



공개특허 10-2020-0055770



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0055770
(43) 공개일자 2020년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/574 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C07K 16/30* (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/574 (2013.01)
A61K 47/6857 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2020-7011297

(22) 출원일자(국제) 2018년09월20일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2020년04월17일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/051951

(87) 국제공개번호 WO 2019/060542

국제공개일자 2019년03월28일

(30) 우선권주장

62/561,107 2017년09월20일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(71) 출원인

메르사나 테라퓨틱스, 인코포레이티드

미국 매사추세츠 캠브리지 메모리얼 드라이브 840
(우:02139)

(72) 발명자

모셔 레베카

미국 02459 매사추세츠주 뉴턴 오스본 패트 28
풀링 로라 엘

미국 01720 매사추세츠주 액톤 에버그린 로드 14
버그스트롬 도날드 에이

미국 01890 매사추세츠주 원체스터 센트럴 스트리트 24

(74) 대리인

김진희, 김태홍

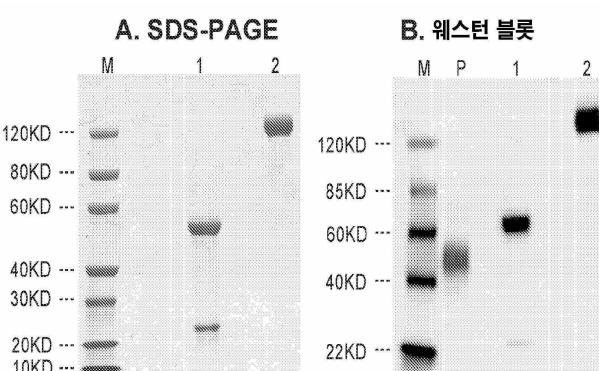
전체 청구항 수 : 총 38 항

(54) 발명의 명칭 NAPI2B 표적 요법에 대한 반응을 예측하기 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 개시내용은 NaPi2b 표적화 항체-약물 접합체(예컨대, NaPi2b 표적화 항체-중합체-약물 접합체)에 대한 환자의 반응성을 예측하는 시약 및 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도2



레인 M: 단백질 마커

레인 1: 환원 조건

레인 2: 비환원 조건

레인 P: 양성 대조군으로서 토끼 혈청으로부터의 IgG (Sigma, 카탈로그 번호. 15006)

(52) CPC특허분류

A61K 47/6869 (2017.08)

A61K 47/6889 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/28 (2013.01)

C07K 16/30 (2013.01)

G01N 33/57423 (2019.01)

G01N 33/57449 (2013.01)

G01N 33/57492 (2013.01)

G01N 2800/52 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/571,397 2017년10월12일 미국(US)

62/718,692 2018년08월14일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

- a. 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하는 단계;
- b. NaPi2b 및 항체 사이의 결합을 검출하는 단계; 및
- c. 종양 샘플에서 NaPi2b의 존재가 검출되는 경우 환자가 치료에 반응성인 것으로 예측하는 단계
를 포함하는, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법.

청구항 2

- a. 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하는 단계;
- b. NaPi2b 및 항-NaPi2b 항체 사이의 결합을 검출하는 단계; 및
- c. 검출을 병리학적으로 스코어링하는 단계로서, 병리학 스코어는 치료에 대한 반응성과 상관관계가 있는 것인 단계
를 포함하는, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법.

청구항 3

- a. 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- b. 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준이 미리 결정된 컷오프 포인트보다 높은 경우 환자가 치료에 반응성인 것으로 예측하는 단계
를 포함하는, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체를 반응성인 것으로 예측된 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 5

- a. 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하는 단계;
- b. NaPi2b 및 항-NaPi2b 항체 사이의 결합을 검출하는 단계;
- c. 종양 샘플에서 NaPi2b의 존재가 검출되는 경우 환자가 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 반응성인 것으로 예측하는 단계; 및
- d. NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체를 반응성인 것으로 예측된 대상체에게 투여하는 단계
를 포함하는, 대상체에서의 암을 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체로 치료하는 방법.

청구항 6

제1항, 제4항 및 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 예측은 단계 (b)의 검출을 병리학적으로 스코어링함으로써 달성되며, 병리학 스코어는 치료에 대한 반응성과 상관관계가 있는 것인 방법.

청구항 7

제1항, 제4항 및 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 예측은, 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준이 미리 결정된 컷 오프 포인트보다 높은 것을 확인함으로써 달성되는 것인 방법.

청구항 8

제3항 또는 제7항에 있어서, 미리 결정된 컷오프 포인트는 H-스코어 방법에 의해 계산되는 것인 방법.

청구항 9

제2항 또는 제6항에 있어서, 병리학 스코어는 정량적 또는 반정량적 스코어인 방법.

청구항 10

제2항, 제6항 및 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 병리학 스코어는 광학 현미경법 또는 이미지 분석에 의해 결정되는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 NaPi2b 발현 암인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, NaPi2b 발현 암은 폐암, 난소암, 유방암, 대장암, 신장암, 갑상선암, 신암, 타액관 선암, 자궁내막암, 담관암, 유두 갑상선암 또는 유두 신암인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 폐암은 비소 폐암(NSCLC)인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, NSCLC는 비편평 NSCLC인 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, NSCLC는 선암인 방법.

청구항 16

제12항에 있어서, 난소암은 상피 난소암인 방법.

청구항 17

제12항에 있어서, 난소암은 백금 불응성 난소암인 방법.

청구항 18

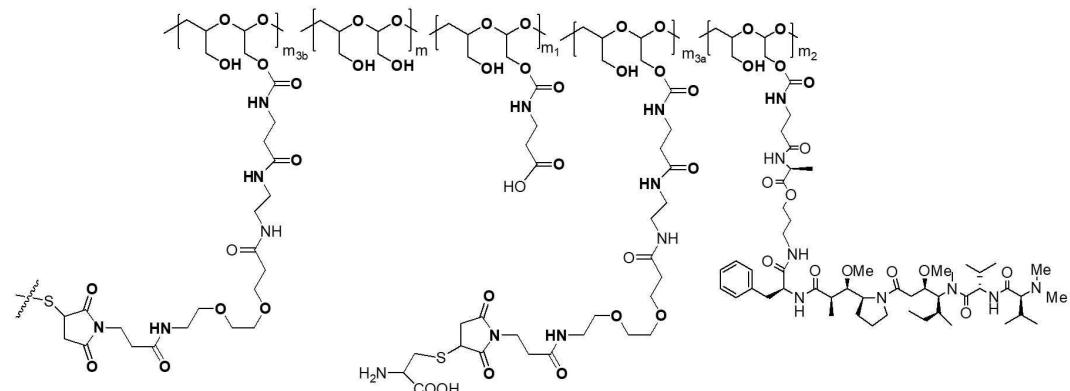
제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체의 항체는 XMT-1535인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체의 항체는 아미노산 서열 GYTFGTGYNH(서열번호: 3)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1), 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2), 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3), 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열 번호: 6)을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDRL1), 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDRL2), 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDRL3)을 포함하는 것인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체는



이고,

상기 식에서:

m 은 1 내지 약 300의 정수이고,

m_1 은 1 내지 약 140의 정수이며,

m_2 는 1 내지 약 40의 정수이고,

m_{3a} 는 0 내지 약 17의 정수이며,

m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고;

m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 18의 범위이며;

m , m_1 , m_2 , m_{3a} , 및 m_{3b} 의 합은 15 내지 약 300의 범위이고;

말단 $-\xi-$ 는 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535에 대한 하나 이상의 중합체 스캐폴드의 부착을 나타내는 것인 방법.

청구항 21

샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 비소세포 폐암 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하고, NaPi2b 및 항체 사이의 결합을 검출하는 단계; 및 샘플에서 NaPi2b의 존재가 검출되는 경우 비소세포 폐암을 선암으로서 서브타이핑하는 단계를 포함하는, 비소세포 폐암을 선암으로서 서브타이핑하는 방법.

청구항 22

제18항에 있어서, 비소세포 폐암 샘플에서 TTF-1, Napsin A, p63, p40 또는 CK5/6 중 하나 이상을 검출하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 검출은 면역조직화학적으로 수행되는 것인 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 항-NaPi2b 항체는 키메라 항체인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 키메라 항체는 인간 가변 영역 및 비인간 불변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제24항에 있어서, 키메라 항체는 항체 XMT-1535의 가변 영역을 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제24항에 있어서, 비인간 불변 영역은 토끼인 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 조직 샘플은 포르말린 고정된 파라핀 포매된 샘플인 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 표지된 이차 항체로 검출되는 것인 방법.

청구항 30

아미노산 서열 GYTFTGYNH(서열번호: 3)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1), 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2), 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3), 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열 번호: 6)을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDRL1), 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDRL2), 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDRL3)을 포함하는 키메라 항체.

청구항 31

제30항에 있어서, 항체는 서열번호: 1의 가변 중쇄 및 서열번호: 2의 가변 경쇄를 포함하는 것인 키메라 항체.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 불변 영역은 토끼 불변 영역인 키메라 항체.

청구항 33

제30항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 토끼 IgG1 중쇄 불변 영역 및 토끼 카파 불변 영역 경쇄를 포함하는 키메라 항체.

청구항 34

제33항에 있어서, 항체는 서열번호: 11의 중쇄 불변 영역 및 서열번호: 12의 경쇄 불변 영역을 포함하는 것인 키메라 항체.

청구항 35

서열번호: 17 및/또는 서열번호: 18의 핵산을 포함하는 플라스미드.

청구항 36

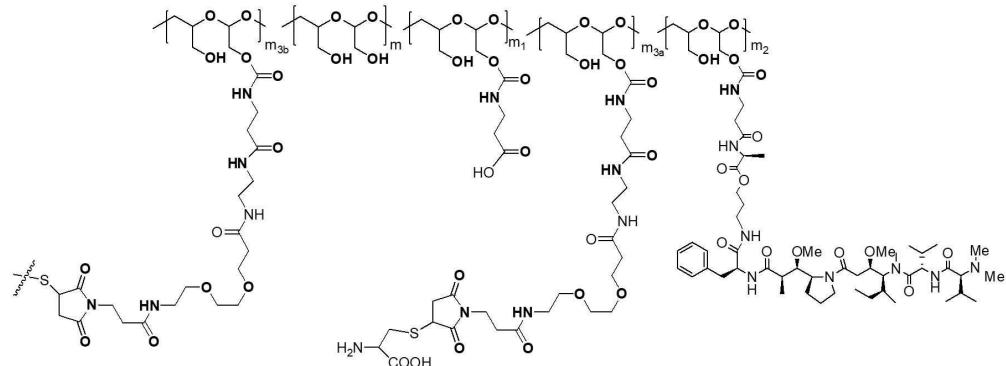
제35항의 플라스미드를 포함하는 세포.

청구항 37

NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체를 암의 증상을 완화시키기에 충분한 양으로 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 유두 갑상선암, 유두 신암, 타액관 선암, 자궁내막암 또는 담관암을 치료하는 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체는



이고,

상기 식에서:

m 은 1 내지 약 300의 정수이고,

m_1 은 1 내지 약 140의 정수이며,

m_2 는 1 내지 약 40의 정수이고,

m_{3a} 는 0 내지 약 17의 정수이며,

m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고;

m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 18의 범위이며;

m , m_1 , m_2 , m_{3a} , 및 m_{3b} 의 합은 15 내지 약 300의 범위이고;

만단 $\frac{1}{m}$ 는 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535에 대한 하나 이상의 중합체 스캐폴드의 부착을 나타내는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원

[0002]

본원은 2017년 9월 20일에 출원된 U.S.S.N. 제62/561,107호, 2017년 10월 12일에 출원된 U.S.S.N. 제62/571,397호 및 2018년 8월 14일에 출원된 U.S.S.N. 제62/718,692호의 이익 및 우선권을 주장하며, 각각의 내용은 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있다.

[0003]

발명의 분야

[0004]

본 발명은 NaPi2b 표적화 항체-중합체-약물 접합체에 의한 치료에 대한 반응자 및 비반응자를 계층화하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 비소세포 폐암을 서브타이핑하는 방법이 또한 제공된다.

배경 기술

[0005]

다중막관통 나트륨-의존성 인산염 수송체인 NaPi2b(SLC34A2, NaPiIIb, Npt2)(Xu et al. Genomics 62:281-284(1999))는 일반적으로 포유동물 소장의 솔 가장자리 막(brush border membrane)에서 발현되며, 세포관통 무기 인산염(Pi) 흡수에 참여하여, 신체의 인산염 항상성의 유지에 기여한다. 단백질 수준에서 NaPi2b의 발현은 간에서, 유선, 타액선의 상피 세포의 선단 표면에서, 그리고 폐, 고환, 타액선, 갑상선, 소장, 및 자궁에서 검출되었다. NaPi2b의 돌연변이는 폐포 및 고환 미세결석증(testicular microlithiasis)의 임상 증후군과 관련되었다. NaPi2b는 비편평 비소세포 폐암(NSCLC), 비점액성 난소암 및 유두 갑상선암에서 높게 발현된다. NaPi2b

양성 조직 면역반응성은 NSCLC의 61%, 및 92% 난소암 표본에 존재한다.

[0006] 난소암은 여성에서 가장 흔한 부인과 악성종양 중 하나이며, 암 사망의 5번째로 가장 빈번한 원인이다. 높은 사망률은 난소암을 진행 단계에서 빈번하게 진단하는 것에서 일부 비롯되며, 사망률은 발생률의 대략 65%이다. 난소의 상피 종양은 모든 난소 신생물의 58% 및 난소의 악성 종양의 90% 초과를 차지한다. 용적축소 수술(debulking surgery) 및 백금 기반의 조합 화학요법(탁산 포함)이 현재의 치료 방식이지만; 재발된 상피 난소암을 가진 환자의 대부분은 결국 질환에 굴복한다. 단클론 항체를 이용한 면역요법 또는 암 백신 기반의 접근법과 같은 표적 요법을 포함하여, 난소암에서 신규한 치료 방식이 필요하다.

[0007] NSCLC는 소세포 폐암(SCLC) 이외의 임의의 유형의 상피 폐암이다. NSCLC는 모든 폐암의 약 85%를 차지한다. 전체로서, NSCLC는 소세포암에 비해 화학요법에 상대적으로 둔감하다. 화학요법이 수술 전(신보조 화학요법) 및 수술 후(보조 화학요법)에 점점 더 많이 사용되고 있지만, 가능한 경우, 이들은 주로 치료 목적으로 외과 절제술에 의해 치료된다. 전이 환경이나 수술이 불가능한 환경에서는, 화학요법 및/또는 면역요법이 사용되지만, 이 단계의 질환은 대체로 치료가 불가능하고 생존 시간이 짧다. 단클론 항체를 이용한 면역요법 또는 암 백신 기반의 접근법과 같은 표적 요법을 포함하여, NSCLC에서 신규한 치료 방식이 필요하다.

[0008] 또한, NaPi2b의 생물학적 활성을 표적화하는 요법에 대한 반응을 예측하기 위한 진단 방법 및 키트가 필요하다.

발명의 내용

[0009] 다양한 양태에서, 본 발명은 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하는 단계; NaPi2b 및 항체 사이의 결합을 검출하는 단계; 및 종양 샘플에서 NaPi2b의 존재가 검출되는 경우 환자가 치료에 반응성인 것으로 예측하는 단계에 의해 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법을 제공한다.

[0010] 또 다른 양태에서, 본 발명은 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하는 단계; NaPi2b 및 항체 사이의 결합을 검출하는 단계; 및 검출을 병리학적으로 스코어링(scoring)하는 단계에 의해 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법을 제공한다. 병리학 스코어는 치료에 대한 반응성과 상관관계가 있다.

[0011] 추가의 양태에서, 본 발명은 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준을 측정하는 단계 및 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준이 미리 결정된 컷오프 포인트보다 높은 경우 환자가 치료에 반응성인 것으로 예측하는 단계에 의해 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법을 제공한다.

[0012] 본 발명의 방법의 다양한 양태에서, 방법은 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체를 치료에 반응성인 것으로 예측된 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0013] 또 다른 양태에서, 본 발명은 종양 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 환자로부터 수득된 종양 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하는 단계; NaPi2b 및 항체 사이의 결합을 검출하는 단계; 종양 샘플에서 NaPi2b의 존재가 검출되는 경우 환자가 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체에 의한 치료에 반응성인 것으로 예측하는 단계; 및 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체를 반응성인 것으로 예측된 대상체에게 투여하는 단계에 의해 대상체에서 암을 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체로 치료하는 방법을 제공한다.

[0014] 다양한 방법에서, 예측은 NaPi2b 단백질의 검출을 병리학적으로 스코어링함으로써 달성된다. 병리학 스코어는 치료에 대한 반응성과 상관관계가 있다. 병리학 스코어는 정량적 또는 반(semi)정량적 스코어이다. 예를 들어, 병리학 스코어는 광학 현미경법 또는 이미지 분석에 의해 결정된다.

[0015] 대안적으로, 예측은 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준이 미리 결정된 컷오프 포인트보다 높은 것을 확인함으로써 달성된다. 미리 결정된 컷오프 포인트는 예를 들어, H-스코어 방법에 의해 계산된다.

[0016] 추가의 양태에서, 본 발명은 샘플을 항-NaPi2b 항체와 접촉시킴으로써 비소세포 폐암 샘플에 NaPi2b가 존재하는지 여부를 검출하고, NaPi2b 및 항체 사이의 결합을 검출하는 단계; 및 샘플에서 NaPi2b의 존재가 검출되는 경우 비소세포 폐암을 선암으로서 서브타이핑하는 단계에 의해 비소세포 폐암을 선암으로서 서브타이핑하는 방법을 제공한다. 선택적으로, 방법은 비소세포 폐암 샘플에서 TTF-1, NapsinA, p63, p40 또는 CK5/6 중 하나 이상을 검출하는 단계를 추가로 포함한다.

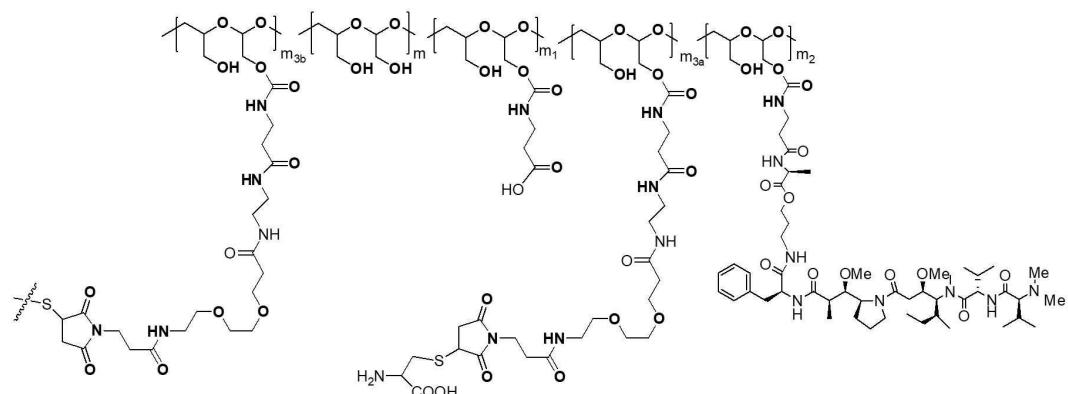
[0017] 암은 NaPi2b 발현 암이다. 암의 예는 비제한적으로 폐암, 난소암, 유방암, 대장암, 신장암, 갑상선암, 신암, 타

액관 선암, 자궁내막암, 담관암, 유두 갑상선암 또는 유두 신암을 포함한다. 폐암은 예를 들어, 비소 폐암(NSCLC)이다. 일부 양태에서, NSCLC는 비편평 NSCLC이다. 일부 양태에서, NSCLC는 선암으로 서브타이핑된다. 난소암은, 예를 들어 상피 난소암이다. 난소암은, 예를 들어 백금 민감성 난소암이다. 난소암은, 예를 들어 백금 불응성 난소암이다.

[0018] NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체의 항체는 XMT-1535이다. 바람직하게는, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체의 항체는 아미노산 서열 GYTFTGYNH(서열번호: 3)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1), 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2), 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3), 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열번호: 6)을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDRL1), 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDRL2), 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDRL3)을 포함한다.

[0019] NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체는, 예를 들어 아우리스타틴 기반의 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체이다.

[0020] NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체는 하기 식을 갖는다:



[0021]

상기 식에서:

[0023] m 은 1 내지 약 300의 정수이고,

[0024] m_1 은 1 내지 약 140의 정수이며,

[0025] m_2 는 1 내지 약 40의 정수이고,

[0026] m_{3a} 는 0 내지 약 17의 정수이며,

[0027] m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고;

[0028] m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 18의 범위이며;

[0029] m , m_1 , m_2 , m_{3a} , 및 m_{3b} 의 합은 15 내지 약 300의 범위이고;

[0030] 말단 $\text{---}\xi\text{---}$ 는 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535에 대한 하나 이상의 중합체 스캐폴드의 부착을 나타낸다.

[0031] 검출은 예를 들어, 면역조직화학적으로 수행된다. 바람직하게는, 항-NaPi2b 항체는 표지된 이차 항체를 사용하여 검출된다.

[0032] 항-NaPi2b 항체는 키메라 항체이다. 키메라 항체는 인간 가변 영역 및 비인간 불변 영역을 포함한다. 키메라 항체는 항체 XMT-1535의 가변 영역을 포함한다. 비인간 불변 영역은 토끼이다.

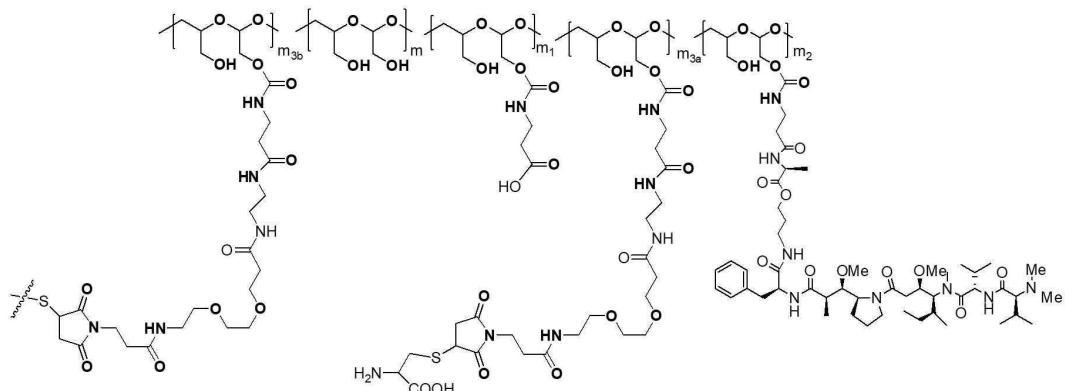
[0033] 샘플은, 예를 들어 비제한적으로 포르말린 고정된 파라핀 포매된 샘플이다.

[0034] 본 발명은 아미노산 서열 GYTFTGYNH(서열번호: 3)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1), 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2), 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)를 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3), 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열번호: 6)을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDRL1), 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDRL2), 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDRL3)을 포함한다.

번호: 6)을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR1), 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR2), 아미노산 서열 QQYSKLPKT(서열번호: 8)를 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR3)을 포함하는 키메라 항체를 추가로 제공한다. 일부 양태에서, 키메라 항체는 서열번호: 1의 가변 중쇄 및 서열번호: 2의 가변 경쇄를 포함한다. 불변 영역은 예를 들어 비제한적으로, 토끼 불변 영역이다. 예를 들어, 키메라 항체는 토끼 IgG1 중쇄 불변 영역 및 토끼 카파 불변 영역 경쇄를 포함한다. 바람직한 구현 예에서, 키메라 항체는 서열번호: 11의 중쇄 불변 영역 및 서열번호: 12의 경쇄 불변 영역을 갖는다.

[0035] 또한, 서열번호: 17 및/또는 서열번호: 18의 핵산을 함유하는 플라스미드 및 플라스미드를 함유하는 세포가 본 발명에 포함된다.

[0036] 또한, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체를 암의 증상을 완화시키기에 충분한 양으로 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 유두 갑상선암, 유두 신암, 타액관 선암, 자궁내막암 또는 담관암을 치료하는 방법이 본 발명에 포함된다. NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체는, 예를 들어 WO 제2017/160754호에 개시된 임의의 접합체이다. 예를 들어, NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체는



[0037]

이고,

[0039] 상기 식에서:

[0040] m 은 1 내지 약 300의 정수이고,

[0041] m_1 은 1 내지 약 140의 정수이며,

[0042] m_2 는 1 내지 약 40의 정수이고,

[0043] m_{3a} 는 0 내지 약 17의 정수이며,

[0044] m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고;

[0045] m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 18의 범위이며;

[0046] m , m_1 , m_2 , m_{3a} , 및 m_{3b} 의 합은 15 내지 약 300의 범위이고;

[0047] 말단 $-\xi-$ 는 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535에 대한 하나 이상의 중합체 스캐폴드의 부착을 나타낸다.

[0048] 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 기술분야에서 통상의 기술을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서, 단수형은 또한 문맥이 달리 명확히 나타내지 않는 한 복수를 포함한다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질이 하기에 기재되어 있다. 상충되는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서가 우선할 것이다. 또한, 물질, 방법 및 실시예는 단지 예시적인 것이며 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0049] 본 발명의 다른 특징 및 장점은 하기 상세한 설명 및 청구범위로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0050]

도 1은 인간화된 항-NaPi2b 항체 XMT-1535에 기초한 키메라 항체의 설계를 예시한다. 키메라 항체는 본원에서 MERS67로 지칭된다.

도 2는 Mers67 항체의 SDS-PAGE 및 웨스턴 블롯 분석을 나타내는 사진이다.

도 3a는 1단계 정제 후 MERS67의 SEC-HPLC 분석을 나타낸다.

도 3b는 2단계 정제 후 MERS67의 SEC-HPLC 분석을 나타낸다.

도 4는 OVCAR3 및 JIMT-1 이종이식편에서 대표적인 면역조직화학 염색을 나타내는 사진이다.

도 5는 2개의 인간 폐 선암에서 면역조직화학 염색을 나타낸다.

도 6은 WO 제2017/160754호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체-약물 접합체, n=3, 3 mg/kg qweekx3을 사용한 마우스 난소 임상 시험으로부터의 중앙 최상 반응(median best response)을 나타내는 막대 차트이다. y 축은 중앙 최상 반응을 나타내고; x 축은 모델 번호를 나타낸다. 어두운 색상의 막대는 나이브(naive) 종양을 나타내고, 밝은 색상의 막대는 치료 후 종양을 나타낸다.

도 7은 중앙 최상 반응에 의해 정렬되고; H-스코어에 의해 채색된(모든 모델), START 난소 모델을 나타내는 막대 차트이다. 색상이 어두울수록 H-스코어가 크다. y 축은 중앙 최상 반응을 나타내고; x 축은 모델 번호를 나타낸다.

도 8은 H 스코어(y 축) 및 조직 유형(x 축)에 의해 그래프화되고 이종이식편에 대한 중앙 최상 반응에 의해 채색된, 폐, 및 난소 인간 종양 및 이종이식편을 나타내는 산점도이다. 밝은 색상은 큰 항종양 효과에 해당하고; 어두운 색상은 작은 항종양 효과에 해당한다.

도 9는 폐 SCC 및 ACC에서 NaPi2b, Napsin A, CK5 및 TTF1의 차등 발현을 나타내는 TCGA로부터 추출된 RNAseq 데이터를 나타내는 박스 플롯이다. Napsin A, CK5 및 TTF1과 같은 패널로부터 단백질 발현을 검출하는 면역조직화학 패널은 편평세포 폐암 및 폐 선암의 분류에 사용될 수 있다. NaPi2b의 발현의 검출은 현재 사용되는 패널을 보충하는데 사용될 수 있다.

도 10은 TCGA로부터 추출된 RNAseq 데이터를 나타내는 산점도이다. NaPi2b는 x 축에 표시되고, Napsin A는 y 축에 표시된다. 사이토케라틴 5의 발현은 색상에 의해 표시되고, 가장 어두운 색은 가장 높은 발현 수준이다. 편평세포암으로 주석이 달린 대부분의 조직(원형)은 실선 타원형 안에 포함되어 있다. 선암으로 주석이 달린 대부분의 조직(사각형)은 그래프의 우측 상단 사분면에 있다. 또한 우측 상단 사분면에 위치한 편평세포암 면적으로 분류된 일부 종양은 점선 원으로 표시되며, 사이토케라틴의 낮은 발현자이다. NaPi2b와 같은 단백질 마커의 사용은 점선 원 안의 것과 같은 종양의 분류를 개선할 수도 있다.

도 11은 cBioPortal로부터 추출되고, 단백질 산물이 SCC와 ACA를 구별하는데 자주 사용되는 일부 유전자인 TTF-1, Napsin A, CK5 및 p63 유전자와 비교하여 NaPi2b RNA 발현의 관계를 나타내기 위해 그래프화된, 폐 SCC 및 ACA의 2018년 5월 21일자 TCGA 임시 데이터를 나타낸다. 상단의 열은 ACA RNA 결과를 나타내고, 하단의 열은 SCC RNA 결과를 나타낸다. NaPi2b는 x 축에 표시되어 있다.

도 12는 cBioPortal로 추출되고, ACA 및 SCC에 대한 SCL34A2, TTF-1, Napsin-A, CK5 및 p63 유전자의 관계를 나타내기 위해 개별적으로 그래프화된, 폐 SCC 및 ACA의 2018년 5월 21일자 TCGA 임시 RNAseq 데이터를 나타낸다. 각각의 플롯에서, ACA 결과는 좌측에 있고, SCC 데이터는 우측에 있다. y 축은 RNAseq에 의해 결정된 RNA 발현의 척도이다.

도 13은 SCC 및 ACA 종양의 조직 마이크로어레이의 NaPi2B IHC 평가로부터 수득된 H-스코어를 나타낸다.

도 14는 조직학 서브타입이 p40 및 TTF-1 IHC 염색을 사용하여 추가로 특성화될 때 동일한 조직으로부터의 H-스코어의 박스 플롯이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0051]

본 발명은 NaPi2b 표적화 항체-약물 접합체(예컨대, NaPi2b 항체-중합체-약물 접합체)에 반응할 대상체를 확인하는 조성물 및 방법을 제공한다.

[0052]

본 발명은 NaPi2b에 대한 완전 인간화된 IgG1 항체 XMT-1535로 구성된 NaPi2b 항체-중합체-약물 접합체(ADC)가 폐 및 난소암의 모델 모두에서 항종양 효과를 나타내었다는 발견에 일부 기초한다(WO 제2017/160754호 참고, 이

의 내용은 그 전체가 참조로 본원에 포함됨). ADC의 효능은 적어도 부분적으로, 종양 또는 종양 모델에서 표적 발현의 정도 또는 패턴에 기인한다. 인간 종양 및 일차 인간 종양의 모델에서 NaPi2b 발현의 패턴을 정확하게 설명하기 위해, 시약 MERS67(aka MER67)이 개발되었고 면역조직화학(IHC)에 대해 검증되었다. 인간 종양에서의 NaPi2b 발현의 이해는 NaPi2b를 발현하는 암을 가진 환자에 대해 보다 합리적이고 개인화된 요법을 제공할 것이다.

[0053] MERS67은 인간화된 항-NaPi2b 항체 XMT-1535에 기초한 인간 토끼 키메라 항체이다. XMT-1535는 WO 제2017/160754호에 개시된 ADC의 항체 부분이다. 구체적으로, MERS67은 각각 토끼 IgG1 불변 영역 또는 토끼 Ig 카파-b4 사슬 C 영역에 연결된 XMT-1535의 인간 중쇄 및 경쇄 영역을 함유한다.

[0054] 따라서, 본 발명은 부분적으로, NaPi2b 키메라 항체를 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 XMT-1535의 가변 영역에 기초한 NaPi2b 키메라 항체를 제공한다. 본 발명은 종양 샘플의 NaPi2b의 발현 수준을 결정함으로써 WO 제2017/160754호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법을 추가로 제공한다. 특정 구현예에서, 종양 샘플의 NaPi2b의 발현 수준은 MERS67을 사용하여 면역조직화학적으로 결정된다.

[0055] 본 발명은 또한 부분적으로 (i) MERS67을 사용하여 면역조직화학적으로 결정된 바와 같이 종양 샘플의 NaPi2b의 발현 수준을 결정하는 단계 및 (ii) 환자가 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료로부터 이익을 얻을 것임을 환자에게 알리는 단계에 의해 WO 제2017/160754호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료로부터 이익을 얻을 환자를 확인하는 방법을 제공한다.

[0056] 본 발명은 또한 부분적으로 (i) MERS67을 사용하여 면역조직화학적으로 결정된 바와 같이 종양 샘플의 NaPi2b의 발현 수준을 결정하는 단계 및 (ii) 환자를 치료에 반응할 가능성이 높은 것으로 분류하는 단계로서, 미리 결정된 컷오프 포인트 이상인 환자로부터 수득된 종양 샘플에서의 NaPi2b의 수준은 환자가 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 높다는 것을 나타내는 것인 단계를 포함하는, NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 부분적으로 환자로부터 수득된 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준을 결정하는 단계로서, 미리 결정된 컷오프 포인트 이상인 환자로부터 수득된 샘플에서의 NaPi2b의 수준은 환자가 항암 요법으로부터 이익을 얻을 가능성이 높다는 것을 나타내는 것인 단계를 포함하는, 암을 가진 환자가 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료로부터 이익을 얻을 가능성을 결정하는 방법을 제공한다.

[0057] 본 발명은 또한 부분적으로 환자로부터 수득된 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준을 결정하는 단계로서, 미리 결정된 컷오프 포인트 이상인 환자로부터 수득된 샘플에서의 NaPi2b의 수준은 환자가 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체 요법으로부터 이익을 얻을 가능성이 높다는 것을 나타내는 것인 단계를 포함하는, NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체를 포함하는 항암 요법의 치료 효능을 최적화하기 위한 방법을 제공한다.

[0058] 본 발명은 또한 부분적으로, 환자로부터 수득된 종양 샘플이 참조 샘플에서의 NaPi2b의 수준 이상인 NaPi2b의 수준을 갖는다고 결정하는 단계 및 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체의 유효량을 상기 환자에게 투여하여 암이 치료되는 단계를 포함하는, 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0059] 본 발명은 또한 부분적으로 환자로부터 수득된 종양 샘플이 참조 샘플에서의 NaPi2b의 수준 이상인 NaPi2b의 수준을 갖는다고 결정하는 단계 및 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체의 유효량을 상기 환자에게 투여하여 암이 치료되는 단계를 포함하는, 환자에서 암을 치료하는 효과를 모니터링하는 방법을 제공한다.

[0060] 본 발명은 종양학자가 특정 서브세트의 환자에 대한 모니터링을 증가시키고/거나 이들에게 보다 공격적이고 최적의 예방 개입 또는 치료를 제공할 수 있게 한다.

키메라 NaPi2b 항체

[0062] 본 발명은 인간 가변 영역 및 비인간 불변 영역을 갖는 키메라 항체를 제공한다. 구체적으로, 본원에 기재된 키메라 항체는 NaPi2b 발현을 특이적으로 인식한다. 본원에 개시된 키메라 항체에 사용되는 예시적인 인간 가변 영역은, 예를 들어, WO 제2017/160754호에 기재되고 XMT-1535로 지칭되는 항-NaPi2b 항체의 가변 영역을 포함한다. XMT-1535 항체는 인간 NaPi2b에 대해 특이성을 나타내고, 시험관내에서 NaPi2b의 기능적 활성을 억제하는 것으로 나타났다.

[0063] 본 발명에 따른 특정 키메라 NaPi2b 항체는 하기에 제시된 아미노산 및 핵산 서열에 나타낸 바와 같이, 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0064] 중쇄 및 경쇄의 상보성 결정 영역(CDR)은 하기에 제시된 아미노산 서열에 밑줄이 그어져 있다. XMT-1535 항체에 대한 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 아미노산은 E.A. Kabat 등(Kabat, E.A., et al., Sequences of Protein of immunological interest, Fifth Edition, US Department of Health and Human Services, US Government Printing Office (1991) 참고)에 의해 정의된 바와 같으며, 미국 특허 제8,603,474호에 개시되어 있고, 10H1.11.4B 항체에 대한 CDR을 포함하는 아미노산은 미국 특허 제8,535,675호에 정의된 바와 같다.

XMT-1535 중쇄 가변 영역 아미노산 서열

QVQLVQSGAEVVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYNIH~~WVKQAPGQGLEWIGAIYPGN~~GDTSYKQKFRGRATLTADTSTVYME~~LSSLRSEDSAVYYC~~

ARGETARATFAYWGQGTLVTVSSG(서열번호: 1)

CDRH1: GYTFTGYN~~I~~H(서열번호: 3)

CDRH2: AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)

CDRH3: GETARATFAY(서열번호: 5)

[0065]

XMT-1535 중쇄 가변 영역 핵산 서열

CAAGTTCAGCTGGTT~~CAGTCAGGCCGAGGTTGTGAAACCTGGCGCTCTGTGAAGATGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGGCTAC
AACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCTGGACAGGGACTCGAATGGATCGGAGCCATCTATCCGGCAACGGCGACACCAGCTACAAGCAGAAGTTC
CGGGGCAGAGCCACACTGACCGCCGATAACAAGCAC~~AGCACCGTGTACATGGA~~ACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACAGGCCGTACTATTGC~~

GCCAGAGGC~~GAAACAGCCAGAGCAC~~CTTG~~CCTATTGGGCCAGGGAACCC~~TGGTACCGTTAGCTCT(서열번호: 9)

[0066]

XMT-1535 경쇄 가변 영역 아미노산 서열

DIQM~~TQSPSSLASVGDRVTITCSASQDIGNFLN~~WYQQ~~KPGKTVKVLI~~YYTSSLYSGVPSRFSGSGSDY~~TLTISSLQPEDFATYYCQQYSKLPL~~
TFGQGTKLELR(서열번호: 2)

CDRL1: SASQDIGNFLN(서열번호: 6)

CDRL2: YTSSLYS(서열번호: 7)

[0067]

CDRL3: QQYSKLPLT(서열번호: 8)

XMT-1535 경쇄 가변 영역 핵산 서열

GATATT~~CAGATGACACAGAGCCCCAGCAGCCTGTGCTCTGTGGGAGACAGAGTGACCAC~~CTGAC~~GTAGGCCAGCCAGGATATCGGCAACTTC
CTGAACTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGACCGTGAAGGTGCTGATCTACTACACCTCCAGCCTGTACAGCGGCGT~~GCCAGCAGATTTCTGGC
AGCGGCTCTGGCACC~~GACTACACCTGACCATATCTAGCCTGAC~~CGCCTGAGGACT~~TCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCAAGCT~~GCCCTG
ACATT~~TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAA~~CTGAAG(서열번호: 10)

[0068]

[0069] 본 발명에 따른 키메라 항체의 불변 영역은 인간 이외의 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 중쇄 및 경쇄 불변 영역은 예를 들어, 비제한적으로 토끼, 마우스, 랫트, 말, 소, 또는 닭으로부터 유래된다.

[0070]

일부 양태에서, 본 발명에 따른 키메라 항체는 토끼 중쇄 불변 영역 및 토끼 경쇄 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 키메라 항체는 토끼 IgG1 불변 영역 및 토끼 Ig 카파 불변 영역을 포함한다.

[0071]

바람직한 구현예에서, 본 발명에 따른 키메라 항체는 하기 제시된 아미노산 및 핵산 서열에 나타낸 바와 같이, 토끼 중쇄 불변 영역(VH), 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0072]

토끼 IgG1 불변 영역 아미노산 서열

QPKAPS~~VPLAPCCGDPSSVTLGCLVKGYLPEPVTVWSGLTNGVRFP~~SVRQSSGLYSLSVVSVTSSQ~~PVTCNV~~AHPATNTKV~~DKT~~
VAPSTCSKPTCPPELLGGPSV~~I~~FPPPKD~~TLMI~~SRTPEV~~TCVVDV~~SEDDP~~EVQFTWY~~INNEQ~~VRTAR~~PLREQFN~~STIRV~~STLP~~I~~A~~HED~~
WLRGKEFKCKVHN~~KALPAPIEKTISKARGQPLEPKVY~~TGPPREELSSRSVSLTCM~~INGF~~YPSD~~I~~SVEWEKNGKAEDNYK~~TPAVL~~DS~~GSYFL~~
YSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK(서열번호: 11)

[0073]

토끼 Ig 카파-b4 불변 영역 아미노산 서열

RDPVAP~~TVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDV~~TV~~WEVDGTTQ~~TGIENS~~KTPQNSADCTY~~NLS~~STLT~~TQ~~YN~~SHKEYTCKV~~TQ~~GT~~TS~~SV

[0075]

QS~~FN~~RGDC(서열번호: 12)

[0076] 토끼 IgG1 불변 영역 핵산 서열

GGACAGCCTAAGGCCTCCAGCGTGTCCCTCTGGCTCTTGCTGGCGATACCCCTAGCACAGCACAGTGACACTGGCTGTCTGGTCAGGGCT
ACCTGCTGAACTGTGACCGTGAACCTGGAATAGCGGCCACCTGACCAACAGCGTGGACATTCTAGCGTCAGACAGAGCAGCGGCCCTGTA
CTCTCTGAGCAGCGTGGTGTCTGACCAGCAGCTCTCAGCCCTGTGACCTGCAATGTGGCCCATCCTGCCACCAACACCAAGGGACAAAACC
GTGGCTCCCTCACCTGTAGCAAGCCCACATGCTCCTCACCAGAGCTGCTCGGGGCCCTCGTGTATCTCCACCTAACGCTAAGGACA
CCCTGATGATCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGACGTGTCAGGAGATGATCTGAGGTGCACTGGTACATCAACAA
CGAGCAAGTGCAGGCCAGCTCTGAGAGAGCAGCAGTCACAGCACCATCAGAGTGGTGTACCTGCCATCGCTCACGAGGAT
TGGCTGGGGCAAAGAGTTCAAGTGAAGGTGACAACAACAGGCCCTGCCTGCTCTATCGAGAAAACCATCTCAAGGCCAGAGGCCAGCAC
TGGAAACCAAGGTGTACACAATGGGCCCTCAAGAGAGGAACACTGTCAGCAGATCGTGTCTGACCTGCATGATCAACGGCTTACCCAG
CGACATCAGCGTGGAAATGGGAGAAGAATGGCAAGGCCAGGACAACATAAGACAACCCCTGCCGTGGATAGCGACGGCAGCTACTCCTG
TACAGCAAGCTGAGCGTGCCTCACCTGTGAATGGCAACGGGGAGATGTGTTACCTGCAGCGTGTGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCC
AGAAGTCCATCAGCAGGTCCCCAGGCAA(서열번호:13)

[0077] 토끼 Ig 카파-b4 불변 영역 핵산 서열

AGGGATCTGTGGCTCCACCGTGTGATTTTCAACAGCCGCTGATCAGGTGGCCACTGGCACAGTGACAATCGTGTGGCAACAGTAC
TTCCCCGACGTGACCGTGACCTGGGAAGTCGATGGCACACAGACCAAGGCCATCGAGAACAGAACAGGCCACTGCACC
TACAACCTGAGCAGCACCTGACACTGACCAGCACAGTACAACAGCCAAAGAGTACACCTGTAAGTCACCCAGGGACAACACCAGCGTGGTG
CAGAGCTTAAACAGAGCGATTGC(서열번호: 14)

[0080] 보다 바람직한 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체인 MERS67은 하기에 제시된 중쇄 및 경쇄 아미노산 및 핵산 서열을 포함한다.

[0081] 키메라 NaPi2b 항체 중쇄 아미노산 서열

QVQLVQSGAEVVKGASVKMSCKASGYTFTGYNIHWWVKQAPGQGLEWIGAIYPNGDTSYKQKFRGRATLTADTSTSTVYMELSSLRSEDSAVYYC
ARGETARATFAYWGQGTLTVSSGQPDKVAPSTCSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSEDPVEQFTWYINNEQVRTARPPLRE
QQFNSTIRVNSTLPIAHEDWLRGKEFKVKHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPEELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAED
NYKTPAVLDSGSYFLYSKLSVPTEWQRDVFTCSVHEA LHNHYTQKSISRSPGK(서열번호: 15)

[0083] 키메라 NaPi2b 항체 경쇄 아미노산 서열

DIQMTCSPSSLASVGDRVTITCSASQDIGNFLNWYQQKPGKTVKLIYTSSLYSVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYSKLPL
TFGQGTKLELKRDPAVTLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTWTWVDTQTGIEENSKTPQNSADCTYNLSSTLTSTQVNSHKEYT
CKVTQGTTSVQSFNRGDC(서열번호: 16)

[0085] 키메라 NaPi2b 항체 중쇄 핵산 서열

CAAGTTCAGCTGGTTAGTCTGGCCCGAGGTTGTGAAACCTGGCCCTCTGTGAAGATGAGCTGCAAGGCCAGGGCTACACCTCACCGGCTAC
AACATCCACTGGGTCAGCAGGCCCTGGACAGGGACTCGAATGGATCGGAGCCATCTATCCGGCAACGGGACACCAGTACAAGCAGAAGTTC
CGGGCAGAGCCACACTGACCGCCGATAACAGCACAGCACCGTGTACATGGAACCTGAGCAGCCTGAGAACAGCAGGCCGTACTATTGC
GCCAGAGGCACAGGCCAGGCCACCTTGCTATTGGGCCAGGGAACCTGGTACCGTTAGCTCTGGACAGCTAACGCTCCAGCGTGTTC
CCTCTGGCTCTGCTGTGGCGATACCCCTAGCACAGTGAACACTGGCTGTCTGGTCAAGGGTACCTGCCAACCTGTGACCGTGACTGG
AATAGCGGCACCTGACCAACGGCGTGGACATTCCCTAGCGTCAGACAGAGCAGCGGCTGTACTCTTGAGCAGCGTGGTGTGTGACCAGC
AGCTCTAGCCTGTGACCTGCAATGCGGCCATCTGCCACCAACACCAAGGTGGACAAACCCGTCGGTCCCTCACCTGTAGCAAGGCCACATGT
CCTCCACCAGAGCTGCGAGGCCCTCGTGTATCTCCACCTAACGCTAACAGACCCCTGATGATCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTGC
GTGGTGGTGGACGTGTCGAGGATGATCTGAGGTGCAAGTCACCTGGTACATCAACACAGAGCAGCGTGGCAGGCCAGACCTCTGTGAGAGAG
CAGCAGTTAACAGCACCACAGAGTGGTGTCTACCCCTGCTATCGAGGATTGGCTGGGGCAAAGAGTCAAGTGAAGGTGACAAC
AAGGCCCTGCCCTGCTCTATCGAGAAAACCACCTCAAGGCCAGAGGCCACTGGAAACCCAAGGTGACACAATGGGCCCTCAAGAGAGGAA
CTGTCAGCAGATCCGTGTCTGACCTGCATGATCAACGGCTTACCCAGCGACATCAGCGTGGAAATGGAGAAGAATGGCAAGGCCAGGCC
AACTACAAGACAACCCCTGCCGTGGATAGCGACGGCAGCTACTCTGACAGCAAGCTGAGCGTGGCAGGCCACCTCTGAATGGCAACGGGGAGAT
GTGTTACCTGCAGCGTGTGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAACGTTACAGCAGGTCCCCAGGCAA(서열번호: 17)

[0087]

키메라 NaPi2b 항체 경쇄 핵산 서열

GATATTAGATGACACAGAGCCCCAGCAGCTGTGCCTCTGGGAGACAGAGTGACCACACCTGTAGCGCCAGCCAGGATATGGCAACTTC
CTGAAGTGGTATCAGCAGAAACCCCGAAGACCGTGAAGGTGCTGATCTACTACACCTCCAGCCTGATCAGCGCGTGCCTCAGCAGATTTCTGGC
AGCGGCTCTGGCACCGACTACACCTGACCATACTAGCCTGCAGCCTGAGGACTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCAAGCTGCCCTG
ACATTGGCCAGGGCACCAAGCTGAACTGAAGAGGGATCCTGTGGCTCCACCGTGCTGATTTCCACCAAGCCGCTGATCAGGTGGCCACTGGC
ACAGTGACAATCGTGTGCGTGGCCAACAAGTACTTCCCACGTGACCTGGGAAGTCGATGGCACACAGACCACAGGCATCGAGAAC
AGCAAGACCCCTCAGAACAGCGCCACTGCACCTACAACCTGAGCAGCACCCCTGACACTGACCAGCACACAGTACAAACAGCCACAAAGAGTACACC

TGTAAAGTCACCCAGGGACAACCAGCGTGGTGCAGAGCTTCAACAGAGGCGATTGC(서열번호: 18)

[0088]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 아미노산 서열 GYTFTGYNH(서열번호: 3)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1); 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2); 및 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3)을 포함한다.

[0089]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열번호: 6)과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDRL1); 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDRL2); 및 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDRL3)을 포함한다.

[0090]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 아미노산 서열 GYTFTGYNH(서열번호: 3)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1; 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2; 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3; 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열번호: 6)과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1; 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2; 및 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 포함한다.

[0091]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 서열번호: 1의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 서열번호: 2의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 영역을 포함한다.

[0092]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 서열번호: 15의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0093]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 서열번호: 15의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0094]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 아미노산 서열 GYTFTGYNH(서열번호: 3)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDRH1); 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDRH2); 및 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDRH3)을 포함한다.

[0095]

일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열번호: 6)과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는

가변 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR1); 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR2); 및 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR3)을 포함한다.

[0096] 일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 아미노산 서열 GYTFTGYNH(서열번호: 3)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1; 아미노산 서열 AIYPNGDTSYKQKFRG(서열번호: 4)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2; 아미노산 서열 GETARATFAY(서열번호: 5)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3; 아미노산 서열 SASQDIGNFLN(서열번호: 6)과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL1; 아미노산 서열 YTSSLYS(서열번호: 7)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL2; 및 아미노산 서열 QQYSKLPLT(서열번호: 8)와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 포함한다.

[0097] 일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 서열번호: 1의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 서열번호: 2의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 영역을 포함한다.

[0098] 일부 구현예에서, 키메라 NaPi2b 항체는 서열번호: 15의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역, 및 서열번호: 16의 아미노산 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0099] 당업자는 본원에 개시된 키메라 항체(예컨대, MERS67)가 천연 결합 파트너 또는 NaPi2b와 결합할 것으로 알려진 다른 분자에 결합하는 것을 키메라 항체가 방지하는지 여부를 확인함으로써 과도한 실험 없이 키메라 항체가 본원에 개시된 키메라 항체(예컨대, MERS67)와 동일한 특이성을 갖는지 결정할 수 있음을 인식할 것이다. 본원에 개시된 키메라 항체에 의한 결합의 감소에 의해 나타낸 바와 같이, 시험되는 항체가 본원에 개시된 키메라 항체와 경쟁하면, 2개의 항체는 동일하거나 밀접하게 관련된 에피토프에 결합한다.

[0100] 물론 항체가 본원에 개시된 단클론 항체의 특이성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 대안적인 방법은 본원에 개시된 키메라 항체를 가용성 NaPi2b(키메라 항체는 이와 정상적으로 반응함)와 미리 인큐베이션한 다음, 시험되는 항체를 첨가하여 시험되는 항체가 NaPi2b에 결합하는 능력이 억제되는지 여부를 결정하는 것이다. 시험되는 항체가 억제되면, 아마도, 그것은 본원에 개시된 키메라 항체와 동일하거나 기능적으로 동등한 에피토프 특이성을 갖는다.

[0101] 본원에 개시된 키메라 항체의 스크리닝은 또한, 예컨대, NaPi2b 매개 활성을 측정하고, 시험 키메라 항체가 NaPi2b 활성을 조절, 차단, 억제, 감소, 길항, 중화 또는 방해할 수 있는지 여부를 결정함으로써 수행될 수 있다.

[0102] 키메라 항체는 미국 특허 제4,816,567호에 기재된 것과 같이 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. 본원에 개시된 단클론 항체를 코딩하는 DNA는 통상적인 절차를 사용하여(예컨대, 젖과 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하여) 쉽게 단리되고 시くん싱될 수 있다. 본원에 개시된 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 바람직한 공급원으로서 작용한다. 단리되면, DNA는 발현 벡터 내에 위치할 수 있고, 발현 벡터는 이후에 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 시미안 COS 세포, HEK293 세포, 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 콜수종 세포와 같은 숙주 세포 내로 형질김염되어, 재조합 숙주 세포에서 단클론 항체의 합성을 수득할 수 있다. DNA는 또한, 예를 들어, 상동 젖과 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열을 치환함으로써(미국 특허 제4,816,567호; Morrison, Nature 368, 812-13(1994) 참고) 또는 비-면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열에 공유 연결함으로써 변형될 수 있다. 이러한 비-면역글로불린 폴리펩타이드는 본원에 개시된 항체의 불변

도메인을 치환할 수 있거나, 또는 본원에 개시된 항체의 하나의 항원-결합 부위의 가변 도메인을 치환하여 키메라 2가 항체를 생성할 수 있다.

[0103] 키메라 NaPi2b 항체는, 예를 들어, 하기 제공된 실시예에 기재된 절차를 사용하여 생성된다.

[0104] 본원에 개시된 키메라 NaPi2b 항체는 상기 기재된 항체를 코딩하는 DNA 세그먼트를 함유하는 플라스미드 또는 백터에 의해 발현될 수 있다. 플라스미드 또는 백터는 발현을 위해 세포에서 형질감염될 수 있다. 예를 들어, 세포는 HEK293 세포 또는 CHO 세포이다.

[0105] 이를 백터, 플라스미드 및 세포는 다양한 방식으로, 예를 들어 샘플에서 NaPi2b의 존재를 검출하는데 사용될 수 있는 다양한 항체를 발현하는데 사용될 수 있다.

[0106] 항체는 주로 면역 혈청의 IgG 분획을 제공하는 단백질 A 또는 단백질 G를 사용한 친화성 크로마토그래피와 같은 널리 공지된 기술에 의해 정제된다. 후속적으로, 또는 대안적으로, 찾고자 하는 면역글로불린의 표적인 특정 항원, 또는 이의 에피토프는 면역친화성 크로마토그래피에 의해 면역 특이적 항체를 정제하기 위해 컬럼 상에 고정된다. 면역글로불린의 정제는, 예를 들어, 문헌[D. Wilkinson (The Scientist, published by The Scientist, Inc., Philadelphia PA, Vol. 14, No. 8 (April 17, 2000), pp. 25-28)]에 의해 논의된다.

[0107] 본원에 개시된 키메라 항체는 또한 환자 샘플에서 NaPi2b를 검출하는데 유용하고, 따라서 진단으로서 유용하다. 예를 들어, 본원에 개시된 NaPi2b 항체는 환자 샘플에서 NaPi2b 수준을 검출하기 위해 시험관내 분석, 예컨대, IHC, ELISA에서 사용된다.

NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체

[0109] 일부 구현예에서, NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535는 제제와 연결되어 접합체를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 제제는 치료제이다. 일부 구현예에서, 제제는 항신생물제이다. 일부 구현예에서, 제제는 독소 또는 이의 단편이다. 일부 구현예에서, 제제는 (a) 아우리스타틴 화합물; (b) 칼리케아미신 화합물; (c) 두오카르마이신 화합물; (d) SN38, (e) 피롤로벤조디아제핀; (f) 빙카 화합물; (g) 튜볼리신 화합물; (h) 비천연 캄포테신 화합물; (i) 메이탄시노이드 화합물; (j) DNA 결합 약물; (k) 키나제 억제제; (l) MEK 억제제; (m) KSP 억제제; (n) 토포이 소머라제 억제제; (o) DNA 알킬화 약물; (p) RNA 중합효소 억제제; 또는 이의 유사체이다. 일부 구현예에서, 제제는 링커를 통해 NaPi2b 표적화 항체에 접합된다. 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 링커는 비절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 제제는 본원에 기재된 임의의 독소이다.

[0110] 일 양태에서, 본원에 기재된 NaPi2b 표적화 항체 접합체는 하나 이상의 치료제 또는 진단제("D")에 직접 또는 간접적으로 연결된, 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535를 포함한다. 일부 구현예에서, NaPi2b 표적화 항체 접합체는 또한 항체에 연결된 하나 이상의 중합체 스캐폴드를 포함하고, 하나 이상의 D 각각은 독립적으로 하나 이상의 중합체 스캐폴드를 통해 항체에 연결된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 D는 AF-HPA이다.

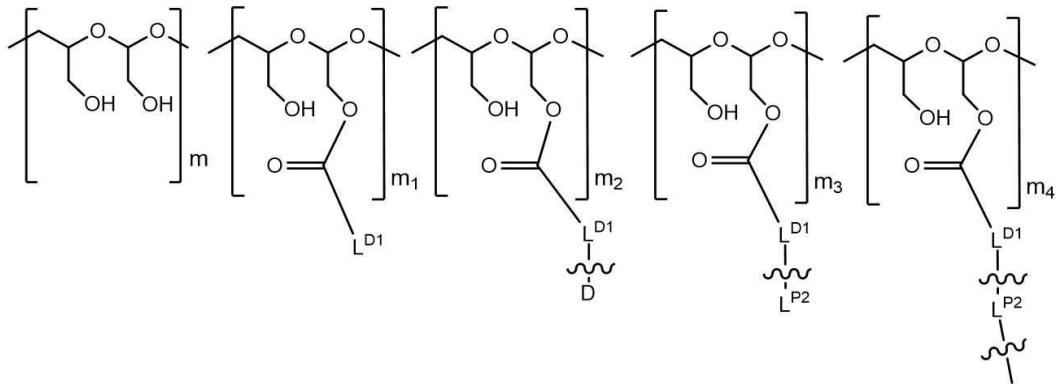
[0111] 일부 구현예에서, XMT-1535에 연결된 하나 이상의 중합체 스캐폴드 각각은 폴리(1-하이드록시메틸에틸렌 하이드록시메틸-포르말)(PHF), 예컨대, 약 2 kDa 내지 약 40 kDa 범위의 분자량을 갖는 PHF를 포함한다. 다른 구현예에서, PHF는 약 2 kDa 내지 약 20 kDa 범위의 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, PHF는 약 3 kDa 내지 약 15 kDa 범위의 분자량을 갖는다. 다른 구현예에서, PHF는 약 5 kDa 내지 약 10 kDa 범위의 분자량을 갖는다.

[0112] 일부 구현예에서, PHF는 약 6 kDa 내지 약 8 kDa 범위의 분자량을 갖는다.

[0113] 일부 구현예에서, PHF는 약 6 kDa 내지 약 7 kDa 범위의 분자량을 갖는다.

[0114]

일부 구현예에서, 하나 이상의 중합체 스캐폴드 각각은 독립적으로 식 (I)이다:



(I),

[0115]

상기 식에서:

[0116]

L^{D1} 은 카르보닐 함유 모이어티이고;

[0117]

—C(=O)-L^{D1}- ξ -D에서 —C(=O)-L^{D1}- ξ -의 각각의 발생은 독립적으로 생분해성 결합을 함유하는 제1 링커이므로, 결합이 파괴될 때, D는 그의 의도된 치료적 효과를 위해 활성 형태로 방출되며; L^{D1} 및 D 사이의 —C(=O)-L^{D1}- ξ -D에서 ξ 는 L^{D1} 에 대한 D의 직접 또는 간접 부착을 나타내고;

[0118]

—C(=O)-L^{D1}- ξ -L^{P2}의 각각의 발생은 독립적으로 단리된 항체에 아직 연결되지 않는 제2 링커이며, L^{P2} 는 단리된 항체의 작용기와 공유 결합을 아직 형성하지 않은 작용기를 함유하는 모이어티이고, L^{D1} 및 L^{P2} 사이의 ξ 는 L^{D1} 에 대한 L^{P2} 의 직접 또는 간접 부착을 나타내고, 제2 링커의 각각의 발생은 제1 링커의 각각의 발생과 구별되며;

[0119]

—C(=O)-L^{D1}- ξ -L^{P2}- ξ -의 각각의 발생은 독립적으로 각각의 D 함유 중합체 스캐폴드를 단리된 항체에 연결하는 제3 링커이고, 여기서 L^{P2} 에 부착된 말단 ξ 는 L^{P2} 의 작용기 및 단리된 항체의 작용기 사이에 공유 결합의 형성시 단리된 항체에 대한 L^{P2} 의 직접 또는 간접 부착을 나타내며; 제3 링커의 각각의 발생은 제1 링커의 각각의 발생과 구별되고;

[0120]

m은 1 내지 약 300의 정수이고,

[0121]

m_1 은 1 내지 약 140의 정수이며,

[0122]

m_2 는 1 내지 약 40의 정수이고,

[0123]

m_3 은 0 내지 약 18의 정수이며,

[0124]

m_4 는 1 내지 약 10의 정수이고;

[0125]

m, m_1 , m_2 , m_3 , 및 m_4 의 합은 약 15 내지 약 300의 범위이며;

[0126]

단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 10개 이하이다.

[0127]

본원에 기재된 접합체는 하기 특징 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 예를 들어, 식 (I)에서, m_1 은 1 내지 약 120(예컨대, 약 1-90)의 정수이고/거나 m_3 은 1 내지 약 10(예컨대, 약 1-8)의 정수이다.

- [0129] 예를 들어, 식 (I)에서 PHF가 약 6 kDa 내지 약 20 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우(즉, m , m_1 , m_2 , m_3 , 및 m_4 의 합은 약 45 내지 약 150의 범위임), m_2 는 2 내지 약 20의 정수이고, m_3 은 0 내지 약 9의 정수이며, m_4 는 1 내지 약 10의 정수이고/거나 m_1 은 1 내지 약 75의 정수이다(예컨대, m_1 은 약 4-45임).
- [0130] 예를 들어, 식 (I)에서 PHF가 약 8 kDa 내지 약 15 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우(즉, m , m_1 , m_2 , m_3 , 및 m_4 의 합은 약 60 내지 약 110의 범위임), m_2 는 2 내지 약 15의 정수이고, m_3 은 0 내지 약 7의 정수이며, m_4 는 1 내지 약 10의 정수이고/거나, m_1 은 1 내지 약 55의 정수이다(예컨대, m_1 은 약 4-30임).
- [0131] 예를 들어, 식 (I)에서 PHF가 약 2 kDa 내지 약 20 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우(즉, m , m_1 , m_2 , m_3 , 및 m_4 의 합은 약 15 내지 약 150의 범위임), m_2 는 1 내지 약 20의 정수이고, m_3 은 0 내지 약 10의 정수이며(예컨대, m_3 은 0 내지 약 9의 범위임), m_4 는 1 내지 약 8의 정수이고/거나, m_1 은 1 내지 약 70의 정수이고, 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 2 내지 약 8의 범위(예컨대, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8)이다.
- [0132] 예를 들어, 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 2 내지 약 6의 범위(예컨대, 약 2, 3, 4, 5 또는 6)이다.
- [0133] 예를 들어, 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 3 내지 약 6의 범위(예컨대, 약 3, 4, 5 또는 6)이다.
- [0134] 예를 들어, 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 3 내지 약 5의 범위(예컨대, 약 3, 4, 또는 5)이다.
- [0135] 예를 들어, 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 2 내지 약 4의 범위(예컨대, 약 2, 3 또는 4)이다.
- [0136] 예를 들어, 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 3 내지 약 4의 범위(예컨대, 약 3 또는 4)이다.
- [0137] 예를 들어, 식 (I)에서 PHF가 약 3 kDa 내지 약 15 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우(즉, m , m_1 , m_2 , m_3 , 및 m_4 의 합은 약 20 내지 약 110의 범위임), m_2 는 2 내지 약 15의 정수이고, m_3 은 0 내지 약 8의 정수이며(예컨대, m_3 은 0 내지 약 7의 범위임), m_4 는 1 내지 약 8의 정수이고/거나, m_1 은 2 내지 약 50의 정수이며, 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 2 내지 약 8의 범위(예컨대, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8)이다.
- [0138] 예를 들어, 식 (I)에서 PHF가 약 5 kDa 내지 약 10 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우(즉, m , m_1 , m_2 , m_3 , 및 m_4 의 합은 약 40 내지 약 75의 범위임), m_2 는 약 2 내지 약 10의 정수이고(예컨대, m_2 는 약 3-10임), m_3 은 0 내지 약 5의 정수이며(예컨대, m_3 은 0 내지 약 4의 범위임), m_4 는 1 내지 약 8의 정수이고/거나(예컨대, m_4 는 1 내지 약 5의 범위임), m_1 은 약 2 내지 약 35의 정수이며(예컨대, m_1 은 약 5-35임), 단리된 항체에 연결된 L^{P2} 의 총 개수는 약 2 내지 약 8의 범위(예컨대, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8)이다.
- [0139] 예를 들어, D의 각각의 발생은 독립적으로, 예컨대, ≤ 5 kDa의 분자량을 갖는 치료제이다.
- [0140] 예를 들어, D의 각각의 발생은 독립적으로 진단제 또는 표지이다.
- [0141] 예를 들어, D의 일부 발생은 독립적으로 치료제(예컨대, ≤ 5 kDa의 분자량을 갖는 치료제)이고, D의 다른 발생은 진단제 또는 표지이다.
- [0142] 예를 들어, D의 각각의 발생은 독립적으로, 예를 들어, 빈카 알칼로이드, 아우리스타틴, 튜불리신, 두오카르마이신, 비천연 캄포테신 화합물, 메이탄시노이드, 칼리케아미신 화합물, 토포이소머라제 억제제, 피롤로벤조디아제핀, DNA 결합 약물, DNA 알킬화 약물, RNA 중합효소 억제제, 키나제 억제제, MEK 억제제, KSP 억제제, 및 이의 유사체로부터 선택된 항암 약물이다.
- [0143] 예를 들어, 아우리스타틴 화합물의 각각의 발생은 아우리스타틴, 돌라스타틴(예컨대, 돌라스타틴 10 또는 돌라스타틴 15), 모노메틸아우리스타틴 E(MMAE), 모노메틸아우리스타틴 F(MMAF), 아우리스타틴 F 하이드록시프로필 아미드(AF HPA), 모노메틸아우리스타틴 F 하이드록시프로필 아미드(AF HPA), 또는 아우리스타틴 F 폐닐렌디아민(AFP)이다.
- [0144] 예를 들어, 두오카르마이신 또는 이의 유사체의 각각의 발생은 두오카르마이신 A, 두오카르마이신 B1, 두오카르

마이신 B2, 두오카르마이신 C1, 두오카르마이신 C2, 두오카르마이신 D, 두오카르마이신 SA, CC-1065, 아도젤레신, 비겔레신, 또는 카르겔레신이다.

[0145] 예를 들어, 캄포테신 화합물의 각각의 발생은 캄포테신, CPT-11(이리노테칸), SN-38, 또는 토포테칸이다.

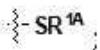
[0146] 예를 들어, 피롤로벤조디아제핀 화합물의 각각의 발생은 피롤로벤조디아제핀 단량체, 대칭 피롤로벤조디아제핀 이량체 또는 비대칭 피롤로벤조디아제핀 이량체이다.

[0147] 예를 들어, 각각의 $\text{---L}^{\text{D1}}\text{---}\xi\text{---L}^{\text{P2}}$ 는, 단리된 항체에 연결되지 않은 경우, 독립적으로 말단기 W^{P} 를 포함하고, 여기서 각각의 W 는 독립적으로 하기이며:

(1)



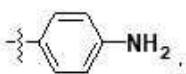
(2)



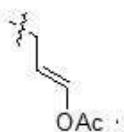
(3)



(4)



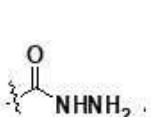
(5)



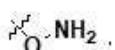
(6)



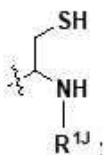
(7)



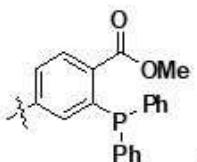
(8)



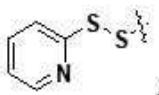
(9)



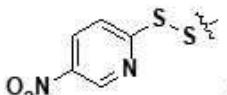
(10)



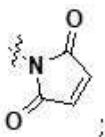
(11)



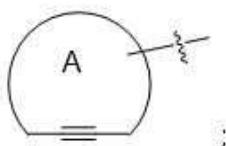
(12)



(13)



(14)



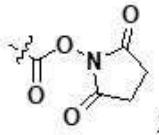
(15)



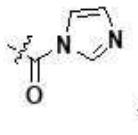
(16)



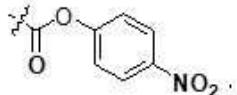
(17)



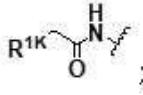
(18)



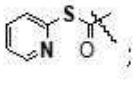
(19)



(20)

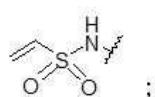


(21)

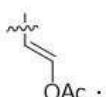


[0148]

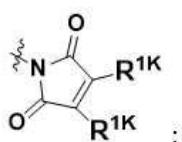
(22)



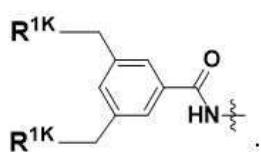
(23)



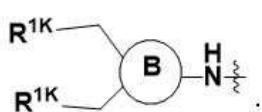
(24)



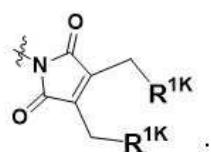
(25)



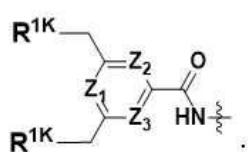
(26)



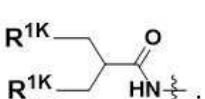
(27)



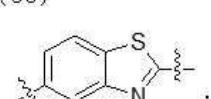
(28)



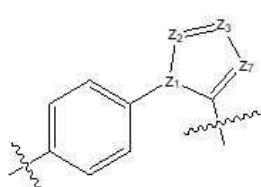
(29)



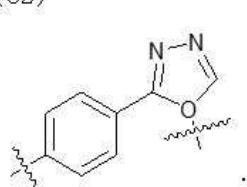
(30)



(31)



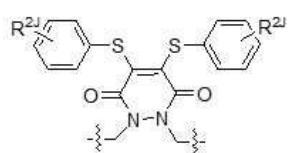
(32)



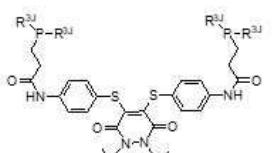
(33)



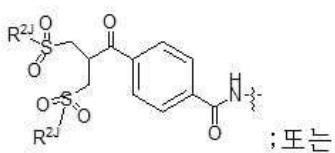
(34)



(35)

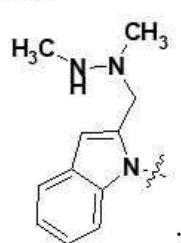


(36)

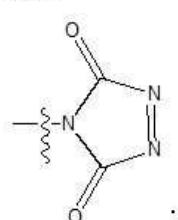


[0149]

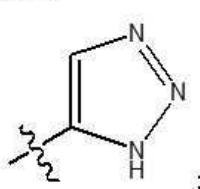
(37)



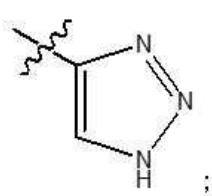
(38)



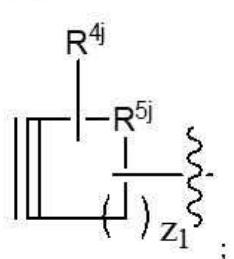
(39)



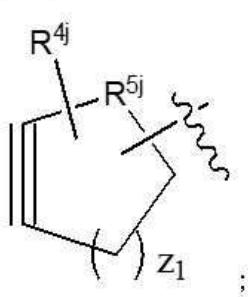
(40)



(41)



(43)



[0150]

[0151] 상기 식에서

[0152] 고리 A는 사이클로알킬 또는 헤테로사이클로알킬이고;

[0153] 고리 B는 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴이며;

[0154] R^{1K} 는 이탈기이고;

[0155] R^{1A} 는 황 보호기이며;

[0156] R^{1J} 는 수소, 지방족, 헤테로지방족, 카르보사이클릭, 또는 헤테로사이클로알킬 모이어티이고;

[0157] R^{2J} 는 수소, 지방족, 아릴, 헤테로지방족, 또는 카르보사이클릭 모이어티이며;

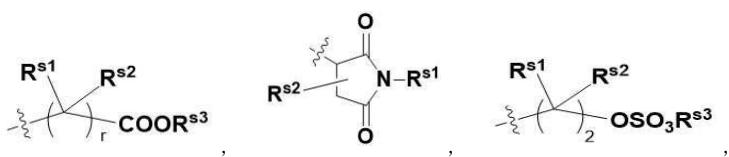
[0158] R^{3J} 는 C_{1-6} 알킬이고, Z_1 , Z_2 , Z_3 및 Z_7 각각은 독립적으로 탄소 또는 질소 원자이며;

[0159] R^{4j} 는 수소, 할로겐, OR, $-NO_2$, $-CN$, $-S(O)_2R$, C_{1-24} 알킬(예컨대, C_{1-6} 알킬), 또는 6-24원 아릴 또는 헤테로아릴이고, C_{1-24} 알킬(예컨대, C_{1-6} 알킬), 또는 6-24원 아릴 또는 헤테로아릴은 선택적으로 하나 이상의 아릴 또는 헤테로아릴로 치환되거나; 또는 2개의 R^{4j} 는 함께 어닐레이트된(annelated) 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴을 형성하며; R은 수소, 알킬, 헤테로알킬, 사이클로알킬, 또는 헤테로사이클로알킬이고;

[0160] R^{5j} 는 $C(R^{4j})_2$, O, S 또는 NR이며;

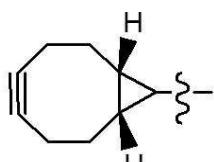
[0161] z_1 은 정수 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다.

[0162] 예를 들어, 각각의 R^{1A} 는 독립적으로



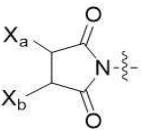
R^{s1} $COOR^{s3}$
 R^{s1} $COOR^{s3}$ 이고, 여기서 r은 1 또는 2이며, R^{s1} , R^{s2} , 및 R^{s3} 각각은 수소, 지방족, 헤테로지방족, 카르보사이클릭, 또는 헤테로사이클로알킬 모이어티이다.

[0163] 예를 들어, 고리 A는 ; 또는 또는 R^{6j} 일 수 있고; 여기서 R^{6j} 는 수소, 할로겐, C_{1-24} 알킬(예컨대, C_{1-6} 알킬), 또는 6-24원 아릴 또는 헤테로아릴이며, C_{1-24} 알킬(예컨대, C_{1-6} 알킬), 또는 6-24원 아릴 또는 헤테로아릴은 선택적으로 하나 이상의 아릴 또는 헤테로아릴로 치환된다.

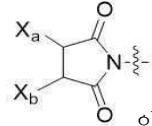


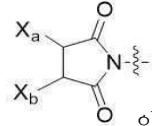
[0164] 예를 들어, 고리 A는 일 수 있다.

[0165] 예를 들어, 단리된 항체의 작용기(예컨대, 항체의 아미노산 잔기 상의 작용기 또는 반응성 모이어티, 예를 들어, 항체의 시스테인 잔기 또는 리신 잔기 상의 작용기)와 아직 공유 결합을 형성하지 않은 L^{P2} 의 작용기는



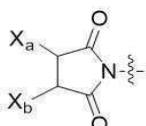
$-SR^P$, $-S-S-LG$, 및 할로로부터 선택되고, 여기서 LG 는 이탈기이며, R^P 는 H 또는 황 보호기이고, X_a 및 X_b 중 하나는 H 이며, 다른 하나는 수용성 말레이미도 차단 모이어티이거나, 또는 X_a 및 X_b 는 이들이 부착되는 탄소 원자와 함께 탄소-탄소 이중 결합을 형성한다. 예를 들어, 아직 공유 결합을 형성하지 않은 L^{P2} 의 작

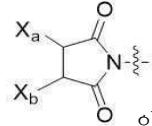


용기는 단리된 항체의 작용기와 반응하지 않은 작용기이며, 예컨대, L^{P2} 의 작용기로서 이며, 여기서 X_a 및 X_b 중 하나는 H 이고, 다른 하나는 수용성 말레이미도 차단 모이어티이거나, 또는 X_a 및 X_b 이다.

[0166] 예를 들어, $\text{---C}(=\text{O})\text{---L}^{D1}\text{---}\xi\text{---}$ 의 카르보닐기에 직접 연결된 X 를 갖는 $-\text{X}-(\text{CH}_2)_v\text{---C}(=\text{O})-$ 를 포함하고, 여기서 X 는 CH_2 , O , 또는 NH 이며, v 는 1 내지 6의 정수이다.

[0167] 예를 들어, $\text{---C}(=\text{O})\text{---L}^{D1}\text{---}\xi\text{---L}^{P2}$ 의 각각의 발생은 독립적으로 $-\text{C}(=\text{O})\text{---X}-(\text{CH}_2)_v\text{---C}(=\text{O})\text{---NH}-(\text{CH}_2)_u\text{---NH}\text{---C}(=\text{O})\text{---}(\text{CH}_2)_w\text{---}(\text{OCH}_2)_x\text{---NHC}(=\text{O})\text{---}(\text{CH}_2)_y\text{---M}$ 이고, 여기서 X 는 CH_2 , O , 또는 NH 이며, v , u , w , x 및 y 각각은 독립적으로 1



내지 6의 정수이고, M 은 이며, 여기서 X_a 및 X_b 중 하나는 H 이고 다른 하나는 수용성 말레이미도 차단 모이어티이거나, 또는 X_a 및 X_b 는 이들이 부착되는 탄소 원자와 함께 탄소-탄소 이중 결합을 형성한다.

[0168] 예를 들어, v , u , w , x 및 y 각각은 2이다.

[0169] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 25:1, 24:1, 23:1, 22:1, 21:1, 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 또는 1:1이다.

[0170] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 2:1 또는 1:1이다.

[0171] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1 또는 10:1이다.

[0172] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 15:1, 14:1, 13:1, 12:1 또는 11:1이다.

[0173] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 15:1, 14:1, 13:1 또는 12:1이다.

[0174] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 14:1, 13:1 또는 12:1이다.

[0175] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 13:1 또는 12:1이다.

[0176] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 12:1이다.

[0177] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1이다.

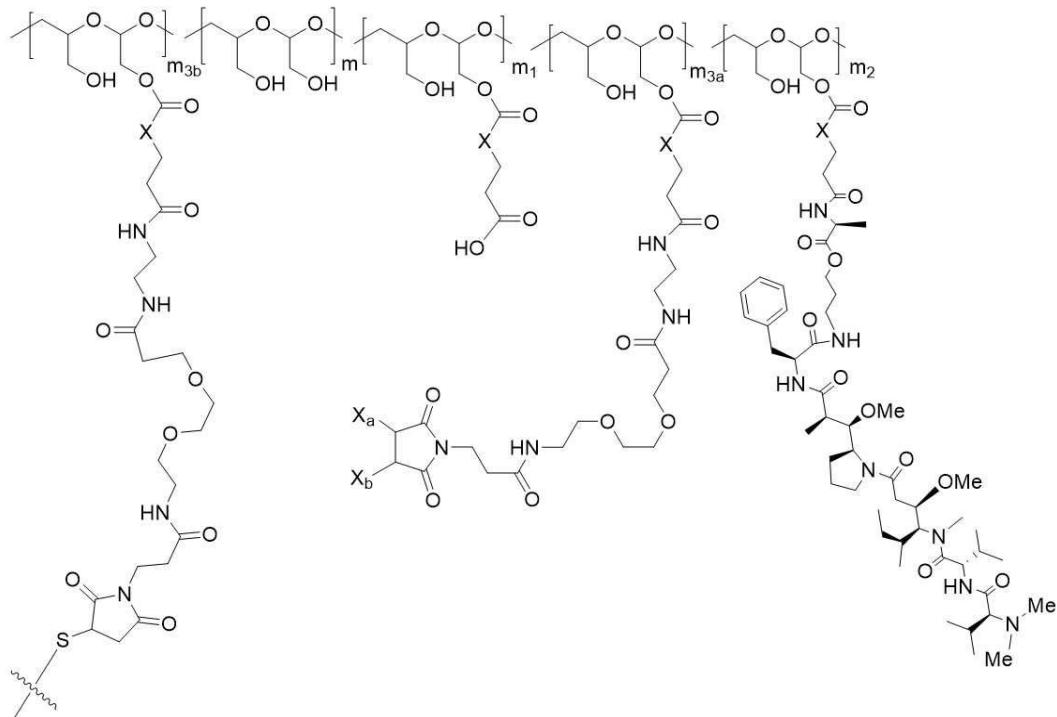
[0178] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 13:1, 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1이다.

[0179] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1이다.

[0180] 예를 들어, D 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 11:1, 10:1 또는 9:1이다.

[0181]

예를 들어, 하나 이상의 D 함유 중합체 스캐폴드 각각은 독립적으로 식 (II)이다:



(II),

[0182]

상기 식에서:

[0183]

m_{3a} 는 0 내지 약 17의 정수이고,

[0184]

m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이며,

 $\begin{cases} \text{---} \\ \text{---} \end{cases}$

[0185]

말단 $\begin{cases} \text{---} \\ \text{---} \end{cases}$ 는 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535에 대한 하나 이상의 중합체 스캐폴드의 직접 부착을 나타낸다. 식 (II)의 스캐폴드는 하기 특징 중 하나 이상을 포함할 수 있다:

[0186]

m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 18이다.

[0187]

식 (II)에서 PHF가 약 2 kDa 내지 약 40 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우, m , m_1 , m_2 , m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 약 15 내지 약 300의 범위이고, m_1 은 1 내지 약 140의 정수이며, m_2 는 1 내지 약 40의 정수이고, m_{3a} 는 0 내지 약 17의 정수이며, m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고, m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 18의 범위이며, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 10 이하이다.

[0188]

식 (II)에서 PHF가 약 2 kDa 내지 약 20 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우, m , m_1 , m_2 , m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 약 15 내지 약 150의 범위이고, m_1 은 1 내지 약 70의 정수이며, m_2 는 1 내지 약 20의 정수이고, m_{3a} 는 0 내지 약 9의 정수이며, m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고, m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 10의 범위이며, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 2 내지 약 8(예컨대, 약 2 내지 약 6 또는 약 2 내지 약 4)의 정수이다.

[0189]

식 (II)에서 PHF가 약 3 kDa 내지 약 15 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우, m , m_1 , m_2 , m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 약 20 내지 약 110의 범위이고, m_1 은 2 내지 약 50의 정수이며, m_2 는 2 내지 약 15의 정수이고, m_{3a} 는 0 내지 약 7의 정수이며, m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고, m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 8의 범위이며; PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 2 내지 약 8(예컨대, 약 2 내지 약 6 또는 약 2 내지 약 4)의 정수이다.

[0190]

식 (II)에서 PHF가 약 5 kDa 내지 약 10 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우, m , m_1 , m_2 , m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 약 40 내지 약 75의 범위이고, m_1 은 약 2 내지 약 35의 정수이며, m_2 는 약 2 내지 약 10의 정수이고, m_{3a} 는 약 2 내지

약 4의 정수이며, m_{3b} 는 1 내지 약 5의 정수이고, m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 5의 범위이며; PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 2 내지 약 8(예컨대, 약 2 내지 약 6 또는 약 2 내지 약 4)의 정수이다.

[0192] 특정 구현예에서, 아우리스타틴 F 하이드록시프로필 아미드("AF HPA") 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 30:1, 29:1, 28:1, 27:1, 26:1, 25:1, 24:1, 23:1, 22:1, 21:1, 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1 또는 6:1일 수 있다.

[0193] 특정 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 25:1, 24:1, 23:1, 22:1, 21:1, 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1 또는 6:1일 수 있다.

[0194] 다른 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535 사이의 비율은 약 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1 또는 6:1일 수 있다.

[0195] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1 또는 10:1일 수 있다.

[0196] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 15:1, 14:1, 13:1, 12:1 또는 11:1일 수 있다.

[0197] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 15:1, 14:1, 13:1 또는 12:1일 수 있다.

[0198] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 14:1, 13:1 또는 12:1일 수 있다.

[0199] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 13:1 또는 12:1일 수 있다.

[0200] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 12:1일 수 있다.

[0201] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.

[0202] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 13:1, 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.

[0203] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.

[0204] 일부 구현예에서, AF HPA 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.

[0205] 특정 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 또는 1:1일 수 있다.

[0206] 특정 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1 또는 2:1일 수 있다.

[0207] 다른 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 또는 1:1일 수 있다.

[0208] 다른 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 6:1, 5:1, 4:1, 3:1 또는 2:1일 수 있다.

[0209] 다른 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 6:1, 5:1, 4:1 또는 3:1일 수 있다.

[0210] 일부 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 5:1, 4:1 또는 3:1일 수 있다.

[0211] 일부 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 4:1, 3:1 또는 2:1일 수 있다.

[0212] 일부 구현예에서, PHF 및 단리된 NaPi2b 표적화 항체 사이의 비율은 약 4:1 또는 3:1일 수 있다.

[0213] 수용성 말레이미도 차단 모이어티(예컨대, X_a 또는 X_b)는 말레이미도기와 식 (II)의 티올 함유 화합물의 반응시 2개의 올레핀 탄소 원자 중 하나에 공유적으로 부착될 수 있는 모이어티이며:

[0214] $R_{90}-(CH_2)_d-SH$

[0215] (II)

[0216] 상기 식에서:

[0217] R_{90} 은 NHR_{91} , OH , $COOR_{93}$, $CH(NHR_{91})COOR_{93}$ 또는 치환된 페닐기이고;

[0218] R_{93} 은 수소 또는 C_{1-4} 알킬이며;

[0219] R_{91} 은 수소, CH_3 또는 CH_3CO 이고;

[0220] d 는 1 내지 3의 정수이다.

[0221] 일 구현예에서, 식 (II)의 수용성 말레이미도 차단 화합물은 시스테인, N-아세틸 시스테인, 시스테인 메틸 에스테르, N-메틸 시스테인, 2-머캅토에탄올, 3-머캅토프로판산, 2-머캅토아세트산, 머캅토메탄올(즉, $HOCH_2SH$), 페닐이 하나 이상의 친수성 치환기로 치환된 벤질 티올, 또는 3-아미노프로판-1-티올일 수 있다. 페닐 상의 하나 이상의 친수성 치환기는 OH , SH , 메톡시, 에톡시, $COOH$, CHO , COC_{1-4} 알킬, NH_2 , F , 시아노, SO_3H , PO_3H 등을 포함한다.

[0222] 또 다른 양태에서, 수용성 말레이미도 차단기는 $-S-(CH_2)_d-R_{90}$ 이며, 여기서,

[0223] R_{90} 은 OH , $COOH$, 또는 $CH(NHR_{91})COOR_{93}$ 이고;

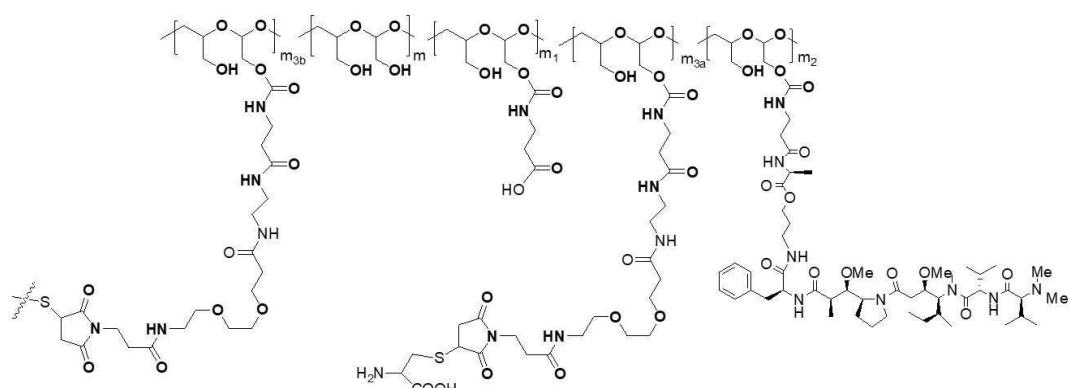
[0224] R_{93} 은 수소 또는 CH_3 이며;

[0225] R_{91} 은 수소 또는 CH_3CO 이고;

[0226] d 는 1 또는 2이다.

[0227] 또 다른 구현예에서, 수용성 말레이미도 차단기는 $-S-CH_2-CH(NH_2)COOH$ 이다.

[0228] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 접합체는 하나 이상의 D 합유 PHF를 포함하고, 이들 각각은 독립적으로 식 (III)이며, PHF는 약 2 kDa 내지 약 40 kDa 범위의 분자량을 갖고:



(III)

[0229]

상기 식에서:

[0230] m 은 1 내지 약 300의 정수이고,

[0231] m_1 은 1 내지 약 140의 정수이며,

[0232] m_2 는 1 내지 약 40의 정수이고,

[0233] m_3a 는 0 내지 약 17의 정수이며,

- [0235] m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고;
- [0236] m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 18의 범위이며;
- [0237] m , m_1 , m_2 , m_{3a} , 및 m_{3b} 의 합은 약 15 내지 약 300의 범위이고;
- [0238] 말단 $-\xi-$ 는 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535에 대한 하나 이상의 PHF 중합체 스캐폴드의 부착을 나타내며,
- [0239] PHF 및 항체 사이의 비율은 10 이하이다.
- [0240] 식 (III)의 스캐폴드는 하기 특징 중 하나 이상을 포함할 수 있다:
- [0241] 식 (III)에서 PHF가 약 2 kDa 내지 약 20 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우, m , m_1 , m_2 , m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 약 15 내지 약 150의 범위이고, m_1 은 1 내지 약 70의 정수이며, m_2 는 1 내지 약 20의 정수이고, m_{3a} 는 0 내지 약 9의 정수이며, m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고, m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 10의 범위이며, PHF 및 항체 사이의 비율은 2 내지 약 8의 정수이다.
- [0242] 식 (III)에서 PHF가 약 3 kDa 내지 약 15 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우, m , m_1 , m_2 , m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 약 20 내지 약 110의 범위이고, m_1 은 2 내지 약 50의 정수이며, m_2 는 2 내지 약 15의 정수이고, m_{3a} 는 0 내지 약 7의 정수이며, m_{3b} 는 1 내지 약 8의 정수이고, m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 8의 범위이며; PHF 및 항체 사이의 비율은 2 내지 약 8(예컨대, 약 2 내지 약 6 또는 약 2 내지 약 4)의 정수이다.
- [0243] 식 (III)에서 PHF가 약 5 kDa 내지 약 10 kDa 범위의 분자량을 갖는 경우, m , m_1 , m_2 , m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 약 40 내지 약 75의 범위이고, m_1 은 약 2 내지 약 35의 정수이며, m_2 는 약 2 내지 약 10의 정수이고, m_{3a} 는 약 2 내지 약 4의 정수이며, m_{3b} 는 1 내지 약 5의 정수이고, m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 5의 범위이며; PHF 및 항체 사이의 비율은 2 내지 약 8(예컨대, 약 2 내지 약 6 또는 약 2 내지 약 4)의 정수이다.
- [0244] 특정 구현예에서, 아우리스타틴 F 하이드록시프로필 아미드("AF HPA") 및 항체 사이의 비율은 약 30:1, 29:1, 28:1, 27:1, 26:1, 25:1, 24:1, 23:1, 22:1, 21:1, 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1 또는 6:1일 수 있다.
- [0245] 특정 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 25:1, 24:1, 23:1, 22:1 21:1, 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1 또는 6:1일 수 있다.
- [0246] 다른 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1 또는 6:1일 수 있다.
- [0247] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1 또는 10:1일 수 있다.
- [0248] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 15:1, 14:1, 13:1, 12:1 또는 11:1일 수 있다.
- [0249] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 15:1, 14:1, 13:1 또는 12:1일 수 있다.
- [0250] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 14:1, 13:1 또는 12:1일 수 있다.
- [0251] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 13:1 또는 12:1일 수 있다.
- [0252] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 12:1일 수 있다.
- [0253] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.
- [0254] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 13:1, 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.
- [0255] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 12:1, 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.
- [0256] 일부 구현예에서, AF HPA 및 항체 사이의 비율은 약 11:1, 10:1 또는 9:1일 수 있다.
- [0257] 특정 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 또는 1:1일

수 있다.

[0258] 특정 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1 또는 2:1일 수 있다.

[0259] 다른 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 또는 1:1일 수 있다.

[0260] 다른 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 6:1, 5:1, 4:1, 3:1 또는 2:1일 수 있다.

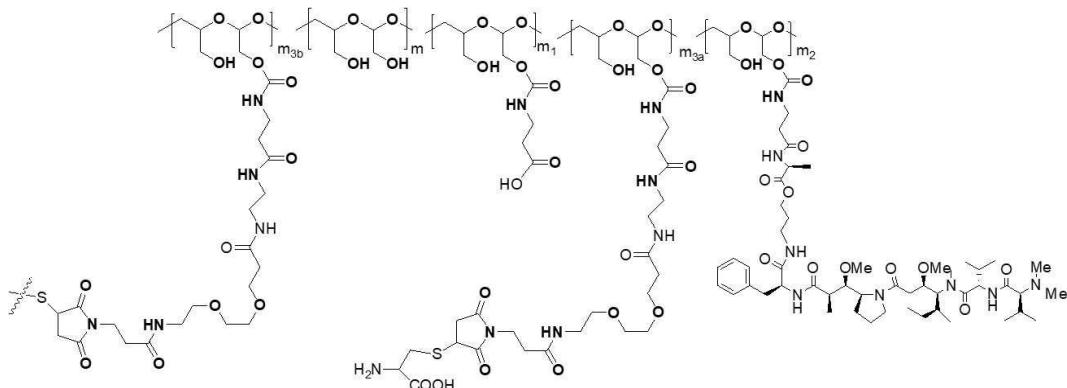
[0261] 다른 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 6:1, 5:1, 4:1 또는 3:1일 수 있다.

[0262] 일부 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 5:1, 4:1 또는 3:1일 수 있다.

[0263] 일부 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 4:1, 3:1 또는 2:1일 수 있다.

[0264] 일부 구현예에서, PHF 및 항체 사이의 비율은 약 4:1 또는 3:1일 수 있다.

[0265] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 접합체에서, 식 (III)의 D 함유 중합체 스캐폴드는 식 (IV)이며, 여기서 중합체는 약 5 kDa 내지 약 10 kDa 범위의 분자량을 갖는 PHF이고:



(IV)

[0266] 상기 식에서:

[0267] m 은 30 내지 약 35의 정수이고,

[0268] m_1 은 8 내지 약 10의 정수이며,

[0269] m_2 는 2 내지 약 5의 정수이고,

[0270] m_{3a} 는 0 내지 약 1의 정수이며,

[0271] m_{3b} 는 1 내지 약 2의 정수이고;

[0272] m_{3a} 및 m_{3b} 의 합은 1 내지 약 4의 범위이며;

[0273] [0274] 말단 $\text{--}\overset{\text{S}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}--$ 는 단리된 NaPi2b 표적화 항체 XMT-1535에 대한 하나 이상의 PHF 중합체 스캐폴드의 부착을 나타내고,

[0275] PHF 및 항체 사이의 비율은 약 3 내지 약 5이다.

본 발명의 진단, 예측, 및 예후 방법

[0276] 다양한 양태에서, 본 발명은 환자로부터 수득된 종양 샘플에서 상태 NaPi2b 발현을 측정하고, 종양 샘플에서의 NaPi2b의 발현에 기초하여 치료를 위한 환자를 확인함으로써 NaPi2b 표적 요법을 받아들이는 암 환자를 확인하는 방법을 제공한다.

[0277] 구체적으로, 본 발명은 NaPi2b의 발현 수준에 기초하여, NaPi2b 표적화된, 예컨대 WO 제2017/160754호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료에 반응할 암 환자와 반응하지 않을 암 환자를 구별하는 방법을 제공한다. NaPi2b 발현 프로파일은 치료에 대해 양호하거나 열악한 반응을 갖는 환자와 상관관계가 있다

(그리고 이들을 구별할 수 있음).

- [0279] 다른 구현예에서, 본 발명은 환자의 암세포 샘플에서의 NaPi2b 발현을 대조군 NaPi2b 프로파일과 비교하여 환자에 대한 가능한 임상 또는 치료 결과, 또는 자연적인 생물학적 결과를 결정하는 방법을 포함한다. 이러한 본 발명의 구현예는 환자가 주어진 치료 유형으로부터 이익을 받을 가능성이 있는지 또는 환자가 또 다른 유형의 치료로 더 나아질지 여부를 예측하는 능력에 대한 중요한 충족되지 않은 진단 요구를 충족시키는데 유리하게 사용될 수 있다. 예를 들어, 높은 NaPi2b 발현 수준 값은 WO 제2017/160574호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 대한 반응과 강하게 연관될 수 있다.
- [0280] 본 발명의 방법은 객관적인 단백질 발현 패턴을 제공하며, 이는 단독으로 또는 주관적 기준과 조합하여 사용되어 생존 및 암의 재발을 포함한 환자 결과의 보다 정확한 평가를 제공할 수 있다.
- [0281] 다양한 양태에서, 본 발명은 환자로부터 수득된 종양 샘플에서 NaPi2b 발현을 측정함으로써 비정상적인 NaPi2b 발현과 관련된 질환 또는 장애를 확인 및/또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [0282] 본 발명의 방법은 객관적인 단백질 발현 패턴을 제공하며, 이는 단독으로 또는 주관적 기준과 조합하여 사용되어 NSCLC의 보다 정확한 진단을 제공할 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 환자로부터 수득된 종양 샘플에서 NaPi2b 발현을 측정함으로써 환자에서 NSCLC를 진단하는 방법을 제공한다. 구체적으로, 본 발명은 환자로부터 수득된 종양 샘플에서 NaPi2b 발현을 측정하고 종양 샘플에서의 NaPi2b 발현에 기초하여 NSCLC를 선암으로 확인함으로써 NSCLC를 서브타이핑하는 방법을 제공한다. 선택적으로, TTF-1, Napsin A, p63, p40 또는 CH5/6 중 하나 이상의 발현 수준이 추가로 결정된다.
- [0283] 암 환자는 비정상적인 NaPi2b 활성 및/또는 발현과 관련된 질환 또는 장애를 갖는다. 비정상적인 NaPi2b 활성 및/또는 발현과 관련된 질환 또는 장애는 비제한적으로 암을 포함한다. 암은 난소암, 예컨대 상피 난소암, 갑상선암, 대장암, 폐암, 비소세포 폐암(NSCLC), 예컨대 비편평 NSCLC, 유방암, 신장암, 타액관암, 유두 갑상선암, 유두 신암, 타액관 선암, 자궁내막암, 및 담관암일 수 있다.
- [0284] 대상체는 표준 1차(front-line) 화학치료제를 포함하는 화학요법에 불응성이다. 일부 구현예에서, 대상체는 백금 민감성 난소암을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는 백금 불응성 난소암을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는 진행된 난소암을 갖고 암(예컨대, 난소암)을 치료하기 위한 임의의 이전 요법을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 진행된 난소암을 갖고 암(예컨대, 난소암)을 치료하기 위한 임의의 이전 화학요법을 받지 않았다.
- [0285] 샘플은 암을 갖거나 가질 것으로 의심되는 대상체로부터 유래된다. 암 세포의 샘플은 대상체로부터 제거되거나 수득된 조직으로부터 절개된다.
- [0286] 일부 구현예에서, 시험 세포 집단은 생검 샘플로부터의 신선한 동결되지 않은 조직으로부터 유래된다. 다른 구현예에서, 시험 세포 집단은 원발성 또는 전이성 부위로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 시험 세포 집단은 생검 또는 수술 샘플 또는 복수 또는 흉수로부터의 신선한 또는 동결된 조직으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 시험 세포 집단은 생검 또는 수술 샘플로부터의 고정된 조직(예컨대, 포르말린 고정 또는 포르말린 고정된 파라핀 포매된(FFPE)) 또는 유체 표본으로부터 유래된 세포 블록으로부터 유래된다. 조직 샘플은 동결되거나 신선할 수 있다.
- [0287] NaPi2b 표적 요법은 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체(ADC) 요법, 예를 들어, WO 제2017/160754호에 기재된 바와 같은 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체(ADC) 요법을 포함한다.
- [0288] NaPi2b 발현의 필요한 수준은 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 확인되는 수준 및 보다 구체적으로 본원에 기재된 방법에 의해 확인되는 수준일 수 있다.
- [0289] 예를 들어, NaPi2b 발현의 수준은, NaPi2b를 특이적으로 인식하는 항체(예컨대, 본 발명에 따른 키메라 항체)를 사용하여, 공지된 면역학적 분석, 예컨대 효소 면역분석, 방사선면역분석, 경쟁적 면역분석, 이중 항체 샌드위치 분석, 형광면역분석, ELISA, 웨스턴 블로팅 기술, 응집(agglutination) 분석, 세포형광분석법(예컨대, 유세포분석법), 또는 면역조직화학 염색 분석을 수행함으로써 측정될 수 있다. 세포 기반의 분석, 예컨대 유세포분석법(FC), 면역조직화학(IHC), 또는 면역형광(IF)이 본 발명의 방법을 실시하는데 특히 바람직한데, 이러한 분석 포맷은 임상적으로 적합하기 때문이다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은 유세포분석법(FC), 면역조직화학(IHC), 또는 면역형광(IF) 분석 포맷으로 구현된다. 바람직하게는, 방법은 IHC 포맷으로 구현된다.
- [0290] 유세포분석법(FC)은 NaPi2b 발현을 억제하는 것을 표적화하는 약물로 치료하기 전, 동안, 및 후에 종양 샘플에

서 NaPi2b의 세포 표면 발현을 결정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 종양 세포는 NaPi2b 뿐만 아니라 원하는 경우 암 세포 유형을 확인하는 마커 등에 대한 유세포분석법에 의해 분석될 수 있다. 유세포분석법은 표준 방법에 따라 수행될 수 있다. 예컨대 문헌[Chow et al., Cytometry (Communications in Clinical Cytometry) 46: 72-78 (2001)]을 참고한다. 간략하게 그리고 예로서, 하기 세포분석을 위한 프로토콜이 사용될 수 있다: 37°C에서 10분 동안 2% 파라포름알데히드로 세포 고정 후 얼음 상에서 30분 동안 90% 메탄올에서 투과. 이후, 세포는 NaPi2b 특이적 항체로 염색되고, 세척되고, 형광 표지된 이차 항체로 표지될 수 있다. 이후, 세포는 사용된 기기의 특정 프로토콜에 따라 유세포분석기(예컨대, Beckman Coulter FC500) 상에서 분석될 것이다. 이러한 분석은 종양에서 발생된 NaPi2b의 수준을 확인할 것이다.

[0291] 면역조직화학(IHC) 염색은 또한 활성을 억제하는 것을 표적화하는 약물로 치료하기 전, 동안, 및 후에 종양 샘플에서 NaPi2b의 발현을 결정하는데 사용될 수 있다. IHC는 널리 공지된 기술에 따라 수행될 수 있다. 예컨대, 문헌[ANTIBODIES; A LABORATORY MANUAL, Chapter 10, Harlow & Lane Eds., Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]을 참고한다. 간략하게, 그리고 예로서, 파라핀 포매된 조직(예컨대, 생검으로부터의 종양 조직)은 면역조직화학 염색을 위해 조직 절편을 자일렌에 이어 에탄올로 탈파라핀화하고; 물에서 수화한 다음 PBS에서 수화하고; 나트륨 시트레이트 완충액에서 슬라이드를 가열하여 항원을 언마스킹(unmasking)하고; 절편을 과산화수소에서 인큐베이션하고; 차단 용액에서 차단하고; 1차 폴리펩타이드 항체 및 2차 항체에서 슬라이드를 인큐베이션하고; 마지막으로 제조사의 설명서에 따라 ABC 아비딘/바이오틴 방법을 사용하여 검출함으로써 제조된다.

[0292] 면역형광(IF) 분석은 또한 활성을 억제하는 것을 표적화하는 약물로 치료하기 전, 동안, 및 후에 NaPi2b 종양 샘플의 발현을 결정하는데 사용될 수 있다. IF는 널리 공지된 기술에 따라 수행될 수 있다. 예컨대, 문헌[J. M. Polak and S. Van Noorden (1997) INTRODUCTION TO IMMUNOCYTOCHEMISTRY, 2nd Ed.; ROYAL MICROSCOPY SOCIETY MICROSCOPY HANDBOOK 37, BioScientific/Springer-Verlag]을 참고한다. 간략하게, 그리고 예로서, 환자 샘플을 파라포름알데히드에 이어 메탄올에서 고정시키고, 말 혈청과 같은 차단 용액으로 차단하고, 폴리펩타이드에 대한 1차 항체와 함께 인큐베이션한 다음 Alexa 488과 같은 형광 염료로 표지된 2차 항체와 함께 인큐베이션하고, 광학현미경(epifluorescent microscope)으로 분석할 수 있다.

[0293] 전술한 분석에 사용된 항체는 유리하게는 다른 신호 전달(포스포-AKT, 포스포-Erk 1/2) 및/또는 세포 마커(사이토케라틴) 항체와 함께 다중 파라미터 분석에서 사용하기 위해, 형광 염료(예컨대 Alexa488, PE), 또는 다른 표지, 예컨대 양자점에 접합될 수 있다

[0294] 바람직한 구현예에서, 종양으로부터의 샘플에서 NaPi2b의 발현은 면역조직화학적으로 결정된다. 보다 바람직한 구현예에서, 종양으로부터의 샘플에서 NaPi2b의 발현은 본원에 기재된 키메라 항체를 사용하여 면역조직화학적으로(IHC) 결정된다.

[0295] 대안적으로, 분석은 PCR(중합효소 연쇄 반응) 또는 다른 분석 방법에 사용하기 위해, 샘플로부터 RNA를 준비하는 것을 포함할 수 있다. PCR 방법은 선택적으로, 예를 들어, RT-PCR(역전사-PCR) 또는 정량적 PCR, 예를 들어, 실시간 RT-PCR, RNAseq 등이다. 대안적으로, 분석은 관련 분야에 공지된 바와 같은 마이크로어레이와 같은 어레이의 사용에 의해 수행될 수 있다.

[0296] 환자는 치료에 반응성인 것으로 확인되며, 치료는 모니터링되거나 암은 샘플에서 NaPi2b의 발현 수준을 검출 및/또는 측정함으로써 검출된다.

[0297] NaPi2b의 발현 수준의 검출/측정은 NaPi2b 스코어를 계산함으로써 결정된다. NaPi2b 스코어는 정량적 또는 반정량적이다. 예를 들어, 검출은 병리학 스코어에 도달하기 위해 병리학적으로 스코어링된다. 당업계에 공지된 임의의 스코어링 방법, 특히 당업계에 공지된 임의의 조직학적 스코어링 방법이 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 것으로 고려된다.

[0298] 면역조직화학 염색 분석에 의해 수득된 측정 결과를 평가하는 방법은, 예를 들어, H-스코어 방법을 포함한다. H-스코어는 하기 계산식에 의해 결정된다(Am J Clin Pathol. 1988; 90(3): 233-9). $H\text{-스코어} = ((<1\text{+에서의 \%}) X 0) + ((1\text{+에서의 \%}) X 1) + ((2\text{+에서의 \%}) X 2) + ((3\text{+에서의 \%}) X 3)$, 여기서 염색 강도 0은 염색되지 않은 것이며; 염색 강도 1은 약한 염색이고; 염색 강도 2는 중간 염색이며; 염색 강도 3은 강한 염색이다.

[0299] 일부 구현예에서, H-스코어는 0 내지 300의 값일 수 있고, H-스코어가 컷오프 포인트보다 높은 경우, 본 발명의 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체를 사용하는 화학요법에서 항종양 효과가 관찰될 수 있다. 예를 들어, 대상체가 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130 또는 그 이상의 H-스코어를 갖는 경우, 대상체는 본원 및 WO 제2017/160754호에 기재된 바와 같이 NaPi2b 표적화 항체 약물 접합체(ADC) 치료에 반응성이다.

- [0300] H-스코어 방법에 의한 평가에서, 암 세포 부분만이 사용된다. 염색 강도에 대한 음성 또는 양성 대조군의 경우, 포르말린 고정된 파라핀 포매된 세포주 또는 이종이식편(단백질 발현 수준이 미리 알려진 주)이 사용될 수 있다. 대조군 표본이 없는 경우, 복수의 표본이 동시에 평가되어 표본의 염색 강도의 전체 분포를 확인한 다음, 염색 강도가 설정될 수 있다.
- [0301] H-스코어 방법 이외에, 다른 스코어링 방법, 예컨대 Allred 방법(Harvey, et al. *Journal of Clinical Oncology* 17, no. 5 (May 1999) 1474-1474)이 또한 사용될 수 있다. 각각의 방법에서 컷오프 포인트가 설정될 필요가 있다. Allred 스코어 = 양성 세포의 백분율의 스코어 + 염색 강도 스코어. 표본은 또한 NaPi2b 발현에 대해 1+ 또는 2+ 또는 3+의 스코어링을 갖는 것으로 반정량적으로 스코어링될 수 있다.
- [0302] **본 발명의 성능 및 정확성 측정**
- [0303] 본 발명의 성능 및 이에 따른 절대적 및 상대적 임상 유용성은 상기 나타낸 바와 같이 여러 방식으로 평가될 수 있다. 다양한 성능 평가 중에서, 본 발명은 임상 진단 및 예후에서 정확성을 제공하도록 의도된다. 진단, 예측, 또는 예후 시험, 분석, 또는 방법의 정확성은 대상체가 NaPi2b의 수준에서 "유효량" 또는 "유의한 변경"을 갖는지 여부에 기초하여 화학치료적 치료에 반응성인 대상체 및 그렇지 않은 대상체를 구별하는 시험, 분석, 또는 방법의 능력에 관한 것이다. "유효량" 또는 "유의한 변경"은 측정 NaPi2b가 미리 결정된 컷오프 포인트(또는 역치 값)와 상이하다는 것을 의미하며, 따라서 NaPi2b가 결정인자인 요법에 대한 대상체 반응성 또는 무병/전체 생존을 나타낸다.
- [0304] 질환 상태의 범주적 진단에서, 시험(또는 분석)의 컷 포인트 또는 역치 값을 변경하는 것은 일반적으로 민감성 및 특이성을 변경하지만, 정성적으로 역 관계로 민감성 및 특이성을 변경한다. 따라서, 대상체의 상태를 평가하기 위한 제안된 의학적 시험, 분석, 또는 방법의 정확성 및 유용성을 평가하는데 있어서, 항상 민감성 및 특이성 모두를 고려하고 민감성 및 특이성이 보고되고 있는 컷 포인트가 무엇인지 염두에 두어야 하는데, 민감성 및 특이성은 컷 포인트의 범위에 따라 유의하게 달라질 수 있다.
- [0305] **임상 알고리즘의 제작**
- [0306] NaPi2b 결과를 본 발명의 실시에 유용한 지표로 조합하기 위해 임의의 식이 사용될 수 있다. 상기에 나타낸 바와 같이, 그리고 제한 없이, 이러한 지표는 다양한 다른 표시 중에서도, 예를 들어, 화학요법 또는 화학방사선 요법, 즉 NaPi2b 표적 요법, 예컨대 본원에 기재되고 WO 제2017/160754호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료에 반응할 확률, 가능성, 절대적 또는 상대적 확률을 나타낼 수 있다. 이것은 특정 기간 또는 범위에 대한 것일 수 있거나, 또는 남은 평생 위험에 대한 것일 수 있거나, 또는 간단히 또 다른 참조 대상체 집단 대비 지표로서 제공될 수 있다.
- [0307] 다양한 바람직한 식이 본원에 기재되어 있지만, 본원 및 상기 정의에 언급된 것 이외의 여러 다른 모델 및 식 유형이 당업자에게 널리 알려져 있다. 사용된 실제 모델 유형 또는 식 자체는 훈련 집단에서의 그의 결과의 성능 및 진단 정확성 특징에 기초하여 잠재적인 모델의 분야로부터 선택될 수 있다. 식 자체의 세부사항은 일반적으로 관련 훈련 집단에서의 NaPi2b 결과로부터 도출될 수 있다. 다른 용도 종에서, 이러한 식은 하나 이상 입력으로부터 도출된 특징 공간을 대상체 클래스의 세트에 맵핑하거나(예컨대, 대상체의 클래스 멤버십을 정상, 반응자 및 비반응자로서 예측하는데 유용함), 베이지안 접근법을 사용하여 위험(예컨대, 암 또는 전이성 사건의 위험)의 확률 함수의 추정을 도출하거나, 또는 클래스 조건부 확률을 추정한 다음 베이즈 규칙(Bayes' rule)을 사용하여 이전의 경우와 같이 클래스 확률 함수를 생성하기 위한 것이다.
- [0308] **치료 방법**
- [0309] 치료를 위해 선택되면, 환자는 치료적 유효량의 NaPi2b 항체 접합체(예컨대, 본원에 기재되거나 WO 제2017/160754호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체)를 받는다.
- [0310] 따라서, 본 발명은 또한 NaPi2b 항체 접합체(예컨대, 본원에 기재되거나 WO 제2017/160753호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체)를 본원에 기재된 방법에 의해 확인된 대상체에게 투여함으로써 상피 난소암, 갑상선암, 대장암, 폐암, 비소세포 폐암(NSCLC), 예컨대 비편평 NSCLC, 선암, 유방암, 신장암, 타액관암, 유두 갑상선암, 유두 신암, 타액관 선암, 자궁내막암, 및 담관암으로 이루어진 군으로부터 선택된 암을 치료하거나, 예방하거나, 이의 진행을 지연시키거나, 이의 증상을 개선하는 방법을 제공한다. 치료될 대상체는, 예컨대, 인간이다. 접합체는 병리학과 관련된 증상을 치료, 예방 또는 완화시키기에 충분한 양으로 투여된다.
- [0311] 치료적 유효량은 일반적으로 치료 목표를 달성하는데 필요한 양에 관한 것이다. 투여되는데 필요한 양은 또한

그의 특이적 항원에 대한 항체의 결합 친화성에 좌우될 것이며, 또한 투여된 항체가 그가 투여되는 다른 대상체의 자유 부피로부터 고갈되는 속도에 좌우될 것이다. 본원에 개시된 접합체를 이용하는 투여 요법은 또한 환자의 유형, 종, 연령, 체중, 성별 및 의학적 상태; 치료될 상태의 중증도; 투여 경로; 환자의 신장 및 간 기능; 및 사용된 특정 접합체를 포함하는 다양한 다른 인자에 따라 선택된다. 통상의 숙련된 의사 또는 수의사는 상태의 진행을 예방, 대응 또는 정지하는데 필요한 접합체의 유효량을 쉽게 결정하고 처방할 수 있다.

[0312] 본원에 개시된 NaPi2b 항체 접합체의 치료적 유효 투여를 위한 일반적인 범위는, 비제한적인 예로서, 약 0.1 mg/kg 체중 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 0.1 mg/kg 체중 내지 약 100 mg/kg 체중 또는 약 0.1 mg/kg 체중 내지 약 150 mg/kg 체중일 수 있다. 본원에 개시된 범위는 대상체의 체중에 기초하여 투여된 양으로서 표현되고, 당업자는 이를 대상체의 체 표면적당 투여되는 양으로서 쉽게 표현할 수 있다. 예를 들어, 인간 성인에 대한 1 mg/kg 체중은 약 37 mg/m²에 해당하고, 인간 어린이에 대한 1 mg/kg 체중은 약 25 mg/m²에 해당한다.

[0313] 일반적인 투여 빈도는, 예를 들어, 매일 2회 내지 매월 1회(예컨대, 매일 1회, 매주 1회; 격주마다 1회; 3주마다 1회, 4주마다 1회 또는 매월)의 범위일 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 XMT-1535의 접합체는 약 0.1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg(예컨대, 0.2 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.67 mg/kg, 0.8 mg/kg, 1 mg/kg, 1.25 mg/kg, 1.67 mg/kg, 2 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg, 또는 20 mg/kg)로 투여될 수 있다(예컨대, 매주, 2주마다, 3주마다, 4주마다 또는 매월 단일 용량으로서). 예를 들어, 본원에 개시된 XMT-1535의 접합체는 NaPi2b 발현 난소암 또는 NaPi2b 발현 NSCLC 암을 치료하기 위해 약 0.1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg(예컨대, 0.2 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.67 mg/kg, 0.8 mg/kg, 1 mg/kg, 1.25 mg/kg, 1.67 mg/kg, 2 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg, 또는 20 mg/kg)으로 투여될 수 있다(예컨대, 매주, 2주마다, 3주마다, 4주마다 또는 매월 단일 용량으로서).

[0314] 일반적인 투여 빈도는, 예를 들어, 매일 2회 내지 매월 1회(예컨대, 매일 1회, 매주 1회; 격주마다 1회; 3주마다 1회, 4주마다 1회 또는 매월)의 범위일 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 XMT-1535의 접합체는 약 3 mg/m² 내지 약 53 mg/m²(예컨대, 3 mg/m², 6 mg/m², 12 mg/m², 20 mg/m², 25 mg/m², 30 mg/m², 35 mg/m², 40 mg/m², 또는 53 mg/m²)로 투여될 수 있다(예컨대, 매주, 2주마다, 3주마다, 4주마다 또는 매월 단일 용량으로서). 예를 들어, 본원에 개시된 XMT-1535의 접합체는 NaPi2b 발현 난소암 또는 NaPi2b 발현 NSCLC 암을 치료하기 위해 약 3 mg/m² 내지 약 53 mg/m²(예컨대, 3 mg/m², 6 mg/m², 12 mg/m², 20 mg/m², 25 mg/m², 30 mg/m², 35 mg/m², 40 mg/m², 또는 53 mg/m²)로 투여될 수 있다(예컨대, 매주, 2주마다, 3주마다, 4주마다 또는 매월 단일 용량으로서).

[0315] 치료의 효능은 특정 NaPi2b 관련 장애를 진단 또는 치료하기 위한 임의의 공지된 방법과 관련하여 결정된다. NaPi2b 관련 장애의 하나 이상의 증상의 개선은 항체가 임상 이익을 부여한다는 것을 나타낸다.

키트

[0316] 본 발명은 환자 샘플에서 NaPi2b 발현의 수준(예컨대, 세포당 항원의 수)을 검출하는 키메라 NaPi2b 항체(예컨대, MERS67) 및 본원에 기재되거나 WO 제2017/160754호에 개시된 바와 같은 유효량의 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체를 포함하는 치료 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 원하는 경우, 키트는 NaPi2b 발현의 수준을 검출하고 WO 제2017/160754호에 개시된 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체가 환자에게 투여되는 경우 효과적일지 여부를 결정하기 위한 지시를 추가로 포함한다. 바람직하게는, 키트는 면역조직화학 시험 키트이다. 선택적으로, 키트는 본원에 기재되거나 WO 제2017/160754호에 개시된 바와 같은 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체를 이러한 치료를 받기 위해 선택된 환자에게 투여하기 위한 설명서를 추가로 포함한다.

정의

[0317] 달리 정의되지 않는 한, 본 개시내용과 관련하여 사용된 과학 및 기술 용어는 당업자에게 일반적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 또한, 문맥에 의해 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함하고, 복수 용어는 단수를 포함할 것이다. 일반적으로, 본원에 기재된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 및 단백질 및 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 화학 및 혼성화 및 이의 기술과 관련하여 사용된 명명법은 널리 공지되고 당

업계에서 통상적으로 사용되는 것들이다. 표준 기술이 재조합 DNA, 올리고뉴클레오타이드 합성, 및 조직 배양 및 형질전환(예컨대, 전기천공, 리포렉션)에 사용된다. 효소 반응 및 정제 기술은 제조업체의 사양에 따라 또는 당업계에서 일반적으로 달성되거나 본원에 기재된 바와 같이 수행된다. 전술한 기술 및 절차는 당업계에 널리 공지된 통상적인 방법에 따라 그리고 본 명세서 전반에 인용되고 논의된 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에 기재된 바와 같이 수행된다. 예컨대, 문헌[Sambrook *et al.* Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))]을 참고한다. 본원에 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의약 및 약제학적 화학, 및 이의 실험실 절차 및 기술과 관련하여 사용된 명명법은 널리 공지되고 당업계에 통상적으로 사용되는 것들이다. 표준 기술은 화학적 합성, 화학적 분석, 약제학적 제제, 제제, 및 전달, 및 환자의 치료에 사용된다.

[0320] 본 개시내용에 따라 이용되는 바와 같이, 하기 용어는, 달리 나타내지 않는 한, 다음의 의미를 갖는 것으로 이해될 것이다:

[0321] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "NaPi2b"(나트륨-의존성 인산염 수송 단백질 2B, SLC34A2, NaPiIIb, Npt2, Na(+)-의존성 인산염 공동수송체 2B; 나트륨/인산염 공동수송체 2B; Na(+)/Pi 공동수송체 2B; NaPi3b; 용질 캐리어 패밀리 34 멤버 2로도 알려짐)는, 본원에서 사용될 때, 인간 NaPi2b(예컨대, GenBank 등록 번호 095436. 3)를 지칭하고, 종양 세포를 포함하는 세포에 의해 자연적으로 발현되거나 NaPi2b 유전자로 형질감염된 세포 상에서 발현되는 NaPi2b의 임의의 변이체, 이소형 및 종 상동체를 포함한다. 이를 용어는 동의어이며 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0322] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "NaPi2b 항체" 또는 "항-NaPi2b 항체"는 항원 NaPi2b에 특이적으로 결합하는 항체이다.

[0323] 본원에서 2개 이상의 항체의 문맥에서 사용될 때, 용어 "와 경쟁하다" 또는 "와 교차 경쟁하다"는 2개 이상의 항체가 NaPi2b에의 결합에 대해 경쟁한다는 것을, 예컨대, 임의의 당업계에서 인식되는 분석에서 NaPi2b 결합에 대해 경쟁한다는 것을 나타낸다. 항체가 하나 이상의 다른 항체와 25% 이상 경쟁하는 경우, 항체는 하나 이상의 다른 항체가 NaPi2b에 결합하는 것을 "차단" 또는 "교차 차단"하며, 임의의 당업계에서 인식되는 분석을 사용하여 결정된 바와 같이, 25%-74%는 "일부 차단"을 나타내고, 75%-100%는 "완전 차단"을 나타낸다. 항체의 일부 쌍의 경우, 임의의 당업계에서 인식되는 분석에서 경쟁 또는 차단은 하나의 항체가 플레이트 상에 코팅되고 다른 항체가 경쟁하는 경우에만 관찰되며, 그 반대는 그렇지 않다. 문맥에 의해 달리 정의되지 않거나 부정되지 않는 한, 본원에서 사용될 때 용어 "와 경쟁하다", "와 교차 경쟁하다", "차단하다" 또는 "교차 차단하다"는 또한 이러한 항체 쌍을 포함하도록 의도된다.

[0324] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체"는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린(Ig) 분자의 면역학적 활성 부분, 즉, 항원에 특이적으로 결합하는(면역반응하는) 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 지칭한다. "특이적으로 결합 한다" 또는 "와 면역반응한다" 또는 "에 대한"은 항체가 원하는 항원의 하나 이상의 항원 결정기와 반응하지만 다른 폴리펩타이드와 반응하지 않거나 훨씬 낮은 친화성($K_d > 10^{-6}$)으로 결합하는 것을 의미한다. 항체는, 비제한적으로, 다클론, 단클론 및 키메라 항체를 포함한다.

[0325] 기본적인 항체 구조 단위는 사량체를 포함하는 것으로 알려져 있다. 각각의 사량체는 폴리펩타이드 사슬의 2개의 동일한 쌍으로 구성되며, 각각의 쌍은 하나의 "경"쇄(약 25 kDa) 및 하나의 "중"쇄(약 50-70 kDa)를 갖는다. 각각의 사슬의 아미노 말단 부분은 주로 항원 인식을 담당하는 약 100 내지 110개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 각각의 사슬의 카르복시 말단 부분은 주로 효과기 기능을 담당하는 불변 영역을 정의한다. 일반적으로, 인간으로부터 수득된 항체 분자는 클래스 IgG, IgM, IgA, IgE 및 IgD 중 어느 것과 관련되며, 이는 분자 내에 존재하는 중쇄의 특성이 서로 상이하다. 특정 클래스는 또한 IgG₁, IgG₂ 등과 같은 서브클래스를 갖는다. 또한, 인간에서, 경쇄는 카파 사슬 또는 람다 사슬일 수 있다.

[0326] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "단클론 항체"(mAb) 또는 "단클론 항체 조성물"은 독특한 경쇄 유전자 산물 및 독특한 중쇄 유전자 산물로 구성되는 항체 분자의 하나의 분자 종만을 함유하는 항체 분자의 집단을 지칭한다. 특히, 단클론 항체의 상보성 결정 영역(CDR)은 집단의 모든 분자에서 동일하다. 단클론 항체(mAb)는 그에 대한 독특한 결합 친화성을 특징으로 하는 항원의 특정한 에피토프와 면역반응할 수 있는 항원 결합 부위를 함유한다.

[0327] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "키메라"는 항체 또는 항원 결합 부분이 2개의 상이한 종으로부터의 서열을 포함한다는 것을 의미한다. 키메라 항체는 인간 및 비인간 부분을 포함하는 면역글로불린 분자이다. 보다 구체적

으로, 키메라 항체의 항원 결합 영역(가변 영역)은 인간 공급원으로부터 유래되고, 면역글로불린에 생물학적 효과기 기능을 부여하는 키메라 항체의 불변 영역은 비인간 공급원으로부터 유래된다. 키메라 항체는 인간 항체 분자의 항원 결합 특이성 및 비인간 항체 분자에 의해 부여된 효과기 기능을 가져야 한다. 본 발명에 따른 키메라 항체를 생산하는 방법은 당업자에게 친숙할 것이며, 예를 들어, 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 특허 제4,816,567호, 미국 특허 제5,585,089호 및 미국 제20030039649호를 참고한다. 이러한 방법은 표준 재조합 기술의 사용을 필요로 한다.

[0328] 일반적으로, 인간으로부터 수득된 항체 분자는 클래스 IgG, IgM, IgA, IgE 및 IgD 중 어느 것에 관한 것이며, 이는 분자에 존재하는 중쇄의 성질이 서로 상이하다. 특정 클래스는 또한 IgG₁, IgG₂ 등과 같은 서브클래스를 갖는다. 또한, 인간에서, 경쇄는 카파 사슬 또는 람다 사슬일 수 있다.

[0329] 용어 "항원 결합 부위" 또는 "결합 부분"은 항원 결합에 참여하는 면역글로불린 분자의 부분을 지칭한다. 항원 결합 부위는 중("H")쇄 및 경("L")쇄의 N-말단 가변("V") 영역의 아미노산 잔기에 의해 형성된다. "초가변 영역"으로 지칭되는 중쇄 및 경쇄의 V 영역 내의 3개의 고도의 분기성 스트레치는 "프레임워크 영역" 또는 "FR"로 알려진 보다 보존된 측면 스트레치 사이에 개재된다. 따라서, 용어 "FR"은 면역글로불린 내의 초가변 영역 사이에서 그리고 이에 인접하여 자연적으로 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다. 항체 분자에서, 경쇄의 3개의 초가변 영역 및 중쇄의 3개의 초가변 영역은 3차원 공간에서 서로에 대해 배치되어 항원 결합 표면을 형성한다. 항원 결합 표면은 결합된 항원의 3차원 표면에 상보적이고, 중쇄 및 경쇄 각각의 3개의 초가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로 지칭된다. 각각의 도메인에 아미노산을 할당하는 것은 면역학적 관심 단백질의 카바트 서열의 정의(National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1987 및 1991)), 또는 초키아(Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917(1987), Chothia et al. Nature 342:878-883(1989))에 따른다.

[0330] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "에피토프"는 면역글로불린 또는 이의 단편, 또는 T-세포 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 단백질 결정기를 포함한다. 용어 "에피토프"는 면역글로불린 또는 T-세포 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 단백질 결정기를 포함한다. 에피토프 결정기는 일반적으로 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹으로 구성되며, 일반적으로 특이적 3차원 구조적 특징뿐만 아니라 특이적 전하 특징을 갖는다. 항체는 해리 상수가 $\leq 1 \mu\text{M}$; 예컨대, $\leq 100 \text{nM}$, 바람직하게는 $\leq 10 \text{nM}$ 및 보다 바람직하게는 $\leq 1 \text{nM}$ 일 때 항원에 특이적으로 결합한다고 한다.

[0331] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "면역학적 결합" 및 "면역학적 결합 특성"은 면역글로불린 분자 및 면역글로불린이 특이적인 항원 사이에 발생하는 유형의 비공유 상호작용을 지칭한다. 면역학적 결합 상호작용의 강도, 또는 친화성은 상호작용의 해리 상수(K_d)의 측면에서 표현될 수 있고, 더 작은 K_d 는 더 큰 친화성을 나타낸다. 선택된 폴리펩타이드의 면역학적 결합 특성은 당업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 정량될 수 있다. 하나의 이러한 방법은 항원 결합 부위/항원 복합체 형성 및 해리의 속도를 측정하는 것을 수반하며, 이를 속도는 복합체 파트너의 농도, 상호작용의 친화성, 및 양 방향으로 속도에 동일하게 영향을 미치는 기하학적 파라미터에 좌우된다. 따라서, "온 레이트 상수(on rate constant)"(K_{on}) 및 "오프 레이트 상수(off rate constant)"(K_{off})는 농도 및 결합 및 해리의 실제 속도를 계산함으로써 결정될 수 있다(Nature 361:186-87(1993) 참고). K_{off} / K_{on} 의 비율은 친화성과 관련되지 않은 모든 파라미터의 제거를 가능하게 하며, 이는 해리 상수 K_d 와 동일하다(일반적으로, Davies et al.(1990) Annual Rev Biochem 59:439-473 참고). 방사성리간드 결합 분석 또는 당업자에게 공지된 유사한 분석과 같은 분석에 의해 측정된 바와 같이, 평형 해리 상수(K_d 또는 K_p)가 $\leq 1 \mu\text{M}$, 바람직하게는 $\leq 100 \text{nM}$, 보다 바람직하게는 $\leq 10 \text{nM}$, 및 가장 바람직하게는 $\leq 100 \text{ pM}$ 내지 약 1 pM 일 때 본 개시내용의 항체는 NaPi2b에 특이적으로 결합한다고 한다.

[0332] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 게놈, cDNA, 또는 합성 기원의 폴리뉴클레오타이드 또는 이의 일부 조합을 의미할 것이며, 그 기원에 의해 "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 (1) 폴리뉴클레오타이드의 전부 또는 일부와 관련되지 않거나, 여기서 "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 자연에서 발견되고, (2) 자연에서 연결되지 않은 폴리뉴클레오타이드와 작동 가능하게 연결되거나, 또는 (3) 더 큰 서열의 일부로서 자연에서 발생하지 않는다.

[0333] 본원에서 언급된 용어 "단리된 단백질"은 cDNA, 재조합 RNA, 또는 합성 기원의 단백질 또는 이의 일부 조합을 의미하며, 그의 기원, 또는 유도 공급원에 의해, "단리된 단백질"은 (1) 자연에서 발견되는 단백질과 관련되지 않거나, (2) 동일한 공급원으로부터의 다른 단백질이 없거나, (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해

발현되거나, 또는 (4) 자연에서 발생하지 않는다.

- [0334] 용어 "폴리펩타이드"는 폴리펩타이드 서열의 천연 단백질, 단편, 또는 유사체를 지칭하기 위한 일반 용어로서 본원에서 사용된다. 따라서, 천연 단백질 단편, 및 유사체는 폴리펩타이드 속의 종이다.
- [0335] 대상에 적용된 바와 같은 본원에 사용된 용어 "자연발생"은 대상이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 지칭한다. 예를 들어, 자연에서 공급원으로부터 단리될 수 있는 유기체에 존재하고 실험실 또는 다른 곳에서 사람에 의해 의도적으로 변형되지 않은 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 자연발생이다.
- [0336] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "작동가능하게 연결된"은 기재된 구성요소의 위치가 이들을 의도된 방식으로 가능하게 하는 관계에 있다는 것을 지칭한다. 코딩 서열에 "작동가능하게 연결된" 제어 서열은 코딩 서열의 발현이 제어 서열과 양립가능한 조건하에 달성되는 방식으로 결찰된다.
- [0337] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "제어 서열"은 이들이 결찰되는 코딩 서열의 발현 및 가공을 달성하는데 필요한 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 이러한 제어 서열의 성질은 원핵생물에서 숙주 유기체에 따라 상이하며, 이러한 제어 서열은 진핵생물에서 일반적으로 프로모터, 리보솜 결합 부위, 및 전사 종결 서열을 포함하고, 일반적으로, 이러한 제어 서열은 프로모터 및 전사 종결 서열을 포함한다. 용어 "제어 서열"은 그의 존재가 발현 및 가공에 필수적인 모든 성분을 최소한 포함하도록 의도되고, 또한 그의 존재가 유리한 추가 구성요소, 예를 들어, 리더 서열 및 융합 파트너 서열을 포함할 수 있다. 본원에 언급된 바와 같은 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 리보뉴클레오타이드 또는 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드의 어느 하나의 유형의 변형된 형태인 적어도 10개 염기의 뉴클레오타이드의 고분자 봉소(boron)를 의미한다. 용어는 단일 및 이중 가닥 형태의 DNA를 포함한다.
- [0338] 본원에 언급된 용어 "올리고뉴클레오타이드"는 자연발생, 및 비자연발생 올리고뉴클레오타이드 연결에 의해 함께 연결된 자연발생, 및 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 올리고뉴클레오타이드는 일반적으로 200개 이하의 염기 길이를 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서브세트이다. 바람직하게는 올리고뉴클레오타이드는 10 내지 60개의 염기 길이 및 가장 바람직하게는 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 내지 40개의 염기 길이이다. 올리고뉴클레오타이드는 일반적으로, 예를 들어 프로브의 경우 단일 가닥이지만, 올리고뉴클레오타이드는, 예컨대, 유전자 돌연변이체의 제작에 사용하기 위해 이중 가닥일 수 있다. 본원에 개시된 올리고뉴클레오타이드는 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다.
- [0339] 하기 용어는 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이의 서열 관계를 기술하기 위해 사용된다: "참조 서열", "비교 윈도우", "서열 동일성", "서열 동일성의 백분율", 및 "실질적 동일성". "참조 서열"은 서열 비교를 위한 기초로서 사용되는 정의된 서열이다. 참조 서열은, 예를 들어, 서열 목록에 제공된 전장 cDNA 또는 유전자 서열의 세그먼트로서, 더 큰 서열의 서브세트일 수 있거나 또는 완전한 cDNA 또는 유전자 서열을 포함할 수 있다. 일반적으로, 참조 서열은 적어도 18개의 뉴클레오타이드 또는 6개의 아미노산 길이, 빈번하게 적어도 24개의 뉴클레오타이드 또는 8개의 아미노산 길이, 및 종종 적어도 48개의 뉴클레오타이드 또는 16개의 아미노산 길이이다. 2개의 폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열은 각각 (1) 2개의 분자 사이에서 유사한 서열(즉, 완전한 폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열의 부분)을 포함할 수 있고, (2) 2개의 폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이에서 분기되는 서열을 추가로 포함할 수 있으므로, 2개(또는 초과)의 분자 사이의 서열 비교는 전형적으로 "비교 윈도우"에서 2개의 분자의 서열을 비교하여 서열 유사성의 국소 영역을 확인 및 비교함으로서 수행된다. 본원에 사용된 바와 같이, "비교 윈도우"는 적어도 18개의 인접 뉴클레오타이드 위치 또는 6개의 아미노산의 개념적 세그먼트를 지칭하며, 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 아미노산 서열은 적어도 18개의 인접 뉴클레오타이드 또는 6개의 아미노산 서열의 참조 서열과 비교될 수 있고, 비교 윈도우에서 폴리뉴클레오타이드 서열의 일부는 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열(부가 또는 결실을 포함하지 않음)과 비교하여 20 퍼센트 이하의 부가, 결실, 치환 등(즉, 갭)을 포함할 수 있다. 비교 윈도우를 정렬하기 위한 서열의 최적 정렬은 문헌[Smith and Waterman Adv. Appl. Math. 2:482(1981)]의 국소 상동성 알고리즘에 의해, 문헌[Needleman and Wunsch J. Mol. Biol. 48:443(1970)]의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, 문헌[Pearson and Lipman Proc. Natl. Acad. Sci.(U.S.A.) 85:2444(1988)]의 유사성 검색 방법에 의해, 이를 알고리즘의 컴퓨터화된 구현(위스콘신 제네티스 소프트웨어 패키지 릴리즈(Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0, (Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.)에서의 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA), Geneworks, 또는 MacVector 소프트웨어 패키지)에 의해, 또는 검사에 의해 수행될 수 있고, 다양한 방법에 의해 생성된 최상의 정렬(즉, 비교 윈도우에서 상동성의 가장 높은 백분율을 초래함)이 선택된다.
- [0340] 용어 "서열 동일성"은 2개의 폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열이 비교 윈도우에서 동일하다(뉴클레오타이

드 대 뉴클레오타이드 또는 잔기 대 잔기 기준으로)는 것을 의미한다. 용어 "서열 동일성의 백분율"은 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교 원도우에서 비교하고, 두 서열에서 동일한 핵산 염기(예컨대, A, T, C, G, U 또는 I) 또는 잔기가 존재하는 위치의 개수를 결정하여 매치된 위치의 개수를 산출하고, 매치된 위치의 개수를 비교 원도우에서의 위치의 총 개수(즉, 원도우 크기)로 나누고, 상기 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "실질적 동일성"은 폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산이 적어도 18개의 뉴클레오타이드(6개의 아미노산) 위치의 비교 원도우에서, 빈번하게는 적어도 24-48개의 뉴클레오타이드(8-16개의 아미노산) 위치의 원도우에서 참조 서열과 비교하여 적어도 85 퍼센트 서열 동일성, 바람직하게는 적어도 90 내지 95 퍼센트 서열 동일성, 보다 일반적으로 적어도 99 퍼센트 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열의 특징을 나타내며, 서열 동일성의 백분율은 참조 서열을 비교 원도우에서 참조 서열의 총 20% 이하의 결실 또는 부가를 포함할 수 있는 서열과 비교함으로써 계산된다. 참조 서열은 더 큰 서열의 서브세트일 수 있다.

[0341] 본원에 사용된 바와 같이, 20개의 통상적인 아미노산 및 이들의 약어는 통상적인 용법을 따른다. 문헌 [Immunology - A Synthesis (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Green, Eds., Sinauer Associates, Sunderland Mass. (1991))]을 참고한다. 20개의 통상적인 아미노산의 입체이성질체(예컨대, D-아미노산), 비천연 아미노산, 예컨대 α - α -이치환된 아미노산, N-알킬 아미노산, 락트산, 및 다른 비통상적인 아미노산이 또한 본 개시내용의 폴리펩타이드에 대한 적합한 구성요소일 수 있다. 비통상적인 아미노산은 4 하이드록시프롤린, γ -카르복시글루타메이트, ϵ -N,N,N-트리메틸리신, ϵ -N-아세틸리신, O-포스포세린, N-아세틸세린, N-포르밀메티오닌, 3-메틸히스티딘, 5-하이드록시리신, σ -N-메틸아르기닌, 및 다른 유사한 아미노산 및 아미노산(예컨대, 4-하이드록시프롤린)을 포함한다. 본원에 사용된 폴리펩타이드 표기법에서, 표준 용법 및 규약에 따르면, 좌측 방향은 아미노 말단 방향이고, 우측 방향은 카르복시 말단 방향이다.

[0342] 유사하게, 달리 명시하지 않는 한, 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌측 말단은 5' 말단이고, 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌측 방향은 5' 방향으로 지칭된다. 초기 RNA 전사체의 5'에서 3' 부가 방향은 전사 방향으로 지칭되고, RNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상에 존재하고 RNA 전사체의 5' 말단에 대해 5'에 있는 서열 영역은 "업스트림 서열"로 지칭되며, RNA와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상에 존재하고 RNA 전사체의 3' 말단에 대해 3'에 있는 서열 영역은 "다운스트림 서열"로 지칭된다.

[0343] 폴리펩타이드에 적용되는 바와 같이, 용어 "실질적 동일성"은 2개의 웨이드 서열이, 예컨대 디폴트 갭 가중치 (default gap weight)를 사용하는 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬될 때, 적어도 80 퍼센트 서열 동일성, 바람직하게는 적어도 90 퍼센트 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 95 퍼센트 서열 동일성, 및 가장 바람직하게는 적어도 99 퍼센트 서열 동일성을 공유한다는 것을 의미한다.

[0344] 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환에 의해 상이하다.

[0345] 보존적 아미노산 치환은 유사한 측쇄를 갖는 잔기의 상호교환성을 지칭한다. 예를 들어, 지방족 측쇄를 갖는 아미노산의 군은 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 및 이소류신이고; 지방족-하이드록실 측쇄를 갖는 아미노산의 군은 세린 및 트레오닌이며; 아미드 함유 측쇄를 갖는 아미노산의 군은 아스파라긴 및 글루타민이고; 방향족 측쇄를 갖는 아미노산의 군은 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판이며; 염기성 측쇄를 갖는 아미노산의 군은 리신, 아르기닌, 및 히스티딘이고; 황 함유 측쇄를 갖는 아미노산의 군은 시스테인 및 메티오닌이다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 군은 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌 발린, 글루타믹-아스파틱, 및 아스파라긴-글루타민이다.

[0346] 본원에서 논의된 바와 같이, 항체 또는 면역글로불린 분자의 아미노산 서열의 작은 변이는, 아미노산 서열의 변이가 적어도 75%, 보다 바람직하게는 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 및 가장 바람직하게는 99%를 유지하는 경우, 본 개시내용에 포함되는 것으로 고려된다. 특히, 보존적 아미노산 대체가 고려된다. 보존적 대체는 이들의 측쇄가 관련된 아미노산의 패밀리 내에서 발생하는 대체이다. 유전적으로 코딩된 아미노산은 일반적으로 패밀리로 분류된다: (1) 산성 아미노산은 아스파테이트, 글루타메이트이고; (2) 염기성 아미노산은 리신, 아르기닌, 히스티딘이며; (3) 비극성 아미노산은 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판이고, 및 (4) 하전되지 않은 극성 아미노산은 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신이다. 친수성 아미노산은 아르기닌, 아스파라긴, 아스파테이트, 글루타민, 글루타메이트, 히스티딘, 리신, 세린, 및 트레오닌을 포함한다. 소수성 아미노산은 알라닌, 시스테인, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 티로신 및 발린을 포함한다. 아미노산의 다른 패밀리는 (i) 지방족-하이드록시 패밀리인 세린 및 트레오닌; (ii) 아미드 함유 패밀리인 아스파라긴 및 글루타민; (iii) 지방족 패밀리인 알라닌, 발

린, 류신 및 이소류신; 및 (iv) 방향족 페밀리인 페닐알라닌, 트립토판, 및 티로신을 포함한다. 예를 들어, 류신을 이소류신 또는 발린으로, 아스파테이트를 글루타메이트로, 트레오닌을 세린으로 단독 대체하거나, 또는 아미노산을 구조적으로 관련된 아미노산으로 유사하게 대체하는 것이, 특히 대체가 프레임워크 부위 내의 아미노산을 포함하지 않는 경우, 생성된 분자의 결합 또는 특성에 주요 영향을 미치지 않을 것으로 예상하는 것이 합리적이다. 아미노산 변화가 기능적 웹타이드를 초래하는지 여부는 폴리펩타이드 유도체의 특정 활성을 분석함으로써 용이하게 결정될 수 있다. 분석이 본원에 상세하게 기재되어 있다. 항체 또는 면역글로불린 분자의 유사체는 당업자에 의해 용이하게 제조될 수 있다. 유사체의 바람직한 아미노 및 카르복시 말단은 기능적 도메인의 경계 근처에 존재한다. 구조적 및 기능적 도메인은 뉴클레오타이드 및/또는 아미노산 서열 데이터를 공개 또는 독점 서열 데이터베이스와 비교함으로써 확인될 수 있다. 바람직하게는, 공지된 구조 및/또는 기능의 다른 단백질에 존재하는 서열 모티프 또는 예측된 단백질 입체형태 도메인을 확인하기 위해 컴퓨터화된 비교 방법이 사용된다. 공지된 3차원 구조로 접히는 단백질 서열을 확인하는 방법은 공지되어 있다. 문헌[Bowie et al. Science 253:164(1991)]. 따라서, 전술한 예는 당업자가 본 개시내용에 따라 구조적 및 기능적 도메인을 정의하는데 사용될 수 있는 서열 모티프 및 구조적 입체형태를 인식할 수 있음을 입증한다.

[0347]

바람직한 아미노산 치환은 (1) 단백질분해에 대한 민감성을 감소시키는 치환, (2) 산화에 대한 민감성을 감소시키는 치환, (3) 단백질 복합체를 형성하기 위해 결합 친화성을 변경시키는 치환, (4) 결합 친화성을 변경시키는 치환, 및 (4) 이러한 유사체의 다른 물리화학적 또는 기능적 특성을 부여하거나 변형시키는 치환이다. 유사체는 자연발생 웹타이드 서열 이외의 서열의 다양한 뮤테인(mutant)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단일 또는 다중 아미노산 치환(바람직하게는, 보존적 아미노산 치환)은 자연발생 서열에서(바람직하게는, 분자간 접촉을 형성하는 도메인(들) 외부의 폴리펩타이드의 부분에서) 이루어질 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 모 서열의 구조적 특징을 실질적으로 변화시키지 않아야 한다(예컨대, 대체 아미노산은 모 서열에 존재하는 나선을 파괴하거나, 모 서열을 특성화하는 다른 유형의 이차 구조를 파괴하는 경향이 없어야 한다). 당업계에서 인식되는 폴리펩타이드 2차 및 3차 구조의 예는 문헌[Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); and Thornton et al. Nature 354:105 (1991)]에 기재되어 있다.

[0348]

용어 "제제(작용제)"는 화학적 화합물, 화학적 화합물의 혼합물, 생물학적 거대분자, 또는 생물학적 물질로부터 제조된 추출물을 나타내기 위해 사용된다.

[0349]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "표지" 또는 "표지된"은 검출가능한 마커의 혼입, 예컨대 방사성표지된 아미노산의 혼입 또는 표시된 아비딘(예컨대, 광학 또는 비색법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소적 활성을 함유하는 스트렙타비딘)에 의해 검출될 수 있는 바이오티닐 모이어티의 폴리펩타이드에 대한 부착을 지칭한다. 특정 경우에, 표지 또는 마커는 또한 치료제일 수 있다. 폴리펩타이드 및 당단백질을 표지화하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있으며 사용될 수 있다. 폴리펩타이드에 대한 표지의 예는, 비제한적으로, 하기를 포함한다: 방사성동위원소 또는 방사성 핵종(예컨대, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), 형광 표지(예컨대, FITC, 로다민, 란탄족 인광체), 효소적 표지(예컨대, 호스래디쉬 퍼옥시다제, p-갈락토시다제, 루시퍼라제, 알칼리 포스파타제), 화학발광, 바이오티닐기, 이차 리포터에 의해 인식된 미리 결정된 폴리펩타이드 애피토프(예컨대, 류신 지페 쌍 서열, 이차 항체에 대한 결합 부위, 금속 결합 도메인, 애피토프 태그). 일부 구현예에서, 표지는 잠재적 입체 장애를 감소시키기 위해 다양한 길이의 스페이서 아암(arm)에 의해 부착된다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "약제학적 제제 또는 약물"은 환자에게 적절하게 투여될 때 원하는 치료적 효과를 유도할 수 있는 화학적 화합물 또는 조성물을 지칭한다.

[0350]

본원의 다른 화학 용어는 맥그로우-힐(McGraw-Hill) 화학 용어 사전(Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco(1985))에 예시된 바와 같이 당업계에서의 통상적인 용법에 따라 사용된다.

[0351]

본원에 사용된 바와 같이, "실질적으로 순수한"은 대상 종이 존재하는 우세한 종이며(즉, 몰 기준으로 그것이 조성물에서 임의의 다른 개별 종보다 더 풍부함), 바람직하게는 실질적으로 정제된 분획이 대상 종이 존재하는 모든 거대분자 종의 적어도 약 50 퍼센트(몰 기준)를 포함하는 조성물이라는 것을 의미한다.

[0352]

일반적으로, 실질적으로 순수한 조성물은 조성물에 존재하는 모든 거대분자 종의 약 80 퍼센트 초과, 보다 바람직하게는 약 85%, 90%, 95%, 및 99% 초과를 포함할 것이다. 가장 바람직하게는, 대상 종은 본질적인 균질성까지 정제되며(오염 종은 통상적인 검출 방법에 의해 조성물에서 검출될 수 없음), 조성물은 본질적으로 단일 거대분자 종으로 구성된다.

- [0353] 하기 설명 및 청구범위 모두에서 관사 "a", "an", 및 "the"의 사용은 본원에서 달리 나타내거나 문맥에 의해 명확히 모순되지 않는 한 단수 및 복수 모두를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. "화학식의(being of a chemical formula)", "포함하는(including)", 및 "함유하는(containing)"에서와 같이 용어 "포함하는", "갖는", "의"는 달리 명시되지 않는 한 개방 용어로서 해석되어야 한다(즉, "비제한적으로 포함하는"을 의미함). 예를 들어, 특정 식의 중합체 스캐폴드는 식에 나타난 모든 단량체 단위를 포함하고, 식에 나타나지 않은 추가의 단량체 단위를 포함할 수도 있다. 또한, "포함하는" 또는 또 다른 개방형 용어가 구현예에서 사용될 때마다, 동일한 구현예가 중간 용어 "본질적으로 구성되는" 또는 폐쇄 용어 "구성되는"을 사용하여 보다 더 쉽게 청구될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0354] 용어 "약", "대략"은, 수치와 관련하여 사용될 때, 값의 집합 또는 범위가 포함된다는 것을 의미한다. 예를 들어, "약 X"는 X의 ±20%, ±10%, ±5%, ±2%, ±1%, ±0.5%, ±0.2%, 또는 ±0.1%인 값의 범위를 포함하며, 여기서 X는 수치이다. 일 구현예에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 5% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다. 또 다른 구현예에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 2% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다. 또 다른 구현예에서, 용어 "약"은 명시된 값보다 1% 많거나 적은 값의 범위를 지칭한다.
- [0355] 값의 범위의 열거는 단지 본원에서 달리 나타내지 않는 한 범위 내에 속하는 각각의 개별 값은 개별적으로 지칭하는 속기 방법의 역할을 하는 것으로 의도되며, 각각의 개별 값은 마치 본원에 개별적으로 언급된 것처럼 본 명세서에 포함된다. 본원에 사용된 범위는, 달리 명시되지 않는 한, 범위의 2개의 한계를 포함한다. 예를 들어, "x는 1 및 6 사이의 정수이다" 및 "x는 1 내지 6의 정수이다"는 표현은 모두 "x가 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이다"라는 것을 의미하며, 즉, 용어 "X 및 Y 사이" 및 "X 내지 Y의 범위"는 X 및 Y 및 그 사이의 정수를 포함한다.
- [0356] "약물": 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약물"은 생물학적 활성이고 이를 필요로 하는 대상체에게 투여한 후 원하는 생리학적 효과를 제공하는 화합물(예컨대, 활성 약제학적 성분)을 지칭한다.
- [0357] "항-혈관형성 제제" 또는 "혈관형성 억제제"는 혈관형성, 맥관형성, 또는 원하지 않는 혈관 투과성을 직접 또는 간접적으로 억제하는 소분자량 물질, 폴리뉴클레오타이드, 폴리펩타이드, 단리된 단백질, 재조합 단백질, 항체, 또는 접합체 또는 이의 융합 단백질을 지칭한다. 혈관형성 억제제는 혈관형성 인자 또는 그의 수용체의 혈관형성 활성에 결합하고 차단하는 제제를 포함한다. 예를 들어, 항-혈관형성 제제는, 비제한적으로, VEGF-A 또는 VEGF-A 수용체(예컨대, KDR 수용체 또는 Flt-1 수용체)에 대한 항체, VEGF-trap, 항-PDGFR 억제제, 예컨대 Gleevec™(Imatinib Mesylate)을 포함하는 혈관형성 제제에 대한 항체 또는 다른 길항제이다. 항-혈관형성 제제는 또한 천연 혈관형성 억제제, 예컨대, 안지오스타틴, 엔도스타틴 등을 포함한다.
- [0358] "세포독성": 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "세포독성"은 세포 또는 선택된 세포 집단(예컨대, 암 세포)에 대한 독성을 의미한다. 독성 효과는 세포 사멸 및/또는 용해를 초래할 수 있다. 특정 경우, 독성 효과는 세포에 대한 준치사 과정 효과, 예컨대, 세포 성장의 저연 또는 정지일 수 있다. 세포독성 효과를 달성하기 위해, 약물 또는 전구약물은 특히 DNA 손상제, 미세소관 과정제, 또는 세포독성 단백질 또는 폴리펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0359] "세포정지": 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "세포정지"는 세포 성장 및/또는 증식을 억제 또는 정지시키는 약물 또는 다른 화합물을 지칭한다.
- [0360] "소분자": 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "소분자"는 자연발생인지 인공적으로 생성되었는지에 상관없이(예컨대, 화학적 합성을 통해) 비교적 낮은 분자량을 갖는 분자를 지칭한다. 바람직한 소분자는 동물, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간에서 국소 또는 전신 효과를 생성한다는 점에서 생물학적 활성이다. 특정 바람직한 구현예에서, 소분자는 약물이고, 소분자는 "약물 분자" 또는 "약물" 또는 "치료제"로 지칭된다. 특정 구현예에서, 약물 분자는 약 5 kDa 이하의 MW를 갖는다. 다른 구현예에서, 약물 분자는 약 1.5 kDa 이하의 MW를 갖는다. 구현예에서, 약물 분자는 빈카 알칼로이드, 아우리스타틴, 두오카르마이신, 튜불리신, 비천연 캄포테신 화합물, 토포이소마라제 억제제, DNA 결합 약물, 키나제 억제제, MEK 억제제, KSP 억제제, 칼리케아미신, SN38, 피롤로벤조디아제핀, 및 이의 유사체로부터 선택된다. 바람직하게는, 반드시 그런 것은 아니지만, 약물은 적절한 정부 기관 또는 단체, 예컨대, FDA에 의해 사용하기에 안정하고 효과적인 것으로 이미 간주된 약물이다. 예를 들어, 본원에 참고로 포함된, 21 C.F.R. §§ 330.5, 331 내지 361, 및 440 내지 460 하에 FDA에 의해 열거된 인간 사용을 위한 약물; 21 C.F.R. §§ 500 내지 589 하에 FDA에 의해 열거된 수의학 사용을 위한 약물은 모두 본 친수성 중합체와 함께 사용하기에 적합한 것으로 간주된다.

- [0361] 본원에 사용된 바와 같이, "약물 유도체" 또는 "변형된 약물" 등은 본원에 개시된 접합체에 의해 전달되도록 의도된 약물 분자 및 약물 분자를 중합체 캐리어에 부착시킬 수 있는 작용기를 포함하는 화합물을 지칭한다.
- [0362] 본원에 사용된 바와 같이 "활성 형태"는 생체내 또는 시험관내에서 의도된 약제학적 효능을 나타내는 화합물의 형태를 지칭한다. 특히, 본원에 개시된 접합체에 의해 전달되도록 의도된 약물 분자가 접합체로부터 방출될 때, 활성 형태는 의도된 치료 특성을 나타내는 약물 자체 또는 그의 유도체일 수 있다. 접합체로부터 약물의 방출은 약물을 중합체 캐리어에 부착시키는 링커의 생분해성 결합의 절단에 의해 달성될 수 있다. 따라서, 활성 약물 유도체는 링커의 일부를 포함할 수 있다.
- [0363] "PHF"는 폴리(1-하이드록시메틸에틸렌 하이드록시메틸-포르말)을 지칭한다.
- [0364] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "중합체 단위", "모노머 단위", "단량체", "단량체 단위", "단위" 모두는 중합체 내의 반복가능한 구조적 단위를 지칭한다.
- [0365] 본원에 사용된 바와 같이, 중합체 또는 중합체 캐리어/스캐폴드 또는 중합체 접합체의 "분자량" 또는 "MW"는 달리 명시되지 않는 한 변형되지 않은 중합체의 중량 평균 분자량을 지칭한다.
- [0366] 본원에 사용된 바와 같이, "치료하는" 또는 "치료하다"는 질환, 상태, 또는 장애를 퇴치하기 위한 환자의 관리 및 보호를 기술하며, 질환, 상태 또는 장애의 증상 또는 합병증을 완화시키거나, 질환, 상태 또는 장애를 제거하기 위한 본 개시내용의 접합체 또는 이의 약제학적 조성물의 투여를 포함한다.
- [0367] 본원에 사용된 바와 같이, "예방(prevention, prophylaxis)"은 질환 또는 상태의 발생 위험성의 감소, 또는 질환, 상태 또는 장애의 증상 또는 합병증의 발병의 감소 또는 제거를 지칭한다.
- [0368] 용어 "유효량" 또는 "충분량"은, 활성제를 지칭할 때, 원하는 생물학적 반응을 유발하는데 필요한 양을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, "치료적 유효량" 또는 "치료적 유효 용량"은 감지가능한 치료 효과를 생성하기에 적어도 충분한 화합물을 함유하는 제제, 화합물, 물질, 또는 조성물의 양을 지칭한다. 효과는 당업계에 공지된 임의의 분석 방법에 의해 검출될 수 있다. 대상체에 대한 정확한 유효량은 대상체의 체중, 크기, 및 건강에 따라 달라질 것이며; 상태의 성질 및 정도; 및 투여를 위해 선택된 치료제에 따라 달라질 것이다.
- [0369] "대상체"는 임의의 발달 단계에 있는 인간 뿐만 아니라 비인간 동물을 포함하며, 이는 예를 들어, 임의의 포유동물, 인간, 영장류, 새, 마우스, 랫트, 닭, 개, 고양이, 소, 말, 염소, 낙타, 양 또는 돼지를 포함한다. 바람직하게는, 비인간 동물은 포유동물(예컨대, 설치류, 마우스, 랫트, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 영장류, 또는 돼지)이다. 동물은 형질전환 동물 또는 인간 클론일 수 있다. 바람직하게는, 포유동물은 인간이다. 용어 "대상체"는 동물을 포함한다.
- [0370] 본원에 사용된 바와 같이, "키트"는 구성요소의 조합, 예컨대 본원의 조성물 및 비제한적으로 재구성, 활성화를 포함하는 목적을 위한 또 다른 물품 및 전달, 투여, 진단 및 생물학적 활성 또는 특성의 평가를 위한 기구/장치의 조합을 지칭한다. 키트는 선택적으로 사용 설명서를 포함한다.
- [0371] 본원에 사용된 바와 같이 "접촉하는"은 종양 샘플 또는 표본을 항-NaPi2b 항체와 함께 반응, 노출, 인큐베이션 하는 것을 지칭한다.
- [0372] 본원에 사용된 바와 같이, 치료로부터의 "환자 반응" 또는 "반응" 또는 "이익"은 비제한적으로 하기를 포함하는 환자에게 이익을 나타내는 임의의 종점을 사용하여 평가될 수 있다: (1) 지역 및 완전 정지를 포함하는 질환 진행을 비제한적으로 포함하는 질환 진행의 어느 정도의 억제, (2) 질환 에피소드 및/또는 증상의 수의 감소, (3) 종양 크기의 감소, (4) 질환 확산의 억제(즉, 감소, 지역 또는 완전 정지), (5) 질환과 관련된 하나 이상의 증상의 어느 정도의 완화, (6) 치료 후 주어진 시점에서 사망률 감소.
- [0373] 본원에 사용된 바와 같이 "조직 샘플"은 대상체 또는 개체의 조직으로부터 수득된 유사한 세포의 집합을 의미한다. 조직의 공급원은 신선한, 동결된 및/또는 보존된 장기, 조직 샘플, 생검, 및/또는 흡인물로부터의 고형 조직; 혈액 또는 임의의 혈액 성분, 예컨대 혈장; 체액, 예컨대 뇌척수액, 양수, 복막액, 또는 간질액; 대상체의 임신 또는 발달에서의 임의의 시점으로부터의 세포일 수 있다. 조직 샘플은 또한 일차 또는 배양 세포 또는 세포주일 수 있다. 선택적으로, 조직 샘플은 질환 조직/장기로부터 수득된다. 예를 들어, "종양 샘플"은 종양 또는 다른 암성 조직으로부터 수득된 조직 샘플이다. 조직 샘플은 세포 유형(예컨대, 종양 세포 및 비-종양 세포, 암성 세포 및 비-암성 세포)의 혼합 집단을 함유할 수 있다. 조직 샘플은 보존제, 항응고제, 완충제, 고정제, 영양소, 항생제 등과 같은 자연에서 조직과 자연적으로 혼합되지 않는 화합물을 함유할 수 있다.

- [0374] 본원에서 사용된 용어 "예측" 또는 "예측하는"은 환자가 약물(치료제) 또는 약물 세트 또는 치료 요법에 대해 호의적으로 또는 비호의적으로 반응할 가능성을 지칭한다. 일 구현예에서, 예측은 이러한 반응의 정도에 관한 것이다. 일 구현예에서, 예측은 환자가 치료, 예를 들어 특정 치료제를 이용한 치료 후에, 또는 질환 재발 없이 특정 기간 동안, 생존하거나 개선될지 여부 및/또는 가능성에 관한 것이다. 본 발명의 예측 방법은 임의의 특정 환자에 대해 가장 적절한 치료 방식을 선택함으로써 치료 결정을 내리는데 임상적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 예측 방법은 환자가 예를 들어, 주어진 치료제 또는 조합의 투여, 수술적 개입, 스테로이드 치료 등을 포함하는 주어진 치료적 요법에 호의적으로 반응할 가능성이 높은지, 또는 치료 요법 후 환자의 장기간의 생존이 가능한지 예측하는데 있어서 귀중한 도구이다.
- [0375] "임상 파라미터"는 대상체 건강 상태의 모든 비-샘플 또는 비-NaPi2b 상태 또는 다른 특징, 예컨대, 비제한적으로, 연령(Age), 인종(RACE), 성별(Sex), 또는 가족력(FamHX)을 포함한다.
- [0376] "FN"은 위음성으로서, 질환 상태 시험에 대해 질환 대상체를 비질환, 치료에 대해 비반응, 또는 정상인 것으로 부정확하게 분류하는 것을 의미한다.
- [0377] "FP"는 위양성으로서, 질환 상태 시험에 대해 정상 대상체를 질환을 갖거나 치료에 대해 반응성인 것으로 부정확하게 분류하는 것을 의미한다.
- [0378] "식," "알고리즘," 또는 "모델"은 하나 이상의 연속적 또는 범주적 입력(본원에서 "파라미터"로 불림)을 취하고 때때로 "지표" 또는 "지표 값"으로 지칭되는 출력값을 계산하는 임의의 수학 방정식, 알고리즘, 분석 또는 프로그래밍된 프로세스, 또는 통계학적 기술이다. "식"의 비제한적인 예는 합, 비율, 및 회귀 연산자, 예컨대 계수 또는 지수, 바이오마커 값 변환 및 정규화(비제한적으로, 성별, 연령, 또는 인종과 같은 임상 파라미터를 기반으로 하는 정규화 체계 포함)를 포함한다. 생성된 예측 모델은 다른 연구에서 검증되거나 부트스트랩(Bootstrap), 리브-원-아웃(Leave-One-Out; LOO) 및 10배 교차 검증(10-Fold CV)과 같은 기술을 사용하여 이들이 원래 훈련된 연구에서 교차 검증될 수 있다. 다양한 단계에서, 위 발견율(false discovery rate)은 당업계에 공지된 기술에 따라 값 순열에 의해 평가될 수 있다.
- [0379] "건강 경제 효용 함수(health economic utility function)"는, 진단 또는 치료 개입을 치료 표준에 도입하기 전과 도입한 후에, 이상화된 적용가능한 환자 집단에서 다양한 임상 결과의 예측된 확률의 조합으로부터 도출된 식이다. 그것은 이러한 개입의 정확성, 효과 및 성능 특징, 및 각각의 결과와 관련된 비용 및/또는 가치 측정(효용)의 추정을 포함하며, 이는 실제 건강 시스템 관리 비용(서비스, 공급품, 장치 및 약물 등)으로부터 도출될 수 있고/거나 각각의 결과를 초래하는 질 보정 수명(quality adjusted life year, QALY)당 추정된 허용가능한 값으로서 도출될 수 있다. 모든 예측된 결과에 걸쳐, 결과에 대한 예측된 집단 크기를 각각의 결과의 예측된 효용으로 곱한 생성물의 합이 주어진 치료 표준의 총 건강 경제 효용이다. (i) 개입을 갖는 치료 표준에 대해 계산된 총 건강 경제 효용 대 (ii) 개입이 없는 치료 표준에 대한 총 건강 경제 효용 사이의 차이는 개입의 건강 경제 비용 또는 가치의 전반적인 척도를 초래한다. 이것 자체를 분석되는 전체 환자군(또는 오직 개입군)으로 나누어 단위 개입당 비용에 도달하고 시장 포지셔닝, 가격 책정, 및 건강 시스템 수용의 가정과 같은 결정을 안내할 수 있다. 이러한 건강 경제 효용 함수는 일반적으로 개입의 비용 효과를 비교하는데 사용되지만, 또한 건강 관리 시스템이 지불할 용의가 있는 QALY당 허용가능한 가치, 또는 새로운 개입에 필요한 허용가능한 비용 효과적인 임상 성능 특징을 추정하기 위해 변환될 수 있다.
- [0380] 본 발명의 진단(또는 예후) 개입의 경우, 각각의 결과(이는 질환 분류 진단 시험에서 TP, FP, TN, 또는 FN일 수 있음)가 상이한 비용을 부담하므로, 건강 경제 효용 함수는 임상 상황 및 개별적인 결과 비용 및 가치에 기반하여 특이성보다 민감성을 우선적으로 선호하거나 NPV보다 PPV를 우선적으로 선호할 수 있고, 따라서 보다 직접적인 임상 또는 분석 성능 척도와 상이할 수 있는 건강 경제 성과 및 가치의 또 다른 척도를 제공한다. 이러한 상이한 측정 및 상대적인 절충은 일반적으로 0의 오류율(0으로 예측된 대상체 결과 오분류 또는 FP 및 FN으로도 알려짐)을 갖는 완벽한 시험의 경우에만 수렴될 것이며, 모든 성능 척도는 불완전성보다 유리하지만 상이한 정도로 유리할 것이다.
- [0381] "측정하는" 또는 "측정," 또는 대안적으로 "검출하는" 또는 "검출"은 물질의 정성적 또는 정량적 농도 수준의 유도를 포함하는, 임상 또는 대상체 유래 샘플 내의 주어진 물질의 존재, 부존재 또는 양(이는 유효량일 수 있음)을 평가하거나, 대상체의 비분석물 임상 파라미터의 값 또는 분류화를 평가하는 것을 의미한다.
- [0382] "음성 예측 값" 또는 "NPV"는 $TN/(TN+FN)$ 또는 모든 음성 시험 결과 중 진 음성 분율에 의해 계산된다. 그것은 또한 시험하고자 하는 집단의 질환의 유병률 및 시험전 확률에 의해 본질적으로 영향을 받는다. 예컨대, 문현

[O'Marcaigh A S, Jacobson R M, "Estimating The Predictive Value Of A Diagnostic Test, How To Prevent Misleading Or Confusing Results," Clin. Ped. 1993, 32(8): 485-491]을 참고하며, 이는 시험, 예컨대, 임상 진단 시험의 특이성, 민감성, 및 양성 및 음성 예측 값을 논의한다. 흔히, 연속 진단 시험 측정을 사용하는 이진 질환 상태 분류 접근법의 경우, 민감성 및 특이성은 문헌[Pepe et al., "Limitations of the Odds Ratio in Gauging the Performance of a Diagnostic, Prognostic, or Screening Marker," Am. J. Epidemiol 2004, 159 (9): 882-890]에 따라 수신자 작동 특징(ROC)에 의해 요약되고, 단지 단일 값을 갖는 시험(또는 분석) 컷 포인트의 전체 범위에 걸쳐 시험, 분석, 또는 방법의 민감성 및 특이성을 나타내는 지표인 곡선하 면적(AUC) 또는 c-statistic에 의해 요약된다. 또한, 예컨대, 문헌[Shultz, "Clinical Interpretation Of Laboratory Procedures," chapter 14 in Teitz, Fundamentals of Clinical Chemistry, Burtis and Ashwood (eds.), 4.sup.th edition 1996, W.B. Saunders Company, pages 192-199; and Zweig et al., "ROC Curve Analysis: An Example Showing The Relationships Among Serum Lipid And Apolipoprotein Concentrations In Identifying Subjects With Coronary Artery Disease," Clin. Chem., 1992, 38(8): 1425-1428]을 참고한다. 가능성 함수, 승산비(odds ratio), 정보 이론, 예측 값, 보정(적합도(goodness-of-fit) 포함), 및 재분류 측정을 사용하는 대안적인 접근법이 문헌[Cook, "Use and Misuse of the Receiver Operating Characteristic Curve in Risk Prediction," Circulation 2007, 115: 928-935]에 따라 요약되어 있다. 마지막으로, 시험에 의해 정의된 대상 코호트 내의 위험비 및 절대 및 상대 위험비는 임상 정확성 및 유용성의 추가 측정이다. 참조 한계, 식별 한계, 및 위험 임계값을 포함하는 비정상 또는 질환 값을 정의하기 위해 다수의 방법이 자주 사용된다.

- [0383] "분석 정확성"은 측정 프로세스 자체의 재현성 및 예측성을 지칭하고, 변동 계수, 및 상이한 시간, 사용자, 장비 및/또는 시약을 갖는 동일한 샘플 또는 대조군의 일치성 및 보정의 시험과 같은 측정으로 요약될 수 있다. 새로운 바이오마커를 평가할 때의 이들 및 다른 고려사항이 또한 문헌[Vasan, 2006]에 요약되어 있다.
- [0384] "성능"은, 특히, 임상 및 분석 정확성, 다른 분석 및 프로세스 특징, 예컨대 사용 특징(예컨대, 안정성, 사용 용이성), 건강 경제 가치, 및 시험의 구성요소의 상대적 비용을 포함하는, 진단 또는 예후 시험의 전반적인 유용성 및 품질과 관련된 용어이다. 이들 인자 중 어느 것은 우수한 성능 및 이에 따라 시험의 유용성의 원천일 수 있고, 관련성이 있는 경우 AUC, 결과 시간, 유효 시간 등과 같은 적절한 "성능 지표"에 의해 측정될 수 있다.
- [0385] "양성 예측 값" 또는 "PPV"는 $TP/(TP+FP)$ 또는 모든 양성 시험 결과 중 진 양성 분율에 의해 계산된다. 그것은 시험하고자 하는 집단의 질환의 유병률 및 시험전 확률에 의해 본질적으로 영향을 받는다.
- [0386] "민감성"은 $TP/(TP+FN)$ 또는 대상체의 진 양성 분율에 의해 계산된다.
- [0387] "특이성"은 $TN/(TN+FP)$ 또는 정상 대상체의 진 음성 분율에 의해 계산된다.
- [0388] "통계학적으로 유의한"은 변경이 오직 우연히 발생할 것으로 예상되는 것(이는 "위양성"일 수 있음)보다 크다는 것을 의미한다. 통계학적 유의성은 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 결정될 수 있다. 일반적으로 사용되는 유의성의 척도는 p-값을 포함하며, 이는 데이터 포인트가 우연 단독의 결과라고 가정할 때 적어도 주어진 데이터 포인트만큼 극단적인 결과를 얻을 확률을 나타낸다. 결과는 0.05 이하의 p-값에서 매우 유의한 것으로 간주된다. 바람직하게는, p-값은 0.04, 0.03, 0.02, 0.01, 0.005, 0.001 또는 그 이하이다.
- [0389] "전통적인 실험실 위험 인자"는 대상체 샘플로부터 단리되거나 유래되고 현재 임상 실험실에서 평가되고 전통적인 세계 위험 평가 알고리즘에서 사용되는 바이오마커에 해당한다. 종양 재발에 대한 전통적인 실험실 위험 인자는 예를 들어 증식 지수, 종양 침윤 립프구를 포함한다. 종양 재발에 대한 다른 전통적인 실험실 위험 인자는 당업계에 공지되어 있다.
- [0390] 본원에 기재된 모든 방법은 본원에 달리 나타내거나 문맥상 달리 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 실시예, 또는 예시적인 표현(예컨대, "와 같은")은 단지 본 개시 내용을 더 잘 예시하기 위한 것이며 달리 명백히 청구되지 않는 한 청구범위의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본 명세서의 표현은 임의의 청구되지 않은 요소가 청구범위에 필수적임을 나타내는 것으로 해석되지 않아야 한다.
- [0391] 실시예
- [0392] 실시예 1: MERS67의 클로닝, 생산, 및 정제
- [0393] MERS67은 인간화된 항-NaPi2b 항체 XMT-1535(일명 RebMab200(Lopes dos Santos, 2013))에 기초하여 설계된 인

간-토끼 키메라 항체이다. 그것은 토끼 IgG1 불변 영역 또는 토끼 Ig 카파-b4 사슬 C 영역에 각각 연결된 인간 중쇄 및 경쇄 가변 서열로 구성된다. 인간화된 가변 중쇄 및 경쇄 영역 및 토끼 불변 영역의 아미노산 서열로부터 코돈 최적화로 표적 DNA 서열을 설계하였다. 유전자 합성, 발현 벡터 제작, 플라스미드 제조, 및 일시적 발현을 GenScript®에서 수행하였다. 키메라 중쇄 및 경쇄에 대한 DNA 서열이 도 1에 제공되어 있다. 생산을 위해, ExpiCHO-S 세포를 무혈청 ExpiCHO™ 발현 배지(Thermo Fisher Scientific)에서 성장시켰다. 세포를 회전 진탕기(VWR Scientific) 상에서 8% CO₂로 37°C에서 엘렌마이어 플라스크(Corning Inc., Acton, MA)에서 유지시켰다. 형질감염 하루 전날, 세포를 코닝(Corning) 엘렌마이어 플라스크에서 적절한 밀도로 시딩하였다. 형질 감염일에, DNA 및 형질감염 시약을 최적의 비율로 혼합한 다음, 형질 감염을 위해 준비된 세포를 갖는 플라스크에 첨가하였다. Mers67의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 재조합 플라스미드를 혼탁 ExpiCHO-S 세포 배양액 내로 일시적으로 동시에 형질감염시켰다. 세포를 잔류 배양을 위해 형질감염 후 1일에 5% CO₂를 갖는 32°C 인큐베이터로 옮겼다. 1일에 인핸서 및 공급물(Thermo Fisher Scientific)을 첨가하고, 형질감염 후 5일에 공급물을 첨가하였다. 14일에 수집된 세포 배양 상충액을 정제에 사용하였다.

[0394] 세포 배양액을 원심분리한 후 여과하였다. 여과된 상충액을 3 mL/분으로 단백질 A 컬럼(GenScript, Cat.No.L00433) 상에 로딩하였다. 적절한 완충액으로 세척 및 용리 후, 용리된 분획을 PBS로 완충액 교환하였다. 표적 단백질을 HiLoad Superdex 200 16/600 pg 컬럼(GE Healthcare, Uppsala, Sweden)을 통해 추가로 정제하여 고분자량 응집물을 제거하였다. 정제된 단백질을 도 2 및 도 3a(1단계 정제 후, 로트 U0859BH) 및 도 3b(2단계 정제 후, LotU5696BL)에 나타낸 바와 같이 분자량, 수율 및 순도 측정을 위한 표준 프로토콜을 사용하여 SDS-PAGE, 웨스턴 블롯 및 SEC-HPLC에 의해 분석하였다. 5 μg의 샘플을 SDS-PAGE 상에 로딩하고, 0.3 μg의 총 단백질을 웨스턴 블롯 상에 로딩하였다. 웨스턴 블롯을 위한 1차 항체는 염소 항-토끼 IgG-HRP(GenScript, Cat No.A00131)였다.

실시예 2: 인간 NaPi2b 웹타이드에 대한 MERS67의 결합.

MERS67의 결합을 모 항체 XMT-1535의 결합과 비교하여 평가하였다.

[0395] XMT-1535 애피토프(New England Peptide, Gardner, MA)에서 확인된 아미노산을 커버하는 인간 고리화된 NaPi2b 웹타이드를 생성하고 동결건조시켰다. ELISA를 위해, 동결건조된 NaPi2b 웹타이드를 DMSO에서 재구성하였다. 인간 NaPi2b 웹타이드를 사용하여 탄산 나트륨 완충액, pH 9에서 1 μg/mL로 웰당 100 μl의 총 부피로 96-웰 고 결합 투명 ELISA 플레이트(Corning, 3369)를 코팅하였다. 2시간 인큐베이션 후, 플레이트를 웰당 100 μl TBS-Tween 20으로 4회 세척하고, TBS-Tween 20 중의 3% BSA(웰당 100 μl)로 1시간 동안 차단하고, 다시 세척하였다. 시험 물품 MERS67(롯트 U0859BH 및 롯트 U5569BL), XMT-1535, 및 비결합 대조군(트拉斯투주맙)을 웰당 100 μl로 TBS-Tween 20 완충액에서 8점 3배 연속 희석을 사용하여 100 nM 내지 0.002 nM의 용량 농도 범위로 웰에 첨가하였다. 플레이트를 흔들면서 1시간 동안 인큐베이션한 다음 상기와 같이 세척하였다. 퍼옥시다제 접합된 아피니퓨어(AffiniPure) 염소 항-인간 IgG F(ab')2 단편 특이적 2차 항체(Jackson ImmunoResearch, 109-035-097)를 XMT-1535 및 트拉斯투주맙에 대해 웰당 100 μl로 TBS-Tween 20 완충액에서 5000x로 사용하였고, 염소 항-토끼 HRP 2차 항체(Abcam, ab6721)를 MERS67에 대해 사용하였다. 플레이트를 흔들면서 1시간 동안 다시 인큐베이션한 후, 상기와 같이 세척하였다. TMB 기질(Bethyl Lab, E102)을 웰당 50 μl로 첨가하고, 색상이 나타날 때까지 인큐베이션한 다음, 반응을 동량의 0.2N H₂SO₄로 끝내하였다. 스펙트라맥스(SpectraMax) M5 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)를 사용하여 450 nm에서 광학 밀도(O.D.)를 측정하였다. 각각의 처리에 대한 O.D.를 그래프화하고, 1 부위-특이적 결합 모델을 사용하여 비선형 회귀에 의해 그레프패드 프리즘(GraphPad Prism) 소프트웨어(GraphPad Software Inc., La Jolla, CA)로 각각의 항체에 대해 K_d를 계산하였다.

[0398] 검사된 2개의 롯트에서(롯트 U0859BH 및 롯트 U5696BL), MERS67은 각각 0.2561 nM 및 0.1045 nM의 K_d로 인간 NaPi2b에 결합하였고; XMT-1535는 0.536 nM의 K_d로 인간 NaPi2b에 결합하였다. 음성 대조군 항체는 결합을 나타내지 않았다.

실시예 3 MERS67은 FFPE 면역조직화학 포맷에서 NaPi2b를 검출할 수 있다

[0400] NaPi2b의 세포 표면 발현의 수준을 유세포분석법에 의해 확인하였다. 100 μl의 1x10⁶의 OVCAR3 또는 JIMT-1 세포를 5 μg/ml에서 피코에리트린 접합된 RebMAB200과 함께 얼음에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. Quantibrite PE 형광 보정 키트(BD BioSciences) 및 MACS Quant 기기(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany)를 사

용하여, 세포 표면 수용체 개수를 표준 곡선과 비교하여 각각 OVCAR3 및 JIMT-1에 대해 1.95×10^5 및 120인 것으로 계산하였다.

- [0401] 세포 펠렛 및 이종이식편 포르말린 고정된 파라핀 포매된 블록을 표준 방법을 사용하여 OVCAR3 및 JIMT-1 세포 주로부터 제조하였다.
- [0402] 수동 면역조직화학 분석을 위해, DAKO Envision+System-HRP(DAB) 키트(K4010, Agilent, Santa Clara, CA)를 제조사의 지시에 따라 사용하였다. 간략하게, 슬라이드를 5μ 로 절단하고, 56°C 에서 15분 동안 베이킹하고, 자일렌 및 단계적 알코올을 통해 재수화시켰다. 퍼옥시다제 차단 전에, 슬라이드를 99°C 에서 pH 6.0 용액(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에서 항원 복구(antigen retrieval)하였다. 1차 항체 인큐베이션 단계 동안, MERS67을 백그라운드 감소 구성요소(S3022, Agilant, Santa Clara, CA)를 갖는 DAKO 희석액의 다양한 희석에 대해 초기에 적정하였다. 비특이적 백그라운드에 대한 방법을 평가하기 위해 일부 실험 실행에 "1차 항체가 없는" 대조군을 포함시켰다. 슬라이드를 메이어 헤마톡실린으로 대조염색하고, 탈수하고, 광학 현미경으로 검사하기 위해 장착하였다. 다양한 적정을 생체내에서 WO 제2017/160754호에 개시된 바와 같은 NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 대해 공지된 반응을 갖는 일련의 이종이식편에서 비교하였고, 시각적 광학 현미경 판독에 의해 일련의 전임상 이종이식편 모델에서 반응자 및 비반응자를 가장 잘 구별한 IHC 염색을 생성한 적정을 선택하였다. 대조군 OVCAR3 및 JIMT1 이종이식편 염색에 대한 결과가 도 4에 나타나 있다. 면역조직화학을 또한 자동화된 TechMate 500 또는 TechMate 1000(BioTek Solutions/Ventana medical Systems) 플랫폼을 사용하여 확립하였고, 여기서 다양한 항원 복구 조건 및 1차 항체 적정을 시험하여 더 높은 처리량 프로토콜을 개발하였다. 대조군 물질의 염색 및 ADC 처리에 대해 공지된 반응을 갖는 전임상 물질의 염색에 기초하여 프로토콜을 선택하였다. 간략하게, 확립된 프로토콜의 경우, 4μ 절편을 절단하고, 탈립시키고, 자일렌 및 일련의 알코올을 통해 재수화시켰다. 슬라이드를 BioGenex AR-10 복구 용액을 사용하여 표준 스티머(standard steamer)에서 항원 복구하였다. TechMate 플랫폼 상에서, 프로테아나제 K(DAKO)로 추가 복구를 수행하였다. 혈청 차단 후: 1차 항체를 실온에서 30분 동안 적용한 다음, 내인성 퍼옥시다제 블록 및 비-바이오텐 중합체 기반의 검출(rabbit Polink-2 Plus detection system, GBI)을 사용하고, 마지막으로 간단한 헤마톡실린 대조염색을 수행하였다.
- [0403] 실시예 4: MERS67을 사용하여 인간 종양 및 인간 1차 이종이식편 모델에서 면역반응성을 검출하였다.
- [0404] IHC용으로 개발된 수동 방법을 사용하여, 37개의 종양으로 구성된 인간 폐 종양 조직 마이크로어레이를 MERS67로 염색하였다. 조직 코어의 21/37(57%)은 검출가능한 막 면역반응성을 가지고 있었다. 2개의 인간 폐 선암의 면역조직화학 염색이 도 5에 나타나 있다.
- [0405] 다양한 종양 유형을 갖는 추가의 조직 마이크로어레이를 또한 평가하였고, 면역반응성이 난소암에서 나타났고, 담관암에서 매우 국소적으로 나타났다. 면역반응성은 또한 타액관암의 인간 1차 이종이식편 모델에서 검출될 수 있었다.
- [0406] 실시예 5: NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체의 투여에 대한 종양 성장 반응
- [0407] 난소 1차 암 이종이식편 모델은 장액성 난소 또는 나팔관 암으로부터 유래되고, 종양이 $125-250 \text{ mm}^3$ 의 충화된 평균 부피에 도달하면 n=3의 군에서 3주 동안 매주 WO 제2017/160754호에 개시된 3 mg/kg NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체로 처리된 면역손상된 마우스에 이식된 종양 모델의 세트로부터 유래되었다. n=2-4의 군에서 처리되지 않은 동물을 대조군으로 포함시켰다. 계획된 연구 종점은 1 cm^3 의 종양 부피 또는 45일이었다. 완전한 반응의 경우, 종양 재성장을 평가하기 위해 마우스를 더 긴 시간 동안 추적하였다. 도 6은 모든 동물에 대해 각 시점에 0일과 대비하여 계산된 다음, 각각의 모델에 대한 최상의 반응의 종양 값으로서 표현된 종양 최상 반응을 나타내는 막대 차트이다. y 축은 종양 최상 반응을 나타내고; x 축은 모델 수를 나타낸다. 모델은 이전 치료를 받은 환자 및 치료를 받지 않은 환자 모두로부터 유래되었다. NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체의 항종양 효과가 두 종양 클래스에서 관찰되었다. 막대는 치료를 받지 않은(어두운 막대) 종양 또는 치료 후(밝은 막대) 종양으로부터 유래된 것으로서 착색된다. -50 내지 -100 사이의 종양 최상 반응을 나타내는 10개의 모델 중에서, 5개는 치료를 받지 않은 종양으로부터 유래되었고, 5개는 이전에 치료된 종양으로부터 유래되었다.
- [0408] 지속적인 항종양 성장 효과가 관찰된 모델 ST206을 연장된 시간 경과 동안 계속하였다. 불완전한 반응을 갖는 종양에서 연구 말기(73일)에 수득한 조직을 IHC에 의해 NaPi2b 발현에 대해 평가하였고 이는 NaPi2b 발현을 나타내었다.

[0409]

처리되지 않은 연구 동물로부터의 종양 블록을 평가하여 효능/염색 패턴 관계를 결정하였다. 난소암 모델에서 관찰된 염색 패턴을 인간 1차 종양에서 관찰된 염색과 비교하였다. 도 7은 중앙 최상 반응에 의해 정렬되고 H스코어에 의해 착색된(모든 모델) START 난소 모델을 나타내는 막대 차트이다. 색상이 어두울수록 H-스코어는 더 크다. NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체는 3주 동안 매주 1회 3 mg/kg의 용량으로 투여될 때 10/20(50%) 모델에서 기준선에 비해 종양 부피의 적어도 50% 감소를 유도하였다. 치료를 받지 않은 종양 모델 및 치료에 노출된 종양 모델 사이의 회귀율에는 유의한 차이가 없었다(각각 5/8, 5/12). H-스코어 \geq 70을 갖는 이종이식편 종양 중에서, 10/13(76%) 모델은 H-스코어 <70을 갖는 0/7(0%) 모델에 비해, NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체로 치료 후 종양 부피의 50% 이상의 감소를 달성하였다. 동일한 IHC 분석을 1차 인간 난소 종양에 적용하여, 12/20(60%) 시험된 종양은 H-스코어 \geq 70을 가지고 있었다. NaPi2b 표적화된 중합체 항체-약물 접합체에 의한 치료 후 NaPi2b IHC H-스코어 및 종양 부피 변화 사이에 연관성이 있었다(Spearman 순위 계수 0.76).

[0410]

자동화된 IHC 방법을 사용하여, 일련의 20개의 인간 폐 선암, 20개의 난소암 및 20개의 인간 1차 난소암 이종이식편 모델을 조사하였고, "H-스코어" 방법을 사용하여 해석하였다. H-스코어는 염색 강도(0부터 3+까지 강도를 증가시킴으로써 결정됨) 뿐만 아니라 종양 세포 막에서 양성으로 검출된 퍼센트 세포를 포함한다. H-스코어 =(<1+에서의 % X 0) +((1+에서의 %) X 1) +((2+에서의 %) X 2) +((3+에서의 %) X 3). H-스코어는 도 8의 산점도에 나타난 바와 같이 폐, 난소 및 이종이식편 조직에 대해 각각 1-220, 1-250, 및 0-290의 범위였고, 여기서 그래프화된 H 스코어(y 축) 및 조직 유형(x 축)은 이종이식편에 대해 중앙 최상 반응에 의해 착색된다.

[0411]

실시예 6: 폐암의 분류

[0412]

폐암의 조직병리학적 분류는 형태학적 특징에 기초하지만, 정확한 진단을 위해 보조 면역조직화학 염색이 필요할 수 있다. 비소세포암은 편평세포암(SCC) 및 선암(ACA)을 포함하여 많은 서브타입으로 분류될 수 있다. 특정 치료제의 사용은 상이한 폐암 서브타입에서 권고되거나 금지될 수 있다(예를 들어, Am J Surg Pathol., Volume 35, Number 1, January 2011 참고). 현재, 면역조직화학 염색의 패널, 예를 들어 사이토케라틴 5/6, TTF-1, Napsin A, p40 및 p63은 종양을 분류하는데 사용된다. MERS67에 의해 검출된 NaPi2b 단백질은 폐 ACA에 대한 전구체일 수 있는 세포 유형(즉, 유형 II 폐포 세포)을 포함하여 정상 폐 조직에서 발현되며, 선암에 대한 마커일 수 있다. 그것은 단일 염색 마커로서 사용될 수 있거나 현재의 면역조직화학 패널을 개선하는데 사용될 수 있다.

[0413]

또한, 공개적으로 이용가능한 데이터 공급원으로부터의 데이터, IHC 포맷으로 단백질 수준에서 일반적으로 분석되는 유전자의 RNA 발현 값은 선암 및 편평세포암의 IHC 프로파일 특징을 집단 기준으로 모방한다. 개별 종양 기준으로 대규모 발현 데이터를 보는 것은 또한 NaPi2b의 발현 수준의 이해가 선암 및 편평세포암의 분류를 개선하는데 도움을 줄 수 있음을 시사한다.

[0414]

도 9는 폐 SCC 및 ACC에서 NaPi2b, Napsin A, CK5 및 TTF1의 차등 발현을 나타내는 TCGA(The Cancer Genome Atlas)로부터 추출된 RNAseq 데이터를 나타내는 박스 플롯이다. Napsin A, CK5 및 TTF1과 같은 패널로부터 단백질 발현을 검출하는 면역조직화학 패널이 편평세포 폐암 및 폐 선암의 분류에 사용될 수 있다. NaPi2b의 발현의 검출은 현재 사용되는 패널을 보충하는데 사용될 수 있다.

[0415]

도 10은 TCGA로부터 추출된 RNAseq 데이터를 나타내는 산점도이다. NaPi2b는 x 축에 나타나 있고, Napsin A는 y 축에 나타나 있다. 사이토케라틴 5의 발현은 색상에 의해 표시되고, 가장 어두운 색은 가장 높은 발현 수준이다. 편평세포암으로 주석이 달린 대부분의 조직(원형)은 실선 타원형 안에 포함되어 있다. 선암으로 주석이 달린 대부분의 조직(사각형)은 그래프의 우측 상단 사분면에 있다. 또한 우측 상단 사분면에 위치한 편평세포암 면적으로 분류된 일부 종양은 점선 원으로 표시되며, 사이토케라틴의 낮은 발현자이다. NaPi2b와 같은 단백질 마커의 사용은 점선 원 안의 것과 같은 종양의 분류를 개선할 수도 있다.

[0416]

도 11은 cBioPortal(Cerami et al Cancer Discov May 1 2012 (2) (5) 401-404; Gao et al, Sci Signal. 2013 Apr 2;6(269):p1)로부터 추출되고 임상 환경에서 SCC 및 ACA를 구별하는 IHC에 의해 보다 통상적으로 평가되는 유전자 TTF-1, Napsin A, CK5, p63의 RNA 발현 값과 비교하여 NaPi2b RNA 발현의 관계를 나타내기 위해 그래프화된 폐 SCC 및 ACA의 2018년 5월 21일자 TCGA 임시 데이터를 나타낸다. 상단의 열은 ACA RNA 결과를 나타내고, 하단의 열은 SCC RNA 결과를 나타낸다. NaPi2b는 x 축에 표시되어 있고, 관심 유전자는 y 축에 표시되어 있다. ACA에 대해 NaPi2b RNA 발현과 Napsin A 유전자 사이에는 상관관계가 있는 것으로 보이지만, 다른 유전자는 상관관계가 적거나 없는 것으로 보인다.

[0417] 도 12는 cBioPortal(Cerami et al., Cancer Discov May 1 2012 (2) (5) 401-404; Gao et al., Sci Signal. 2013 Apr 2;6(269):p1)로 추출되고, ACA 및 SCC에서의 SCL34A2, TTF-1, Napsin-A, CK5 및 p63 유전자의 발현을 나타내기 위해 그래프화된, 폐 SCC 및 ACA에 대한 2018년 5월 21일자 TCGA 임시 데이터를 나타낸다. 각각의 플롯에서, ACA 결과는 좌측에 있다 y 축은 RNAseq에 의해 결정된 바와 같은 RNA 발현의 척도이다. 결과는 전체적으로 SLC34A2 발현이 편평세포암에 비해 선암에서 더 높은 것으로 보인다는 것을 나타낸다.

[0418] RNA 발현에 기초한 구별은 IHC에 의해 병원에서 평가되는 단백질과 다소 중첩되지만, 일반적으로 사용되는 유전자에 기초한 RNA 기반 분류는 겹중되지 않았다. 폐암에서 가장 차등적으로 발현된 유전자를 찾으려는 공개된 불편(unbiased) 시도는 SCC 대 ACA 유전자의 목록에서 TTF1/TITF1만을 되돌렸고(Wilkerson et al, Journal of Molecular Diagnostics, 2013 15:4, 485-497), 이는 IHC에 의한 분화에 사용되는 유전자에 기초한 RNA 프로파일링이 ACA 대 SCC를 구별하는 최상의 방법은 아니라는 것을 시사한다.

[0419] 실시예 7: NaPi2b 단백질 발현을 사용하여 ACA 및 SCC의 구별

[0420] MERS67에 대한 면역조직화학 분석을 Leica BondRx 기기 상에서 확립하였다. 분석을 NSCLC 및 소세포 폐암(SCLC) 세포주 어레이, 및 NSCLC 인간 종양 어레이를 포함하는, 조직 마이크로어레이(TMA) 상에서 수행하였다. NSCLC 어레이에서의 종양은 이전에 형태학적 특징에만 기초하여 분류되었다. 모든 어레이를 H-스코어 방법에 기초하여 스코어링하였다.

[0421] 1차 종양을 더 특성화하기 위해, 종양 TMA를 각각 ACA 및 편평세포암(SCC)의 마커인 TTF-1 및 p40으로 염색하였다. 이 염색의 결과를 MERS67 염색 패턴과 비교하였다. NSCLC 세포주 TMA에서 H-스코어는 0-260의 범위였고, 소세포 폐암(SCLC) TMA에서 0-100의 범위였다. 조직 마이크로어레이 내에서, 99개의 개별 사례를 평가할 수 있었다. 형태학적 분류에 의해, 63개의 사례는 SCC였고, 23개의 사례는 ACA였다. H=50의 임의적인 컷 포인트를 사용하여, NaPi2b 양성 ACA 사례(19/23) 대 SCC(3/63)의 수에서 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 도 13은 이들 종양이 형태학에 의해서만 분류될 때 SCC 대 ACA를 비교하는 MERS67 IHC로부터 유래된 H 스코어의 박스 플롯이다.

[0422] 도 14는 조직학 및 TTF-1/p40 IHC 결과에 의한 ACA 대 SCC의 분류가 일치하는 표본에서만 NSCLC 코호트에 대한 조직학에 기초한 NaPi2b 염색 결과를 나타낸다. IHC에 의해 결정된 NaPi2b H 스코어는 Y 축 상에 플로팅되고, 조직학 서브타입은 X 축 상에서 특성화된다. p40 및 TTF-1이 평가가능하고 형태학적 진단과 일치한 43개의 사례 중에서, ACA의 7/7 사례는 NaPi2b에 대해 양성인 반면, 0/36 SCC는 양성이었다.

[0423] 다른 구현 예

[0424] 본 발명은 이의 상세한 설명과 관련하여 설명되었지만, 전술한 설명은 첨부된 청구범위의 범위에 의해 정의된 본 발명의 범위를 예시하고자 하는 것이며 제한하고자 하는 것은 아니다. 다른 양태, 이점, 및 변형은 하기 청구항의 범위 내에 속한다.

도면

도면1

Mers67 전장 중쇄:

Econ 코작 서열 인공 신호 펩타이드 중쇄 가변 영역(인간) 토끼 IgG1 불변 영역

Digitized by srujanika@gmail.com

중쇄 서열: 461aa

[View Details](#) | [Edit](#) | [Delete](#) | [Print](#)

EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN SOBRE LA VIDA Y LAS COSTUMBRES SOCIALES EN EL SIGLO XIX. COLECCIÓN HISTÓRICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Digitized by srujanika@gmail.com

www.english-test.net

DRIFTRVIVVVVDRVCLDFEVQFIIWILRNGQVALAMPLFLRQGHOIIRAVSTDFIAREDWINGRETFKQKVNIALTAFIERIIGRABQ

PLIEPVYTTAGPPKELM

MINI 2 1 Q100 X0002 QH

Mers67 전장 경색:

EcoRI 코자 서열 **인공** 시험 펩타이드 결해 가변 영역(인간) - 투끼 Ig 카페-b4 사슬 C 영역

Digitized by srujanika@gmail.com

경색 서역·23322

Digitized by srujanika@gmail.com

ANSWER: The answer is 1000. The total number of students in the school is 1000.

유전자 서열: 717 bp (HEK293에 대한 코돈 최적화)

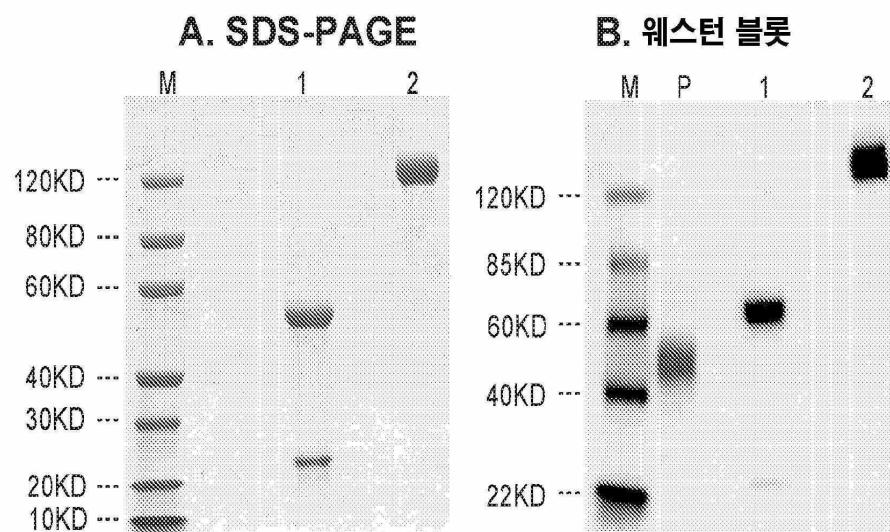
GGATTC GCTGGA ATAGGGCTTGGGTCCATGCAATCATCTGGTTCTGGGGCCACAGCCACGGGCTGCTAAGCTATTCAGATGACA

GTATCACCACAAACCCGCCAACACCCGCGAACGCCGCGCATGCGAACGCGAACCTCTGCAAGCCGTTAAGCCCCCCCCCTTCGGCGAACGCGTTCGCG

GGGGCTCTGGCACCGACTACACCCCTGACCATATCTAGGCTGACCCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTACAGCBA

CCCCCTGACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGAACTGAAGAGGGATTCCTGTGGCTCCCCACCGTGTGATTTTAACCCAGCUCGCTGTGATCA

도면2



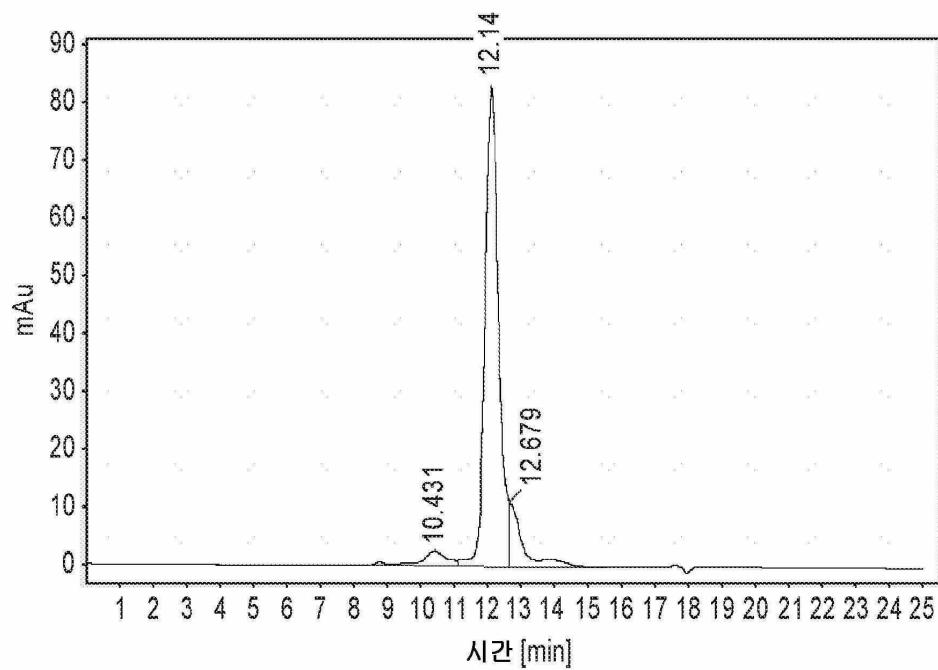
레인 M: 단백질 마커

레인 1: 환원 조건

레인 2: 비환원 조건

레인 P: 양성 대조군으로서 토끼 혈청으로부터의 IgG (Sigma, 카탈로그 번호. 15006)

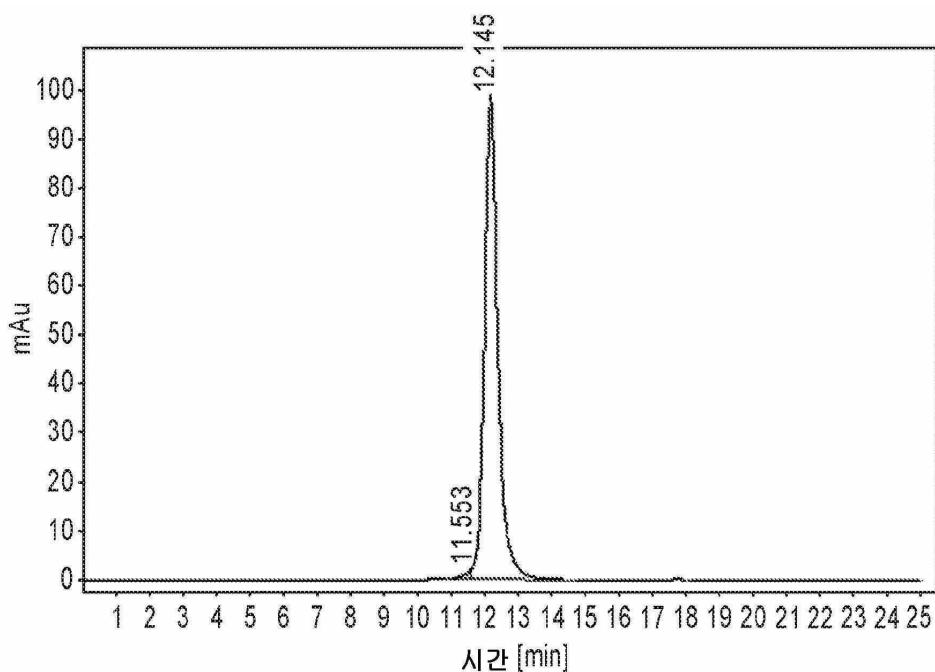
도면3a



신호: VWD1 A, 파장 = 280 nm

RT [min]	높이	폭 [min]	면적	면적%
10.431	2.5755	0.8921	137.8544	4.9464
12.140	82.9476	0.4726	2352.0483	84.3939
12.679	11.0842	0.4467	297.0854	10.6597
		합계	2786.9881	

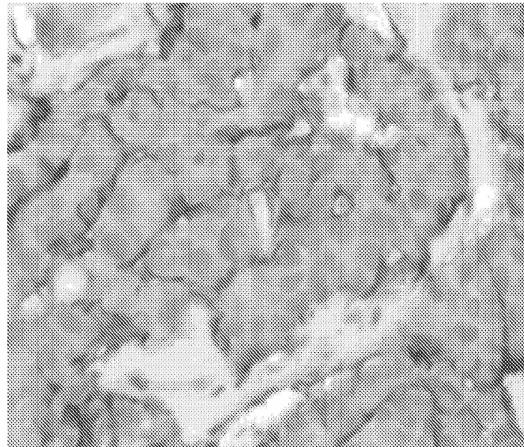
도면3b



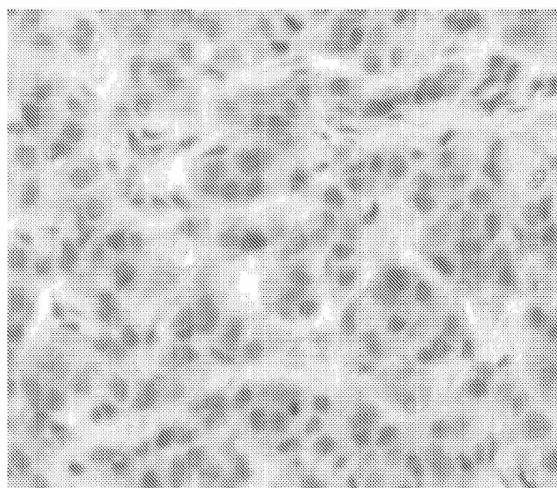
신호: VWD1 A, 파장 = 280 nm

RT [min]	높이	폭 [min]	면적	면적%
11.553	1.8725	0.2489	27.9661	0.9941
12.145	98.6371	0.4706	2785.2646	99.0059
		합계	2813.2308	

도면4

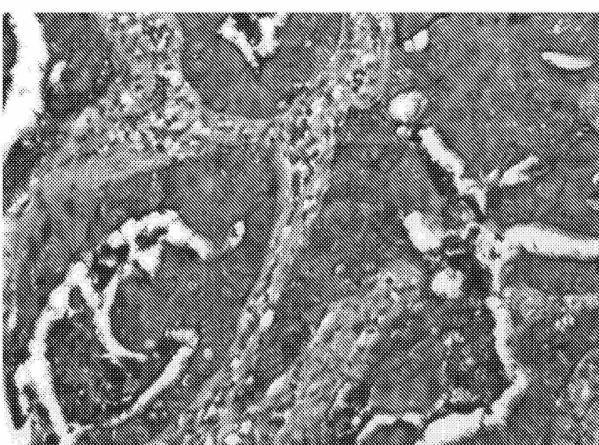
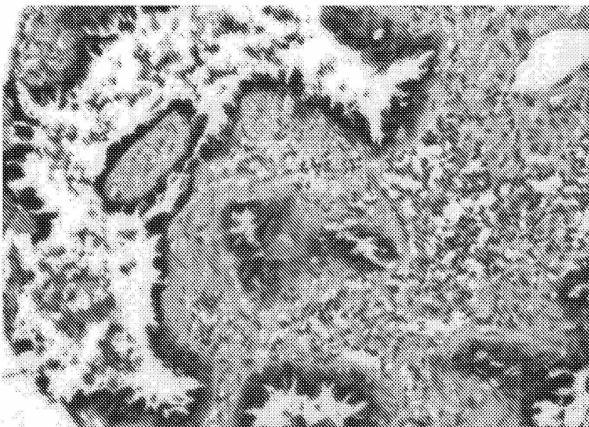


OVCAR3

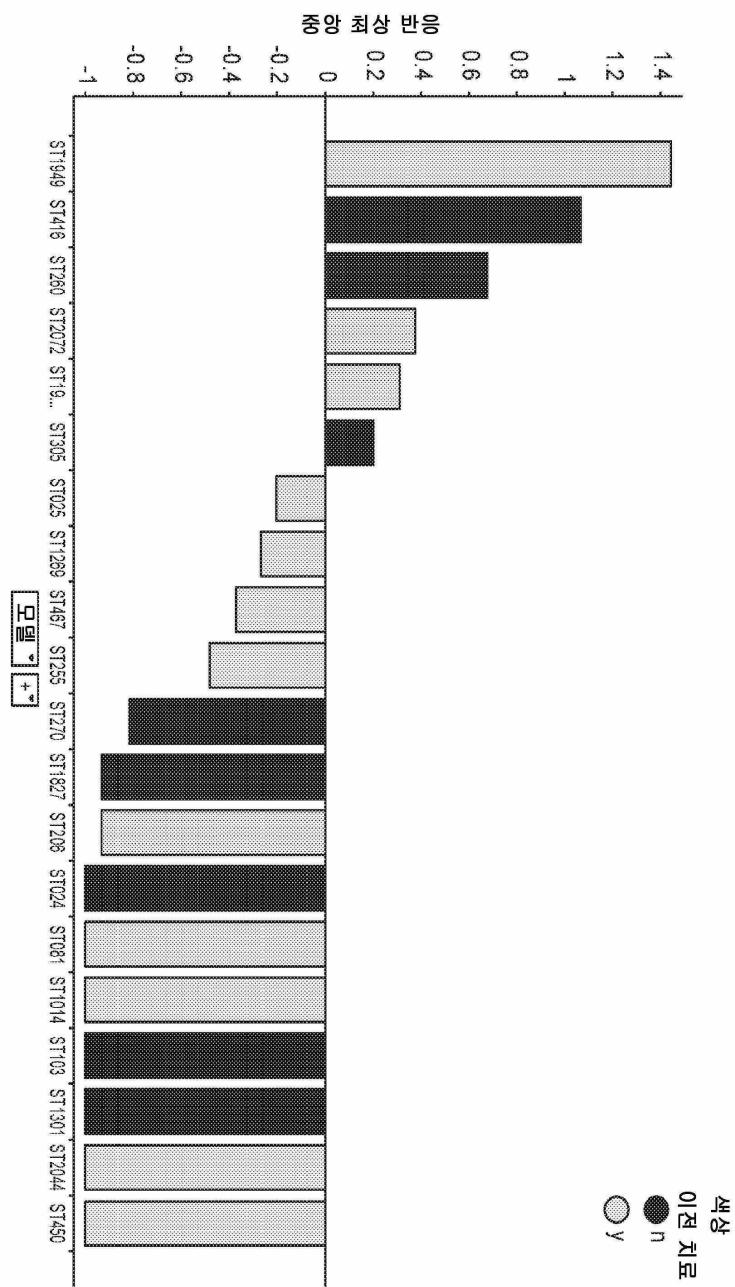


JIMT-1

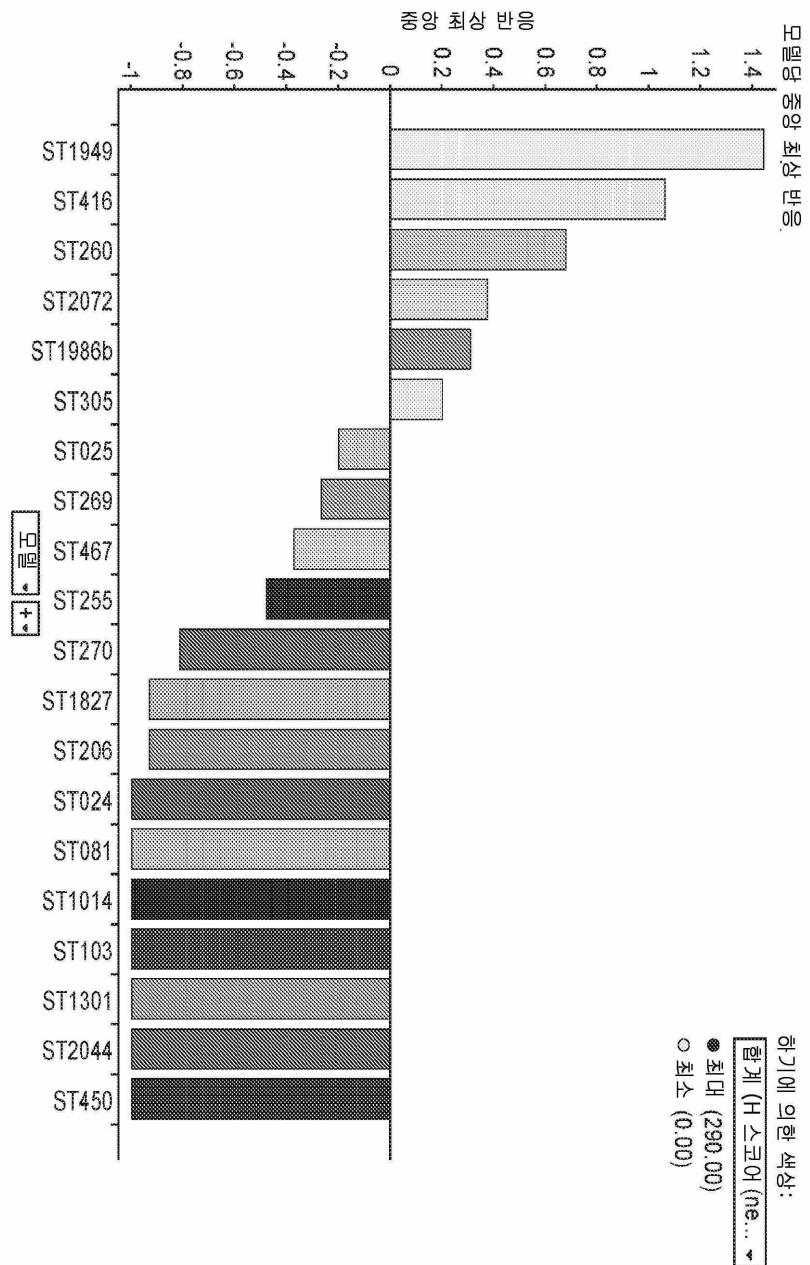
도면5



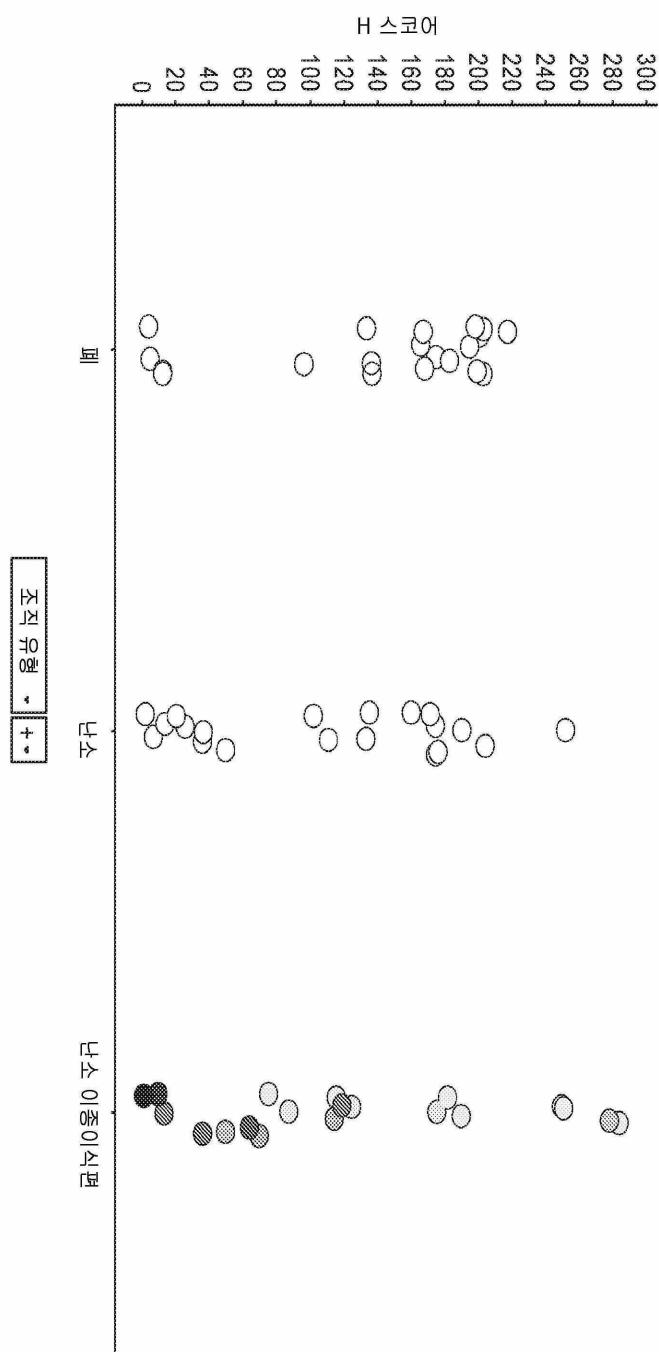
도면6



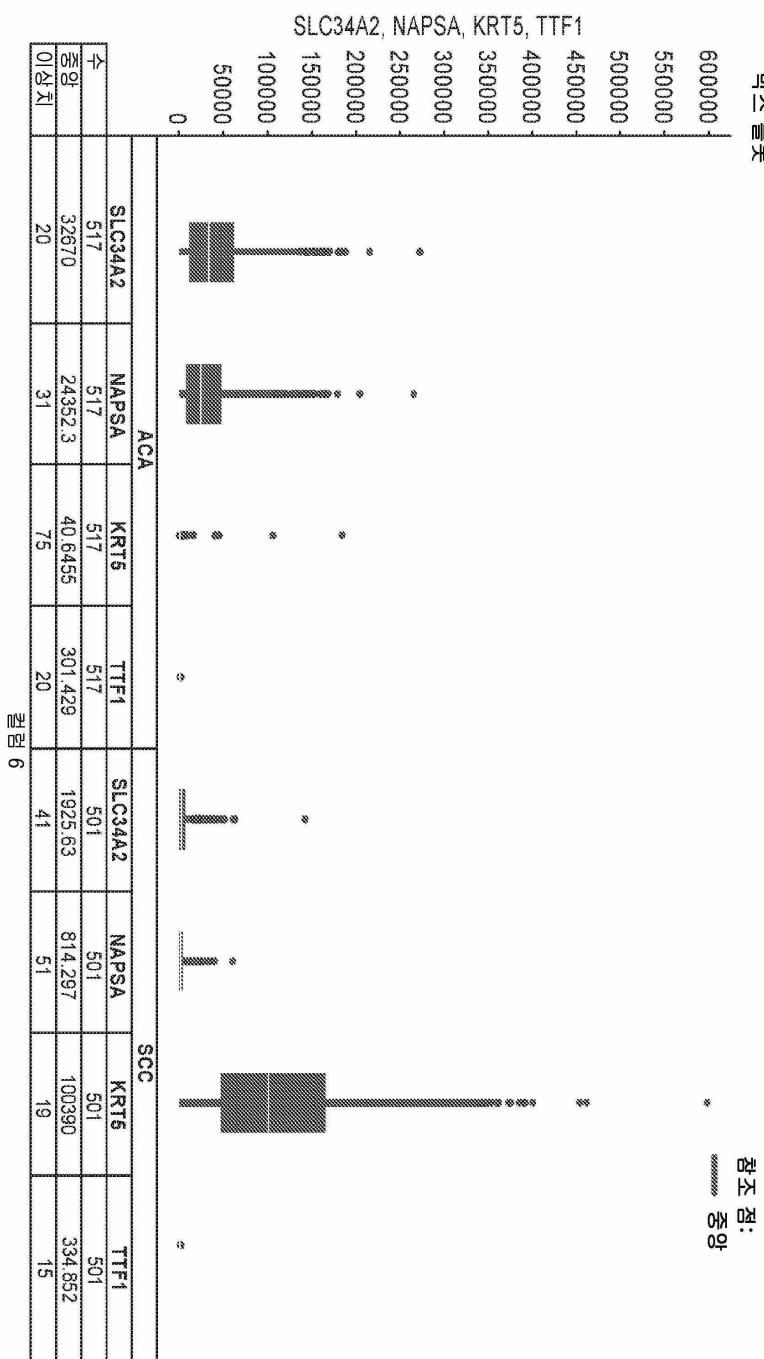
도면7



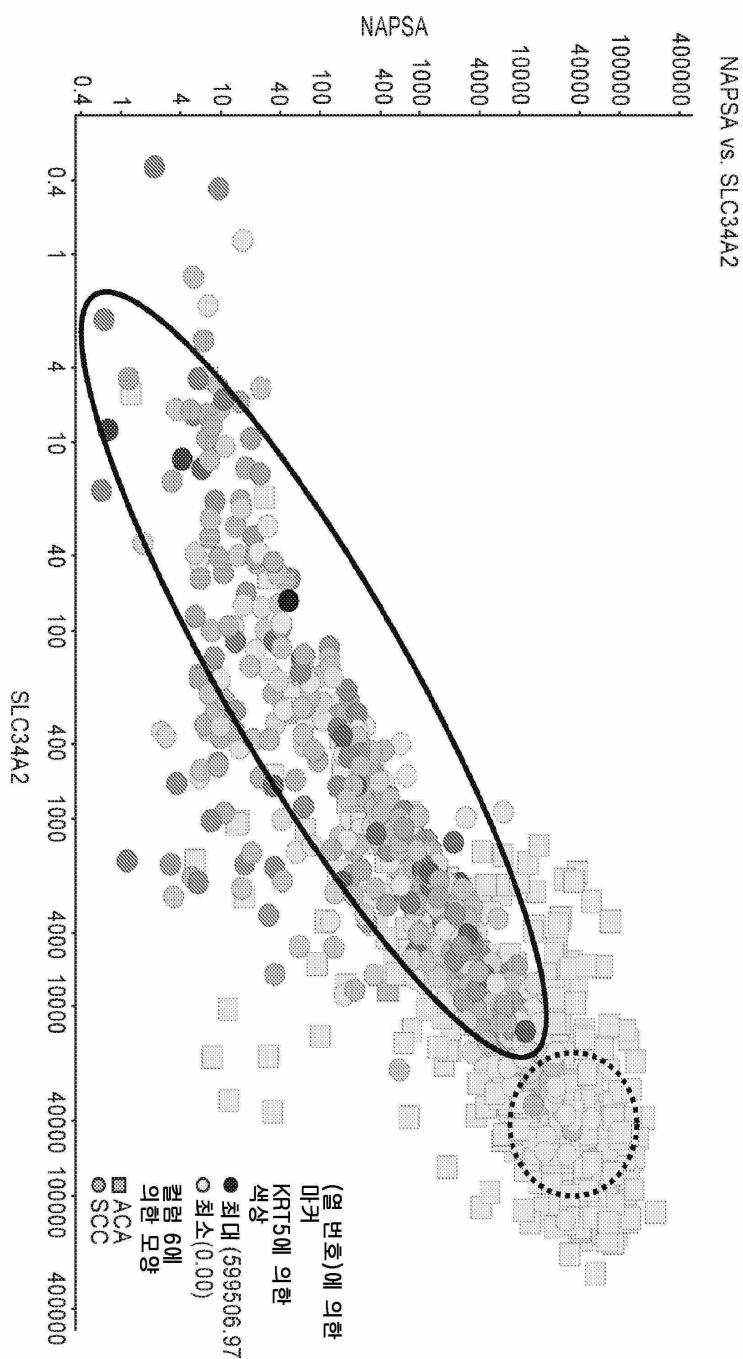
도면8



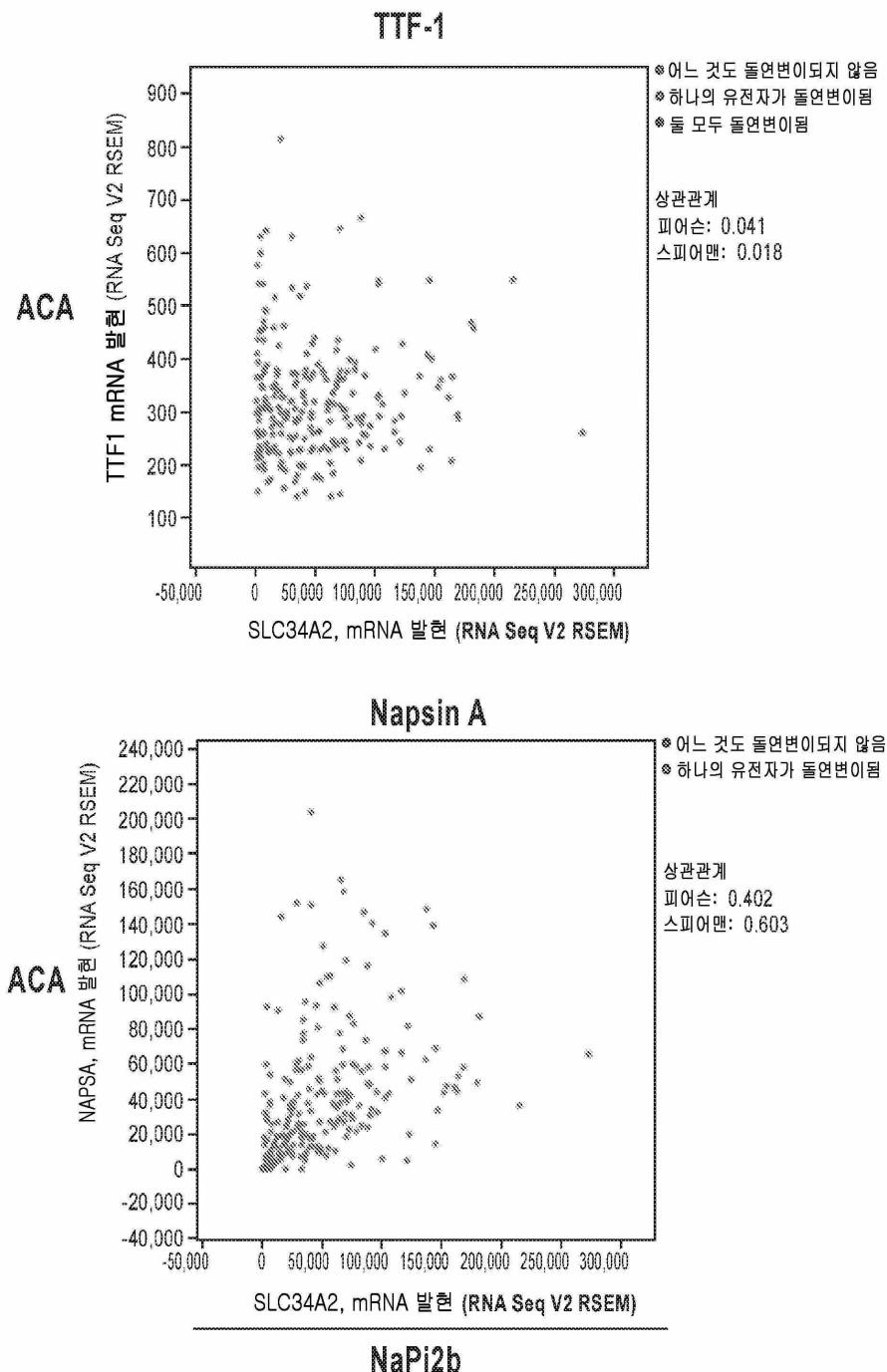
도면9



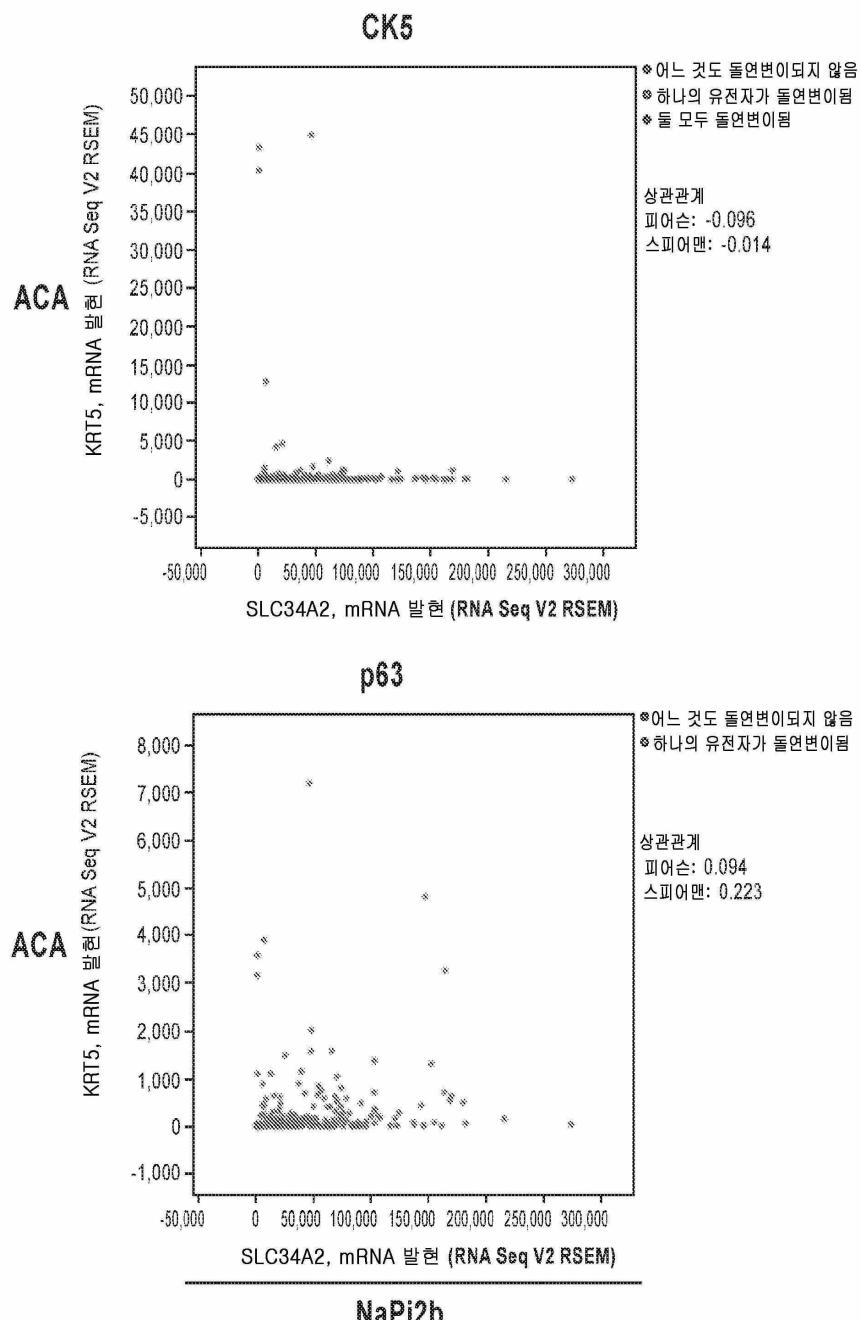
도면10



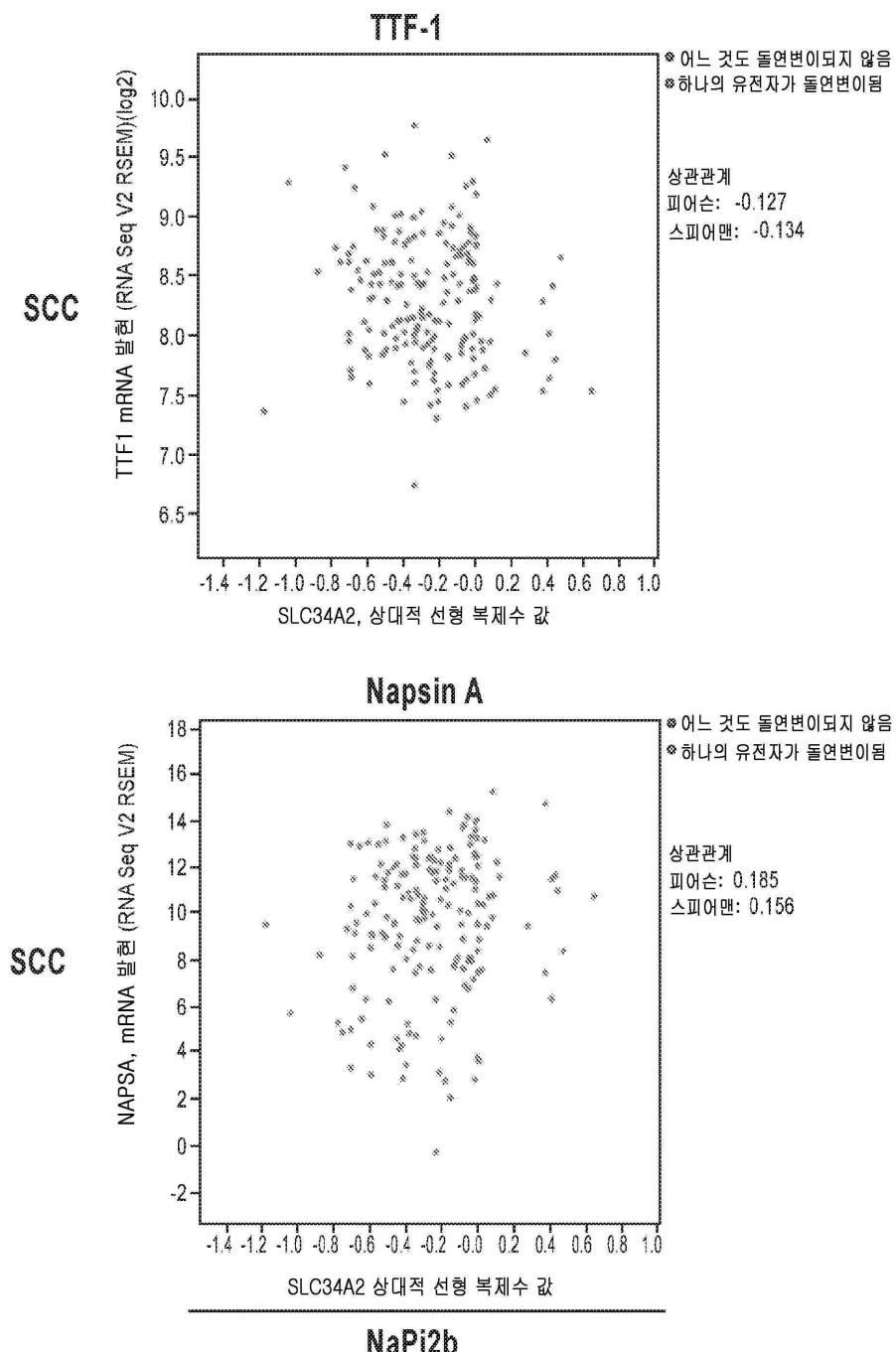
도면11a



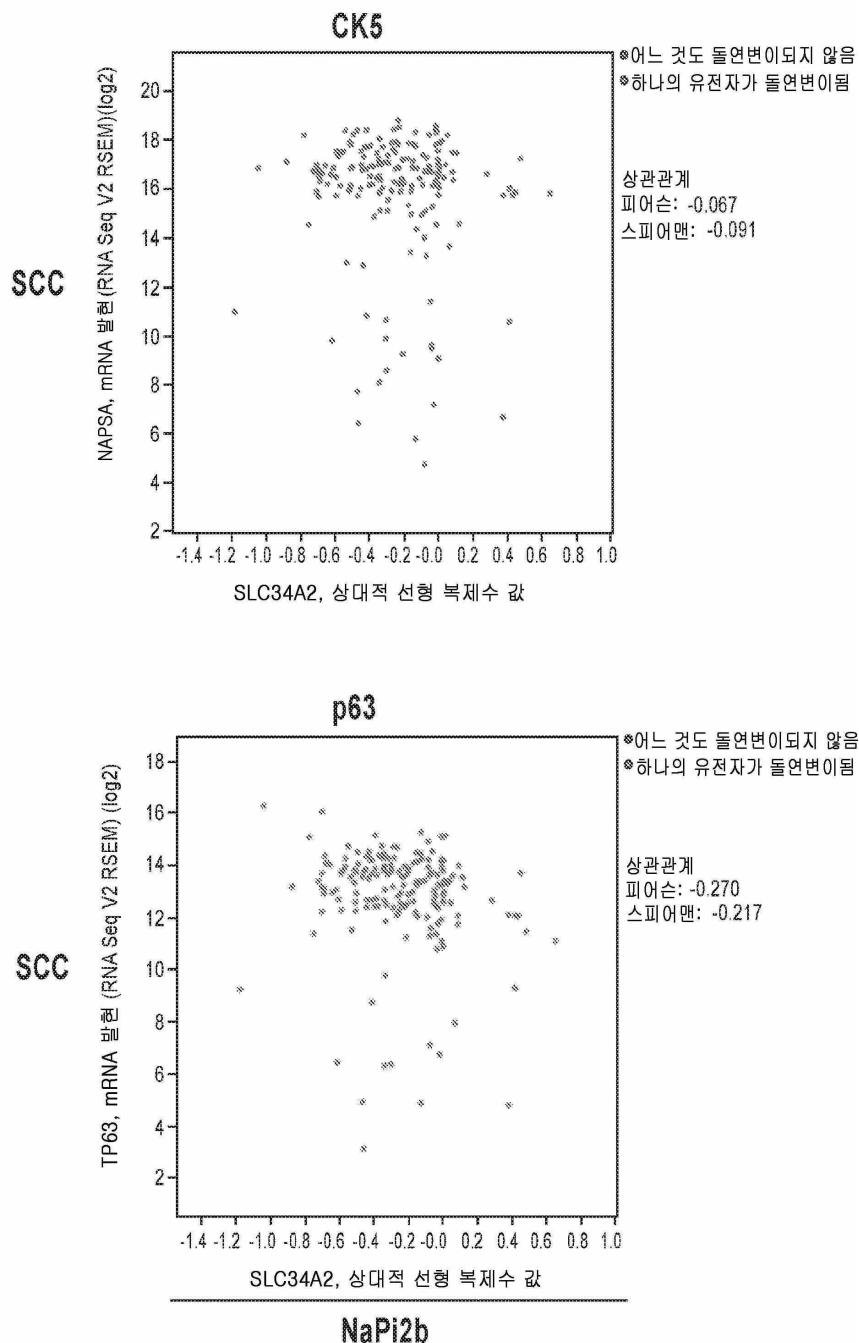
도면11b



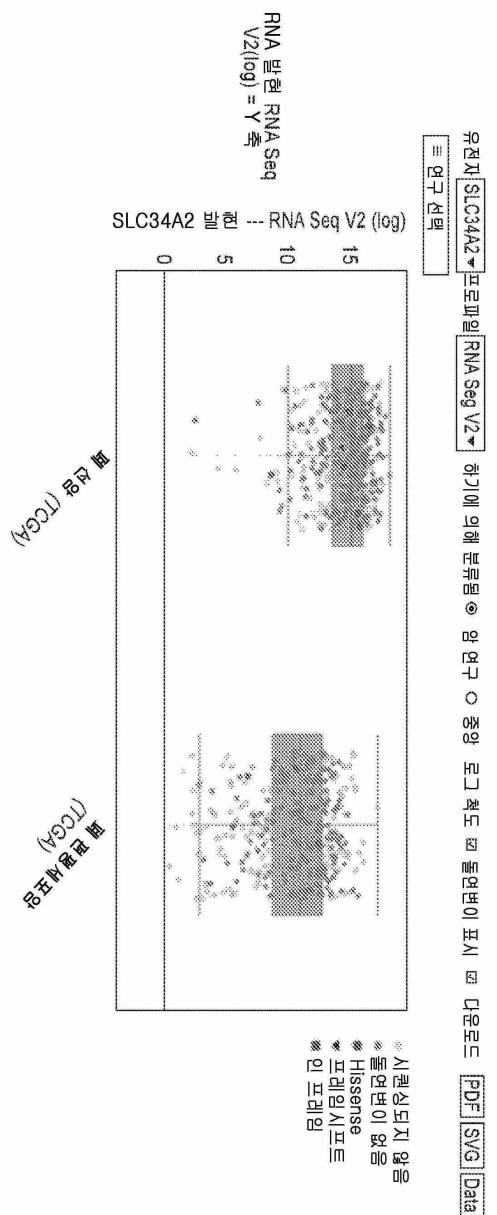
도면11c



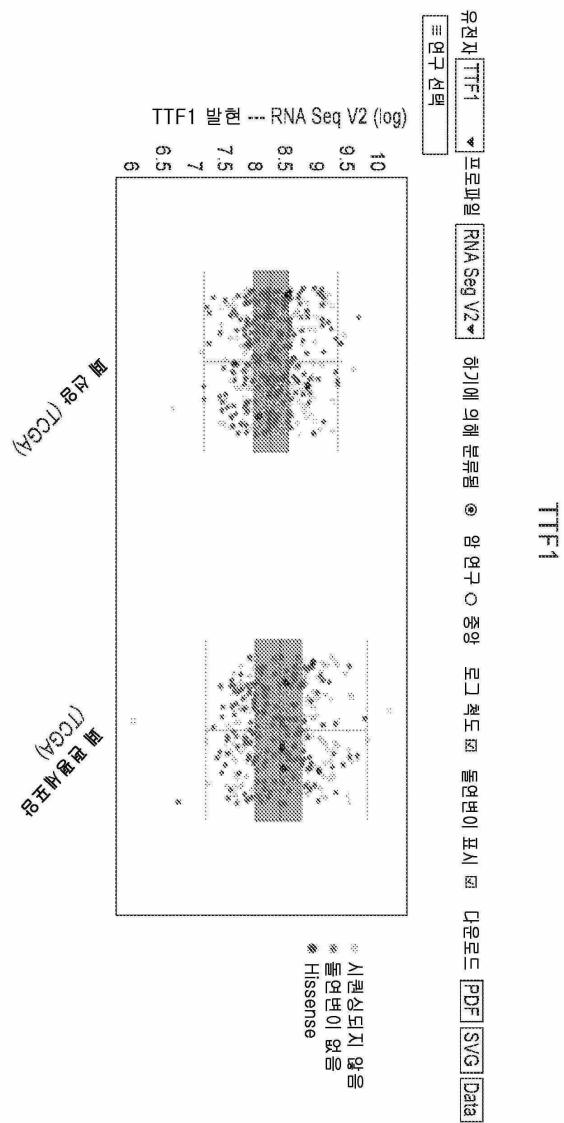
도면11d



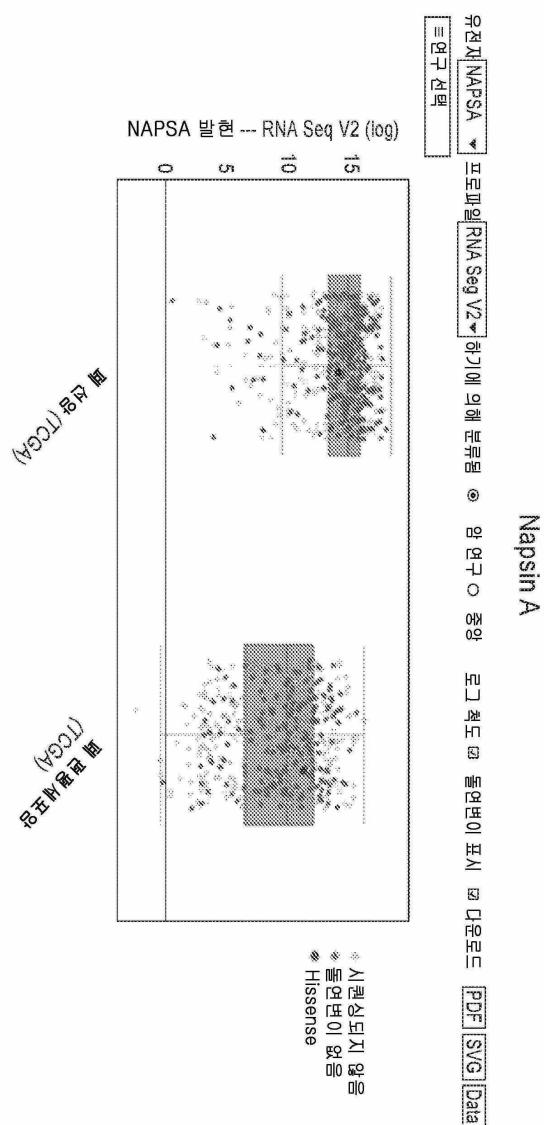
도면 12a



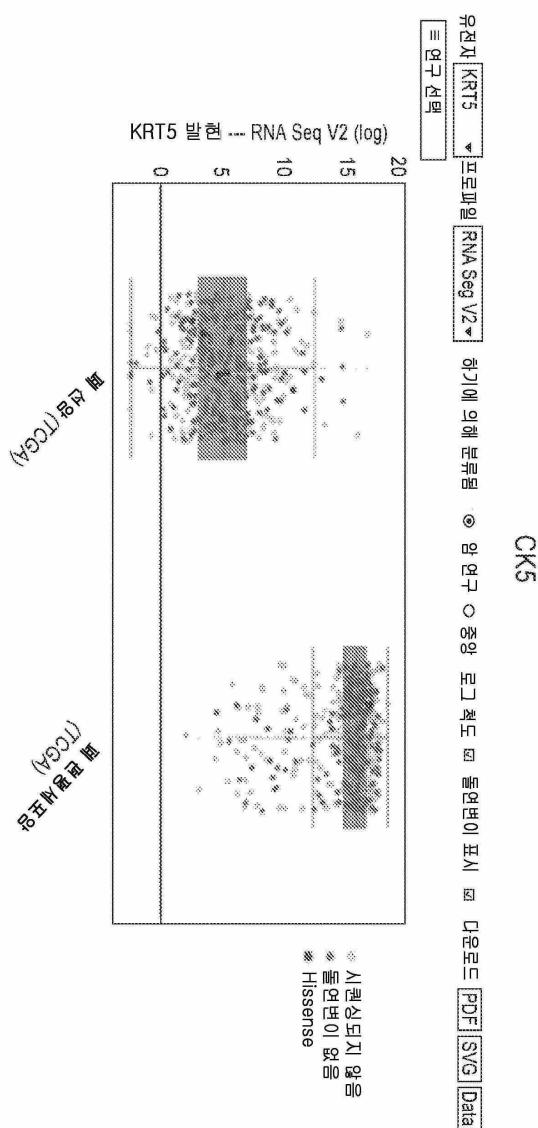
도면 12b



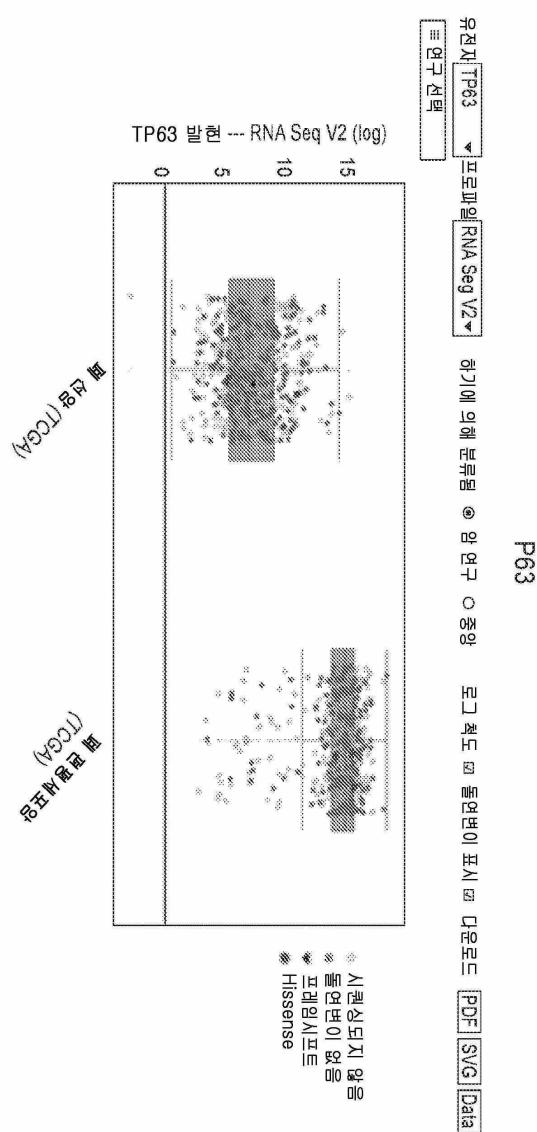
도면 12c



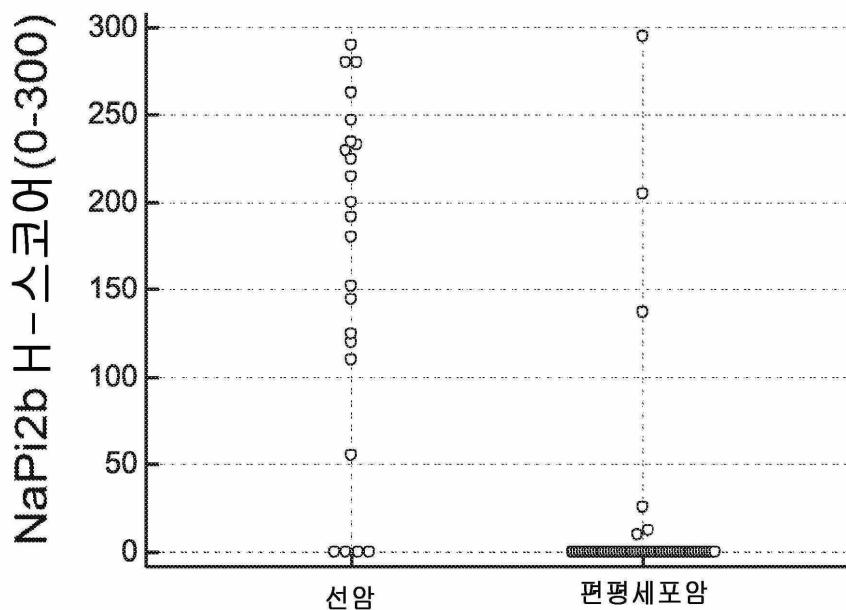
도면12d



도면12e

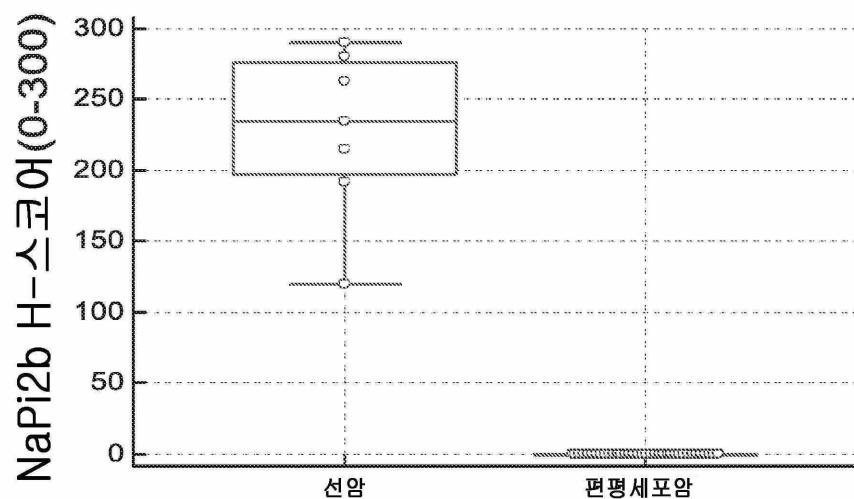


도면13



병리학 유형	양성		음성
	편평세포암	선암	
	3	19	60
		4	
		4	9
≥ 50 H-스코어의 임의의 컷오프			

도면14



서 열 목 륙

SEQUENCE LISTING

<110> Mersana Therapeutics, Inc.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR PREDICTING RESPONSE TO
NAPI2B-TARGETED THERAPY

<130> MRSN-023/001WO

<150> US 62/561,107

<151> 2017-09-20

<150> US 62/571,397

<151> 2017-10-12

<150> US 62/718,692

<151> 2018-08-14

<160> 18

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

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

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

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

Ala Arg Gly Glu Thr Ala Arg Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly

115 120

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 2

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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Phe

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100 105

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 3

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Asn Ile His

1 5 10

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 4

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

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 5

Gly Glu Thr Ala Arg Ala Thr Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 6

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 7

Tyr Thr Ser Ser Leu Tyr Ser

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 8

Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 9

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 9

caagttcagc tggttcagtc tggcgccgag gtttgtgaaac ctggcgccctc tgtgaagatg	60
agctgcagg ccagcggtca caccttaccgg ctacaaca tccactgggt caagcaggcc	120
cctggacagg gactcgaatg gatcgaggcc atctatcccg gcaacggcga caccagctac	180
aagcagaagt tccggggcag agccacactg accgcccata caagcaccag caccgtgtac	240
atggaactga gcagcctgag aagcgaggac agcgcgtgt actattgcgc cagaggcga	300
acagccagag ccaccttgc ctattgggc cagggAACCC tggtcaccgt tagctct	357

<210> 10

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 10

gatattcaga tgacacagag ccccagcagc ctgtctgcct ctgtgggaga cagagtgacc	60
atcacctgta gcgccagcca ggatatcgcc aacttctga actggtatca gcagaaaccc	120
ggcaagaccc tgaaggtgct gatctactac acctccagcc tgtacagcgg cgtgcccagc	180
agatTTCTG gcagcggtca tggcaccgac tacaccctga ccatacttag cctgcagcct	240
gaggacttcg ccacctaacta ctgccagcag tacagcaagc tgcccctgac atttggccag	300
ggcaccaagc tggaaactgaa g	321

<210> 11

<211> 323

<212> PRT

<213> Oryctolagus cuniculus

<400> 11

Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Cys Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys

65 70 75 80

Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala

85 90 95

Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val

145 150 155 160

Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile

165 170 175

Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Glu Asp Trp Leu Arg Gly

180 185 190

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser

225 230 235 240

Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu

245 250 255

Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Pro Gly Lys

<210> 12

<211> 104

<212> PRT

<213> Oryctolagus cuniculus

<400> 12

Arg Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp

1 5 10 15

Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr

20 25 30

Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr

35 40 45

Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr

50 55 60

Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys

100

<210> 13
<211> 969
<212> DNA
<213> Oryctolagus cuniculus

<400> 13	
ggacagccta aggctccag cgtgtccct ctggctcctt gctgtggcga tacccttagc	60
agcacagtga cactgggctg tctggtaaag ggctacatgc ctgaacctgt gaccgtgacc	120
tggaatagcg gcaccctgac caacggcgtg cgacatttc ctgcgtcag acagagcagc	180
ggccgtact ctctgagcag cgtggtgtct gtgaccagca gctctcagcc tgtgaccgtc	240
aatgtggccc atcctgccac caacaccaag gtggacaaa ccgtggctcc ctccacctgt	300
agcaaggcca catgtcctcc accagagctg ctcggaggcc cctccgtgtt tatttccca	360
cctaaggccta aggacaccct gatgatcagc agaaccctg aagtgacctg cgtggtggtg	420
gacgtgtccg aggatgatcc tgaggtgcag ttcacctggt acatcaacaa cgagcaagtg	480
cgggaccgcca gaccctctt gagagagcag cagttaaca gcaccatcag agtgggtct	540
accctgecta tcgctcacga ggattggctg cggggcaaaag agtcaagtg caaggtgcac	600
aacaaggccc tgcgtgtcc tatcgagaaa accatctca aggccagagg ccagccactg	660
gaacccaagg tgtacacaat gggccctcca agagaggaac tgtccagcag atccgtgtct	720
ctgaccctgca tgcataacgg cttctacccc agcgacatca gcgtgaaatg ggagaagaat	780
ggcaaggccg aggacaacta caagacaacc cctgcgtgc tggatagcga cggcagctac	840
ttcctgtaca gcaagctgag cgtccccacc tctgaatggc aacggggaga tgtgtttacc	900
tgcagcgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccat cagcagggtcc	960
ccaggcaaa	969
<210> 14	
<211> 312	
<212> DNA	
<213> Oryctolagus cuniculus	
<400> 14	
aggatcctg tggctccac cgtgtgtatt tttccaccag ccgctgtatca ggtggccact	60
ggcacagtga caatcgtgtg cgtggccaaac aagtacttcc ccgacgtgac cgtgaccgtgg	120
gaagtgcgtg gcaccacaca gaccacaggc atcgagaaca gcaagacccc tcagaacagc	180
gccgactgca cctacaacct gagcagcacc ctgacactga ccagcacaca gtacaacagc	240

cacaaagagt acacctgtaa agtcacccag ggcacaacca gcgtggtgca gagttcaac 300
 agaggcgatt gc 312
<210> 15
<211> 442
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic sequence
<400> 15
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

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

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

145 150 155 160
Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser
180 185 190

Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys

210 215 220

Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp

260 265 270

Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu

275 280 285

Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala

290 295 300

His Glu Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu

340 345 350

Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp

405 410 415

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

420 425 430

Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

435	440		
<210> 16			
<211> 211			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic Sequence			
<400> 16			
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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Phe			
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Val Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Leu			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Asp Pro Val Ala			
100	105	110	
Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly			
115	120	125	
Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr			
130	135	140	
Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn			
145	150	155	160
Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser			
165	170	175	
Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr			
180	185	190	
Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg			

195

200

205

Gly Asp Cys

210

<210> 17

<211> 1326

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<400> 17

caagttcagc tggttcagtc tggcgccgag gttgtgaaac ctggcgccctc tgtgaagatg	60
agctgcaagg ccagcggcta caccttacc ggctacaaca tccactgggt caagcaggcc	120
cctggacagg gactcgaatg gatcgagcc atctatcccg gcaacggcga caccagctac	180
aagcagaagt tccggggcag agccacactg accgcccata caagcaccag caccgtgtac	240
atggaactga gcagccttag aagcgaggac agcgccgtgt actattgcgc cagaggcga	300

acagccagag ccaccttgc ctattggggc cagggAACCC tggtaccgt tagcttgaa	360
cagcctaagg ctcccagcgt gttccctctg gtccttgct gtggcgatac ccctagcagc	420
acagtacac tggctgtct ggtcaaggc tacctgectg aacctgtgac cgtgacctgg	480
aatagcggca ccctgaccaa cggcgtgcgg acatttccca gcgtcagaca gagcagcggc	540
ctgtactctc tgagcagcgt ggtgtctgt accagcagct ctccgcgt gacctgcaat	600
gtggcccatc ctgccaccaa caccaaggta gacaaaacgg tggctccctc cacctgtac	660
aagccccat gtccctcacc agagctgctc ggaggcccct ccgtgtttat cttcccac	720

aagcctaagg acaccctgat gatcagcaga accccctgaag tgacctgcgt ggtggtgac	780
gtgtccgagg atgatcctga ggtcagttc accttgtaca tcaacaacga gcaagtgcgg	840
accgccagac ctccctgttag agagcagcag ttcaacagca ccatcagagt ggtgtctacc	900
ctgcctatcg ctacacgagga ttggctgcgg ggcaaaagagt tcaagtgcac ggtgcacaac	960
aaggccctgc ctgtccatat cgagaaaaacc atctccaagg ccagaggcca gccactggaa	1020
cccaagggtgt acacaatggg ccctccaaga gaggaactgt ccagcagatc cgtgtctcg	1080
acctgcatga tcaacggctt ctaccccagc gacatcagcg tggaatggga gaagaatggc	1140

aaggccgagg acaactacaa gacaaccctt gccgtgtgg atagcgacgg cagctacttc	1200
ctgtacagca agctgagcgt gcccacctct gaatggcaac ggggagatgt gttacctgc	1260
acggtgtatgc acgaggcccct gcacaaccac tacacccaga agtccatcag caggtcccc	1320

ggcaaa	1326
<210> 18	
<211> 633	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Sequence	
<400> 18	
gatattcaga tgacacagag ccccagcagg ctgtctgcct ctgtgggaga cagagtgacc	60
atcacctgta gcgccagcca ggatatcgcc aacttccctga actggatca gcagaaaaccc	120
 ggcaagaccc tgaaggtgct gatctactac acctccagcc tgtacagcgg cgtgcccagc	180
agatttctg gcagcggctc tggcacccgac tacaccctga ccatacttag cctgcagccct	240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacagcaagc tgcccctgac atttggccag	300
ggcaccaagc tggaaactgaa gagggatcct gtggctccca ccgtgctgat tttccacca	360
gccgctgatc aggtggccac tggcacagtg acaatcggt gcgtggccaa caagtacttc	420
cccgacgtga ccgtgacctg ggaagtcgat ggcaccacac agaccacagg catcgagaac	480
agcaagaccc ctcaaacag cgccgactgc acctaacc tgagcagcac cctgacactg	540
 accagcacac agtacaacag ccacaaagag tacacctgta aagtccacca gggcacaacc	600
agcgtggtgc agagcttcaa cagaggcgat tgc	633