagtgcct ctgtcgggga tcgagttacc 60
 atcacctgtc aagcaagcca gagcatcagc tcctacttct cttggtacca gcaaaagccg 120
 ggaaaagccc ctcaactgct gatttatggg gcctcaacac tggettcttg cgtgcatca 180
 agattcaagg gatctggctc cggcactgag cttacactga ccattagctc cctgcaacct 240
 gacgattttg ctacctacta ctgccagtgc accgactata gtgggatata tttcggcgga 300

 tttgggggag ggacgaaagt ggaaatcaag 330

<210> 29

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 31

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Tyr Phe Ser

1 5 10

<210> 32

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 32

Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 33

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 33

Gln Asn Asn Tyr Gly Val His Ile Tyr Gly Ala Ala

1 5 10

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 34

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr Asp Met Ile

1 5 10

<210> 35

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody CDR
 <400> 35
 Phe Ile Asn Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 36
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody CDR
 <400> 36
 Val Asp Asp Tyr Ile Gly Ala Trp Gly Ala Gly Leu
 1 5 10

<210> 37
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 995

<400> 37
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Phe Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60

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

Tyr Gly Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 38

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Poly nucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdA

antibody 995. gl

<400> 38

gacgtcgtga tgacacagag cccttcaaca ctgtctgcaa gcgtgggcga tagggtcacc 60
 ataacgtgcc aggcctctca atccatcaac aactatttta gctggtacca gcagaagcca 120
 ggcaaggctc cgaacttct gatctacgga gctgccaacc tggcaagtgg cgtgcatca 180
 cggttcaagg gatccgggag cggctactgag tatacctga ccatttcac tctccaacce 240
 gacgatttcg ccacctactc ctgccagaat aattacggcg tgcacatcta tggagctgcc 300
 tttggcgggtg ggacaaaagt ggaaattaag 330

<210> 39

<

211> 117

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 995 (heavy chain)

<400> 39

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 Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Asn Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Thr Val Tyr Leu Gln Met

65 70 75 80

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

85 90 95
 Asp Asp Tyr Ile Gly Ala Trp Gly Ala Gly Leu Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser
 115

<210> 40

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdA
 antibody

<400> 40

gaagttcagc tggtcgagag tgggggaggg cttgtgcaac ctggtggctc cctccgtctg 60

agctgtactg cttctggatt ctactgagc aattacgaca tgatctgggt gcgacaggca 120

cccggcaaag gactggagta cattggcttc atcaacaccg ggggtataac gtactatgcc 180

tcatgggcta aggggcgctt tacaattagt agggattcct ctaccgtgta cctgcagatg 240

aactcactga gagccgagga cactgccaca tatttctgcg ctegggtgga tgactatc 300

ggggcctggg gcgccggatt gtggggccaa ggaacactgg tcaccgtctc g 351

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 41

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 42

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5
 <210> 43
 <211
 > 13
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody CDR
 <400> 43
 Leu Gly Val Tyr Gly Tyr Ser Asn Asp Asp Gly Ile Ala

1 5 10
 <210> 44
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody CDR
 <400> 44
 Gly Ile Asp Leu Ser Ser His His Met Cys

1 5 10
 <210> 45
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody CDR
 <400> 45
 Val Ile Tyr His Phe Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Thr Gly

1 5 10 15
 <210> 46
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody CDR
 <400> 46
 Ala Ser Ile Ala Gly Tyr Ser Ala Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 47
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 997
 <400> 47

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Cys Leu Gln Ser
 65 70 75 80

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

Asp Asp Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 48
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for
 anti-TcdA antibody 997.g1

<400> 48
 gcactcgtga tgacacagag cccgagtagc tttagtgttt caaccgggtga tagggtcact 60

 attacttgcc aagcctctca gagtatatct agctatctga gctggtacca gcaaaagccc 120
 gggaaggctc ctaaactgct gatctaccgg gcttccacat tggcctccgg cgttccctca 180
 cgctttagcg gctccggatc cggaaccgag tacaccctga ctatctcttg cctgcaatct 240
 gaggacttcg caacctacta ttgtctgggc gtctacggat atagcaacga tgacgggatc 300

gccttcggcg gcggtaccaa agtggaaatt aag

333

<210> 49

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 997 (heavy chain)

<400> 49

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 Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser His

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Tyr His Phe Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Thr

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Thr Thr Val Tyr Leu Gln Met

65 70 75 80

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ala

85 90 95

Ser Ile Ala Gly Tyr Ser Ala Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser

115

<210> 50

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for

anti-TcdA antibody 997.g1 (heavy chain)

<400> 50

gaggtgcaac ttgtgaaag cgggggagga ctggtgcagc ctgggggctc attgagactg 60

agctgcaccg tttctggtat tgacctgagc tccatcata tgtgctgggt gcgccaggca 120

cccggaaaag gactggaata catcggcgtc atataccact ttggtcttac atactatgcc 180
 aactgggcaa ctgggcgatt cacaattagc aaggactcaa ctaccgttta cctgcaaatg 240
 aatagcctga gggctgagga tactgccacc tatttctgtg cccgggcttc aatcgccggc 300
 tattctgcct ttgatccatg ggggcaagga acactcgtga ccgtctcg 348

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 51

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 52

Asp Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 53

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 53

Gln Gly Asn Ala Tyr Thr Ser Asn Ser His Asp Asn Ala

1 5 10

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 54

Gly Ile Asp Leu Ser Ser Asp Ala Val Gly

1 5 10

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 55

Ile Ile Ala Thr Phe Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 56

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 56

Thr Gly Ser Trp Tyr Tyr Ile Ser Gly Trp Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Leu

<210> 57

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 1000

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110

<210> 58

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdA
 antibody 1000.g1

<400> 58

gaaatcgtga tgacgcagtc accaagcaca ctgagcgctt ctgtgggaga tcgggtcaca 60
 ataacctgtc aggcctccca gagcatctac tcttatctgg catggtacca gcagaagcca 120
 gggaaagctc ccaagctgct gatttatgac gccagcactt tggcttccgg tgttcctagt 180
 aggttcaaag gctccggaag cggtagcgag ttaccctga ccatctcatc tctgcaacce 240

gatgactttg ccacatacta ttgccagggg aatgcctaca cttccaactc acacgacaac 300
 gcattcgggg gaggcaccaa agtcgaaatt aag 333

<210> 59

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdA antibody 1000 (heavy
 chain)

<400> 59

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Asp

20 25 30

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

85 90 95
 Thr Gly Ser Trp Tyr Tyr Ile Ser Gly Trp Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115 120 125

<210> 60

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdA
 antibody 1000.g1 (heavy chain)

<400> 60

gaagttcagc tggtcgagag cggaggggggt ttgattcagc ccggtggctc acttagattg 60
 agctgcaccg tgtccggaat cgatctgtca tctgatgccg tgggctgggt gcgacaggca 120
 cctgggaaag gactggagta tatagggatc atcgccacct tcgactccac atactacgct 180
 agctgggcaa aagggcgctt tacgattagc aaggcctcct ctactaccgt gtacctcaa 240
 atgaactcac tgagggccga ggacactgcc acttatttct gtgctcggac cggtagctgg 300
 tactacatct ctggctgggg ctectactat tatggcatgg acctgtgggg acaggggaca 360
 ctcgtgaccg tctcg 375

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 61

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Leu Met His

1 5 10

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 62

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 63

Gln Gln Thr Trp Asn Asp Pro Trp Thr

1 5

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 64

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala

1 5 10

<210> 65

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 65

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

1 5 10 15

Gly

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 66

Val Ile Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala

1 5

<210> 67

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 926

<400> 67

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Leu

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Trp Asn Asp Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 68

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB antibody 926.g1

<400> 68

gataccgtgc tgaccagag ccctgctaca ttgtactga gccccgggga gagggccaca 60
 ttgagctgcc gggcttcaaa atccgtgtcc acctcatgc actggtttca gcaaaagccc 120
 gggcaggccc caaaactgct gatctacctc gcatctaacc ttgaatctgg cgtgccggcc 180
 cgctttagtg gctccggaag cggaaccgac ttcacactga cgattagctc cctggagcct 240
 gaggatttcg ccgtgtacta ttgccagcaa acttggaatg acccttgac ttcgggggc 300

ggtactaagg tcgaaataaa g 321

<210> 69

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 926 (heavy chain)

<400> 69

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

115

<210> 70

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for
anti-TcdBantibody 926.g1 (heavy chain)

<400> 70

gaggtggaac tgctcgaatc tgggtggtggg ctggtgcagc ccggtggatc tctgagattg 60

tcatgcgagg catccggctt taccttttcc aactacggaa tggcctgggt gagacaggcc 120

ccaacgaagg ggctcgaatg gtttacaagc atcagctctt ctgggggatc tacttactat 180

cgcgatagcg tcaaaggccg gtttaccatt agccgagata atgccaaatc aagcctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag ggctgaggac accgccacat actattgtac aaccgtgata 300

aggggctacg tgatggacgc atggggacag gggacattgg ttaccgtctc g 351

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 71

Arg Ala Ser Gly Ser Val Ser Thr Leu Met His

1 5 10

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 72

Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 73

His Gln Ser Trp Asn Ser Asp Thr

1 5

<210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 74

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala

1 5 10

<210> 75

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 75

Thr Ile Asn Tyr Asp Gly Arg Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 76

Ile Ser Arg Ser His Tyr Phe Asp Cys

1 5

<210> 77

<211> 106

<212> PRT

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 927 (heavy chain)

<400> 79

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

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

 20 25 30
Gly Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45
Ala Thr Ile Asn Tyr Asp Gly Arg Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val

 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser 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 Ser Ile Ser Arg Ser His Tyr Phe Asp Cys Trp Gly Gln Gly Thr

 100 105 110
Leu Val Thr Val Ser

 115

<210> 80

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB

antibody 927.g2 (heavy chain)

<400> 80

gaggtgcaac ttgtgaaag cggagggggc gtggtccaac ccggaagaag tctccgtctt 60
tcttgcgcc caagtggctt cacctttcc aactacggaa tggcctgggt tcgacaagct 120
cctgggaaag gattggagtg ggtggccact atcaactatg acggacgcac gacacactac 180
cgagactctg ttaaggggcg ctttacgatt tcccgcgaca atagcaagag caccctctac 240
ctgcaaatga atagcctccg ggccgaggat actgctgtgt actattgtac ctccatctca 300

cggagccact acttcgattg ctggggacaa ggcacactcg tgactgtctc g

351

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 81

Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His Leu Ala

1 5 10

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 82

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 83

Gln Gln Tyr Asp Glu Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 84

Gly Phe Ser Leu Gln Ser Tyr Thr Ile Ser

1 5 10

<210> 85

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 85

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

1 5 10 15

<210> 86

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 86

Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 87

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1099

<400> 87

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His

20 25 30

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

35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 88
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB
 antibody 1099.g2
 <400> 88

gacgtccagc tcaactcaatc tcctctcttt ctgtctgctt ctgtgggcga tcgcgtgaca 60
 ataacctgca aggcctccaa atcaattagc aaccatctgg catggtatca ggagaagcct 120
 ggcaaagcca ataagctgct gatccactcc ggctcaactc tgcaatccgg tacccaagc 180
 cgatttagcg gatctgggag cggaaccgag ttcacactta ccattagctc cctgcaaccg 240

gaggacttcg ccacctatta ctgccagcaa tacgacgaat acccctatac gttcggccaa 300
 gggacaagat tggaaatcaa gcgtacg 327

<210> 89
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1099 (heavy
 chain)
 <400> 89

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Gln Ser Tyr

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

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

 85 90 95
 Arg Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly

 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser

 115
 <210> 90
 <211> 354
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB
 antibody 1099.g2 (heavh chain)

<400> 90
 gaagttcagc tgcaggaatc tggacctggc ttggtgaaac caagcgagac acttagtctc 60

 acttgcaccg tttccggctt ctcccttcaa tcctacacga tctcttgggt gcggcaacca 120
 cccgggaaag gactggaatg gatcgagcc attagcgggg gagggagcac ctattacaac 180
 ttgcctctca agagcccgct gaccatatcc cgtgacacaa gcaagagcca ggtttccctg 240
 aagctgagct ccgtgactgc tgccgatacg gctgtttact attgcaccog acctcgctgg 300
 tatecccggtt cctatttcca ctactgggga agaggcacac tggttaccgt ctcg 354

<210> 91
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody CDR

<400> 91
 Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Ser Ile His

1 5 10
 <210> 92
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 92

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 93

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Leu Tyr Thr

1 5

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDRs

<400> 94

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Tyr Met Ala

1 5 10

<210> 95

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 95

Ser Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ile Ile Gln Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 96

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 96

Arg Gln Gly Thr Tyr Ala Arg Tyr Leu Asp Phe

1 5 10

<210> 97

<211> 107

<212> PRT

<

213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1102

<400> 97

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Leu Tyr

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 98

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB

antibody 1102.g4

<400> 98

aacatcgtgc tgacacagtc tcttgcaacc ctttactgt ctccaggtga acgagcaacc 60

ctgagttgta gagccagtca gaggatctcc acgagcattc actggtatca gcaaaagcct 120
 gggcaagctc ccagactctt gatcaagtac gcctctcaga gcataagtgg cattccagct 180
 aggttttagcg gctcaggctc aggaacagac ttcactctga ccatcagctc cctggaaccg 240
 gaggactttg ccgtctatta ctgccagcaa tctactcca gtctgtacac cttcgggcag 300
 ggtactaaac tggagataaa g 321

<210> 99

<

211> 119

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variabl region for anti-TcdB antibody 1102 (heavy chain)

<400> 99

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 Asp Ser
 20 25 30
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ser Ile Ser Tyr Gly Gly Thr Ile Ile Gln Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser 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
 Ala Arg Arg Gln Gly Thr Tyr Ala Arg Tyr Leu Asp Phe Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

115

<210> 100

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB

antibody 1002.g4 (heavy chain)

<400> 100
 gaagtgcagc tggtcgaatc cgggggaggt ttggtgcaac caggtggctc actgagactg 60
 agctgtgccg tticcggctt tacgttctca gacagttata tggcctgggt gcgtcaagca 120
 cctggaaaag ggctggagtg gattgccagt atcagctatg gtgggacat aatccagtac 180
 ggcgatagcg tcaagggcag gtttactatc tccagggaca acgccaagtc aagcctttac 240

ctgcagatga attctctccg cgcagaggat accgctgtgt attactgcgc tagacggcag 300
 ggaacctacg ctcgatacct ggacttctgg ggtcagggaa cactcgttac agtctcg 357

<210> 101

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 101

Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu Leu His

1 5 10

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 102

Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 103

His Gln Ser Trp Asn Ser Pro Pro Thr

1 5

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anitbody CDR

<400> 104

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala

1 5 10

<210> 105

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 105

Ile Ile Asn Tyr Asp Ala Ser Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 106

Tyr Gly Arg Ser His Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 107

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB anitbody 1114

<400> 107

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 108

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for anti-TcdB antibody 1114.g2

<400> 108

gcgacgcaaa tgactcagtc gccctcatcg cttagcgcgt ccgtcggaga tagagtgacg 60

atcacctgcc gcgcatcaga gtcggtgtcc aactcctcc actggtatca gcagaaaccg 120

gggaaggcac caaaactctt gatctacaaa gccagcaacc ttgcgtccgg tgtcccgta 180

aggttctccg ggagcggttc ggggacagac ttactttga ccatttcgtc gttcagccg 240

gaggacttcg ccacctatta ctgtcatcag tcatggaact cacctccac atttgccag 300

ggaacgaaac tcgaaatcaa g 321

<210> 109

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1114 (heavy chain)

<400> 109

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

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

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

Ala Ile Ile Asn Tyr Asp Ala Ser Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Leu Val Thr Val Ser
 115

<210> 110

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding anitbody variable region for anti-TcdB
 antibody 1114.g2 (heavy chain)

<400> 110

gaagtacaac tcgtagagtc agggggtggg ctggtccaac ctggcggctc ccttcggctt 60

tcgtgtgccg cctcgggatt cacgtttagc aattacggta tggcctgggt gaggcaggca 120

ccaggaagg gtcttgagtg ggtagcgatc atcaactatg atgcaagcac caccactac 180

agggatagcg tcaagggacg ctttactatc agccgggata atgcgaaatc ctcgctctat 240

ctgcagatga actccctcag agccgaggac accgcagtgt actattgcac acgatacggg 300

cgctcgcaact atttcgacta ttggggacag gggacgctcg taactgtctc g 351

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 111

Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu Leu His

1 5 10

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 112

Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 113

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 113

His Gln Ser Trp Asn Ser Pro Pro Thr

1 5

<210> 114

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 114

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ala

1 5 10

<210> 115

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 115

Ile Ile Asn Tyr Asp Ala Ser Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 116

Tyr Gly Arg Ser His Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 117

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><

223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1114 graft 8

<400> 117

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Leu

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 118

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB

antibody 1114.g8

<400> 118

```

gacacgggcc tgactcagtc gccctcatcg cttagcgcgt ccgtcggaga tagagtgacg      60
atcacctgcc gcgcatcaga gtcgggtgtcc acactcctcc actggtatca gcagaaaccg      120
gggaaggcac caaaactctt gatctacaaa gccagcaacc ttgcgtccgg tgtcccgtca      180
aggttctccg ggagcgggtc ggggacagac tttactttga ccatttcgct gcttcagccg      240
gaggacttcg ccacctatta ctgtcatcag tcatggaact cacctcccac atttggccag      300
ggaacgaaac tcgaaatcaa g                                     321
    
```

<210> 119

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1114 graft 8

(heavy chain)

<400> 119

```

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

Ala Ile Ile Asn Tyr Asp Ala Ser Thr Thr His Tyr Arg Asp Ser Val
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser 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
Thr Arg Tyr Gly Arg Ser His Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
    
```

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser

115

<210> 120

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB antibody 1114.g8

<400> 120

gaagtacaac tcgtagagtc agggggtggg ctggtccaac ctggcggctc ctttcggctt 60
 tcgtgtgccg cctcgggatt cacgtttagc aattacggta tggcctgggt gaggcaggca 120
 ccaggaagg gtcttgagtg ggtagcgatc atcaactatg atgcaagcac caccactac 180
 agggatagcg tcaagggacg ctttactatc agccgggata atgcgaaatc ctcgctctat 240

ctgcagatga actccctcag agccgaggac accgcagtgt actattgcac acgatacggg 300
 cgctcgcaact atttcgacta ttggggacag gggacgctcg taactgtctc g 351

<210> 121

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 121

Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Met Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 122

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 122

Asn Thr Asn Lys Leu His Thr

1 5

<210> 123

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 123

Leu Gln His Lys Ser Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 124

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Ser Phe Met Ala

1 5 10

<210> 125

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 125

Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Asp Lys Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 126

Leu Thr Ile Thr Thr Ser Gly Asp Ser

1 5
 <210> 127
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1125
 <400> 127

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

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Met Tyr

 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

 35 40 45
 Tyr Asn Thr Asn Lys Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Lys Ser Phe Pro Tyr

 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 128
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for
 anti-TcdB antibody 1125.g2

<400> 128
 gatatacaaa tgactcagag ccctagctca ctgagcgctt ctgtgggcga tcgtgtgaca 60
 atcaacttga aagcaagcca gaacatctat atgtacctga attggtacca gcaaaaaccg 120
 ggaaaagctc ccaagcgctt gatttacaac accaataage tgcataccgg cgtgccaagc 180
 cgttttagcg gatctggctc tggaaccgaa tatacactga ccataagctc cctgcaaccg 240

gaagactttg caacttacta ttgcctccag cacaaatcct tcccctatac gttcggacaa 300

gggaccaaac tggaaatcaa a 321

<210> 129

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1125 (heavy chain)

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile 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

Ala Arg Leu Thr Ile Thr Thr Ser Gly Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 130

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB antibody 1125.g2 (heavy chain)

<400> 130

gaagtgcagc tggtcgaaag cggcggagga ttggtgcaac ctggtggctc tcttcgctg 60

tcttcgctg caagcggctt tacgttccgc gatagcttta tggcttgggt gcgacaagct 120

cttgggaaag ggcctggaatg ggctcctagc ataagctacg aaggcgacaa gacttactat 180

ggggactctg tgaaggccg attcaccatt agccgagaca acgcaaagaa ctccctgtac 240

ctgcagatga actccctgcg tgccgaagat accgccgtgt actattgcgc taggctgacg 300

atcactacaa ggggagatag ctggggacaa gggacaatgg tgaccgtctc gage 354

<210> 131

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 131

Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Asn Val Asp

1 5 10

<210> 132

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 132

Gly Ala Ser Ile Arg Tyr Thr

1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 133

Leu Gln Tyr Asn Tyr Asn Pro Tyr Thr

1 5

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 134

Gly Phe Ile Phe Ser Asn Phe Gly Met Ser

1 5 10

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 135

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 136

Arg Ala Tyr Ser Ser Pro Phe Ala Phe

1 5

<210> 137

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1129

<400> 137

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Asn

20 25 30

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

<210> 138

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for

anti-TcdB antibody 1129.g1

<400> 138

gacaccaga tgactcagtc tccgtcaagc ctttctgct ctgttggaga tcgagtcaca 60
 attacgtgca aggcaagcca acacgtgggt accaacgtgg actggtatca acagaagcca 120
 gggaaggctc ccaaactgct gatctacggt gccagtattc gctataccgg cgtgcctgat 180
 cgcttcaccg gaagcgggtc agggaccgat ttcacactga caatcagctc cctgcaacct 240
 gaagacgtgg ctacttacta ctgcctgcag tacaactata atccctacac ctttggccag 300
 ggcaccaaac tggagataaa g 321

<210>

> 139

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1129 (heavy chain)

<400> 139

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn Phe
 20 25 30

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

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Thr 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 Arg Ala Tyr Ser Ser Pro Phe Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 140

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for
 anti-TcdB antibody 1129.g1(heavy chain)

<400> 140

gaggtgcaac ttgtggaatc aggaggtggc gtggttcagc ccggtagatc acttcgtctg 60

agttgtgcaa caagcggctt tatcttctcc aacttcggga tgtcttggt tagacaggct 120

cctgtaagg gcctcgaatg ggtgctagt attagcccaa gcgggggaaa cgctactat 180

agggacagcg tgaaggagc cttcactatc agccgagata actccaagac cacgctgtat 240

ctgcagatga atagtctgag ggccgaggat accgcagtgt actactgcac tcgacgggcc 300

tattcttccc cttttgcctt ttggggacag gggactctgg tgacagtctc gaggc 354

<210> 141

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 141

Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His Leu Ala

1 5 10

<210> 142

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 142

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Pro

1 5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 143

Gln Gln Tyr Asp Glu Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 144

Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr Thr Ile Thr

1 5 10

<210> 145

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 145

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

1 5 10 15

<210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 146

Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 147

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1134

<400> 147

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn His

20 25 30

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

35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Pro Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 148

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB antibody 1134.g5

<400> 148

```

gacgtccagc tcaactcaatc tcctccttt ctgtctgctt ctgtgggcga tcgcgtgaca      60
ataacctgca aggctccaa atcaattagc aaccatctgg catggtatca ggagaagcct      120
ggcaaagcca ataagctgct gatccactcc ggctcaactc tgcaacccgg taccccaagc      180

cgatttagcg gatctgggag cggaaccgag ttcacactta ccattagctc cctgcaaccg      240
gaggacttgc ccacctatta ctgccagcaa tacgacgaat acccctatac gttcggccaa      300
gggacaagat tggaaatcaa g                                             321
    
```

<210> 149

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1134 (heavy chain)

<400> 149

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr
           20           25           30

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

Ala Ala Ile Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Phe Asn Ser Ala Leu Lys
           50           55           60

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

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

Arg Pro Arg Trp Tyr Pro Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly
           100          105          110

Thr Leu Val Thr Val Ser
    
```

115

<210> 150

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB antibody 1134.g5 (heavy chain)

<400> 150

gaagttcagc tgcaggaatc tggacctggc ttggtgaaac caagcgagac acttagtctc 60

acttgaccg tttccggctt ctcccttaat tcctacacga tcacttgggt gcggcaacca 120

cccgggaaag gactggaatg gatcgagcc attagcgggg gagggagcac ctatttcaac 180

tcggctctca agagcccgct gaccatatcc cgtgacacaa gcaagagcca ggtttcctg 240

aagctgagct ccgtgactgc tgccgatacg gctgtttact attgcaccg acctcgctgg 300

tatcccgtt cctatttca ctactgggga agaggcacac tggttaccgt ctcg 354

<210> 151

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 151

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Asn Asn Val Ala

1 5 10

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 152

Tyr Ala Ser Asn Arg Phe Thr

1 5

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 153

Gln Arg Val Tyr Gln Ser Thr Trp Thr

1 5

<210> 154

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 154

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Tyr Val His

1 5 10

<210> 155

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 155

Cys Ile Arg Thr Gly Gly Asn Thr Glu Tyr Gln Ser Glu Phe Lys Ser

1 5 10 15

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 156

Gly Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr

1 5

<210> 157

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1151

<400> 157

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

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

<210> 158

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide encoding antibody variable region for anti-TcdB
 antibody 1151.g1

<400> 158

gcgattcaaa tgactcagtc gccctcatcg cttagcgcgt ccgtcggaga tagagtgacg 60
 atcacgtgca aagcatcaca aaatgctggg aacaatgtgg catggtatca gcataaacgg 120
 gggaaggcac caaaactctt gatctactac gccagcaaca ggtttactgg tgtcccgtca 180
 agtttcagg gagggggtta cgggacagac tttactttga ccatttcgtc gcttcagccg 240
 gaggacttcg ccacctatta ctgtcagagg gtctaccagt caacgtggac atttgccag 300
 ggaacgaaag tggaaatcaa g 321

<210> 159

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1151 (heavy chain)

<400> 159

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

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

Val Ser

<210> 160

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for anti-TcdB antibody 1151.g4 (heavy chain)

<400> 160

gaagtacaac tccaagagtc ggggcctggt ctggtcaagc cgtccgaac actttcgctg 60
 acgtgtacgg tatcaggatt ctcaactaca tcatactacg tccactgggt gaggcagcca 120
 cccgggaagg gtcttgagtg gatgggctgc attagaaccg gaggaatac cgagtaccag 180

agcgaattta agagccgct cactatcagc cgggatacgt ccaaaaacca ggtgtcgctc 240

aaattgtcct ccgtgacggc cgctgacacc gcagtgtact attgcgcgcg aggaaactat 300

ggctttgctt attggggaca ggggacgctc gtaactgtct cg 342

<210> 161

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 161

Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Lys Tyr Leu Asp

1 5 10

<210> 162

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 162

Asn Ile Gln Ser Leu His Thr

1 5

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 163

Phe Gln His Asn Ser Gly Trp

1 5

<210> 164

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 164

Gly Phe Thr Phe Thr Gln Ala Ala Met Phe

1 5 10

<210> 165

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 165

Arg Ile Ser Thr Lys Ser Asn Asn Phe Ala Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 166

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody CDR

<400> 166

Pro Ala Tyr Tyr Tyr Asp Gly Thr Val Pro Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 167

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Antibody variable region for anti-TcdB antibody 1153.g8

<400> 167

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Lys Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asn Ile Gln Ser Leu His Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

35 40 45
 Ala Arg Ile Ser Thr Lys Ser Asn Asn Phe Ala Thr Tyr Tyr Pro Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Ala Pro Ala Tyr Tyr Tyr Asp Gly Thr Val Pro Phe Ala
 100 105 110
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115 120

<210> 170

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence encoding antibody variable region for
 anti-TcdB antibody 1153.g8 (heavy chain)

<400> 170

gaggttcagc tgggtggaatc aggagggggt ctggtgcaac caggaggctc cctgaaactg 60
 tcttgcgccg caagcggett tacgtttacc caggccgcta tgttctgggt taggcaggcc 120
 agtgggaagg gtcttgaagg catcgcaaga atcagcacca agagcaacaa ttcgctacg 180
 tactatccgg actccgtgaa aggccggttt accatttctc gcgatgacag caagaacacc 240
 gtgtacctgc agatgaacag tctcaagacc gaggacacag ccgtgtacta ttgtactgct 300
 cccgcctatt attacgatgg cacagtgcct ttcgcatact ggggacaggg tactttggtg 360
 actgtctcg 369

<210> 171

<211> 2710

<212> PRT

<213> Clostridia

<400> 171

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile
 1 5 10 15

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

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr
 515 520 525

Gln Phe Glu Lys Tyr Val Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Ser Glu
 530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr
 545 550 555 560

Leu Leu Asn Asn Lys Ile Pro Ser Asn Asn Val Glu Glu Ala Gly Ser
 565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser
 580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile
 595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser
 610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu
 625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly
 645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser
 660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile
 675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser
 690 695 700

Tyr Asp Phe Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Ser
 705 710 715 720

Ile Met Asp Lys Ile Thr Ser Thr Leu Pro Asp Val Asn Lys Asn Ser
 725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly
 740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val
 1010 1015 1020
 Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu
 1025 1030 1035
 Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu
 1040 1045 1050
 His Asp Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val
 1055 1060 1065
 Leu Ala Ile Asn Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser
 1070 1075 1080
 Ile Val Gly Ile Gly Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile
 1085 1090 1095
 Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
 1100 1105 1110
 Ile Leu His Asp Lys Ala Thr Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His
 1115 1120 1125
 Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp
 1130 1135 1140
 Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp
 1145 1150 1155
 Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr Cys Asn Ile Leu Ala
 1160 1165 1170
 Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly Asn Ile Asp His
 1175 1180 1185
 Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro Ser Leu Ser
 1190 1195 1200
 Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp Phe Ser
 1205 1210 1215
 Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe Trp
 1220 1225 1230
 Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp

1235 1240 1245
 Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys

1250 1255 1260
 Phe Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr

1265 1270 1275
 Leu Lys Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp

1280 1285 1290
 Lys Asp Thr Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu

1295 1300 1305
 Ile Arg Asn Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr

1310 1315 1320
 Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn

1325 1330 1335
 Leu Ser Lys Asp Asp Leu Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val

1340 1345 1350
 Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu

1355 1360 1365
 Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu

1370 1375 1380
 Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe Ser Gly Asp Ile Asp Asn

1385 1390 1395
 Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu Leu Asp Asp Lys Ile

1400 1405 1410
 Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys Ser Tyr Ser Leu

1415 1420 1425
 Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn Leu Ser Asn

1430 1435 1440
 Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys Asn Ile

1445 1450 1455
 Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly Ala

1460 1465 1470

Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp
 1475 1480 1485

Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe
 1490 1495 1500

Asn Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys
 1505 1510 1515

Asp Asp Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn
 1520 1525 1530

Thr Asp Lys Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn
 1535 1540 1545

Gln Val Lys Val Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser
 1550 1555 1560

Ser Tyr Leu Asp Phe Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr
 1565 1570 1575

Ser Asn Phe Met Asn Leu Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys
 1580 1585 1590

Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe
 1595 1600 1605

Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys
 1610 1615 1620

Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr Phe Gly Glu Trp Lys Thr
 1625 1630 1635

Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly Asn Gly Arg Asn Val
 1640 1645 1650

Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly Glu Asp Ile Ser
 1655 1660 1665

Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly Ile Asp Arg
 1670 1675 1680

Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr Ser Leu
 1685 1690 1695

Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro Glu

1700 1705 1710
 Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
 1715 1720 1725
 Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly

 1730 1735 1740
 Ser Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys
 1745 1750 1755
 Ile Leu Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln
 1760 1765 1770
 Ser Phe Asn Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu
 1775 1780 1785
 Ser Leu Gly Tyr Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu

 1790 1795 1800
 Asn Glu Leu Asp Arg Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn
 1805 1810 1815
 Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu
 1820 1825 1830
 Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe
 1835 1840 1845
 Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr

 1850 1855 1860
 Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Thr Ser Tyr Lys Ile Ile
 1865 1870 1875
 Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu
 1880 1885 1890
 Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
 1895 1900 1905
 Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln

 1910 1915 1920
 Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn
 1925 1930 1935

Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys
 1940 1945 1950
 Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln
 1955 1960 1965
 Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile
 1970 1975 1980
 Ile Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe
 1985 1990 1995
 Asp Thr Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp
 2000 2005 2010
 Gly Lys His Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly
 2015 2020 2025
 Val Phe Ser Thr Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
 2030 2035 2040
 Thr Tyr Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser
 2045 2050 2055
 Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asn
 2060 2065 2070
 Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr
 2075 2080 2085
 Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr
 2090 2095 2100
 Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala
 2105 2110 2115
 Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn
 2120 2125 2130
 Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Asn Gly
 2135 2140 2145
 Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val
 2150 2155 2160
 Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr

Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe
 2405 2410 2415

Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly
 2420 2425 2430

Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys
 2435 2440 2445

Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg
 2450 2455 2460

Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val
 2465 2470 2475

Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
 2480 2485 2490

Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser
 2495 2500 2505

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly
 2510 2515 2520

Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn
 2525 2530 2535

Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn
 2540 2545 2550

Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn
 2555 2560 2565

Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr
 2570 2575 2580

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr
 2585 2590 2595

Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn Gly Leu Pro Gln Ile
 2600 2605 2610

Gly Val Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala
 2615 2620 2625

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr
 130 135 140

Val Val Glu Ser Ala Ile Asn Asp Thr Leu Glu Ser Phe Arg Glu Asn
 145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met
 165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala
 180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr
 195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr
 210 215 220

Ile Glu Glu Ser Leu Asn Lys Ile Thr Gln Asn Ser Gly Asn Asp Val
 225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu
 245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu
 260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp
 275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro
 290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile
 305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp
 325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser
 340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala
 355 360 365

Ser Pro Leu Glu Val Lys Ile Ala Phe Asn Ser Lys Gly Ile Ile Asn

Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile
 625 630 635 640
 Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp
 645 650 655
 Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser
 660 665 670
 Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro

 675 680 685
 Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser
 690 695 700
 Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys
 705 710 715 720
 Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile
 725 730 735
 Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg

 740 745 750
 Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile
 755 760 765
 Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu
 770 775 780
 Asn Lys Ile Thr Val Lys Ser Lys Asn Leu Pro Glu Leu Ser Thr Leu
 785 790 795 800
 Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu

 805 810 815
 Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile
 820 825 830
 Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr
 835 840 845
 Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser
 850 855 860
 Ile Ser Asp Ala Leu Cys Asp Leu Lys Gln Gln Asn Glu Leu Glu Asp

Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser
 1115 1120 1125
 Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile
 1130 1135 1140
 Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn
 1145 1150 1155
 Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu Ile Trp Arg Met Glu
 1160 1165 1170
 Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile Asp His Phe Phe
 1175 1180 1185
 Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu Ser Ile Tyr
 1190 1195 1200
 Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser Lys Asp
 1205 1210 1215
 Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp Glu
 1220 1225 1230
 Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
 1235 1240 1245
 Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr
 1250 1255 1260
 Trp Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu
 1265 1270 1275
 Lys Pro Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser
 1280 1285 1290
 Asn Thr Arg Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile
 1295 1300 1305
 Arg Glu Lys Leu Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr
 1310 1315 1320
 Ala Leu Ser Leu Ser Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu
 1325 1330 1335
 Ser Glu Ser Asp Val Trp Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg

1340 1345 1350
 Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile

 1355 1360 1365
 Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile
 1370 1375 1380
 Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser Gly Glu Val Asn Gly Ser
 1385 1390 1395
 Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile Leu Glu Gly Ile Asn
 1400 1405 1410
 Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser Tyr Lys Leu Leu

 1415 1420 1425
 Ile Ser Gly Glu Leu Lys Ile Leu Met Leu Asn Ser Asn His Ile
 1430 1435 1440
 Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Phe Asn Ser Glu Leu Gln Lys
 1445 1450 1455
 Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Val Asp Ser Glu Gly Lys Glu Asn Gly
 1460 1465 1470
 Phe Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu

 1475 1480 1485
 Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys
 1490 1495 1500
 Pro Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val
 1505 1510 1515
 Ile Thr Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys
 1520 1525 1530
 Asp Asp Ile Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys

 1535 1540 1545
 Thr Ile Lys Leu Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala
 1550 1555 1560
 Glu Ile Leu Lys Phe Met Asn Arg Lys Gly Asn Thr Asn Thr Ser
 1565 1570 1575

Asp Ser Leu Met Ser Phe Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile
 1580 1585 1590
 Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala
 1595 1600 1605
 Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe
 1610 1615 1620
 Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln Pro Tyr Phe Ile Lys Phe
 1625 1630 1635
 Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr Val Gly Asn Arg Gln
 1640 1645 1650
 Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp Asp Ser Gly Asp
 1655 1660 1665
 Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr Leu Tyr Gly
 1670 1675 1680
 Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn Ile Tyr
 1685 1690 1695
 Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn Thr
 1700 1705 1710
 Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys
 1715 1720 1725
 Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser
 1730 1735 1740
 Asn Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn
 1745 1750 1755
 Lys Val Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp
 1760 1765 1770
 Lys Thr Leu Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln
 1775 1780 1785
 Asp Val Pro Val Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr
 1790 1795 1800
 Tyr Glu Asp Gly Leu Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu

1805 1810 1815
 Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser
 1820 1825 1830
 Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro

 1835 1840 1845
 Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys
 1850 1855 1860
 Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu
 1865 1870 1875
 Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe Asn Gln Ser Gly Val
 1880 1885 1890
 Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe

 1895 1900 1905
 Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile
 1910 1915 1920
 Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe
 1925 1930 1935
 Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly
 1940 1945 1950
 Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly

 1955 1960 1965
 Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly
 1970 1975 1980
 Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr
 1985 1990 1995
 Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp
 2000 2005 2010
 Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly

 2015 2020 2025
 Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn
 2030 2035 2040

Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly
 2045 2050 2055
 Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe
 2060 2065 2070
 Thr Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr
 2075 2080 2085
 Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu
 2090 2095 2100
 Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln
 2105 2110 2115
 Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp
 2120 2125 2130
 Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr
 2135 2140 2145
 Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp
 2150 2155 2160
 Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn
 2165 2170 2175
 Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg
 2180 2185 2190
 Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu
 2195 2200 2205
 Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr
 2210 2215 2220
 Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly Ile Asn Leu Ile
 2225 2230 2235
 Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr
 2240 2245 2250
 Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn
 2255 2260 2265
 Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe

2270 2275 2280
 Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr

2285 2290 2295
 Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu
 2300 2305 2310

Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu

2315 2320 2325
 Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr Asp Glu Tyr Ile Ala Ala Thr
 2330 2335 2340

Gly Ser Val Ile Ile Asp Gly Glu Glu Tyr Tyr Phe Asp Pro Asp
 2345 2350 2355

Thr Ala Gln Leu Val Ile Ser Glu
 2360 2365

<210> 173

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment from C. difficile toxin TcdB

<400

> 173

Ser Pro Val Glu Lys Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val

1 5 10 15

Ser Asp

<210> 174

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment from C. difficile toxin TcdB

<400> 174

Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Val Arg Leu

1 5 10

<210> 175

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB

<400> 175

Cys Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met Leu Pro Gly Ile His

1 5 10 15

<210> 176

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment from C. difficile toxin TcdB

<400> 176

Cys Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met Leu Pro Gly Ile His Ser

1 5 10 15

Asp Leu Phe Lys

20

<210> 177

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB

<400> 177

Cys Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met Lys Tyr Lys

1 5 10

<210> 178

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB

<400> 178

Cys Thr Asn Leu Val Ile Glu Gln Val Lys Asn Arg

1 5 10

<210> 179

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB
 <400> 179
 Pro Glu Ala Arg Ser Thr Ile Ser Leu Ser Gly Pro
 1 5 10
 <210> 180

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB
 <400> 180
 Cys Ser Asn Leu Ile Val Lys Gln Ile Glu Asn Arg
 1 5 10

<210> 181
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB
 <400> 181
 Thr Glu Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala
 1 5 10

<210> 182
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223>
 > Fragment of C. difficile toxin TcdB
 <400> 182
 Thr Glu Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Pro Glu Ala Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ile Ser Leu Ser Gly Pro Cys
 20 25

<210> 183

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 183

Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Cys

1 5 10

<210> 184

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 184

Cys Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg

1 5 10

<210> 185

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 185

Val Asn Thr Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Cys

1 5 10 15

<210> 186

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 186

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

1 5 10

<210> 187

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB
 <400> 187
 Cys Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu
 1 5 10 15

<210> 188
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB
 <400> 188

Asp Asp Leu Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn Asn Asn Ser Ile Cys
 1 5 10 15
 <210> 189
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB

<400> 189
 Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr
 1 5 10
 <210> 190
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Fragment of C. difficile toxin TcdB

<400> 190
 Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val Leu Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile
 1 5 10 15
 Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu Asp Gly Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile
 20 25 30

Lys Glu Leu

35

<210> 191

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 191

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

1 5 10 15

Glu Gly Gln Ala

20

<210> 192

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 192

Cys Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn Asp Asn Ile

1 5 10 15

Tyr Gly Gln Ala

20

<210> 193

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 193

Cys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu Ala

1 5 10

<210> 194

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Fragment of *C. difficile* toxin TcdB

<400> 194

Cys Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala

1 5 10