



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년04월10일
(11) 등록번호 10-1251157
(24) 등록일자 2013년03월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7003703
(22) 출원일자(국제) 2006년07월25일
심사청구일자 2011년07월25일
(85) 번역문제출일자 2008년02월15일
(65) 공개번호 10-2008-0032192
(43) 공개일자 2008년04월14일
(86) 국제출원번호 PCT/US2006/029038
(87) 국제공개번호 WO 2007/014278
국제공개일자 2007년02월01일
(30) 우선권주장
60/702,499 2005년07월25일 미국(US)
60/800,595 2006년05월16일 미국(US)

(73) 특허권자
이머전트 프로덕트 디벨롭먼트 시애틀, 엘엘씨
미국 워싱턴주 98121 시애틀 스위트 1050 포스 애
비뉴 2401
(72) 발명자
그로스마이어 로라 슈
미국 98025 워싱턴주 호바트 피.오. 박스 252
하이텐-레드버터 마사 수잔
미국 98178 워싱턴주 쇼어라인 리지필드 로드 엔
더블유 18798
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
강승옥, 김성기, 김진희

(56) 선행기술조사문헌
US20050136049 A1

전체 청구항 수 : 총 18 항

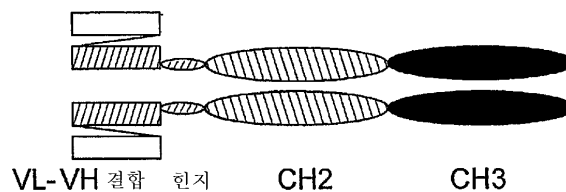
심사관 : 임혜준

(54) 발명의 명칭 C D37-특이적 결합 분자 및 C D20-특이적 결합 분자를사용한 B-세포 감소

(57) 요약

본 발명은 대체로 CD37-특이적 결합 분자를 사용하여 개체 내에서 B-세포를 감소시키는 방법을 제공한다. 특히, 본 발명은 CD37-특이적 결합 분자를 단독으로 사용하거나, 또는 CD37-특이적 결합 분자와 CD20-특이적 결합 분자를 함께 사용하여(이로써, 때로는 상승 효과를 나타내기도 함) B-세포를 감소시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 이상 B-세포 활성화와 관련된 질병의 치료를 위한 물질과 이를 위한 방법을 제공하기도 한다.

대표도 - 도1a



(72) 발명자

레드버터 제프리 에이

미국 98177 워싱턴주 쇼어라인 리지필드 로드 엔더
블유 18798

툼슨 피터 암스트롱

미국 98007 워싱턴주 벨러뷰 30번 플레이스 엔.이.
14075

시몬 샌디 알렉산더

미국 98115 워싱턴주 시애틀 북동 68번 스트리트
1904

브래디 윌리엄

미국 98021 워싱턴주 보텔 219번 플레이스 에스더
블유 618

특허청구의 범위

청구항 1

인간화 CD37-특이적 면역글로불린 결합 단백질로서,

(a) 인간 경쇄 프레임워크 영역, 서열번호 62의 아미노산 서열 또는 서열번호 62의 1 또는 2개 아미노산이 변경된 이의 변이체를 포함하는 경쇄 CDR1, 서열번호 64의 아미노산 서열 또는 서열번호 64의 1 또는 2개 아미노산이 변경된 이의 변이체를 포함하는 경쇄 CDR2, 및 서열번호 66의 아미노산 서열 또는 서열번호 66의 1 또는 2개 아미노산이 변경된 이의 변이체를 포함하는 경쇄 CDR3; 및

(b) 인간 중쇄 프레임워크 영역, 서열번호 63의 아미노산 서열 또는 서열번호 63의 1 또는 2개 아미노산이 변경된 이의 변이체를 포함하는 중쇄 CDR1, 서열번호 65의 아미노산 서열 또는 서열번호 65의 1 또는 2개 아미노산이 변경된 이의 변이체를 포함하는 중쇄 CDR2, 및 서열번호 67, 68, 213 또는 219의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3

을 포함하고, 인간 CD37과의 결합에 대해 모노클로날 항체 G28-1과 경쟁하는 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, 경쇄 CDR1은 서열번호 61(RASENVYSYLA) 또는 서열번호 62(RTSENVYSYLA)의 아미노산 서열을 포함하는 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 3

제1항에 있어서, 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 61, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 67의 아미노산 서열을 포함하거나;

경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 61, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 68의 아미노산 서열을 포함하거나;

경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 61, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 213의 아미노산 서열을 포함하거나;

경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 61, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 219의 아미노산 서열을 포함하거나;

경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 62, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 67의 아미노산 서열을 포함하거나;

경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 62, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 68의 아미노산 서열을 포함하거나;

경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 62, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 213의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 62, 64 및 66의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 서열번호 63, 65 및 219의 아미노산 서열을 포함하는 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 4

제1항에 있어서, 경쇄 프레임워크 영역 및 CDR들은 각각 서열번호 171, 61, 182, 64, 195, 66 및 206의 아미노산 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함하고, 중쇄 프레임워크 영역 및 CDR들은 각각 서열번호 144, 63, 151, 65, 158, 68 및 161의 아미노산 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함하는 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 5

제1항에 있어서, 인간화 CD37-특이적 결합 단백질은 아미노 말단부터 카르복시 말단으로, 인간 CD37-특이적

scFv, 인간 면역글로불린 힌지 영역 폴리펩티드; 및 인간 면역글로불린 불변 영역을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드, 항체 또는 이의 결합 단편, 또는 단일 사슬 Fv(scFv) 폴리펩티드인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 6

제5항에 있어서, 키메라인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 7

제1항에 있어서, 인간화 CD37-특이적 결합 단백질은 아미노 말단부터 카르복시 말단으로, 인간 CD37-특이적 scFv, 인간 면역글로불린 힌지 영역 폴리펩티드; 및 인간 면역글로불린 불변 영역을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드이고, 여기서 경쇄 가변 영역이 서열번호 221, 222, 223, 224, 225 또는 226에 기재된 바와 같이 $(\text{Gly}_n\text{Ser})_n$ (n 은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6임)을 포함하는 링커 펩티드에 의해 중쇄 가변 영역에 결합된 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 8

제7항에 있어서, 결합된 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 서열번호 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 115, 116, 118, 120, 122, 124, 126 및 127로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 인간 면역글로불린 힌지 영역 폴리펩티드를 통해 인간 면역글로불린 불변 영역에 연결된 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 9

제8항에 있어서, 인간 면역글로불린 불변 영역은 IgG1 CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 10

제1항에 있어서, 서열번호 48, 52, 80 및 84에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 인간화 CD37-특이적 결합 단백질.

청구항 11

이상 B-세포 활성화와 관계된 질병의 치료를 필요로하는 인간 피험체에서 이상 B-세포 활성화와 관계된 질병을 치료하기 위한 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항 따른 인간화 CD37-특이적 결합 단백질을 포함하는 약학 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 이상 B-세포 활성화와 관계된 질병은 B-세포 암 또는 자가면역성 질환인 약학 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 자가면역성 질환은 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 전신 홍반성 루프스, 크론병, 쇼그렌 증후군, 그레이브스병, I형 진성 당뇨병, 건선, 면역 혈소판감소성 자반증, 천포창, 특발성 염증성 근병증 또는 발덴슈트롬 거대글로불린혈증인 약학 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, B-세포 암은 비호지킨 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 급성 림프아세포 백혈병, 모양 세포성 백혈병, 만성 근아세포성 백혈병, 다발성 골수종, 소형 림프구성 림프종, B-세포 전림프구성 백혈병, 림포형질 세포 림프종, 비장 변연부 림프종, 고립성 골형질세포종, 골외 형질세포종, 점막-관련 림프양 조직(MALT)의 림프절외 변연부 B-세포 림프종, 림프절 변연부 B-세포 림프종, 여포성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 중격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출성 림프종, 버킷 림프종/백혈병, 불확실한 악성 가능성의 B-세포 증식, 림프종모양 육아종증 또는 이식 후 림프구증식성 질환인 약학 조성물.

청구항 15

제11에 있어서, 인간 CD20-특이적 결합 단백질의 유효량이 인간 피험체에게 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 인간 CD20-특이적 결합 단백질은 모노클로날 항체 리톡시맵 또는 서열번호 4에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드인 약학 조성물.

청구항 17

제11항에 있어서, 시토카인, 케모카인, 성장인자, 화학요법 제제, 방사능 요법 제제, 생물 반응 개선제, 아드레노코르티코이드스테로이드/길항제, 또는 면역 억제제의 유효량이 인간 피험체에게 더 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 화학요법 제제가 인간 피험체에게 투여되고, 화학요법 제제는 알킬화제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체, 플루다라빈 또는 클로람부실인 약학 조성물.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

명세서

기술 분야

[0001] 본 출원은 35 U.S.C. § 119 하에, 미국 특허 출원 제60/702,499호(2005년 7월 25일 출원) 및 미국 특허 출원 제60/798,344호(2006년 5월 16일 출원)[상기 출원들은 본원에 그 자체로서 참고용으로 인용됨]의 우선권의 이익을 주장한다.

[0002] 기술 분야

[0003] 본 발명은 일반적으로 CD37-특이적 결합 분자를 사용하여 개체 내에서 B-세포를 감소시키는 방법을 제공한다. 특히, 본 발명은 CD37-특이적 결합 분자를 단독으로 사용하거나, 또는 CD37-특이적 결합 분자와 CD20-특이적 결합 분자를 함께 사용하여(이로써, 때로는 상승 효과를 나타내기도 함) B-세포를 감소시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 이상 B-세포 활성화와 관계된 질병의 치료를 위한 물질과 이를 위한 방법을 제공한다.

배경 기술

[0004] 보통, 인간의 면역 시스템은 자신의 신체를 외래 물질 및 병원체로부터 보호해 주는 역할을 한다. 이와 같이 면역 시스템이 신체를 보호하는 한 가지 방법으로서, B 림프구 또는 B-세포라고 불리는 특화 세포를 생산하는 것이 있다. B-세포는 외래 물질 또는 병원체에 결합하고, 때로는 이 외래 물질 또는 병원체를 파괴하는 과정을 매개하기도 하는 항체를 생산한다.

[0005] 그러나, 몇몇 경우, 인간의 면역 시스템, 특히 인간 면역 시스템의 B 림프구는 작동에 오류를 일으켜 질병을 유발시키기도 한다. B-세포의 무제한 증식과 관계된 암이 다수 존재한다. 뿐만 아니라, 외래 물질 및 병원체에 결합하는 대신에, 자신의 신체 일부에 결합하는 항체를 B-세포가 생산하는 것과 관계된 자가 면역성 질환도 다수 존재한다. 이러한 항체를 자가 항체(autoantibody)라고도 부른다. 뿐만 아니라, 예를 들어, B-세포 항원이 T-세포에 부적절하게 제공되거나, 또는 기타 B-세포가 관여하는 과정에 의하여, B-세포 자체가 질병의 원인이 되는 자가 면역성 질환 및 염증성 질환도 다수 존재한다. 예를 들어, B-세포에 결합이 있어 자가 면역성 질환이 발생하기 쉬운(autoimmune-prone) 마우스는 자가 면역성 신장 질환이나 맥관염으로 진행되지 않거나 또는 자가 항체를 생산하지 않는다. 문헌[Shlomchik 외 다수, J Exp. Med., 180:1295-306 (1994)]을 참조하시오. 흥미로운 사

실은, B-세포는 보유하되 면역 글로불린 생산은 하지 못하는, 자가 면역성 질환이 발생하기 쉬운 마우스는, 실험에 의해 자극되었을 때 자가 면역성 질환이 발병하여 진행된다는 점인데[Chan와 다수, J. Exp. Med., 189:1639-48 (1999)], 이는 곧, B-세포가 자가 면역성 질환의 진행 여부에 중요한 역할을 한다는 것을 말해주는 것이다.

[0006] B-세포는 이것의 세포 표면상에 있는 분자에 의해 동정될 수 있다. CD20은 모노클로날 항체에 의해 동정된 최초의 인간 B-세포 계열-특이적 표면 분자였다. 이는 글리코실화되지 않고, 소수성인 35kDa의 B-세포 경막성 인 단백질로서, 아미노 말단 및 카복시 말단이 세포 내부에 존재하는 단백질이다. 문헌[Einfeld와 다수, EMBO J., 7:711-17 (1998)]을 참조하시오. CD20은 모든 정상적인 성숙 B-세포에 의해 발현되지만, 전구체 B-세포나 혈장 세포에 의해서는 발현되지 않는다. CD20에 대한 천연 리간드는 동정되지 않았으며, B-세포 생물학에 있어서 CD20의 기능은 아직도 완전히 규명되지 않았다.

[0007] 기타 B-세포 계통-특이적 세포 표면 분자로서는 CD37이 있다. CD37은 대부분이 글리코실화된 40~50kDa의 단백질로서, 세포 표면 항원의 테트라스패닌(tetraspanin) 경막 군에 속하는 것이다. 이것은 세포막을 4회 횡단하여, 2개의 세포 외 루프를 형성하고, 또한 이것의 아미노 말단부와 카복시 말단부는 세포질에 노출되어 있다. CD37은 정상 항체-생산(slg+) B-세포 상에서 높은 수준으로 발현되지만, 전구 B-세포 또는 혈장 세포 상에서는 발현되지 않는다. CD37은 휴지 및 활성화 T-세포, 단핵구 및 과립구 상에서 낮은 수준으로 발현되며, NK 세포, 혈소판 또는 적혈구 상에서는 거의 발현되지 않는다. 문헌[Belov와 다수, Cancer Res., 61 (11):4483-4489 (2001); Schwartz-Albiez와 다수, J. Immunol., 140(3): 905-914 (1988); 및 Link와 다수, J. Immunol., 137(9): 3013-3018 (1988)]을 참조하시오. 정상 B-세포 이외에, 대부분의 B-세포 기원 악성 종양 예를 들어, CLL, NHL 및 모양 세포성 백혈병은 CD37이 발현됨에 따라서 발생한다[Moore와 다수, Journal of Pathology, 152: 13-21 (1987); Merson and Brochier, Immunology Letters, 19: 269-272 (1988); 및 Faure와 다수, American Journal of Dermatopathology, 12 (3): 122-133 (1990)]. CD37이 결여된 마우스에서는 혈청 IgG1을 낮은 수준으로 생산하고, 바이러스 항원 및 표준 항원에 대한 체액성 반응이 일어나지 않는 것으로 보아, CD37은 B-세포 기능 조절에 관여하는 것으로 생각된다. 아마도, CD37은 비 전통적인 보조 자극 분자로서 작용을 하거나, 아니면 MHC 제II군 분자와의 복합체 형성을 통하여 항원 제공 과정에 직접적인 영향을 미치는 것으로 추측된다. 문헌[Knobeloch와 다수, Mol. Cell. Biol., 20(15):5363-5369 (2000)]을 참조하시오. CD37은 또한 TCR 신호 전달 과정에도 관여하는 것으로 파악된다. 문헌[Van Spriell와 다수, J. Immunol., 172: 2953-2961 (2004)]을 참조하시오.

[0008] B-세포 계통-특이적 세포 표면 분자 예를 들어, CD37 또는 CD20이 자기 자신을 항체(즉, 표면상에 CD37 또는 CD20을 가지는, 암 및 자가 면역성 질환 유발 B-세포와 결합하여, 이 B-세포의 파괴를 매개하는 항체)의 표적으로 삼을 수 있다는 생각을 바탕으로 하여, 많은 연구와 약물 개발이 행해지고 있다. "면역 치료제"라고 불리는 항체 즉, CD37 또는 CD20에 결합하며, 비-인간 동물에서 생산되는(또는 비-인간 동물에서 생산되는 항체를 주성분으로 하는) 항체를 환자에게 투여하면, 암 또는 자가 면역성 질환 유발 B-세포를 없앨 수 있었다.

[0009] CD37에 대한 하나의 항체를 ¹³¹I로 표지화하여, 이 항체가 NHL의 치료제인지 여부를 테스트하는 임상 실험을 수행하였다. 문헌[Press와 다수, J. Clin. Oncol., 7(3): 1027-1038 (1989); Bernstein와 다수, Cancer Res. (Suppl.), 50: 1017-1021 (1990); Press와 다수, Front. Radiat. Ther. Oncol., 24: 204-213 (1990); Press와 다수, Adv. Exp. Med. Biol., 303: 91-96 (1991) 및 Brown와 다수, Nucl. Med. Biol., 24: 657-663 (1997)]을 참조하시오. 항체인 MB-1은 Fc 효과기 작용 예를 들어, 항체-의존성 세포 내 세포 독성(ADCC)이 결여된 쥐과 동물의 IgG1 모노클로날 항체로서, 동위 원소로 표지화되지 않을 경우, 생체 내 이중 이식 모델에서 종양의 성장을 억제하지 못하였다[Buchsbaum와 다수, Cancer Res., 52(83): 6476-6481 (1992)]. ¹³¹I-MB-1의 바람직한 성분포는 종양 적하중량(tumor burden)이 적은(<1kg) 림프종 환자에서 확인할 수 있었으며, 이러한 환자를 치료하였을 경우에 4~11개월 동안 종양을 완전히 억제할 수 있었다[Press와 다수, 1989 및 Bernstein와 다수 1990].

[0010] 뿐만 아니라, 약물인 아드리아마이신이 다른 항-CD37 항체인 G28-1에 결합되어 있는 면역 컨쥬게이트를 마우스에서 평가한 바에 따르면, 이 컨쥬게이트가 내재화되어 세포 내에서 약물을 방출함으로써 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 문헌[Braslawsky와 다수, Cancer Immunol. Immunother., 33(6): 367-374 (1991)]을 참조하시오.

[0011] 다양한 연구자들은 B-세포 관련 질병을 치료하기 위해 항-CD20 항체를 사용하는 것에 관하여 연구하여 왔다. 한 가지 치료법으로서는, B-세포 림프종을 치료하기 위해 방사성 핵종 형태로 제조된 항-CD20 항체(예를 들어, ¹³¹I-표지화 항-CD20 항체)와, 전립선암 및 유방암의 전이에 의해 유발되는 골 통증의 완화를 위한 ⁸⁹Sr-표지화된

형태의 항-CD20 항체를 사용하는 것이 있다[Endo, Gan To Kagaku Ryoho, 26: 744-748 (1999)].

- [0012] 또 다른 연구자들은 인간의 IgG1 중쇄 및 인간의 카파 경쇄 불변부에 융합된, 마우스 기원의 중쇄 및 경쇄 가변 부로 이루어져 있으며, CD20에 특이적인 키메라 모노클로날 항체를 개발하였다. 알려진 바에 의하면, 키메라 항체는 CD20에 결합하는 능력과 ADCC를 매개하고 보체를 고정하는 능력을 보유한다고 한다. 문헌[Liu의 다수, J. Immunol. 139:3521-26 (1987)]을 참조하시오. 또 다른 키메라 항-CD20 항체는 IDEC 하이브리도마 CD28로부터 생산된다(리투시맵(rituximab)이라 칭함). 이 리투시맵의 항-종양 활성 기작은 몇몇 활성 예를 들어, ADCC, 보체 고정 및 악성 B-세포의 세포 자살을 촉진하는 신호의 촉발 작용을 조합한 것으로서 추측되지만, 이 키메라 항체의 크기가 크기 때문에, 이 항체 분자가 악성 B-세포를 함유하는 림프양 조직으로 최적으로 확산되는 것이 방해되어, 결과적으로 이 항체의 항-종양 활성이 제한된다. ADCC는, Fc 수용체(FcR)(예를 들어, 자연 살해(NK) 세포, 호중구 및 대식 세포)를 발현하는 비 특이적 세포 독성 세포가 표적 세포에 결합되어 있는 항체를 인지하여 그 표적 세포를 용해시키는, 세포-매개 반응이다. 보체 고정 또는 보체-의존성 세포 독성(CDC)이란, 보체의 존재 하에 분자가 표적을 용해하는 능력을 의미하는 것이다. 보체 활성화 경로는 보체 시스템의 제1 성분(C1q)과 동 기원 항원과 복합체를 형성한 분자(예를 들어, 항체)의 결합에 의해 개시된다. 리투시맵의 크기가 크기 때문에 이 분자가 악성 B-세포를 함유하는 림프양 조직으로 최적으로 확산되는 것이 방해되므로, 이 리투시맵의 항-종양 활성이 제한된다.
- [0013] 통상적으로 4주마다 주입되어 투여되는 리투시맵은 현재 저급성 또는 여포성 B-세포 비 호지킨 림프종[McLaughlin의 다수, Oncology, 12: 1763-1777 (1998); Leget의 다수, Curr. Opin. Oncol., 10: 548-551 (1998)]과, 재발된 제3기/제4기 여포성 림프종[White의 다수, Pharm. Sci. Technol. Today, 2: 95-101 (1999)]의 치료에 사용되고 있다. 리투시맵으로 치료 가능한 기타 질환으로서, 여포성 중심 세포 림프종(follicular centre cell lymphoma; FCC), 맨클 세포 림프종(Mantle cell lymphoma; MCL), 확산형 거대 세포 림프종(diffuse large cell lymphoma; DLCL) 및 소형 림프구성 림프종(small lymphocytic lymphoma; SLL)을 포함한다[Nguyen의 다수, Eur J Haematol., 62:76-82 (1999)]. 1주일마다 주입되어 투여되는 리투시맵도 또한 CLL을 치료하는데 사용된다[Lin의 다수, Sem Oncol., 30:483-92 (2003)].
- [0014] 항-CD20 항체는 또한 자가 항체의 B-세포 생산과 관련된 자가 면역성 질환을 앓고 있는 환자를 치료하는데에도 사용되고 있다. 예를 들어, 리투시맵은, 다발성 자가 면역성 질환/염증성 질환 환자 예를 들어, RA 환자에 있어서, CD20+ B-세포를 감소시킨다는 중요한 임상 혜택을 주는 것으로 입증된 바 있다[Edwards, N Engl J Med., 350:2546-2548 (2004); Cambridge의 다수, Arthritis Rheum., 48:2146-54 (2003)]. RA 환자의 경우, 메토틱렉세이트(MTX)는 순차 투여되고, 리투시맵은 4회 주입 투여된다(Edwards, 상동). 이와 같은 환자들은 대조군에 비하여, 미국 류머티즘 학회(ACR) 반응이 개선되었음을 알 수 있었다.
- [0015] 전신 홍반성 루프스(SLE)의 치료 실험에 있어서는[Leandro의 다수, Arthritis Rheum., 46:2673-2677 (2002)], 환자들에게 고 투여량의 리투시맵을 2회 주입하여 투여하였는데, 이를 통하여, B-세포가 감소하였으며 병상도 개선되었다. SLE에 있어서 2차 B-세포 감소 연구에 있어서는[Looney의 다수, Arthritis Rheum., 50:2580-2589 (2004)], 환자들에게 리투시맵을 100mg/m²(낮은 투여량) 1회 투여하였거나, 375mg/m²(중간 투여량) 1회 주입하였거나, 또는 375mg/m²(고 투여량) 4회 주입 투여하였다(1주일 간격). 이 환자들에 있어서 B-세포는 감소하였으며, 질병의 스코어도 개선되었으나, 다만, 그 치료 자체가 자가 항체의 수준을 바꾸진 못하였다. 리투시맵을 사용한 실험을 발덴슈트롬 거대글로불린혈증(Waldenström's macroglobulinemia)에 대해서도 실시하였는데[Treon의 다수, Immunother., 24:272-279 (2000)], 이 경우, 환자는 리투시맵을 4회 주입한 후의 적혈구 용적(HCT) 및 혈소판 계수(PLT)가 증가하였다.
- [0016] 중추 신경계에 영향을 미치는 자가 면역성 질환인 다발성 경화증 환자의 치료에 리투시맵을 사용하는 것에 관한 최근 보고에 의하면, 치료 과정에 있어서 말초 B-세포는 감소하지만, 뇌척수액 중 B-세포의 수에는 거의 영향을 미치지 않는다고 한 바 있다. 문헌[Monson의 다수, Arch. Neurol., 62: 258-264 (2005)]을 참조하시오.
- [0017] 리투시맵을 사용하는 것과 관계된 부가의 문헌으로서의 다음과 같은 것들을 포함한다:[Stashi의 다수 "Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody treatment for adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura" Blood 98:952-957 (2001); Matthews, R. "Medical Heretics" New Scientist (7 Apr., 2001); Leandro의 다수 "Clinical outcome in 22 patients with rheumatoid arthritis treated with B lymphocyte depletion" Ann Rheum Dis 61 :833-888 (2002); Leandro의 다수 "Lymphocyte depletion in rheumatoid arthritis: early evidence for safety, efficacy and dose response. Arthritis and Rheumatism 44(9): S370 (2001); Leandro의 다수 "An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus

erythematosus", Arthritis Rheum. 46:2673-2677 (2002); Edwards와 다수, "Sustained improvement in rheumatoid arthritis following a protocol designed to deplete B lymphocytes" Rheumatology 40:205-211 (2001); Edwards와 다수 "B-lymphocyte depletion therapy in rheumatoid arthritis and other autoimmune disorders" Biochem. Soc. Trans. 30(4):824-828 (2002); Edwards와 다수 "Efficacy and safety of rituximab, a B-cell targeted chimeric monoclonal antibody: A randomized, placebo controlled trial in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 46: S197 (2002); Levine와 다수, "IgM antibody-related polyneuropathies: B-cell depletion chemotherapy using rituximab" Neurology 52: 1701-1704 (1999); DeVita와 다수 "Efficacy of selective B-cell blockade in the treatment of rheumatoid arthritis" Arthritis Rheum 46:2029-2033 (2002); Hidashida와 다수 "Treatment of DMARD-Refractory rheumatoid arthritis with rituximab." Presented at the Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology; October 24-29; New Orleans, La. 2002; Tuscano, J. "Successful treatment of Infliximab-refractory rheumatoid arthritis with rituximab" Presented at the Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology; October 24-29; New Orleans, La. 2002].

[0018] 리투시맵 치료법과 관련된 문제점들은 아직 남아있다. 예를 들어, 리투시맵으로 치료받은 암 환자들의 대다수가 약 6~12개월 안에 암이 재발하고 있으며, 또한 리투시맵을 주입한 지 24시간 이내에 치명적인 주입 반응을 나타낸다고 보고된 바 있다. 이러한 치명적인 반응은 저산소증, 폐 침습증, 급성 호흡 장애 증후군, 심근 경색증, 심실 세동 또는 심장원성 쇼크를 포함하는 주입 반응 합병증을 동반한다. 투석을 필요로 하며, 치명적인 결과를 초래할 수도 있는 급성 신부전증도, 리투시맵을 사용하는 치료법 수행 후 중양 분해 증후군(심각한 점막 하 반응을 일으키고, 경우에 따라서는 치명적인 결과를 초래할 수도 있음)을 유발하는 것으로 보고된 바 있다. 뿐만 아니라, 전술한 바와 같이, 리투시맵의 크기가 커서(약 150kDa) 다수의 중양 세포가 존재하는 림프양 조직에 확산되기 어려우므로, 리투시맵을 고 투여량으로 투여하여야 한다.

[0019] 정상적인 성숙 B-세포는 또한 CD37과 CD20을 발현하므로, 정상적인 B-세포는 항-CD37 항체 요법(Press와 다수, 1989) 또는 항-CD20 항체 요법(Reff와 다수, Blood, 83:435-445 (1994))에 의해 감소된다. 그러나, 치료가 종결된 후에는, 정상적인 B-세포는 CD37-네거티브 B-세포 전구체 및 CD20-네거티브 B-세포 전구체로부터 재생될 수 있으므로; 항-CD37 또는 항-CD20 치료를 받은 환자들에서는 면역 감시 작용이 제 기능을 발휘하지 못하게 된다.

[0020] 모노클로날 항체 기술과 유전자 조작법에 의하여 인간 질병의 진단 및 치료용인 면역 글로불린 분자가 개발되고 있다. 단백질 공학은 항체 및 이것의 동계열인 항원의 친화도를 개선하고, 면역원성과 관련된 문제점들을 줄이며, 항체의 효과기 기능을 변경시키는데 적용되고 있다. 면역 글로불린의 도메인 구조는, 항원 결합 도메인과 효과기 기능을 부여하는 도메인이 면역 글로불린 군 및 하위 군들 간 교환 가능하다는 점에서, 용이하게 조작할 수 있다. 면역 글로불린 구조 및 기능에 관하여는 예를 들어, 문헌[Harlow와 다수, Eds., Antibodies: A Laboratory Manual, Chapter 14, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (1988)]에서 살펴볼 수 있다. 재조합 항체 기술의 모든 측면에 관한 자세한 소개 및 상세한 정보는 문헌["Recombinant Antibodies", John Wiley & Sons, NY, 1999]에서 살펴볼 수 있다. 상세한 항체 조작 실험용 프로토콜에 관한 광범위한 정보들은 문헌[R. Kontermann and S.Dubel(eds.), "The Antibody Engineering Lab Manual" (Springer Verlag, Heidelberg/New York, 2000)]에서 살펴볼 수 있다.

[0021] 최근 들어, 전신 면역 글로불린 치료법과 관련된 문제점들을 극복하기 위하여 소형의 면역 글로불린 분자가 구성된 바 있다. 단일 사슬인 Fv(scFv)는 짧은 링커 펩티드에 의해 항체 경쇄 가변 도메인에 결합되어 있는 항체 중쇄 가변 도메인을 포함한다[Huston와 다수, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 5879-5883 (1988)]. 가변부 이외에, 항체 사슬 각각은 하나 이상의 불변부를 가진다. 경쇄는 하나의 불변부 도메인을 가진다. 그러므로, 경쇄는 하나의 가변부와 하나의 불변부를 가지는 것이다. 중쇄는 소수의 불변부 도메인을 가진다. IgG, IgA 및 IgD 항체의 중쇄는 3개의 불변부 도메인 즉, CH1, CH2 및 CH3를 가지며, IgM과 IgE 항체의 중쇄는 4개의 불변부 도메인 즉, CH1, CH2, CH3 및 CH4를 가진다. 그러므로, 중쇄는 하나의 가변부와 3~4개의 불변부를 가지는 것이다.

[0022] 면역 글로불린의 중쇄는 또한 3개의 작용성 부위들로 나눌 수 있다: 즉, Fd 부위(중쇄의 2개의 N-말단 도메인인 V_H 및 C_H1을 포함하는 단편), 힌지부, 그리고 Fc 부위("결정화 가능한" 부위로서, 불변부로부터 유래하는 것이며, 펩신 분해에 의해 얻어짐). 상기 Fd 부위는 경쇄와 함께 Fab("항원 결합 단편")을 형성한다. 항원은 각 Fab의 아미노 말단에서 항원-결합부와 입체 화학적으로 반응을 할 것이기 때문에, IgG 분자는 2가일 수 있는데,

즉, 2개의 항원 분자와 결합할 수 있다. Fc는 세포 상 면역 글로불린 수용체 및 보체 캐스케이드의 초기 단계에 관여하는 성분과 상호 작용을 하는 도메인을 함유한다. 그러므로, Fc 단편은 일반적으로 면역 글로불린의 효과 기 작용 예를 들어, 보체 고정 및 Fc 수용체와의 결합에 관여하는 것으로 간주된다.

[0023] scFv 분자는 크기가 작기 때문에 혈장 및 조직으로부터 매우 신속하게 제거되며, 전체 면역 글로불린에 비하여 조직에도 보다 효율적으로 침투하는 특성을 보유한다. 항-종양 scFv는 상응하는 키메라 항체보다 종양에 더욱 신속하게 침투하여, 종양 외 전체에 고루 분포한다[Yokota와 다수, Cancer Res., 52, 3402-3408 (1992)]. scFv가 기타 분자 예를 들어, 독소와 융합하면, 이것의 특이적 항원-결합 활성으로 인하여, 크기가 작은 scFv가 표적 조직에 독소를 전달할 수 있게 된다[Chaudary와 다수, Nature, 339:394 (1989); Batra와 다수, Mol. Cell. Biol., 11:2200 (1991)].

[0024] 이 scFv 분자는 이점도 가지지만, 단점도 가진다. 이 scFv가 신속하게 제거되면 정상 세포 내에서의 독성 효과는 감소할 수 있지만, 이와 같이 신속하게 제거될 경우에는 표적 조직에 상기 scFv가 최소 유효량만큼 전달되는 것조차 방해될 수 있다. 이 scFv의 발현 및 분리에 있어서의 난점으로 인하여 수율에 악영향을 미치므로, 환자에게 투여하는데 적당한 양만큼의 scFv를 제조하는 것은 어려운 일이다. 발현시, 이 scFv 분자는 안정성을 가지지 않기 때문에, 종종 상이한 분자로부터 유래하는 가변부끼리 짝을 형성함으로써 응집되기도 한다. 뿐만 아니라, 포유동물 발현 시스템 내 scFv 분자의 생산 수준은 낮기 때문에, 치료용 scFv 분자를 효과적으로 제조할 수 있는 가능성도 제한적이다[Davis와 다수, J Biol. Chem., 265:10410-10418 (1990); Traunecker와 다수, EMBO J, 10: 3655-3659 (1991)]. 생산을 개선시키기 위한 기술 예를 들어, 가변부에 글리코실화 위치를 첨가하는 기술이 연구중에 있다[Jost, C. R. 미국 특허 제5,888,773호, Jost와 다수, J. Biol. Chem., 69: 26267-26273 (1994)].

[0025] scFv를 치료용으로 사용함에 있어서 문제가 되는 또 다른 단점으로서, 이 scFv가 효과기 기능을 갖지 못한다는 점이 있다. 세포 용해 기능인, ADCC 및 보체 의존성-세포 독성(CDC)이 없으며, 면역 글로불린의 불변부와 결합되어 있는 scFv는 질병 치료에 비효율적일 수 있다. scFv 기술은 12년 전에 개발되기 시작하였으나, 현재 치료용으로서 승인된 scFv 제품은 존재하지 않는다.

[0026] 대안적으로, scFv가 다른 분자 예를 들어, 독소와 융합하는데에는 특이적 항원-결합 활성을 이용할 수 있으며, 또한 이 scFv는 크기가 작기 때문에 독소를 표적 조직에 운반하기 용이하다는 점이 제안된바 있다[Chaudary와 다수, Nature 339:394 (1989); Batra와 다수, Mol. Cell. Biol. 11:2200 (1991)]. 그러므로, 독소와 scFv의 컨쥬게이트화 또는 융합은 강력하고, 항원-특이적인 분자를 제공하는 대안적인 기술로서 제시되고 있지만, 이와 같이 컨쥬게이트나 키메라를 투여하는 것은, 상기와 같은 제제의 독소 부분으로 인한 과도한 독성 및/또는 비특이적인 독성에 의해 제한될 수 있다. 독성 효과는 간 효소의 초 생리적 상승(supraphysiological elevation)과 혈관 누출 증후군(vascular leak syndrome), 그리고 기타 바람직하지 않은 효과를 포함할 수 있다. 뿐만 아니라, 면역 독소 자체는 숙주에 투여시 면역원성이 강력하므로, 면역 독소에 대해 생성된 숙주 항체는 개체를 반복적으로 치료함에 있어서 잠재적인 유용성에 제한을 가한다.

[0027] 기타 조작된 융합 단백질, 소위 소형의 조정성 면역 약품(small modular immunopharmaceutical; SMIP™)에 관하여는, 공동 출원인 미국 특허 출원 공보 2003/133939, 2003/0118592 및 2005/0136049, 그리고 공동 출원인 국제 특허 출원 공보 WO 02/056910, WO 2005/037989, 그리고 WO 2005/017148[상기 문헌들은 본원에 참고용으로 인용되어 있음]에 개시되어 있다. SMIP 제품은 동종 계열 구조물 예를 들어, 항원 및 대응 수용체 등에 대한 결합 도메인; 시스템인 잔기를 가지지 않거나, 이 시스템인 잔기를 1개 또는 2개 가지는 IgG1, IGA 또는 IgE 힌지부 폴리펩티드 또는 돌연 변이 IgG1 힌지부 폴리펩티드; 및 면역 글로불린 CH2 및 CH3 도메인을 가지는 것을 특징으로 하는, 신규의 결합 도메인-면역 글로불린 융합 단백질이다. SMIP 제품은 ADCC 및/또는 CDC 작용을 할 수 있다.

[0028] 항체를 주로 사용하는 치료법에 관한 연구가 끊임없이 행해지고 있지만, 당 업계는 아직도 이상 B-세포 활성화와 관련된 질병을 치료하기 위한 방법의 개발을 필요로 하고 있다. 본원에 개시 및 청구된 본 발명의 방법은 이러한 개선된 방법과 기타 이점들을 제공한다.

발명의 상세한 설명

[0029] **발명의 개요**

[0030] 본 발명은 CD37-특이적 결합 분자를 사용하여 B-세포를 감소시키는 방법을 제공한다. 본 발명의 몇몇 방법에 있어서, CD37-특이적 결합 분자(하나 이상의 CD37-특이적 결합 분자) 및 CD20-특이적 결합 분자(하나 이상의

CD20-특이적 결합 분자)를 함께 사용하면, B-세포를 더욱 많이 감소시킬 수 있다. 이러한 방법 중 몇몇에 있어서는 이와 같이 조합하여 사용할 경우 상승 효과를 나타내기도 한다. 관련 측면에 있어서, 본 발명은 이상 B-세포 활성화와 관련된 질병을 앓고 있는 개체 또는 이러한 질병을 앓고 있을 것으로 의심되는 개체를 치료하는 방법을 제공한다.

[0031] 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 결합 분자(예를 들어, 인간화된 TRU-016 구조물)와, 이 분자를 이용하여 B-세포를 감소시키는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법에 관한 몇몇 구체예에 있어서, 인간화된 TRU-016 구조물과 하나 이상의 CD20-특이적 결합 분자를 병용하는 방법이 고려된다. 다른 측면에서, 본 발명은 이상 B-세포 활성화와 관련된 질병을 앓고 있거나, 또는 이러한 질병을 앓고 있을 것이라고 의심되는 개체를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 관련 측면은 이러한 임의의 질병을 예방하는 방법과, 이러한 질병과 관련된 증상을 경감시키는 방법에 관한 것으로서, 이러한 방법들은, 이러한 질병을 치료 또는 예방하거나, 또는 이러한 질병의 증상을 경감시키기에 유효한 양만큼의 인간화 CD37-특이적 결합 분자를 투여하는 단계를 포함한다.

[0032] "이상 B-세포 활성화"이란, 정상 경로, 적당한 경로 또는 예상 경로로부터 이탈하는 B-세포 활성을 의미하는 것이다. 예를 들어, 이상 B-세포 활성화는 DNA 또는 기타 세포 내 성분들이 손상되거나 또는 결여된 세포의 부적절한 증식 과정을 포함할 수 있다. 이상 B-세포 활성화는, 세포 분열 수준이 부적절하게 높거나, 세포 자살 수준이 부적절하게 낮거나, 또는 이 두 가지 경우 모두에 의해 유발되거나, 이러한 경우들에 의해 매개되거나, 또는 이러한 결과들을 초래하는 질병과 관련되어 있는 특징들을 가지는 세포 증식 과정을 포함할 수 있다. 이러한 질병들은 예를 들어, 세포, 세포나 조직(들) 군의 1회성 또는 다발성 국소 이상 증식 예를 들어, 암성 또는 비-암성인, 양성 또는 악성 종양을 특징으로 할 수 있다. 이상 B-세포 활성화는 또한 이상 항체 생산 예를 들어, 자가 항체의 생산, 또는 통상적으로 정상 수준으로 생산되는 것이 바람직한 항체의 과다 생산을 포함할 수도 있다. 이상 B-세포 활성화는 B-세포의 하위 군에서 일어날 수 있으며, 다른 하위 군에서는 일어날 수 없다. 이상 B-세포 활성화로서는, 예를 들어, B-세포 항원의 T-세포로의 부적절한 제공 또는 기타 B-세포 관여 경로에 의한 T-세포의 부적절한 자극을 포함할 수도 있다.

[0033] "치료" 또는 "치료"란, 치료적 처치 또는 예방/보호적 처치를 의미하는 것이다. 치료적 처치는, 처치를 받은 개체에 있어서 질병에 따른 하나 이상의 증상을 개선시킬 수 있거나, 또는 개체 내에서 질병이 진행됨에 따른 병세의 악화를 늦출 수 있거나, 또는 부가의 관련 질병들의 발병을 예방할 수 있다.

[0034] CD20-특이적 결합 분자의 "치료학적 유효량" 또는 "유효량"이란, 치료받을 질병에 따른 하나 이상의 증상들을 경감시키는데 충분한 화합물의 양을 의미하는 것이다. 단독 투여되는 각각의 활성 성분에 적용할 경우, 치료학적 유효량은 그 성분 단독의 양을 의미하는 것이다. 병용 투여되는 활성 성분에 적용할 경우, 활성 성분이 연속 투여되든 동시 투여되는지에 상관없이, 치료학적 유효량은 치료 효과를 나타내는 활성 성분을 합한 양을 의미하는 것이다. 본 발명은 특히, 본 발명의 방법에 따라서 하나 이상의 특이 결합 분자를 (각 결합 분자를 유효량만큼) 투여할 수 있다는 사실을 고려하고 있다.

[0035] "이상 B-세포 활성화와 관련된 질병이 있거나, 또는 이러한 질병이 있을 것으로 의심되는 개체"란, 질병 또는 질환의 증상이 이상 B-세포 활성화에 의해 유발될 수 있거나, 이상 B-세포 활성화에 의해 악화될 수 있거나, 또는 B-세포 활성을 조절함으로써 완화될 수 있는 개체를 의미한다. 이러한 질병의 예로서는 B-세포 암(예를 들어, B-세포 림프종, B-세포 백혈병 또는 B-세포 골수종), 자가 항체 생산을 특징으로 하는 질병, 또는 T-세포로의 부적절한 B-세포 항원 제공이나 기타 B-세포 관여 경로에 의해 유발되는 부적절한 T-세포 자극을 특징으로 하는 질병이 있다.

[0036] 하나의 대표적인 측면에 있어서, 본 발명의 방법에 의해 치료된 개체는, 치료에 대한 반응이 리툭시맵을 사용하였을 경우에 비하여 양호하거나 더욱 우수하다. 리툭시맵을 사용하여 치료하였을 경우에 비하여 반응이 개선되었다는 의미는, 본 발명의 방법에 의해 처리된 환자에 있어서의 임상 반응이 리툭시맵 치료를 받은 환자에 있어서의 임상 반응보다 양호할 때의 임상 반응을 일컫는 것이다. 임상 반응이 개선되었는지 여부는 당 업계에 널리 공지되어 있으며, 본원에 개시된 임상 기준을 비교함으로써 평가된다. 대표적인 기준으로서 B-세포 제거, B-세포 수의 전반적인 감소, 생물 시료 중 B-세포 수의 감소, 종양 크기의 감소, 치료 후 존재하고/존재하거나 나타나는 종양 수의 감소, 및 환자 자신들과 전문의에 의해 평가되는(예를 들어, 국제 예후 지표 이용함) 전반적인 반응성 개선 정도를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 개선 여부는 임상 기준 중 하나 또는 하나 이상으로 알 수 있다. 본 발명의 방법에 따라서 개선된 반응은, 리툭시맵을 이용하는 이전 또는 현재의 치료법에 대한 불충분한 반응으로 인한 것, 예를 들어, 리툭시맵 치료시 발생하는 독성 및/또는 불충분한 효능으로 인한 것일 수 있다.

- [0037] B-세포 암으로서 B-세포 림프종(예를 들어, 호지킨병, 비 호지킨 림프종(NHL) 또는 중추 신경계 림프종), 백혈병(예를 들어, 급성 림프아세포 백혈병(ALL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 모양 세포성 백혈병 및 만성 근아세포성 백혈병) 및 골수종(예를 들어, 다발성 골수종)을 포함한다. 부가의 B-세포 암으로서 소형 림프구성 림프종, B-세포 전 림프구성 백혈병, 림프 형질 세포 림프종, 비장 변연부 림프종, 혈장 세포 골수종, 고립성 골형질 세포종, 골외 형질 세포종, 림프절 이외의 인체 조직에서 발생할 수 있는, 점막-관련(MALT) 림프양 조직의 변연부 B-세포 림프종, 림프절에서 발생할 수 있는 변연부 B-세포 림프종, 여포성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 종격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관 내 거대 B-세포 림프종, 원발성 삼출성 림프종, 버킷 림프종/백혈병, 불확실한 악성 가능성의 B-세포 증식, 림프종 모양 육아종증 및 이식 후 림프구 증식성 질환을 포함한다.
- [0038] 자가 항체 생산을 특징으로 하는 질환은 종종 자가 면역성 질환으로서 간주된다. 자가 면역성 질환으로서 관절염, 류머티즘성 관절염, 연소성 류머티즘성 관절염, 골 관절염, 다발 연골염, 건선성 관절염, 건선, 피부염, 다발성 근염/피부 근염, 봉입체 근염, 염증성 근염, 독성 표피 괴사 용해증, 전신성 경피증 및 경화증, CREST 증후군, 염증성 대장 질환 관련 반응, 크론병, 궤양성 대장염, 호흡 장애 증후군, 성인 호흡 장애 증후군(ARDS), 뇌수막염, 뇌염, 포도막염, 대장염, 사구체 신염, 알레르기성 병상, 습진, 천식, T-세포 침습 및 만성 염증 반응과 관련된 병상, 죽상 경화증, 자가 면역성 심근염, 백혈구 부착 결핍증, 전신 홍반성 루푸스(SLE), 아급성 피부 홍반성 루푸스, 원판상 루푸스, 척수염 루푸스, 뇌염 루푸스, 연소자 발병 당뇨병, 다발성 경화증, 알레르기성 뇌척수염, 시속 신경수염, 류머티즘열, 시덴함 무도병, 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개되는 급성 및 지연성 과민 반응 관련 면역 반응, 결핵, 유육종증, 육아종증 예를 들어, 베게너 육아종증 및 척-스트라우스 병(Churg-Strauss disease), 무과립구증, 맥관염(예를 들어, 과민성 맥관염/혈관염, ANCA 및 류머티즘성 맥관염), 재생불량성 빈혈, 다이아몬드 블랙팬 빈혈(Diamond Blackfan anemia), 면역성 용혈 빈혈 예를 들어, 자가 면역성 용혈 빈혈(AIHA), 악성 빈혈, 순수 적혈구 무형성증(PRCA), VIII 인자 결핍증, A형 혈우병, 자가 면역성 호중구 감소증, 범혈구 감소증, 백혈구 감소증, 백혈구 유출 관련 질병, 중추 신경계(CNS) 염증 질환, 다발성 기관 손상 증후군, 중증 근무력증, 항원-항체 복합체 매개성 질병, 항-사구체 기저막 질환, 항-인지질 항체 증후군, 알레르기성 신경염, 버섯병, 캐슬만 증후군(Castleman's syndrome), 굿파스튜어 증후군(Goodpasture's syndrome), 람베르트-이튼(Lambert-Eaton) 근무력 증후군, 레이노드(Reynaud) 증후군, 쇼그렌(Sjorgen) 증후군, 스티븐스-존슨(Stevens-Johnson) 증후군, 실질 장기 이식 거부, 이식편 대 숙주 병(GVHD), 물질 유전포창, 천포창, 자가 면역성 다발성 내분비계 질환(autoimmune polyendocrinopathies), 혈청 인자 음성 척추 관절병증, 라이터병, 강직 인간 증후군, 거대 세포 동맥염, 면역 복합체 신염, IgA 신장병, IgM 다발성 신경병증 또는 IgM 매개성 신경병증, 특발성 혈소판 감소성 자반증(ITP), 혈전성 혈소판 감소성 자반증(TTP), 헤노시-스콘라인 자반증(Henoch-Schonlein purpura), 자가 면역성 혈소판 감소증, 고환 및 난소의 자가 면역성 질환 예를 들어, 자가 면역성 고환염 및 난소염, 원발성 갑상선 기능 저하증; 자가 면역성 내분비 질환 예를 들어, 자가 면역성 갑상선염, 만성 갑상선염(하시모토 갑상선염), 아급성 갑상선염, 특발성 갑상선 기능 저하증, 애디슨병, 그레이브스병, 자가 면역성 다 분비선 증후군(또는 다 분비선 내분비 질환 증후군), 제I형 당뇨병(인슐린-의존성 진성 당뇨병(IDDM)이라고도 칭함) 또는 시한(Sheehan) 증후군; 자가 면역성 간염, 림프구성 간질성 폐렴(HIV), 기관지 폐색증(비-이식) vs NSIP, 길랑-바레(Guillan-Barre) 증후군, 대형 맥관성 맥관염(예를 들어, 류머티즈 다발성 근통 및 거대 세포(타카야스) 동맥염), 중간형 맥관성 맥관염(예를 들어, 카와사키병 및 결절성 다발 동맥염), 결절성 다발 동맥염(PAN) 강직성 척수염, 버거병(IgA 신장병), 급속 진행성 사구체 신염, 원발성 담즙성 간경변, 셀리악 스프루병(Celiac sprue)(글루텐 장질환), 한랭 글로불린 혈증, 간염 관련 g한랭 글로불린 혈증, 근위축성 측삭 경화증(ALS), 관상 동맥 질환, 가족성 지중해열(familial Mediterranean fever), 현미경적 다발성 혈관염(microscopic polyangiitis), 코건 증후군(Cogan's syndrome), 휘스코트-알드리치 증후군(Whiskott-Aldrich syndrome) 및 폐색성 혈전 혈관염을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0039] 류머티즘성 관절염(RA)은 관절에 염증을 일으켜, 관절의 부종, 통증을 유발하고 제 기능을 상실하게 되는 것을 특징으로 하는 만성 질환이다. 만성 RA 환자의 경우, 일반적으로, 진행성 관절 파괴, 변형, 기능 장애 및 미성숙 사멸이 일어난다.
- [0040] 크론병 및 관련 질환, 궤양성 대장염은 염증성 대장 질환(IBD)이라고 불리는 병의 군에 속하는 2개의 주요 질병 카테고리에 해당한다. 크론병은 소화관 또는 위장관(GI)에 염증을 일으키는 만성 질환이다. 크론병은 입으로부터 항문까지의 GI관 중 임의의 부위에서 발병하지만, 일반적으로는, 소장 및/또는 결장에서 발병한다. 궤양성 대장염의 경우에는 GI 중 결장에서만 발병한다.
- [0041] 크론병은 호중구 항원 즉, "핵 주위 항-호중구 항체"(pANCA) 및 사카로마이세스 세레비지아에(*Saccharomyces*

cervisiae) 유래 항원 즉, "항-사카로마이세스 세레비지아에 항체"(ASCA)에 대해 생성된 항체가 관여하는 것을 특징으로 할 수 있다. 다수의 궤양성 대장염 환자들은 혈중 pANCA 항체를 가지지만, ASCA 항체는 가지지 않는 반면에, 다수의 크론병 환자들은 ASCA 항체를 가지며, pANCA 항체는 가지지 않는다. 크론병을 평가하기 위한 한 가지 방법으로서, 전문의들에 의해 수집된 18개의 예측 가변 스코어를 이용하는, 크론병 활동 지수(Crohn's disease Activity Index; CDAI)를 사용하는 방법이 있다. CDAI 수치가 150 이하라는 의미는 병의 진행이 정지된 상태임을 의미하는 것이고; 이 수치가 150을 초과한다는 의미는 질병이 진행중인 상태임을 의미하는 것이며; 이 수치가 450 이상이라는 의미는 질병이 매우 심각함을 의미하는 것이다[Best와 다수, "Development of a Crohn's disease activity index." *Gastroenterology* 70:439-444 (1976)]. 그러나, 초기의 연구에 있어서 몇몇 연구자들은 주관적 수치(subjective value) 200~250인 경우를 건강 스코어로서 활용하였다.

[0042] 전신 홍반성 루프스(SLE)는 다수의 기관 예를 들어, 신장, 피부 및 관절에 있어서 혈관에 재발성 손상을 입힘으로써 유발되는 자가 면역성 질환이다. SLE 환자에 있어서, T-세포와 B-세포 간 상호 작용에 이상이 생기면, 세포 핵에 영향을 미치는 자가 항체가 생성된다. 일반적으로, 자가 항체는 SLE의 주범이므로, B-세포 계통을 감소시켜, 새로운 B-세포가 전구체로부터 생성됨에 따라서 면역 시스템이 다시 작동되도록 만드는 새로운 치료법은, SLE 환자에게 치료 효과를 지속적으로 제공하리라는 희망을 부여할 것이다.

[0043] 다발성 경화증(MS)도 또한 자가 면역성 질환이다. 이 질병은 중추 신경계에서의 염증 발생과 미엘린(뇌, 척수 및 체내에서 신경 세포 섬유들을 고립시킴)의 파괴를 특징으로 한다. 비록 MS의 원인에 관하여는 알려져 있지 않지만, 일반적으로는 자가 면역성 T-세포가 이 질병을 발생시키는 주요 원인인 것으로 생각되고 있다. 그러나, MS 환자의 뇌척수액 중에는 항체가 높은 수준으로 존재하므로, 몇몇 이론에서는, 항체를 생성시키는 B-세포 반응이 이 질병을 매개하는데 중요한 역할을 담당한다고 예측하고 있다.

[0044] 자가 면역성 갑상선 질환은, 갑상선을 자극하여 갑상선 기능 항진증(그레이브스병)을 유발시키거나, 또는 갑상선을 파괴하여 갑상선 기능 저하증(하시모토 갑상선염)을 유발시키는 자가 항체가 생산됨에 따른 질환이다. 갑상선은 갑상선 자극 호르몬(TSH) 수용체에 결합하여 이를 활성화하는 자가 항체에 의해 자극된다. 갑상선은 또한 기타 갑상선 항원과 반응하는 자가 항체에 의해 파괴된다.

[0045] 쇼그렌 증후군은 체액을 생산하는 선이 파괴되는 것을 특징으로 하는 자가 면역성 질환이다.

[0046] 면역 혈소판 감소성 자반증(ITP)은 혈소판에 결합하여 이 혈소판을 파괴하는 자가 항체에 의해 유발되는 질환이다.

[0047] 중증 근무력증(MG)은, 신경근 접합부에 발현되는 아세틸콜린 수용체에 결합하여 수의근 군을 약화시키는 자가 항체에 의해 유발되는 만성 자가 면역성 신경근 질환이다.

[0048] 건선은 피부에 일어나는 자가 면역성 염증으로서, 관절염의 30%, 경피증, 염증성 대장 질환 예를 들어, 크론병 및 궤양성 대장염에서 동반된다.

[0049] 특발성 염증성 근병증(IIM) 예를 들어, 피부 근염(DM) 및 다발성 근염(PM)의 치료법도 또한 고려된다. 염증성 근병증은 다수의 분류 방식에 따라서 카테고리 나뉘어진다. 밀러의 분류법[Miller, *Rheum Dis Clin North Am.* 20:811-826, 1994]에 따르면, 2가지의 특발성 염증성 근병증(IIM), 다발성 근염(PM) 및 피부 근염(DM)으로 나뉘어진다.

[0050] 다발성 근염 및 피부 근염은 만성적인 질환으로서, 근육에 발생하는 쇠약성 염증 질환이고, 또한 DM의 경우에는 피부에 발생하는 쇠약성 염증 질환이다. 이 질환은 희귀 질환으로서, 미국에서의 연간 발병률은 성인 100만 명당 약 5~10명이고, 어린이의 경우에는 한해 100만 명당 0.6~3.2명꼴로 발병한다[Targoff, *Curr Probl Dermatol.* 1991, 3:131-180]. 특발성 염증성 근염은 상당한 수준의 유병률 및 사망률을 이끌어내는데, 발병한 성인의 절반 정도가 심각한 손상을 입는다[Gottdiener와 다수, *Am J Cardiol.* 1978, 41:1141-49]. 밀러(Miller)[*Rheum Dis Clin North Am.* 1994, 20:811-826 및 *Arthritis and Allied Conditions*, Ch. 75, Eds. Koopman and Moreland, Lippincott Williams and Wilkins, 2005]는 IIM 을 진단하는데 사용되는 5가지 기준 즉, 특발성 염증성 근병증 기준(Idiopathic Inflammatory Myopathy Criteria; IIMC) 평가 기준을 제시하였는데, 그 예로서는 근육의 쇠약 정도, 근육 퇴화에 관한 생검 증거, 근육-관련 효소의 혈청 중 수준의 증가 여부, 근병증의 전자기적 삼징(electromagnetic triad), 피부 근염에 있어서의 발진 증거가 있으며, 또한 2차적 기준으로서 자가 항체가 생성되는 증거를 포함하기도 한다.

[0051] IIM 관련 인자 예를 들어, 근육-관련 효소 및 자가 항체로서는 크레아틴 키나제(CK), 젖산 염 탈수소 효소, 알돌라제, C-반응성 단백질, 아스파르트산염 아미노기 전이 효소(AST), 알라닌 아미노기 전이 효소(ALT) 및 항 핵

자가 항체(ANA), 근염-특이적 자가 항체(MSA), 그리고 가용성 핵 항원에 대한 항체를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0052] 본 발명에 따른 "결합 분자"는, 예를 들어, 단백질("단백질"은 폴리펩티드 또는 펩티드일 수 있음), 핵산, 탄수화물, 지질 또는 표적에 결합하는 소형 분자 화합물일 수 있다. 본 발명에 의해 고려되는 단백질성 결합 분자는 결합 활성을 가지는 항체 또는 항체 단편이다. 결합 분자는 이 결합 분자의 결합 친화도를 개선하고, 면역원성을 감소시키며, 이 결합 분자의 효과기 기능을 변경하고/변경하거나 이 결합 분자의 개체 체내 혼화성을 개선하기 위한, 당 업계의 표준적인 방법에 따라서 변형될 수 있다. 이러한 변형으로서는 예를 들어, 아미노산 서열 변형 또는 융합 단백질로서의 발현을 포함할 수 있다. 이와 같은 융합 단백질도 또한 본 발명에 따른 결합 분자에 해당한다. 본 발명의 대표적인 결합 분자로서는 소형 조정성 면역 약품(SMIP™)이 있다.

[0053] 표적에 "특이적인" 결합 분자는 임의의 기타 표적에 대한 친화도 보다 큰 친화도로 이 결합 분자의 표적에 결합한다. 예를 들어, CD37-특이적 결합 분자는 임의의 기타 표적에 대한 친화도 보다 큰 친화도로 CD37에 결합하고, CD20-특이적 결합 분자는 임의의 기타 표적에 대한 친화도 보다 큰 친화도로 CD20에 결합한다. 본 발명의 결합 분자는 이 결합 분자의 표적에 대한 친화도 K_a 가 약 $10^4 M^{-1}$ 이상, 바람직하게는 약 $10^5 M^{-1}$ 이상, 더욱 바람직하게는 약 $10^6 M^{-1}$ 이상이며, 더더욱 바람직하게는 약 $10^7 M^{-1}$ 이상이다. 친화도 약 $10^7 M^{-1}$ 이상 예를 들어, 약 $10^7 M^{-1}$, 약 $10^8 M^{-1}$, 약 $10^9 M^{-1}$ 및 약 $10^{10} M^{-1}$ 이 더욱 바람직하다. 본 발명에 따른 결합 분자의 친화도는 통상적인 기술 예를 들어, 문헌[Scatchard와 다수, Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660 (1949)]에 개시된 기술을 이용하여 용이하게 측정될 수 있다.

[0054] 본 발명에 의해 고려되는 임의의 CD37-특이적 결합 분자의 CD37에 대한 친화도는 약 0.5~약 10nM이다. 본 발명에 의해 고려되는 임의의 CD20-특이적 결합 분자의 CD20에 대한 친화도는 약 1~약 30nM이다.

[0055] 본 발명에 의해 고려되는 임의의 CD37-결합 분자 및 CD20-결합 분자의 다른 특징으로서는 혈류 내 반감기가 약 7~약 30일이라는 점이 있다.

[0056] 제3회 HLDA 워크샵에 따르면, CD37 항원을 특징 지우는 CD37-특이적 항체로서는 HD28, G28-1, HH1, BI14, WR17 및 F93G6이 있다고 한다. 문헌[Ling and MacLennan, pp. 302-335, Leucocyte Typing III. White Cell Differentiation Antigens, Oxford University Press (1987)]을 참조하시오. 개시된 기타 CD37-특이적 항체로서는 RFB-7, Y29/55, MB-1, M-B371, M-B372 및 IPO-24를 포함한다. 상기 항체들은 하나의 CD37 에피토프만을 인지한다고 기술되어 있는 문헌[Moldenhauer, J. Biol., Regul. Homeost. Agents, 14:281-283 (2000)]을 참조하시오. 문헌[Schwartz-Albiez와 다수, 14: 905-914 (1988)]에 따르면, 에피토프는 CD37의 탄수화물 부분에 존재한다고 한다. 다른 CD37-특이적 항체로서는 S-B3(Biosys)이 있다.

[0057] CD20 항체에 관하여 기술되어 있는 특허 및 특허 공보로서는 다음과 같은 것들을 포함한다: 미국 특허 제 5,776,456호, 동 제5,736,137호, 동 제6,399,061호, 및 동 제5,843,439호, 그리고 미국 특허 출원 US 2002/0197255(A1) 및 US 2003/0021781(A1)(Anderson와 다수); 미국 특허 제6,455,043호(B1) 및 WO 00/09160(Grillo-Lopez, A.); WO 00/27428(Grillo-Lopez and White); WO 00/27433(Grillo-Lopez and Leonard); WO 00/44788(Braslawsky와 다수); WO 01/10462(Rastetter, W.); WO 01/10461(Rastetter and White); WO 01/10460(White and Grillo-Lopez); 미국 특허 출원 US 2002/0006404 및 WO 02/04021(Hanna and Hariharan); 미국 특허 출원 US 2002/0012665(A1) 및 WO 01/74388(Hanna, N.); 미국 특허 출원 US 2002/0009444(A1), 및 WO 01/80884(Grillo-Lopez, A.); WO 01/97858 (White, C); 미국 특허 출원 US 2002/0128488(A1) 및 WO 02/34790(Reff, M.); WO 02/060955(Braslawsky와 다수); WO 02/096948(Braslawsky와 다수); WO 02/079255(Reff and Davies); 미국 특허 제6,171,586호(B1), 및 WO 98/56418(Lam와 다수); WO 98/58964(Raju, S.); WO 99/22764(Raju, S.); WO 99/51642, 미국 특허 제6,194,551호(B1), 미국 특허 제 6,242,195호(B1), 미국 특허 제6,528,624호(B1) 및 미국 특허 제6,538,124호(Idusogie와 다수); WO 00/42072(Presta, L.); WO 00/67796(Curd와 다수); WO 01/03734(Grillo-Lopez와 다수); 미국 특허 출원 US 2002/0004587(A1) 및 WO 01/77342(Miller and Presta); 미국 특허 출원 US 2002/0197256(Grewal, I.); 미국 특허 제6,090,365호(B1), 동 제6,287,537호(B1), 동 제6,015,542호, 동 제5,843,398호, 및 동 제5,595,721호, (Kaminski와 다수); 미국 특허 제5,500,362호, 동 제5,677,180호, 동 제5,721,108호, 및 동 제6,120,767호 (Robinson와 다수); 미국 특허 제6,410,391호(B1)(Raubitschek와 다수); 미국 특허 제6,224,866호(B1) 및 WO 00/20864(Barbera-Guillem, E.); WO 01/13945(Barbera-Guillem, E.); WO 00/67795(Goldenberg); WO 00/74718(Goldenberg and Hansen); WO 00/76542(Golay와 다수); WO 01/72333(Wolin and Rosenblatt); 미국 특허

허 제6,368,596호(B1)(Ghetie와 다수); 미국 특허 출원 US 2002/0041847(A1), (Goldenberg, D.); 미국 특허 출원 US 2003/0026801(A1)(Weiner and Hartmann); WO 02/102312(Engleman, E.)[상기 각 문헌들은 본원에 참고용으로 인용됨]. 또한, 미국 특허 제5,849,898호 및 EP 출원 제330,191호(Seed와 다수); 미국 특허 제 4,861,579호 및 EP 332,865 A2(Meyer and Weiss); 그리고 WO 95/03770 (Bhat와 다수)도 참조하시오.

[0058] 리투시맵은 인간 임상용으로서 승인되었다(리투산(Rituxan)[®]). 리투산[®]은 본 발명의 CD20-특이적 결합 분자인 것으로 생각된다.

[0059] 소형의 조정성 면역 약품(SMIP)은 본 발명의 결합 분자의 한 종류로서 간주한다. SMIP를 제조하는 방법에 관하여는 이미 공동 출원된 미국 특허 출원 제10/627,556호와 미국 특허 공보 20030133939, 20030118592 및 20050136049[상기 문헌들은 그 자체로서 본원에 참고용으로 인용됨]에 개시되어 있다. SMIP는 일반적으로 동종 계열 구조물 예를 들어, 항원 및 대응 수용체 등에 대한 결합 도메인; 시스테인 잔기를 가지지 않거나, 이 시스테인 잔기를 1개 또는 2개 가지는 IgG1, IGA 또는 IgE 힌지부 폴리펩티드 또는 돌연 변이 IgG1 힌지부 폴리펩티드; 및 면역 글로불린 CH2 및 CH3 도메인을 가지는 것을 특징으로 하는 신규의 결합 도메인-면역 글로불린 융합 단백질이다. 하나의 구체예에서, 결합 도메인 분자는 힌지부에 1개 또는 2개의 시스테인(Cys) 잔기를 가진다. 관련 구체예에서, 결합 도메인 분자가 2개의 Cys 잔기를 포함하면, 첫 번째 Cys 즉, 중쇄와 경쇄의 결합에 관여하는 Cys는 결실되지 않거나, 또는 아미노산으로 치환되지 않는다.

[0060] 본 발명의 방법에 유용한 분자의 결합 도메인은 하나 이상의 결합부 예를 들어, 가변 경쇄 및 가변 중쇄 결합부를 가지는 것으로 생각되는데, 여기서, 상기 결합부는 하나 이상의 면역 글로불린 상과 일원 예를 들어, 면역 글로불린으로부터 유래하는 것이다. 뿐만 아니라, 이러한 부위들은 통상적으로 링커 펩티드에 의해 분리되어 있는데, 여기서, 이 링커 펩티드는 당 업계에 결합 분자의 도메인이나 부위 간 연결 인자와 융화 가능한 것으로 알려져 있는 임의의 링커 펩티드일 수 있다. 대표적인 링커로서는, Gly₄Ser 링커 모티프 예를 들어, (Gly₄Ser)_n (여기서 n=1~5임)를 주 성분으로 하는 링커가 있다. 본 발명의 방법에 사용되는 분자는 또한 면역 글로불린의 불변부로부터 유래하는 충분한 아미노산 서열을 함유하여, 효과기 기능, 바람직하게는 ADCC 및/또는 CDC를 제공하기도 한다. 그러므로, 상기 분자는 면역 글로불린의 CH2 도메인으로부터 유래하는 서열이나, 하나 이상의 면역 글로불린으로부터 유래하는 CH2 또는 CH3 도메인을 가질 것이다. SMIP는 ADCC 및/또는 CDC를 수행할 수 있지만, 이항화-결합 다량체를 형성하는 능력은 가지고 있지 않다.

[0061] 본 발명은 서열 번호 2에 제시된 폴리펩티드와의 동일성이 80% 이상인 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 상기 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드는 CD37과 결합한다. 하나의 측면에서, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드는 서열 번호 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 80, 82, 84, 86 및 88의 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 임의의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 측면에서, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드는 경쇄 CDR1, 중쇄 CDR1, 경쇄 CDR2, 중쇄 CDR2, 경쇄 CDR3 및 중쇄 CDR3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 상보성-결정 부위(CDR)에 하나 이상의 아미노산 변이가 발생한다.

[0062] 하나의 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 CDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열(RASENVSYLA)을 포함한다. 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 CDR1은 서열 번호 62의 아미노산 서열(RTSENVSYLA)을 포함한다. 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CDR1은 서열 번호 63의 아미노산 서열(GYNM N)을 포함한다.

[0063] 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서 경쇄의 CDR2는 서열 번호 64의 아미노산 서열(FAKTLAE)을 포함한다. 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열(NIDPYGGTTYNRKFKG)을 포함한다.

[0064] 추가의 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 CDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열(QHHSNPWT)을 포함한다. 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CDR3은 서열 번호 67의 아미노산 서열(SVGPFDY)을 포함한다. 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CDR3은 서열 번호 68의 아미노산 서열(SVGPFDS)을 포함한다. 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CDR3은 서열 번호 69의 아미노산 서열(SVGPM DY)을 포함한다.

[0065] 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하며, 이 폴리펩티드는 서열 번호 61, 서

열 번호 62, 서열 번호 64 및 서열 번호 66으로 이루어진 군으로부터 선택되는 경쇄 CDR 아미노산 서열 중 하나 이상, 2개 이상, 또는 3개 이상의 서열을 포함하는 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 61 또는 서열 번호 62의 경쇄 CDR1 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 61 또는 서열 번호 62 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 서열 번호 64의 경쇄 CDR2 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 64 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 및 서열 번호 66의 경쇄 CDR3 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 66 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체를 포함하는, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다.

[0066] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열 번호 63, 서열 번호 65 및 서열 번호 67~서열 번호 69로 이루어진 군으로부터 선택되는 중쇄 CDR 아미노산 서열 중 1개 이상, 2개 이상 또는 3개 이상을 포함하는, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 63의 중쇄 CDR1 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 63 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 서열 번호 65의 중쇄 CDR2 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 65 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 및 서열 번호 67~서열 번호 69로 이루어진 군 으로부터 선택된 중쇄 CDR3 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 67~서열 번호 69 중 임의의 하나의 아미노산 서열 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체를 포함하는, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다.

[0067] 본 발명은 또한 경쇄 FR1, 중쇄 FR1, 경쇄 FR2, 중쇄 FR2, 경쇄 FR3, 중쇄 FR3, 경쇄 FR4 및 중쇄 FR4로 이루어진 군으로부터 선택된 프레임워크 영역(FR)에 하나 이상의 아미노산 변이가 일어난, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다. 하나의 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 제1 프레임워크 영역(FR1)은 서열 번호 70의 아미노산 서열(EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC)을 포함한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR1은 서열 번호 71의 아미노산 서열(EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 FR2는 서열 번호 72의 아미노산 서열(WYQQKPGQAPRLLIY)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR2는 서열 번호 73의 아미노산 서열(WVRQMPGKGLEWMG)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 FR3은 서열 번호 74의 아미노산 서열(GIPARFSGSGTDFLTITISLPEPFAVYYC)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR3은 서열 번호 75의 아미노산 서열(QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 FR4는 서열 번호 76의 아미노산 서열(FGQGTKVEIK)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR4는 서열 번호 77의 아미노산 서열(WGQGTLLTVSS)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR4는 서열 번호 78의 아미노산 서열(WGRGTLTVSS)을 포함한다.

[0068] 본 발명은 또한 서열 번호 70, 서열 번호 72, 서열 번호 74 및 서열 번호 76으로 이루어진 군으로부터 선택되는 경쇄 FR 아미노산 서열 중 1개 이상, 2개 이상 또는 3개 이상의 서열을 포함하는, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다. 하나의 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 70의 경쇄 FR1 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 70 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 서열 번호 72의 경쇄 FR2 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 72 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 서열 번호 74의 경쇄 FR3 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 74 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 그리고 서열 번호 76의 경쇄 FR4 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 76 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체를 포함하는, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다.

[0069] 뿐만 아니라, 본 발명은 서열 번호 71, 서열 번호 73, 서열 번호 75, 서열 번호 77 및 서열 번호 78로 이루어진 군으로부터 선택되는 중쇄 FR 아미노산 서열중 1개 이상, 2개 이상 또는 3개 이상의 서열(들)을 포함하는, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다. 하나의 구체예에서, 본 발명은 서열 번호 71의 중쇄 FR1 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 71 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 서열 번호 73의 중쇄 FR2 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 73 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 서열 번호 75의 중쇄 FR3 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 75 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체; 그리고 서열 번호 77 또는 서열 번호 78의 중쇄 FR4 아미노산 서열, 또는 이 서열 번호 77 또는 서열 번호 78 중 1개 또는 2개의 아미노산이 변이된 변이체를 포함하는, 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다.

[0070] 본 발명은 또한 서열 번호 2에 제시된 폴리펩티드와의 동일성이 80% 이상인 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 분리된 핵산 분자를 포함하는데, 여기서, 상기 인간화 CD37-특

이적 SMIP 폴리펩티드는 CD37과 결합한다. 이와 같은 분리된 핵산 분자는 서열 번호 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 79, 81, 83, 85 및 87로 이루어진 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 하나의 구체예에서, 본 발명은 이와 같은 핵산 분자들을 포함하는 벡터와 이 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함한다.

[0071] 본 발명은 또한 본원에 개시된 폴리펩티드를 생산하는 방법을 포함하는데, 이 방법은, 폴리펩티드를 발현하기 적당한 조건 하에서 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 임의로, 이 배양액으로부터 폴리펩티드를 분리하는 단계를 포함한다.

[0072] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 포함한다.

[0073] 본 발명은 또한 본 발명의 임의의 방법에서 본원에 개시된 CD37-특이적 SMIP 또는 CD37-특이적 결합 분자를 사용하는 것을 포함한다. 이러한 방법에서는, 서열 번호 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 80, 82, 84, 86 및 88로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는, CD37-특이적 SMIP 또는 CD37-특이적 결합 분자 중 임의의 것을 사용한다.

[0074] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 조성물을 포함하는, B-세포 감소용 키트; 및 이 키트를 사용하여 B-세포를 감소시키는 방법을 포함한다. 이러한 키트는 또한 하나 이상의 CD20-특이적 결합 분자(들)를 포함할 수도 있다. 본 발명에서는 이와 같은 CD20-특이적 결합 분자가 TRU-015일 수도 있다.

[0075] 본 발명은 또한 서열 번호 2에 제시된 폴리펩티드와의 동일성이 80% 이상인, CDR1, CDR2 및 CDR3를 포함하는 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하기도 한다. 이와 같은 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드는 또한 CDR1, CDR2 및 CDR3를 각각 구분해 주는 인간의 프레임워크 도메인을 포함할 수도 있다.

[0076] 다른 측면에서, 본 발명은 서열 번호 2에 제시된 폴리펩티드와의 동일성이 80% 이상인 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 상기 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드는 CD37과 결합하며, 서열 번호 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 115, 116, 118, 120, 122, 124, 126 및 127로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 힌지부 폴리펩티드를 포함한다.

[0077] 본 발명은 또한 서열 번호 2에 제시된 폴리펩티드와의 동일성이 80% 이상인 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드에 관한 것이기도 한데, 여기서, 상기 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드는 CD37과 결합하며, (Gly₄Ser)_n [여기서, n은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6임]를 포함하는 링커를 포함한다.

[0078] 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 CDR1은 서열 번호 128(RTSQNVYSYLA), 129(RTSESVYSYLA), 130(RASQSVYSYLA), 131(RASQSVSSYLA) 및 132(RASQSVSYLA)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CD1은 서열 번호 133(SYMNM) 및 서열 번호 134(SYWIG)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 CDR2는 서열 번호 135(AASSLQS), 136(GASTRAT) 및 137(DASNRAT)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CDR2는 서열 번호 138(IIYPGDS TRYSPSFQG) 및 139(RIDPSDSYTNYS PSFQG)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0079] 본 발명은 또한 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 CDR3은 서열 번호 220(QHHSNPNWT)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 CDR3은 서열 번호 211(SVGPM DY), 212(SVGPF DY), 213(SVGPM DV), 214(SVGPF DS), 215(SVGPF DP), 216(SVGPFQH), 217(SVGPF DV), 218(SVGPF DI) 및 219(SVGPF DL)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0080] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대안적 프레임워크 영역을 가지는 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함한다. 하나의 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 FR1은 서열 번호 170~서열 번호 181로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR1은 서열 번호 140~서열 번호 146으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 FR2는 서열 번호 182~서열 번호 193으로 이루어진 군으로부터 선택

되는 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR2는 서열 번호 147~서열 번호 153으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 부가의 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 FR3은 서열 번호 194~서열 번호 205로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR3은 서열 번호 154~서열 번호 160으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 경쇄의 FR4는 서열 번호 206~서열 번호 210으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간화 CD37-특이적 SMIP 폴리펩티드를 포함하는데, 여기서, 중쇄의 FR4는 서열 번호 161~서열 번호 169로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0081] 본 발명에 유용한 대표적인 CD37-특이적 SMIP로서는 다음과 같은 것들을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다: 연결부 또는 힌지부에 존재하는 3개의 시스테인 잔기 모두가 세린 잔기로 돌연 변이된 G28-1 단일 사슬 Fv와, 야생형 CH2 및 CH3 도메인들로 이루어진 G28-1 scFv(SSS-S) H WCH2 WCH3; IgA 힌지 및 WT IgG1 도메인을 포함하는 G28-1 scFv IgAH WCH2 WCH3; 연결부 또는 힌지부에 존재하는 3개의 시스테인 잔기 모두가 세린 잔기로 돌연 변이되었고, 중쇄 가변부의 11번 위치에 존재하는 루신이 세린으로 치환된 G28-1 scFv VHL11S(SSS-S) H WCH2 CH3; 제2 위치 및 제3 위치에 존재하는 시스테인 잔기가 세린으로 치환된 G28-1 scFv VH L11S(CSS-S) H WCH2 CH3; 제2 위치에 존재하는 시스테인 잔기가 세린으로 치환된 G28-1 scFv VHL11S (CSC-S) H WCH2 CH3; 연결부 또는 힌지부에 존재하는 제1 및 제2 시스테인 잔기가 세린 잔기로 돌연 변이되었고, 중쇄 가변부의 11번 위치에 존재하는 루신이 세린으로 치환된 G28-1 scFv VH11S (SSC-P) H WCH2 WCH3(본원에서는, TRU-016이라고도 칭함); 힌지부에 존재하는 제1 및 제3 시스테인 잔기가 세린 잔기로 돌연 변이된 G28-1 scFv VH11S(SCS-S) H WCH2 WCH3; 힌지부에 존재하는 제3 시스테인 잔기가 세린으로 치환된 G28-1 scFv VHL11S(CCS-P) H WCH2 WCH3; 제1 시스테인이 세린으로 치환된 G28-1 scFv VHL11S (SCC-P) H WCH2 WCH3; 마우스 IgE CH2~4 부위(여기서, 중쇄 가변부의 11번 위치에 있는 루신은 세린으로 치환됨)를 포함하는 G28-1 scFv VH L11S mIgE CH2 CH3 CH4; 마우스 IgA 힌지와 야생형 IgA CH2, 그리고 4개의 카복시 아미노산 GTCY이 결여된 절단형 IgA CH3 도메인을 포함하는 G28-1 scFv VH L11S mIgA WIGACH2 T4CH3; 중쇄 가변부의 11번 위치에 존재하는 루신이 세린으로 치환된 IgE CH 부위들을 포함하는 G28-1 scFv VHL11S hIgE CH2 CH3 CH4; 그리고, IgA 힌지, 야생형 IgA CH2와 절단형 IgA CH2 및 4개의 카복시 아미노산 GTCY이 결여된 절단형 IgA CH3 도메인을 포함하는 G28-1 scFv VHL11S hIgAH WIGACH2 TCH3.

[0082] 본 발명에 유용한 대표적인 CD20-특이적 SMIP로서는 항-CD20 모노클로날 항체 2H7로부터 유래하는 SMIP를 포함한다[미국 특허 공보 2003133939 및 20030118592]. 상기 SMIP는 2H7 scFv-Ig 또는 이의 유도체를 포함한다. 유도체로서는 Cytox-B-MHWTG1C[인간 IgG1 Fc 도메인과 돌연 변이 IgG1 힌지 도메인을 가짐]; Cytox-B-MHMG1C[돌연 변이 Fc 도메인을 포함함]; MG1H/MG1C[234번 위치의 루신 잔기가 돌연 변이된 Fc 수용체를 포함함]; 야생형 인간 Fc 도메인에 인간 IgA 힌지부가 융합되어 있는 Cytox-B-IgAHWTG1C; 라마 IgG1 힌지부 및 CH2CH3 부위를 포함하는 2H7 scFv-라마 IgG1; 라마 IgG2 힌지부 및 CH2CH3 부위를 포함하는 2H7 scFv-라마 IgG2; 라마 IgG3 힌지부 및 CH2CH3 부위를 포함하는 2H7 scFv-라마 IgG3;

[0083] 연결부 또는 힌지부에 존재하는 3개의 시스테인 잔기 모두가 세린 잔기로 돌연 변이되었으며, 야생형 CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 2H7 scFv MTH(SSS) WTCH2CH3; 처음 2개의 시스테인 잔기가 세린 잔기로 치환된 2H7 scFv MTH(SSC); 제1 및 제3 시스테인이 세린 잔기로 치환된 2H7 scFv MTH(SCS); 시스테인 잔기가 제2 및 제3 위치에서 세린으로 치환된 2H7 scFv MTH (CSS) WTCH2CH3; 중쇄 가변부의 11번 위치에 존재하는 루신이 세린으로 치환된 2H7 scFv VH11 SER IgG MTH(SSS) WTCH2CH3; IgA 힌지부와 WT IgG1 도메인을 포함하는 2H7 scFv IgA 힌지-IgG1 CH2-CH3; IgA 힌지부와 CH2~3 부위를 포함하는 2H7 scFv IgA 힌지-CH2-CH3; IgA 힌지부, 야생형 IgA CH2 및 4개의 카복시 아미노산인 GTCY가 결여된 절단형 IgA CH3 도메인을 포함하는 2H7 IgAWH IgACH2-T4CH3를 포함한다.

[0084] IgG CH3 부위에 돌연 변이가 발생한 유도체로서는 405번 위치에 존재하는 페닐알라닌 잔기(번호 메킹 방식은 캐벗(Kabat) 외 다수의 방식에 의함)가 티로신으로 치환된 2H7 scFv MTH WTCH2 MTCH3 Y405; 405번 위치에 존재하는 페닐알라닌이 알라닌으로 치환된 2H7 scFv MTH WTCH2 MTCH3 A405; 407번 위치에 존재하는 티로신 잔기가 알라닌으로 치환된 scFv MTH WTCH2 MTCH3 A407; 2회의 돌연 변이가 발생한 scFv MTH WTCH2 MTCH3 Y405A407; 그리고 2회의 돌연 변이가 발생한 scFv MTH WTCH2 MTCH3 A405A407를 포함한다.

[0085] 2H7 scFv MTH(CCS) WTCH2CH3는 IgG1 힌지부에 존재하는 제3 시스테인 잔기가 세린 잔기로 치환된 구조물이다.

상기 2H7 scFv IgG MTH(SSS) MTCH2WTCH3 SMIP는 돌연 변이 힌지(MT (SSS))와 돌연 변이 CH2 도메인을 포함하는데, 여기서, 상기 돌연 변이 CH2 도메인에 있어서 238번 잔기(Ward의 다수의 번호 매김 방식에 의함)에 존재하는 프롤린은 세린으로 치환되어 있다.

[0086] 2H7scFv-Ig 유도체는 또한 중쇄 가변부에 점 돌연 변이가 발생한 2H7 scFv 돌연 변이체도 포함한다. 다음과 같은 구조물 모두는 중쇄 가변부의 11번 위치에 존재하는 루신이 세린으로 치환된 돌연 변이를 포함한다: 2H7 scFv VH 11SER IgG MTH(SSS-S) WTCH2CH3, 2H7scFv VHL11S(CSS-S) H WCH2 WCH3 [전술한 바와 같이 돌연 변이된 힌지부를 포함함]; 전술한 바와 같이 돌연 변이된 힌지부를 포함하는 2H7scFv VHL11S(CSC-S) H WCH2 WCH3; IgA 힌지, WT IgA CH2 및 절단형 IgA CH3을 포함하는 2H7 scFv VHL11S IgAH IgACH2 T4CH3; IgE CH2~4 부위를 포함하는 2H7 scFv VHL11S IgE CH2 CH3 CH4; 돌연 변이된 힌지부와, IgE CH3 및 CH4 부위를 포함하는 2H7 VHL11S scFv(SSS-S) IgE CH3CH4; 마우스 IgE 부위를 포함하는 2H7 scFv VH L11S mIgE CH2 CH3 CH4; 전술한 바와 같은 돌연 변이와 마우스 IgA 불변부(야생형 CH2 부위 및 돌연 변이된 CH3 부위를 포함함)를 포함하는 2H7 scFv VH L11S mIgAH WIGACH2 T4CH3; 인간 IgG1 CH2 부위의 322번 잔기에 돌연 변이가 발생한(리신이 세린으로 변이됨) 2H7 scFv VH L11S(SSS-S) H K322S CH2 WCH3; 전술한 바와 같은 돌연 변이된 힌지부와, 전술한 바와 같은 돌연 변이된 CH2 부위를 포함하는 2H7 scFv VH L11S (CSS-S) H K322S CH2 WCH3; 전술한 바와 같은 돌연 변이된 힌지부와, 331번 잔기에 존재하는 프롤린이 세린으로 변이된 돌연 변이 CH2 부위를 포함하는 2H7 scFv VH L11S(SSS-S) H P331S CH2 WCH3; 돌연 변이된 힌지부를 포함하고, CH2 부위 내 331번 잔기에 존재하는 프롤린이 세린으로 변이된 2H7 scFv VH L11S (CSS-S) H P331S CH2 WCH3; 돌연 변이된 힌지부를 포함하고, CH2 부위 내 256번 잔기에 존재하는 트레오닌이 아스파라긴으로 변이된 2H7 scFv VH L11S (SSS-S) H T256N CH2 WCH3; 돌연 변이된 힌지부와, 255~258번 잔기가 아르기닌, 트레오닌, 프롤린, 글루탐산에서 글루타민, 아스파라긴, 알라닌 및 리신으로 각각 돌연 변이된 일련의 돌연 변이체를 포함하는 2H7 scFv VH L11S (SSS-S) H RTPE/QNAK (255-258) CH2 WCH3; 돌연 변이된 힌지부를 포함하고, 290번 위치의 리신이 글루타민으로 변이된 2H7 scFv VH L11S (SSS-S) H K290Q CH2 WCH3; 돌연 변이된 힌지부를 포함하고, 339번 위치의 알라닌이 프롤린으로 변이된 2H7 scFv VH L11S (SSS-S) H A339P CH2 WCH3; 돌연 변이된 힌지부를 포함하고, CH2 내 238번 위치의 프롤린이 세린으로 변이된 SMIP 2H7 scFv (SSS-S) H P238SCH2 WCH3[2H7 scFv IgG MTH (SSS) MTCH2WTCH3와 동일]. 2H7 scFv IgAH IGACH2 T18CH3는 야생형 IgA 힌지부와, 카복시 말단에 18개의 아미노산이 절단된 CH3 부위 및 CH2 부위를 포함한다.

[0087] 본 발명의 결합 분자는 결합 분자 활성을 개선하는 다른 단백질로부터 유래하는 천연의 또는 조작된 세포 외 도메인을 포함할 수 있다. 하나의 구체예에서, 세포 외 도메인은 CD154 및 CTLA4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0088] CD37-특이적 결합 분자와 CD20-특이적 결합 분자의 "상승적 합체(synergic combination)"란, 결합 분자들을 합체하였을 때의 효능이, 결합 분자가 단독으로 투여될 때의 효능의 총합보다 큰 경우를 의미한다.

[0089] 본 발명의 하나의 측면에서, 결합 분자는 하나 이상의 약학 조성물에 투여된다. 인간 또는 테스트용 동물에 결합 분자를 투여하기 위해서는, 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물 중에 결합 분자를 제형화하는 것이 바람직하다. "약학적으로 또는 약리학적으로 허용 가능한"이란 어구는, 이하에 기술된 바와 같이, 당 업계에 널리 공지된 경로를 통하여 투여될 때 분자적 실체와 조성물이 알레르기성이 아니거나 또는 기타 부작용을 일으키지 않는 경우를 의미한다. "약학적으로 허용 가능한 담체"로서는, 임의의 및 임상학적으로 유용한 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항박테리아제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 포함한다.

[0090] 또한, 화합물은 물이나 통상의 유기 용매와 함께 용매화물을 형성할 수 있다. 이러한 용매화물도 고려된다.

[0091] 결합 분자 조성물은 경구, 국소, 경피, 비 경구, 흡입 스프레이, 질 내, 직장 내 또는 두개 내 주사에 의하여 투여될 수 있다. 본원에 사용된 비 경구 투여란 용어에는, 피하 주사, 정맥 내, 근육 내, 대조 내 주사, 또는 흡입 기술을 포함한다. 정맥 내, 피 내, 근육 내, 유선 내, 복막 내, 초 내, 구 후, 폐 내 주사 및/또는 특정 부위로의 수술에 의한 이식을 통한 투여도 고려된다. 일반적으로, 조성물에는 수용체에게 해로울 수 있는 발열 원과 기타 불순물이 존재하지 않아야 한다. 주사, 구체적으로 정맥 내 주사가 바람직하다.

[0092] 본 발명의 방법에 사용된 결합 분자를 함유하는 본 발명의 약학 조성물은 투여 경로에 따라서 약학적으로 허용 가능한 담체나 첨가제를 함유할 수 있다. 이러한 담체 또는 첨가제의 예로서는 물, 약학적으로 허용 가능한 유기 용매, 콜라겐, 폴리비닐알콜, 폴리비닐피롤리돈, 카복시비닐 중합체, 카복시메틸셀룰로스 나트륨, 폴리알킬산나트륨, 알긴산나트륨, 수용성 텍스트란, 카복시메틸 전분 나트륨, 펙틴, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 잔탄 고무, 아라비아 고무, 카세인, 젤라틴, 아가, 디글리세린, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 바셀린, 파라핀, 스테아릴 알콜, 스테아르산, 인간 혈청 알부민(HSA), 만니톨, 소르비톨, 락토스 및 약

학적으로 허용 가능한 계면 활성제 등을 포함한다. 사용된 첨가제는 전술한 것들 또는 이들의 혼합물로부터 선택되나, 이에 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 투여형에 따라서 적당한 것으로 선택된다.

[0093] 약학 조성물의 제형(예를 들어, 용액, 유액)은 선택된 투여 경로에 따라서 다양할 것이다. 투여될 항체를 포함하는 적당한 조성물은 생리적으로 허용 가능한 비이클이나 담체 중에 제조될 수 있다. 용액 또는 유액에 있어서, 적당한 담체로서는 예를 들어, 수성 또는 알콜성 용액/수용액, 유액 또는 현탁액, 예를 들어, 염수 및 완충 매질을 포함한다. 비 경구 투여용 비이클은 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 락트산 처리된 링거 오일 또는 불휘발성 오일을 포함할 수 있다. 정맥 내 투여용 비이클로서는 다양한 첨가제, 보존제 또는 액체, 영양분 또는 전해질 보충액을 포함할 수 있다.

[0094] 다양한 수성 담체 예를 들어, 물, 완충수, 0.4% 염수, 0.3% 글리신 또는 수성 현탁액은 수성 현탁액을 제조하는데 적당한 부형제와 함께 활성 화합물을 함유할 수 있다. 이러한 부형제로서는 현탁제, 예를 들어, 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트래거칸트 고무 및 아카시아 고무가 있으며; 분산제 또는 습윤제는 천연 생성 인지질 예를 들어, 레시틴, 또는 산화 알킬렌과 지방산의 축합 생성물 예를 들어, 스테아르산 폴리옥시에틸렌, 또는 장쇄 지방족 알콜과 산화에틸렌의 축합 생성물 예를 들어, 헵타데카에틸-에네옥시세타놀, 또는 지방산과 헥시톨로부터 유래하는 부분 에스테르와 산화에틸렌의 축합 생성물 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트, 또는 지방산과 헥시톨 무수물로부터 유래하는 부분 에스테르와 산화에틸렌의 축합 생성물 예를 들어, 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트가 있다. 수성 현탁액은 또한 하나 이상의 보존제 예를 들어, 에틸, 또는 n-프로필, p-하이드록시벤조에이트를 함유할 수도 있다.

[0095] 결합 분자 조성물은 보관을 위해 동결되었다가 사용전에 적당한 담체 중에 재구성될 수 있다. 이러한 기술은 종래의 면역 글로불린을 사용할 경우에 유용한 것으로 파악된다. 임의의 적당한 동결 및 재구성 기술을 사용할 수 있다. 당 업자는, 동결 및 재구성 기술을 통해서 항체의 활성을 다양한 수준으로 상실시킬 수 있으며, 사용 수준은 효능을 보상하도록 맞출 수 있음을 알고 있을 것이다.

[0096] 물을 첨가함으로써 수성 현탁액을 제조하는데 적당한 분산 가능 분말 및 과립은, 분산제 또는 습윤제, 현탁제 및 하나 이상의 보존제와 혼합된 활성 화합물을 제공한다. 적당한 분산제 또는 습윤제, 그리고 현탁제의 예로서는 전술한 바와 같은 것들이 있다.

[0097] 이와 같은 제형 중 결합 분자의 농도는 매우 다양할 수 있는데, 예를 들어, 약 0.5 중량% 미만, 일반적으로는 약 1~15 또는 20 중량%일 수 있으며, 또한 이는 주로, 선택된 구체적인 투여 방식에 따라서, 액체의 부피와 점도 등을 바탕으로 하여 선택될 것이다. 그러므로, 비 경구 주사용인 통상의 약학 조성물은 멸균 완충수 1ml와 항체 50mg을 함유하도록 구성될 수 있다. 정맥 내 주입용인 통상의 조성물은 멸균 링거 용액 250ml와, 항체 150mg을 함유하도록 구성될 수 있다. 비 경구 투여 가능한 조성물을 제조하는 실제 방법에 관하여는 당 업자에게 공지되어 있거나 또는 잘 알려져 있을 것이며, 이에 관하여는 예를 들어, 문헌[Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980)]에 보다 상세히 기술되어 있다. 항체의 유효 투여량은 1회 투여시, 체중 1kg당 0.01~1000mg이다.

[0098] 약학 조성물은 멸균 주사용 수성, 유성 현탁액, 분산액 또는 멸균 분말(멸균 주사 용액 또는 분산액의 즉석 제조용)의 형태를 가질 수 있다. 현탁액은 전술한 바와 같은 적당한 분산제 또는 습윤제와 현탁제를 사용하는, 당 업계에 공지된 바에 따라서 제형화될 수 있다. 멸균 주사용 제제는 또한 무독성 비 경구 투여 가능한 회석제 또는 용매 중 멸균 주사 용액 또는 현탁액 예를 들어, 1,3-부탄 디올 중 용액일 수도 있다. 담체는 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이의 적당한 혼합물, 식물성 오일, 링거 용액 및 등장성 염화 나트륨 용액을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 뿐만 아니라, 멸균의 불휘발성 오일은 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로서 사용된다. 이러한 목적으로, 합성 모노글리세리드 또는 디글리세리드를 포함하는 임의의 배합 불휘발성 오일이 사용될 수 있다. 뿐만 아니라, 지방산 예를 들어, 올레산도 주사제의 제조에 사용될 수 있다.

[0099] 모든 경우에 있어서, 제형은 멸균된 상태이어야 하며, 또한 용이하게 주사할 수 있는 정도의 유동성을 가져야 한다. 유동성은 예를 들어, 코팅제 예를 들어, 레시틴을 사용하고, 분산액의 경우에는 요구되는 입도를 유지하며, 계면 활성제를 사용함으로써 적당히 유지될 수 있다. 제조 및 보관 조건 하에서 안정하여야 하며, 미생물 예를 들어, 박테리아 및 진균의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 미생물 작용은 다양한 항박테리아 제제 및 항진균제 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산 및 티메로살 등을 사용하여 예방될 수 있다. 다수의 경우에 있어서, 등장제 예를 들어, 당이나 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 흡수 지연제 예를

들어, 모노스테아린산 나트륨과 젤라틴을 조성물에 첨가하여 주사용 조성물의 흡수를 지연시킬 수 있다.

- [0100] 투여에 유용한 조성물은 효능을 증가시키기 위해 섭취 또는 흡수 강화제와 함께 제형화될 수 있다. 이러한 강화제로서는 예를 들어, 살리실산염, 글리코콜산염/리놀레산염, 글리콜레이트, 아프로티닌, 바시트라신, SDS 및 카프산염 등을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Fix, J. Pharm. Sci., 85:1282-1285, 1996 및 Oliyai and Stella (Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:521-544, 1993)]을 참조하시오.
- [0101] 뿐만 아니라, 본 발명에 사용될 수 있는 조성물의 친수성 및 소수성과 같은 특성은 밸런스를 잘 맞추면, 시험관 내 사용시, 특히, 생체 내 사용시 이 조성물의 유용성을 증가시킬 수 있지만, 이와 같은 특성들의 밸런스가 맞지 않는 경우에는 상기 조성물의 유용성은 상당히 떨어진다. 특히, 본 발명에 사용될 수 있는 조성물은 수성 매질 중에서의 가용성 수준이 체내 흡수 가능하고 생체 적합성을 가질 정도로 적당할 뿐만 아니라, 지질 내 가용성 수준은, 화합물이 세포막을 횡단하여 추정 작용 부위까지 도달할 수 있을 정도이기도 하다. 그러므로, 본 발명의 항체 조성물은 표적 항원이 활성을 나타내는 부위에 전달될 수 있을 때 최대의 효과를 나타내는 것이다.
- [0102] 하나의 측면에서, 본 발명의 방법은 결합 분자 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0103] 본 발명의 방법은 치료제를 포유동물 개체에 직접적으로 또는 간접적으로 도입시키는, 임의의 의학적으로-허용 가능한 방법 예를 들어, 주사, 경구 섭취, 비강 내, 국소, 경피, 비 경구, 흡입 스프레이, 질 내, 또는 직장 투여 방법을 이용하여 실시된다. 본원에 사용된 비 경구 투여란 용어에는 피하, 정맥 내, 근육 내 및 대조 내 주사에 의한 투여와, 카테터나 주입 기술을 이용하는 투여를 포함한다. 피 내, 유선 내, 복막 내, 초 내, 구 후, 폐 내 주사 및/또는 수술을 통한 특정 부위의 이식법에 의한 투여도 고려된다.
- [0104] 하나의 구체예에서, 투여는 제형을 내부적으로 전달할 수 있도록, 발병 부위에 직접 주사하거나, 지연 전달 방식 또는 지연 방출 기작을 통하여, 암 발병 부위 또는 치료가 필요한 조직에서 실시된다. 예를 들어, 조성물을 지연 방출시켜 전달할 수 있는, 생분해성 미소 구 또는 캡슐 또는 기타 생분해성 중합체와 같은 제형(예를 들어, 가용성 폴리펩티드, 항체 또는 소형 분자)은, 암 근처에 주입된 본 발명의 제형에 포함될 수 있다.
- [0105] 치료용 조성물은 또한 다수의 부위를 통하여 환자에게 투여될 수도 있다. 다수 회 투여 과정은 동시에 실시될 수 있거나, 또는 시간이 경과 함에 따라서 실시될 수 있다. 임의의 경우에는, 치료용 조성물을 연속적으로 주입하여 투여하는 것이 유리하다. 부가의 치료제는 일정 기간의 간격을 두고(예를 들어, 1시간, 1일, 1주 또는 1개월 간격) 투여될 수 있다.
- [0106] 본 발명의 결합 분자 조성물은 하나의 결합 분자를 포함할 수 있거나, 또는 하나 이상의 결합 분자를 포함할 수 있다. 뿐만 아니라, 본 발명은 제2의 제제와 함께 결합 분자 조성물을 투여하는 것도 포함한다. 본 발명에 사용될 수 있는 제2의 제제로서는 이하 문단에 나열된 것들이 있다.
- [0107] 제2의 제제는 B-세포 관련 분자일 수 있다. 본 발명에 사용할 수 있는 기타 B-세포 관련 분자로서는 CD37이나 CD20이 아닌 B-세포 표면 분자와 결합하는 결합 분자를 포함한다. B-세포 관련 분자로서는, CD19(B-림프구 항원 CD19; B-림프구 표면 항원 B4 또는 Leu-12라고도 함), CD21, CD22(B-세포 수용체 CD22; Leu-14, B-림프구 세포 부착 분자 또는 BL-CAM이라고도 함), CD23, CD40(B-세포 표면 항원 CD40; 종양 괴사 인자 수용체 상과 일원 5, CD40L 수용체 또는 Bp50이라고도 함), CD80(T-림프구 활성화 항원 CD80; 활성화 B7-1 항원, B7, B7-1 또는 BB1이라고도 함), CD86(T-림프구 활성화 항원 CD86; 활성화 B7-2 항원, B70, FUN-1 또는 BU63이라고도 함), CD137(종양 괴사 인자 수용체 상과 일원 9라고도 함), CD152(세포 독성 T-림프구 단백질 4 또는 CTLA-4라고도 함), L6(종양-관련 항원 L6; 경막 4 상과 일원 1, 막 성분 표면 마커 1 또는 M3S1이라고도 함), CD30(림프구 활성화 항원 CD30; 종양 괴사 인자 수용체 상과 일원 8, CD30L 수용체 또는 Ki-1이라고도 함), CD50(세포 내 부착 분자-3(ICAM3) 또는 ICAM-R이라고도 함), CD54(세포 내 부착 분자-1(ICAM1) 또는 리노바이러스 수용체 주요 군 (Major group rhinovirus receptor), B7-H1(활성화된 T-세포, B-세포 및 골수종 세포에 의해 발현된 면역 억제 수용체에 대한 리간드; PD-L1이라고도 함; 문헌(Dong, 외 다수, "B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion," Nat. Med., 5:1365-1369 (1999)) 참조), CD134(종양 괴사 인자 수용체 상과 일원 4, OX40, OX40L 수용체, ACT35 항원, 또는 TAX-전사 활성화 단백질 1 수용체라고도 함), 41BB(4-1BB 리간드 수용체, T-세포 항원 4-1 BB, 또는 T-세포 항원 ILA), CD153(종양 괴사 인자 리간드 상과 일원 8, CD30 리간드 또는 CD30-L이라고도 함), CD154(종양 괴사 인자 리간드 상과 일원 5, TNF-관련 활성화 단백질, TRAP 또는 T-세포 항원 Gp39라고도 함) 및 Toll 수용체를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 구조물 표적 및/또는 표적 항원에 관한 예는 오로지 예시적인 것이지, 제한적인 것은 아니다.

[0108] 시토카인 및 성장 인자도 본 발명에 의하여 고려되는 제2의 제제일 수 있는데, 그 예로서는 TNF, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IFN, G-CSF, Meg-CSF, GM-CSF, 트롬보포이에틴, 줄기 세포 인자 및 에리스로포이에틴 중 하나 이상을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에 의한 약학 조성물은 또한 기타 공지의 엔지오포이에틴 예를 들어, Ang-1, Ang-2, Ang-4, Ang-Y, 및/또는 인간 엔지오포이에틴-유사 폴리펩티드, 및/또는 혈관 내피 성장 인자(VEGF)를 포함할 수도 있다. 본 발명의 약학 조성물에 사용되는 성장 인자로서는 엔지오팀닌, 골 형성 단백질-1, 골 형성 단백질-2, 골 형성 단백질-3, 골 형성 단백질-4, 골 형성 단백질-5, 골 형성 단백질-6, 골 형성 단백질-7, 골 형성 단백질-8, 골 형성 단백질-9, 골 형성 단백질-10, 골 형성 단백질-11, 골 형성 단백질-12, 골 형성 단백질-13, 골 형성 단백질-14, 골 형성 단백질-15, 골 형성 단백질 수용체 IA, 골 형성 단백질 수용체 IB, 두뇌 유래 신경 영양 인자, 모양 신경 영양 인자, 모양 신경 영양 인자 수용체 α , 시토카인-유도성 호중구 주화 인자 1, 시토카인-유도성 호중구 주화 인자 2 α , 시토카인-유도성 호중구 주화 인자 2 β , β 내피 세포 성장 인자, 엔도텔린 1, 상피 성장 인자, 상피-유래 호중구 유인 물질, 섬유 아세포 성장 인자 4, 섬유 아세포 성장 인자 5, 섬유 아세포 성장 인자 6, 섬유 아세포 성장 인자 7, 섬유 아세포 성장 인자 8, 섬유 아세포 성장 인자 8b, 섬유 아세포 성장 인자 8c, 섬유 아세포 성장 인자 9, 섬유 아세포 성장 인자 10, 산성 섬유 아세포 성장 인자, 염기성 섬유 아세포 성장 인자, 글리아 세포주(glial cell line)-유래 신경 영양 인자 수용체 α 1, 글리아 세포주-유래 신경 영양 인자 수용체 α 2, 성장 관련 단백질, 성장 관련 단백질 α , 성장 관련 단백질 β , 성장 관련 단백질 γ , 헤파린 결합 상피 성장 인자, 간 세포 성장 인자, 간 세포 성장 인자 수용체, 인슐린-유사 성장 인자 I, 인슐린-유사 성장 인자 수용체, 인슐린-유사 성장 인자 II, 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질, 각질 형성 세포 성장 인자, 백혈병 억제 인자, 백혈병 억제 인자 수용체 α , 신경 성장 인자, 신경 성장 인자 수용체, 뉴로트로핀-3, 뉴로트로핀-4, 태반 성장 인자, 태반 성장 인자 2, 혈소판 유래 내피 세포 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자 A 사슬, 혈소판 유래 성장 인자 AA, 혈소판 유래 성장 인자 AB, 혈소판 유래 성장 인자 B 사슬, 혈소판 유래 성장 인자 BB, 혈소판 유래 성장 인자 수용체 α , 혈소판 유래 성장 인자 수용체 β , 전-B-세포 성장 촉진 인자, 줄기 세포 인자, 줄기 세포 인자 수용체, 변형성 성장 인자 α , 변형성 성장 인자 β , 변형성 성장 인자 β 1, 변형성 성장 인자 β 1.2, 변형성 성장 인자 β 2, 변형성 성장 인자 β 3, 변형성 성장 인자 β 5, 후기 변형성 성장 인자 β 1, 변형성 성장 인자 β 결합 단백질 I, 변형성 성장 인자 β 결합 단백질 II, 변형성 성장 인자 β 결합 단백질 III, 제I형 종양 괴사 인자 수용체, 제II형 종양 괴사 인자 수용체, 유로키나제형 플라즈미노겐 활성화 인자 수용체, 혈관 내피 성장 인자와, 키메라 단백질 및 생물학적으로 또는 면역학적으로 활성인 이의 단편을 포함한다.

[0109] 제2의 제제로서 고려되는 화학 요법 제제의 예로서는 알킬화제 예를 들어, 질소 머스타드(예를 들어, 메클로레타민, 사이클로포스파미드, 이포스파미드, 멜파란 및 클로람부실); 니트로소우레아(예를 들어, 카머스틴(BCNU), 로머스틴(CCNU) 및 세머스틴(메틸-CCNU)); 에틸렌이민 및 메틸-멜라민(예를 들어, 트리에틸멜라민(TEM), 트리에틸렌 티오포스포라미드(티오테파) 및 헥사메틸멜라민(HMM, 알트레타민)); 설폰살알킬(예를 들어, 부설판); 및 트리아진(예를 들어, 다카바진(DTIC)); 대사 길항 물질 예를 들어, 염산 유사체(예를 들어, 메토크세이트, 트림에트렉세이트 및 페메트렉시드(다중-표적화 항염산제)); 피리미딘 유사체(예를 들어, 5-플루오로우라실(5-FU), 플루오로데옥시우리딘, 젬시타빈, 시토신 아라비노시드(AraC, 시타라빈), 5-아자시티딘, 및 2,2'-디플루오로데옥시시티딘); 및 퓨린 유사체(예를 들어, 6-머캅토피린, 6-티오구아닌, 아자티오프린, 2'-데옥시코포르마이신(펜토스타틴), 에리트로하이드록시노닐아데닌(EHNA), 인산플루다라빈, 2-클로로데옥시아데노신(클라드리빈, 2-CdA)); 제I형 토포이소머라제 억제제 예를 들어, 캠포테신(CPT), 토포테칸 및 이리노테칸; 천연 생성물 예를 들어, 에피도도필로톡신(예를 들어, 에토포시드 및 테니포시드); 및 빈카 알칼로이드(예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴 및 비노렐빈); 항종양 항생제 예를 들어, 악티노마이신 D, 독소루비신 및 블레오마이신; 방사선 증감제 예를 들어, 5-브로모데옥시우리딘, 5-요도데옥시우리딘 및 브로모데옥시시티딘; 백금 배위 착물 예를 들어, 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴; 치환 우레아 예를 들어, 하이드록시우레아; 및 메틸히드라진 유도체 예를 들어, N-메틸히드라진(MIH) 및 프로카바진을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0110] 화학 요법 제제, 방사선 요법 제제 및 기타 활성제 및 보조제에 관한 비 제한적인 예로서는 이하 표 1a~ 표 1e에 나열된 것들이 있다.

표 1a

[0111]

알킬화제
<u>질소 머스타드</u> 메클로레타민 사이클로포스파미드 이포스파미드 멜파란 클로람부실 <u>니트로소우레아</u> 카머스틴(BCNU) 로머스틴(CCNU) 세머스틴(메틸-CCNU) <u>에틸렌이민/메틸-멜라민</u> 트리에틸렌멜라민(TEM) 트리에틸렌 티오포스포라미드(티오테파) 헥사메틸멜라민(HMM, 알트레타민) <u>설폰산알킬</u> 부설판 트리아진 다카바진(DTIC)

표 1b

[0112]

대사 길항 물질
<u>엽산 유사체</u> 메토평렉세이트 트리메토평렉세이트 페메토평렉시드(다중-표적화 항엽산제) <u>피리미딘 유사체</u> 5-플루오로우라실 플루오로데옥시우리딘 잼시타빈 시토신 아라비노시드(AraC, 시타라빈) 5-아자시티딘 2,2'-디플루오로데옥시-시티딘 <u>퓨린 유사체</u> 6-머캅토피린 6-티오구아닌 아자티오프린 2'-데옥시코포르마이신(헨토스타틴) 에리트로하이드록시노닐-아데닌(EHNA) 인산플루다라빈 2-클로로데옥시아데노신(클라드리빈, 2-CdA)
제I형 토포이소머라제 억제제
캄토테신 토포테칸 이리노테칸
생물 반응 개선제
G-CSF GM-CSF
분화 제제
레티노산 유도체

천연 생성물
<u>항 유사 분열제</u>
<u>탁산 계열</u>
파클리탁셀, 빈카 알칼로이드, 빈블라스틴(VLB), 빈크리스틴, 비노렐빈, 탁소텔®(도세탁셀), 에스트라머스틴, 인산에스트라머스틴
<u>에피포도필로톡신 계열</u>
에토포시드, 테니포시드
<u>항생제</u>
악티노마이신 D, 도노마이신(루비도-마이신), 독소루비신(아드리아-마이신), 미토잔트로니다루비신, 블레오마이신, 스플리카마이신(미트라마이신), 미토마이신C, 닥티노마이신, 아피디폴린
<u>효소</u>
L-아스파라기나제
L-아르기나제

표 1c

[0113]

호르몬 및 길항제
<u>아드레노코르티코스테로이드/길항제</u>
프레드니손 및 균등물
텍사메타손
아이노글루테티미드
<u>프로게스틴</u>
카프론산하이드록시프로게스테론
아세트산메드록시프로게스테론
아세트산메게스트롤
<u>에스트로겐</u>
디에틸stilbestrol
에티닐 에스트라디올/균등물
<u>항 에스트로겐</u>
타목시펜
<u>안드로겐</u>
프로피온산테스토스테론
플루옥시메스테론/균등물
<u>항 안드로겐</u>
플루타미드
고나도트로핀-방출 호르몬 유사체
루프롤리드
<u>비 스테로이드성 항 안드로겐</u>
플루타미드

표 1d

[0114]

방사선 증감제
메트로니다졸 미소니다졸 데스메틸미소니다졸 피모니다졸 에타니다졸 니모라졸 RSU 1069 EO9 RB6145 SR4233 니코틴아미드 5-브로모데옥시우리딘 5-요오데옥시우리딘 브로모데옥시시티딘
기타 제제
백금 배위 착물 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴, 안트라센디온, 미토잔트론 치환 우레아 하이드록시우레아 메틸히드라진 유도체 N-메틸히드라진(MIH), 프로카바진 아데노코르티코이드 억제제 미토탐(o,p'-DDD), 아이노글루테티미드

표 1e

[0115]

시토카인
인터페론(α , β , γ)
인터루킨-2
광 감작제
헤마토포르피린 유도체 포토프린® 벤조포르피린 유도체 Npe6 주석 에티오포르피린(SnET2) 페오보라이드-a 박테리오클로로필-a 나프탈로시아닌 프탈로시아닌 아연 프탈로시아닌
방사선
X선 자외선 감마선 가시 광선 적외선 극초단파선

[0116]

본 발명에 의해 자가 면역성 질환 치료용으로서 고려되는 제2의 제제를 면역 억제제라고도 부르는데, 이 면역 억제제는 치료받을 개체의 면역 시스템을 억제하거나 또는 은폐시키는 작용을 한다. 면역 억제제의 예로서는 비

-스테로이드성 소염제(NSAID), 진통제, 글루코코르티코이드, 질병-개선 항 류머티즘성 약물(DMARD)(관절염 치료용) 또는 생물 반응 개선제를 포함한다. DMARD 처방시 조성물도 RA 이외의 기타 자가 면역성 질환 중 다수의 질환을 치료하는데 유용하다.

[0117] 대표적인 NSAID로서는 이부프로펜, 나프록센, 나프록센 나트륨, Cox-2 억제제 예를 들어, 비옥스(Vioxx) 및 셀레브렉스(Celebrex) 및 시알릴산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 있다. 대표적인 진통제로서는 아세타미노펜, 옥시코돈, 염산프로폭시펜의 트라마돌로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 있다. 대표적인 글루코코르티코이드로서는 코르티손, 텍사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론 또는 프레드니손으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 있다. 대표적인 생물 반응 개선제로서는 세포 표면 마커(예를 들어, CD4 및 CD5 등)에 대해 생성된 분자, 시토카인 억제제 예를 들어, TNF 길항제(예를 들어, 에타너셉트(엔브렐(Enbrel)), 아달리무맙(휴미라(Humira)) 및 인플릭시맙(레미케이드(Remicade))), 케모카인 억제제 및 부착 분자 억제제를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 생물 반응 개선제로서는 모노클로날 항체와 재조합 분자 형태의 물질을 포함한다. 대표적인 DMARD로서는 아자티오프린, 사이클로포스파미드, 사이클로스포린, 메토타렉세이트, 페니실라민, 레플루노미드, 설파살라진, 하이드록시클로로퀸, 골드(Gold)[경구 투여(오라노핀) 및 근육 내 투여] 및 미노사이클린을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0118] 결합 분자 조성물과 제2의 제제는 동일한 제형으로서 동시에 투여될 수 있을 것이다. 대안적으로, 상기 제제는 개별 제형으로서 동시에 투여될 수도 있는데, 이 경우, 제제 투여 간격은 30분 이내로 하여야 한다.

[0119] 다른 측면에서, 제2의 제제는 결합 분자 조성물을 투여하기 이전에 투여된다. 투여 이전이란, 항체를 사용하는 치료법을 수행하기 전 약 1주일에서, 항체 투여 전 최대 30분 사이에 투여하는 경우를 의미하는 것이다. 결합 분자 조성물을 투여한 이후에 제2의 제제를 투여하는 것도 고려해 볼 수 있다. 투여 이후란, 항체를 사용하는 치료법을 수행한 후 30분에서 약 1주일 사이에 투여하는 경우를 의미하는 것이다.

[0120] 결합 분자가 제2의 제제와 함께 투여될 때, 방사능 요법 제제를 함께 사용하거나 방사선 요법을 동시에 수행하는 것도 고려해 볼 수 있는데, 이때, 상기 제2의 제제로서는 시토카인 또는 성장 인자 또는 화학 요법 제제가 사용된다. 항체 조성물과 함께 투여되는 방사선 요법 제제는 치료 전문의의 결정에 따라서 투여될 수 있으며, 이때의 투여량은 통상적으로 암 환자 치료시 투여되는 양으로 투여된다.

[0121] 소정의 투여형 내 결합 분자의 양은 치료가 행하여지고 있는 개체의 크기와 치료받을 질환의 특징에 따라서 달라질 것이다. 대표적인 치료법에 있어서, 그 양은 약 1~약 5mg/일, 약 10mg/일, 약 20mg/일, 약 50mg/일, 약 75mg/일, 약 100mg/일, 약 150mg/일, 약 200mg/일, 약 250mg/일, 약 500mg/일, 또는 약 1000mg/일이어야 할 것이다. 이와 같은 투여량은 또한 환자의 체중을 바탕으로 하여 약 0.01~약 50mg/kg으로 결정될 수도 있다. 관련 구체예에서, 결합 분자는 약 0.015~약 30mg/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 부가의 구체예에서, 결합 분자는 약 0.015, 약 0.05, 약 0.15, 약 0.5, 약 1.5, 약 5, 약 15 또는 약 30mg/kg의 양으로 투여된다.

[0122] 이와 같은 조성물은 1회 투여될 수 있거나 또는 다수 회 투여될 수 있다. 표준적인 투여량-반응성 연구를 통하여, 처음에는 동물 모델을 대상으로 실험하고, 그 다음 임상 실험을 수행한 결과, 특정 병상 및 환자 집단에 최적의 투여량을 규명하였다.

[0123] 결합 분자 조성물을 1회 투여하여 치료하였을 경우, 치료 후 B-세포 군집은 20% 이상 감소한다. 하나의 구체예에서, B-세포 군집은 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상 또는 약 100%까지 감소하였다. B-세포 감소는 B-세포 절대 수가 정상 범위의 하한선 이하로 감소하였을 때로서 정의된다. B-세포 회복은 B-세포 절대 수가 다음과 같은 범위 중 어느 하나의 경우로 회복되었을 때로서 정의된다: 목표 기준 수치의 70% 또는 정상 범위.

[0124] CD20-특이적 결합 분자를 투여하면, 특정 B-세포 하위 세트에서 세포 자살이 증가하기도 한다. 세포 자살이란, 세포의 계획된 세포 사멸이 유도되는 경우를 의미하는데, DNA 단편화, 세포 수축, 세포 단편화, 세포막 소포의 형성 또는 막 지질 조성의 변화(어택신 V 염색에 의해 판별함)에 의하여 확인 및 평가된다.

[0125] 뿐만 아니라, 본 발명의 결합 분자 조성물을 투여하면, 치료받을 질병 또는 질환에 있어서 목적으로 하는 임상 효과를 거둘 수 있다. 예를 들어, 류머티즘성 관절염 환자의 경우, 하나의 측면에서, 본 발명의 결합 분자 조성물을 투여하면, 환자의 상태는 임상학상 유의적인 정도로 나아지며/나아지거나[예를 들어, 병상의 개선 여부에 관한 미국 류머티즘 학회의 예비 확인 기준(American College of Rheumatology Preliminary Detection of Improvement; ACR20) 달성], 관절 부종이 20% 정도 완화되고, ACR 기준의 5가지 중 3가지가 20% 개선된다[Felson의 다수, Arthritis Rheum. 1995, 38:727-35]. RA 환자에 CD37-특이적 결합 분자 및 CD20-특이적 결합

분자를 투여한 이후 이 환자가 질병의 차도가 있는지 여부에 대한 생물학적 수단으로서는 시토카인 수준의 변화(단백질이나 RNA 수준을 통하여 측정)를 측정하는 것을 포함한다. 대상 시토카인으로는 TNF- α , IL-1, 인터페론, Blys 및 APRIL을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 시토카인 수준은 B-세포 수의 감소 또는 활성화된 T-세포의 감소로 인하여 변할 수 있다. RA 환자에 있어서, 골 교체(bone turnover)(골 흡수 또는 침식)와 관련된 마커는 CD20-특이적 결합 분자를 투여하기 이전과 이후에 측정된다. 관련 마커로서는 알칼리성 포스파타제, 오스테오칼신, 콜라겐 분해 단편, 하이드록시프롤린, 타르타르산염-내성 산성 포스파타제 및 RANK 리간드(RANKL)를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 기타 RA 개선 여부를 판단하는 관련 정보로서는 C 반응성 단백질(CRP) 수준의 측정치, 적혈구 침강 속도(ESR), 류머티즘 인자, CCP(환형 시트룰린 처리된 펩티드) 항체 및 전신 B-세포 수준의 측정치 및 림프구 수(유동성 혈구 계측법에 의해 측정)를 포함한다. 구체적인 인자는 또한 RA 환자의 윤활막으로부터 측정될 수 있는데, 예를 들어, 윤활막 생검편으로부터 유래하는 윤활막내 B-세포 수준, RANKL 및 기타 골 인자 및 상기 나열한 바와 같은 시토카인 수준을 관찰함으로써 측정될 수 있다.

[0126] 관련 측면에서, 다른 질병에 대해 병용 투여하였을 때의 효과는 당 업계에 공지된 표준적인 기준에 따라서 측정된다. 예를 들어, 본 발명에 따라서 치료된 크론병 환자는 크론병 활동 지수(Crohn's Disease Activity Index; CDAI)가 약 50~약 70 유닛 정도로 차도를 보이는데, 여기서, 150 유닛 정도라 함은 병이 거의 완치된 상태를 의미하는 것이다[Simonis와 다수, Scand. J Gastroent. 1998, 33:283-8]. 스코어가 150 또는 200인 경우를 정상인 상태로 간주하는 반면에, 스코어가 450인 경우는 질병이 중증인 상태로 간주한다. 또한, CD37-특이적 결합 분자 및 CD20-특이적 결합 분자를 투여하면, 핵 주변 항-호중구 항체(pANCA)와 항-사카로마이세스 세레비지아에 항체(ASCA)의 개체(염증성 대장 질환 환자) 내 수준이 감소하게 된다.

[0127] 뿐만 아니라, 본 발명에 따라서 치료받은 성인 및 연소자 근염 환자의 경우에도 평가 핵심 집단(core set)의 병세는 나아졌는데, 예를 들어, 평가된 핵심 집단 6개 중 3개는 약 20%까지 병세가 호전되었으며, 평가된 핵심 집단 중 2개 이하의 집단은 약 25% 정도까지 병세가 악화되었다[Rider와 다수, Arthritis Rheum. 2004, 50:2281-90].

[0128] 또한, 본 발명에 따라서 치료받은 SLE 환자들의 경우에도 전신 루프스 활동 측정 기준(Systemic Lupus Activity Measure; SLAM) 또는 SLE 질병 활동 지수(SLE Disease Activity Index; SLEDAI) 스코어가 1 포인트 이상 상승하였다[Gladman와 다수, J Rheumatol 1994, 21:1468-71][Tan와 다수, Arthritis Rheum. 1982, 25:1271-7]. SLAM 스코어 >5, 또는 SLEDAI 스코어 >2인 경우를 임상학적으로 활동성인 질병으로 간주한다. 치료에 대한 반응성은, 2개의 질병 활동성 측정치[SLE 질병 활동 지수 [SLEDAI] 및 전신 루프스 활동 측정치]와, 2개의 삶의 질 측정 기준[환자의 포괄적 평가 기준(patient's global assessment) 및 크롭 피로도 척도(Krupp Fatigue Severity Scale)]에 대한 개선 정도 또는 안정화 정도로서 정의될 수 있다[Petri와 다수, Arthritis Rheum. 2004, 50:2858-68]. 또한, SLE 환자에게 결합 분자를 투여하면 항-이중 사슬 DNA 항체가 감소하게 된다. 대안적으로, 영국 제도 루프스 평가 군 표준(British Isles Lupus Assessment Group Criteria; BILAG)을 이용하여 병세의 개선 여부를 가늠할 수 있다.

[0129] 또한, 본 발명에 따라서 치료된 다발성 경화증 환자의 경우에는, 커츠크 확장성 장애 상태 척도(Kurtzke Expanded Disability status scale; EDSS)(Kurtzke, F., Neurology 1983, 33:1444-52)의 임상 스코어가 0.5 이상으로서 병증이 개선되거나, 또는 커츠크 척도에 있어서 질병 악화가 임상학적으로 지연되어, 그 지수가 1.0 이상이다[Rudick와 다수, Neurology 1997, 49:358-63].

[0130] 또한, CD37-특이적 결합 분자 및 CD20-특이적 결합 분자를 투여받은 IIM 환자의 경우에도 특발성 염증성 근병증 평가 기준(Idiopathic Inflammatory Myopathy Criteria; IIMC)에 제시된 5개의 기준 중 1개 이상이 감소하는 것으로 판단된다[Miller, F., 상동]. 뿐만 아니라, IIM 환자에게 투여하였을 경우에도, 크레아틴 키나제(CK), 락트산염 탈수소 효소, 알돌라제, C-반응성 단백질, 아스파르트산염 아미노기 전이 효소(AST), 알라닌 아미노기 전이 효소(ALT), 및 항 핵 자가 항체(ANA), 근염-특이적 항체(MSA), 그리고 가용성 핵 항원에 대한 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 IIM 관련 인자가 감소한다. 대안적으로, 이들 환자의 경우에는 문헌[Rider와 다수, Arthritis Rheum., 50(7):2281-2290 (2004)]에 제시된 기준 6개 중 3개를 만족시키고, 2개 이하의 기준DMS 만족시키지 못한다.

[0131] 몇몇 구체예에서, B-세포 암 환자가 본 발명에 따라서 치료를 받을 경우, 당 업계에 널리 공지되었고 일반적으로 사용되고 있으며, 이하에 개시된 바와 같은 임상 기준 예를 들어, 종양 크기의 감소 정도, 종양 수의 감소 정도 및/또는 질병 증상의 차도를 바탕으로 하여, 치료에 대한 전반적인 효능을 입증할 수 있다.

[0132] 대표적인 임상 기준은, 몇몇 암 군을 임상 카테고리 즉, "병의 진행이 더딘(indolent)" 림프종과 "공격적인

(aggressive)" 림프종으로 나누는, 미국 국립 암 기구(U.S. National Cancer Institute: NCI)에 의해 제시된다. 진행이 더딘 림프종으로서는 여포 세포 림프종(세포학적 "등급"별로 분류), 미만성 소형 림프구성 림프종/만성 림프구성 백혈병(CLL), 림프형질 세포성/발덴슈트롬 거대글로불린혈증, 변연부 림프종 및 모양 세포 백혈병을 포함한다. 공격성 림프종으로서는 미만성 혼합형 및 거대 세포 림프종, 버킷 림프종/미만성 소형 비-절단 세포 림프종, 림프 아구성 림프종, 맨틀 세포 림프종 및 AIDS-관련 림프종을 포함한다. 몇몇 경우에 있어서, 국제 예후 지수(International Prognostic Index; IPI)는 공격성 및 여포성 림프종의 경우에 활용된다. IPI에 고려되는 인자들로서는, 연령(60세 초과 대 60세 미만), 혈청 젖산 염 탈수소 효소(정상 수준 대 상승 수준), 운동 능력(0 또는 1 대 2~4)(이하 정의 참조), 질병 진행 기수(I기 또는 II기 대 III기 또는 IV기), 그리고 림프절 이외 장기의 관련 정도(0 또는 1 대 2~4)를 포함한다. 2개 이상의 위험 인자를 가지는 환자들은 재발 가능성이 없어질 확률이 50% 미만이고, 전체 생존기간은 5년 정도이다.

[0133] 공격성 IPI에 있어서 운동 능력은 다음과 같이 정의된다: 등급에 관한 설명: 0 = 완벽하게 활동성인 경우로서, 구애받지 않고 발병 이전의 운동 능력을 가질 수 있음; 1 = 신체적으로 격렬한 활동에는 제한이 있지만, 보행이 가능하고, 가볍거나 정적인 작업 예를 들어, 가벼운 집안일, 사무실 근무 등은 수행 가능함; 2 = 보행 가능하고 자기 자신을 돌볼 수 있으나, 깨어있는 시간 중 50% 이하 및 약 50% 이상 동안 어떠한 작업도 불가능함; 3 = 극히 제한된 정도로만 자신을 돌볼 수 있으며, 깨어있는 시간 중 50% 이상을 침대나 의자에서만 생활할 수 있음; 4 = 완전히 활동 불가능하고, 자기 자신을 전혀 돌볼 수 없을 뿐만 아니라, 전적으로 침대나 의자에서만 생활할 수 있음; 그리고 5 = 사망. 문헌[The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. N Engl J Med. 329:987-94, 1993]을 참조하십시오.

[0134] 통상적으로, 림프종 등급은 일반적으로 림프절 질병으로서 규정되는 낮은 등급의 림프종(때로는 진행이 더디거나 서서히 성장하기도 함) 기준을 이용하여 임상학적으로 평가된다. 중간 정도 및 높은 등급의 질병은 일반적으로 보다 공격적인 질병으로서 규정하고 있으며, 이 경우 림프절 이외의 장기에서 거대한 종양이 발견된다.

[0135] 앤 아버(Ann Arbor) 분류 시스템은 또한 종양, 특히 비 호지킨 림프종의 진행 정도를 측정하는데 사용된다. 이 시스템에서, I기, II기, III기 및 IV기(성인 NHL)는, 환자가 체계적으로 규정되어 일반화된 증상을 나타내는지(B) 아니면 그러하지 않는지(A) 여부에 따라서 A 및 B 카테고리 분류될 수 있다. B 카테고리는 다음과 같은 증상들을 나타내는 환자들로 구성된다: 진단 이전 6개월 내 원인 미상의 체중 감소(10% 이상), 38℃를 넘는 원인 미상의 고열, 그리고, 흠뻑 젖을 정도의 도한(night sweat). 질병 기수의 정의는 다음과 같다: I기 = 단일 림프절 부위가 관련되어 있거나, 또는 단일 림프절 외 장기 또는 부위 중 일부만이 관련됨; II기 = 내부막(diaphragm)의 동일면에 있는 2개 이상의 림프절 부위가 관련되어 있거나, 또는 단일의 관련된 림프절 외 장기 또는 부위 중 일부, 그리고 내부 막의 동일면에 존재하는 기타 림프절 부위가 모두 관련되어 있거나 또는 이 부위를 제외한 국부 림프절이 관련되어 있음; III기 = 내부막의 양쪽 면에 림프절 부위가 관련됨에 따라서, 림프절 외 장기 또는 부위가 국소적으로 관련될 수 있거나, 또는 비장이 관련되거나, 또는 상기 두 가지 경우 모두에 해당함; IV기 = 관련 림프절과 함께 또는 이 림프절을 제외한 하나 이상의 림프절 외 장기의 여러 부위(다발 초점)가 관련되어 있거나, 또는 멀리 떨어져 있는 (비-국부) 림프절과 함께 독립된 림프절 외 장기가 관련됨. 이에 관한 자세한 설명은 문헌[The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project: A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma, New England J. Med. (1993) 329:987-994]에 개시되어 있다.

[0136] 하나의 측면에서, 본 발명에 의한 방법의 치료 효과는 반응 수준 예를 들어, 부분 반응(partial response)[종양 크기가 원래 크기의 절반 이하로 감소하는 경우로서 정의됨] 수준에 의해 측정된다. 완전 반응(complete response)은 임상학적 평가 또는 방사능에 의한 평가에 의해 확인되는 질병의 완치 상태로써 정의된다. 하나의 구체예에서, 본 발명에 의한 치료를 받은 개체는 치료에 대한 부분 반응 이상의 반응을 나타내는 것으로 확인된다.

[0137] 국립 암 기구와 공동 개발된, NHL 평가용 체슨(Cheson) 기준[Cheson외 다수, J Clin Oncol. 1999, 17:1244; Grillo-Lopez외 다수, Ann Oncol. 2000, 11 :399-408]에 따르면, 임상학적 및 방사선 사진 촬영에 의해 확인할 수 있는, 질병 및 질병-관련 증상에 대한 모든 증거가 완전히 없어지고, 모든 림프절이 정상 크기로 회복되며, 비장의 크기가 줄고, 골수에 림프종이 제거되었을 경우를, 완전 반응이 나타난 것으로 간주한다.

[0138] 불확정적 완전 반응은, 환자에 있어서 질병이 완전히 없어지고, 비장의 크기가 줄어들되, 림프절 크기는 75% 이상 줄어들고, 또한 골수가 무한정일 경우에 유도된다. 불확정적 완전 반응은 부분 반응의 기준에 부합하며 이를 넘어서기까지 한다. 전체 반응(overall response)은 전체 종양 적하 중량의 50% 이상까지 감소한 경우로서 정의

된다.

- [0139] 기타 다양한 형태의 암 또는 과다 증식성 질병에 대한 유사한 기준이 개발되었으며, 이 기준은 당 업자가 용이하게 파악할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Cheson외 다수, Clin Adv Hematol Oncol. 2006, 4:4-5 (CLL 평가 기준에 관하여 기술됨); Cheson외 다수, J Clin Oncol. 2003, 21:4642-9 (AML에 대한 기준에 관하여 기술됨); Cheson외 다수, Blood 2000, 96:3671-4 (골수 이형성증에 대한 기준에 관하여 기술됨)]을 참조하시오.
- [0140] 다른 측면에서, B-세포 암 환자에 있어서 치료 반응은 치료를 받지 않은 환자에 비하여, 질병의 진행이 늦추어지는 것으로서 분명해진다. 질병의 진행이 늦추어졌는지 여부 또는 상기 인자들 중 임의의 것들은 당 업계에 널리 공지된 기술 예를 들어, 골 스캔, CT 스캔, 갈륨 스캔, 림프관 조영술, MRI, PET 스캔 및 초음파 기술 등을 이용하여 측정될 수 있다.
- [0141] 또한, 통상의 치료제가 본 발명의 치료제와 함께 투여된다면, 그 투여량은 바뀔 수 있음도 잘 알 것이다.
- [0142] 부가적인 측면으로서, 본 발명은 본 발명의 방법에 유용한 하나 이상의 화합물 또는 조성물(본 발명의 방법을 실행할 경우 그 사용에 유리한 방식으로 포장됨)을 포함하는 키트를 포함한다. 가장 간단한 구체예에서, 이러한 키트는 본원에 개시된 바와 같은, 본 발명의 방법을 수행하는데 유용한 화합물 또는 조성물을 포함하는데, 이 화합물 또는 조성물은 라벨이 부착된 밀봉 병 또는 용기와 같은 용기에 포장되거나, 또는 본 발명의 방법을 실행하기 위한 화합물 또는 조성물의 용도에 관하여 기술되어 있는 포장에 포함된다. 바람직하게, 본 발명의 화합물 또는 조성물은 단위 투여형으로서 포장된다. 상기 키트는 바람직한 투여 경로에 따라서 조성물을 투여하거나 또는 스크리닝 검정법을 수행하기에 적당한 장치를 추가로 포함할 수 있다. 상기 키트는 본 발명의 방법에서 결합 분자 조성물(들)을 사용하는 방법에 관하여 기술된 라벨을 포함할 수 있다.
- [0143] 본 발명은 또한 제조 물품을 포함하기도 한다. 이러한 물품으로서는 CD37-특이적 결합 분자 또는 CD37 및 CD20-특이적 결합 분자를 포함하고, 임의로는 약학 담체나 희석제를 포함하기도 하며, 본 발명에 의한 결합 분자의 사용 방법에 관하여 기술된 하나 이상의 라벨도 포함한다. 이러한 제조 물품은 또한 결합 분자와 함께 투여될 하나 이상의 제2의 제제도 포함할 수 있다.
- [0144] 본 발명에서는 또한, 이상 B-세포 활성화와 관련된 질병의 치료용 또는 예방용 약품의 제조시 CD37-특이적 결합 분자 또는 CD37 및 CD20-특이적 결합 분자를 포함하는 조성물을 사용해야 한다.

실시예

- [0176] 본 발명의 부가적인 측면과 상세한 내용은 이하 실시예를 통하여 파악할 수 있을 것인데, 이 실시예는 본 발명을 제한하고자 하는 것이 아니고, 오로지 예시하기 위한 것이다. 실시예 1은 CD37-특이적 결합 분자의 제조 방법에 관하여 기술하고 있고; 실시예 2는 TRU-016 및 다양한 CD37-특이적 항체가 동일하거나 중첩적인 에피토프를 인지한다는 사실을 입증하는 것이며; 실시예 3은 TRU-016이 C1q와 결합하지 못하고, 전통적인 보체 활성화 경로도 활성화하지 못한다는 것을 알려주는 것이고; 실시예 4는 TRU-016 다량체의 활성화와 결합 능력을 말해주는 것이며; 실시예 5는 CD20-특이적 결합 분자의 제조 방법에 관하여 기술하고 있고; 실시예 6은 TRU-016과 TRU-015 또는 리톡산을 함께 처리하면 B-세포 내에서 세포 자살을 상승적으로 증가시킨다는 사실을 말해주는 것이며; 실시예 7은 TRU-016과 CD20-특이적 항체 또는 SMIP를 함께 처리하면 CDC를 상승적으로 증가시킨다는 사실을 말해주는 것이고; 실시예 8은 TRU-016이 CD20-특이적 항체 및 SMIP의 ADCC 활성화 및 CDC 활성을 증가시킨다는 사실을 말해주는 것이며; 실시예 9는 TRU-016이 B-세포 내에서 세포 자살을 유도한다는 사실을 말해주는 것이고; 실시예 10은 CD37-특이적 SMIP와 CD20-특이적 항체를 함께 처리하면 쥐와 동물 종양의 이중 이식편 모델에 있어서 종양 부피를 획기적으로 줄일 수 있음을 보여주는 것이며; 실시예 11은 CD37-특이적 SMIP를 단독으로 처리하면 쥐와 동물 종양의 이중 이식편 모델에 있어서 종양 부피를 감소시킬 수도 있음을 말해주는 것이고; 실시예 12는 TRU-016이 기타 B-세포 표면 수용체의 CDC 활성화에 영향을 미치지 않음을 말해주는 것이며; 실시예 13은 TRU-016이 다수의 표적화된 수용체 예를 들어, MHCII, CD19, CD80/86 및 CD40의 CDC 활성을 증가시키지 않음을 말해주는 것이고; 실시예 14는 TRU-016이 종양이 발생한 마우스에 있어서 생체 내 생존율을 증가시킨다는 사실을 보여주는 추가의 데이터를 제공하며; 실시예 15는 TRU-016이 시험관 내 CLL 세포 내에서 플루타라빈-유도 세포 사멸을 촉진한다는 사실을 말해주는 것이고; 실시예 16은 TRU-016이 리톡시맵-내성 세포 내 직접적인 세포 독성을 유도한다는 사실을 나타내는 것이며; 실시예 17은 TRU-016이 CD19+ 1차 CLL B-세포 내 티로신 인산화를 유도한다는 사실을 보여주는 것이고; 실시예 18은 인간화된 TRU-016 분자를 제공하는 것이다.

[0177] 실시예 1

- [0178] CD37-특이적 결합 분자의 제조
- [0179] CD37-특이적 SMIP에 관하여는 공동 특허 출원 제10/627,556호 및 미국 특허 공보 2003/133939, 2003/0118592 및 2005/0136049에 개시되어 있다. 대표적인 SMIP인 TRU-016은 다음과 같이 제조된다.
- [0180] TRU-016[G28-1 scFv VH11S (SSC-P) H WCH2 WCH3]은 CD37 항원에 결합하는 재조합 단일 사슬 단백질이다. 이것의 결합 도메인은 상기 문단에 나열된 특허 공보(본원에 참고용으로 인용됨)에 이미 개시되어 있는 G28-1 항체 서열을 바탕으로 한다. 결합 도메인은, 변형된 힌지부를 통하여 효과기 도메인 즉, 인간 IgG1의 CH2 도메인 및 CH3 도메인과 연결되어 있다. TRU-016은 용액 중에서는 이량체로 존재하고, 이와 같은 이량체는 이론상 분자량이 약 106,000 달톤이다.
- [0181] G28-1 하이브리도마로부터 유래하는 전체 RNA는, 제조자의 지침에 따라서, 트리졸(Trizol) RNA(Gibco) 시약을 사용하여 분리되었다. cDNA는 5 μ g RNA, 랜덤 프라이머 및 수퍼스크립트 II 역 전사 효소(GIBCO BRL)를 사용하여 제조되었다. 상이한 쥐과 동물 VK 또는 VH 유전자군에 대한 축퇴성 프라이머 풀을 사용하여 가변 도메인을 클로닝하였다. G28-1 하이브리도마로부터 유래하는 가변 도메인을 PCR2.1 TOPO 클로닝 벡터(Invitrogen)에 클로닝하고, 올바른 크기의 삽입체를 포함하는 형질 전환체로부터 유래하는 DNA를 서열 결정하였다. 이후, 올바른 클론으로부터 유래하는 중쇄 및 경쇄 가변부를, VL-VH 배향으로 15 aa (gly4ser)₃ 링커와 결합된 G28-1 scFv를 재봉 PCR 증폭(sewing PCR amplification)시키기 위한 주형으로서 사용하였다. 항-CD37 scFv를 변형 인간 IgG1 힌지, CH2 및 CH3 도메인에 부착시켰다(도 1a 참조). 포유동물 세포에 의해 적절히 발현되었는지 여부를 확인하기 위하여, 포유동물 세포에 의한 발현이 상당히 증가한 가변부 변형체를 선별하였다. 특히, scFv의 11번 위치에 있는 루신을 세린으로 변이시켰다. 예상 성숙 펩티드의 길이는 473 아미노산이다.
- [0182] TRU-016을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열과 TRU-016의 아미노산 서열을 각각 서열 번호 1 및 서열 번호 2에 제시하였다.
- [0183] TRU-016은 중국 햄스터 난소(CHO) 포유동물 세포 발현 시스템에서 재조합 DNA 기술을 통해 생산하였다. SMIP를 생산하는 형질 감염된 CHO 세포를 부유 배지가 담긴 생물 반응기 내에서 배양하였다.
- [0184] TRU-016 SMIP는 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 의해 CHO 배양 상청액으로부터 정제하였다. dPBS를 사용하여, 50ml r단백질 A FF 세파로스 컬럼(GE Healthcare rProtein A Sepharose FF, Catalog #17-0974-04)을 1.5 컬럼 부피(CV)에 대해 5.0ml/분(150cm/시간)으로 평형화시켰다. AKTA 익스플로러 100 에어(GE healthcare AKTA Explorer 100 Air, Catalog #18-1403-00)를 사용하여 배양 상청액을 r단백질 A 세파로스 FF 컬럼에 로딩하여(유속 = 1.7ml/분), 재조합 TRU-016을 포착하였다. 이 컬럼을 5 컬럼 부피(CV)에 대해, dPBS→1.0 M NaCl, 20mM 인산나트륨(pH 6.0)→25 mM NaCl, 25mM NaOAc(pH 5.0)으로 세척하였다. 이와 같은 세척 단계를 통해 비특이적으로 결합한 CHO 숙주 세포 단백질을, 용리후 생성물 침전에 관여하는 r단백질 A 컬럼으로부터 제거하였다.
- [0185] 100mM 글리신(pH 3.5)을 사용하여 컬럼으로부터 재조합 TRU-016을 용리시켰다. 용리 생성물의 10ml 분획을 회수하고, 용리 부피의 20%에 해당하는 0.5 M 2-(N-모폴리노)에탄설폰산(MES)(pH 6.0)을 사용하여 용리된 생성물의 pH를 5.0으로 맞추었다. 시료를 약 25mg/ml의 TRU-016으로 농축시킨 후, 이를 GPC 정제용 제제로서 멸균 여과하여, 이와 같이 용리된 생성물을 GPC 정제용으로 제조하였다.
- [0186] 이후, 정제된 단백질을 GPC 크기별 배제 크로마토그래피(SEC)시켜 고 분자량의 응집물로부터 TRU-016(이량체) 분자를 추가로 정제하였다. dPBS를 사용하여, 수퍼덱스(Superdex) 200 FF 세파로스 1 ℓ 를 함유하는 XK 50/100 컬럼(GE healthcare XK 50/100 공 크로마토그래피 컬럼, Catalog #18-8753-01)을 1.5 컬럼 부피(CV)에 대해 12.6ml/분(38cm/시간)으로 평형화시켰다. 최대 부피만큼의 시료 즉, 54ml(3% CV)의 시료를 상기 컬럼에 가하였다. 이 컬럼을 12.6ml/분으로 계속 전개하고, 용리된 단백질을 40ml의 분획으로 분획화하였다. 각각의 분획에 대해, 분석용 HPLC를 사용하여 생성물의 질을 분석하였으며, 용리된 분획을 >95% POI(비-응집형) TRU-016에 대해 폴링하였다. 이와 같이 생성된 풀을 0.22 μ m 필터로 여과하여 멸균시켰다. 이후, 이 물질을 농축하고, 20mM 인산나트륨과 240 mM 수크로스과 함께 제형화하였다(pH 6.0). 상기 조성물을 여과한 다음, 10mg/ml의 농도로 유리 바이알에 충전시켰다. 각각의 유리 바이알은 TRU-016(50mg/바이알)을 5ml씩 담고 있다.
- [0187] TRU-016 단백질도 4~20%의 노백스(Novex) 트리스-글리신 겔(Invitrogen, San Diego, CA)상에서 SDS-PAGE 분석하였다. 이를 95℃에서 3분 동안 가열한 후, 시료를 환원 조건(1/10 부피의 NuPAGE 시료 환원제 첨가) 또는 비환원 조건하에서, 노백스 트리스-글리신 SDS 시료 완충액(2 \times)을 사용하여 로딩한 후, 150V에서 90분 동안 전기영동시켰다. 1 \times 노백스 트리스-글리신 SDS 전개 완충액(Invitrogen)을 사용하여 전기영동을 수행하였다. 전기

영동 후, 쿠마시(Coomassie) SDS PAGE R-250 염색제와 함께 30분 동안 교반하면서 겔을 염색한 후, 다시 1시간 이상 동안 탈염하였다. 성숙한 펩티드의 예상 분자량은 51.5kDa이다. 환원 조건 하에서, 융합 단백질은 예상 분자량까지 이동한다. 비-환원 조건 하에서, 상기 분자는 약 150kDa까지 이동한다(도 1b 참조).

[0188] 또한, 모 항체가 CD37 세포 표면 수용체에 결합할 때의 결합 특이성이 TRU-016의 경우에도 보존되는지 여부를 측정하는 실험도 수행하였다. 인간 PBMC를 LSM 밀도 구배를 주어 분리한 후, 이를 비 컨쥬게이트화 TRU-016 및 PE-컨쥬게이트화 항-인간 CD19와 함께 항온 처리하였다. 세포를 세척한 다음, 이를 1:100 FITC GAH IgG(Fc 특이적)와 함께 45분 동안 얼음으로 항온처리하였다. 세포를 세척하고, FACs캘리버 장치(셀퀘스트(Cell Quest) 소프트웨어)를 사용하여 2색 유세포 측정법(two-color flow cytometry)으로 분석하였다. CD19 염색에 의해 세포를 B 림프구 또는 비-B 림프구에 대해 게이팅(gating)하였다.

[0189] TRU-016의 농도를 증가시켰더니, B 림프구 상에서의 FITC 시그널(CD19 포지티브 게이트)은, 약 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 포화되거나 또는 평균 형광 강도(MFI)가 1000이 될 때까지 $0.01\sim 1.0\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 급상승하였다. 이와는 대조적으로, 비-B 림프구 군집은 염색되었으나, 그 정도는 미약하였으며, scFvIg의 농도가 증가함에 따라서 염색량도 서서히 증가하였다. 즉, G28-1 쥐와 동물 모노클로날 항체의 염색 패턴은 TRU-016에 의해 보존되는 것이다(도 1c).

[0190] 본 발명에 의한 CD37-결합 분자들의 구조를 도시하였다[항체로부터 유래하는 결합 도메인, 힌지 변이체, 동일하거나 상이한 CH2CH3 부위, 그리고 다양한 동 기준 표본].

[0191] 실시예 2

[0192] TRU-016 및 다양한 CD37-특이적 항체는 CD37상의 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합한다.

[0193] TRU-016 및 기타 전술한 바와 같은 CD37-특이적 항체와 결합한 CD37 에피토프를 동정하기 위한 실험을 수행하였다.

[0194] 컨쥬게이트화되지 않은 MB371(#555457)와 FITC-컨쥬게이트화 MB371(#555456)는 BD 파밍겐(BD Pharmingen)(San Jose, CA)으로부터 입수하였으며, FITC-컨쥬게이트화 BL14(#0457)는 이뮤노테크(Immunotech)/백맨 쿨터(Beckman Coulter)(Fullerton, CA)로부터, FITC-컨쥬게이트화 NMN46(#RDI-CBL 136FT) 및 컨쥬게이트화되지 않은 NMN46(#RDI-CBL 136)는 RDI(Flanders, NJ)로부터, FITC-컨쥬게이트화 IPO24(#186-040) 및 컨쥬게이트화되지 않은 IPO-24(#186-020)는 앤셀 코포레이션(Ancell Corporation)(Bayport, MN)으로부터, FITC-컨쥬게이트화 HHI(#3081) 및 컨쥬게이트화되지 않은 HH1(#3080)은 다이아텍 컴퍼니(DiaTec.Com)(Oslo, Norway)로부터, 그리고 FITC-컨쥬게이트화 WR17(YSRTMCA483F) 및 컨쥬게이트화되지 않은 WR17(YSRTMCA483S)은 애큐리트 케미컬 & 사이언티픽(Accurate Chemical & Scientific)(Westbury, NY)으로부터 입수하였다. TRU-016 단백질은 실시예 1에 개시된 바와 같이 제조하였다.

[0195] 제조자의 지침에 따라서, 트루비온(Trubion)(분자 프로브 형광 리포터 FITC 표지화 키트; Molecular Probes Fluororeporter FITC Labeling Kit (F6434)을 통하여 다음과 같이 TRU-016을 FITC에 컨쥬게이트화하였다: 목적으로 하는 TRU-016 단백질 피크(POI)를, PBS를 사용하여, $13.5\text{mg}/\text{ml}$ 에서 $5\text{mg}/\text{ml}$ 로 맞추었다. $1\text{mg}(200\text{ ul})$ 을 교반 막대가 장착된 키트 튜브에 첨가하고, 여기에 1M의 NaHCO_3 (6N NaOH를 사용하여 pH 8.5로 맞추)를 첨가하여 최종 농도 0.1M 이 되도록 만들었다. 50 ul 의 DMSO를 FITC $370\mu\text{g}$ 에 첨가하고, 이를 FITC:단백질의 몰비가 15, 20, 30 및 40인 튜브에 가하여, 다음과 같은 공식으로써 첨가된 FITC의 양(ul)을 측정하였다: [첨가된 FITC 용액의 양(ul) = $5\text{mg}/\text{ml}$ 단백질 $\times 0.2\text{ml} \times 389 \times 100 \times \text{TRU-016의 바람직한 몰비/분자량}(110,000)$].

[0196] 반응물에 빛이 들어가는 것을 차단하고, 이 반응물을 실온에서 75분 동안 계속 교반하였다. 반응물을 키트에 기술되어 있는 바와 같이 제조된 스핀 컬럼에 첨가하였으며, 이를 1100g에서 5분 동안 회전시켜 완충액을 아지드와 함께 PBS와 교환하여, 컨쥬게이트화되지 않은 FITC를 제거하였다. 나노드롭(Nanodrop)에 2ul 떨어뜨려 280nm 및 494nm에서의 OD를 측정하였으며; TRU-016의 소멸 계수는 상기 기계를 사용하여 실험을 통해 측정하였는데[출발 물질인 컨쥬게이트화되지 않은 SMIP의 희석률을 판독함], 이때 컨쥬게이트 각각의 농도는 $4.25\text{mg}/\text{ml}$ 였으며, FITC:단백질 비율은 측정치는 다음과 같았다: 2.7 FITC/TRU-016의 비율 = 15; 3.7 FITC/TRU-016의 비율 = 20; 4.4 FITC/TRU-016의 비율 = 30; 및 5.1 FITC/TRU-016의 비율 = 40.

[0197] BSA를 $3\text{mg}/\text{ml}$ 첨가하여 단백질의 안정화시켰다. 각 분획의 결합 능력은 100~24,300배의 희석률(라모스)과, 3200~25,600배의 희석률(인간 PBMC)에서 평가하였다. MR30은 MFI를 적용된 적정 범위에서 높은 수준으로 잘 유지시켰기 때문에, 결합한 모든 MR30 비율을 계속 적용하기로 결정하였는데, 이는 곧, 본 반응에서는 결합 친화력이 거의 영향을 받지 않음을 시사하는 것이다.

- [0198] FITC 표지화된 항체 컨쥬게이트를 초기 결합 연구에서 10ng/ml~10μg/ml로 적정하여, 차단 연구에 적용하기에 최적인 양을 결정하였다. 선택한 수준은 포화량의 바로 아래에 해당하는 양이었는데, 이후의 검정법에서는, 이 양을 일정하게 유지시켰으며, 이때의 차단 항체의 수준은 10배 정도의 범위로 증가하였다. 데이터를 바탕으로 하여, 차단 항체의 최대 결합률 대 농도를 그래프로 나타내었는데, 여기서, 농도가 높은 것은 차단의 효과가 작음을 나타내는 것이며, 농도가 낮은 것은 차단 활성이 더 효율적임을 나타내는 것이다. 테스트된 항체 모두는 표지화되지 않은 시약이 존재하지 않을 때 관찰되는 최대 결합을 억제하는 활성을 가진다는 사실을 알 수 있었다(도 2).
- [0199] 이후, BJAB-세포, B 림프아세포 B-세포주(courtesy of Ed Clark, University of Washington)를 항-CD37 mAb의 다양한 클론 예를 들어, MB371, BL14, NMN46, IPO24, HH1, WR17 및 TRU-016 SMIP의 패널로 염색하였다.
- [0200] 경쟁적 결합 검정법에 있어서, 2.5×10^5 개의 BJAB-세포를, 컨쥬게이트화되지 않은 항-CD37 mAb(농도 2.5, 1.25, 0.6 또는 0.3μg/ml) 또는 염색 매질의 존재하에 암실의 얼음 상에서 45분 동안, 염색 매질(2% 마우스 혈청을 포함하는 PBS)이 들어있는 96-웰 V-바닥 평판에서, FITC-컨쥬게이트화 항-CD37 mAb(1.25μg/ml)와 함께 항온 처리하였다. 차단 항체와 FITC 표지화 항체 컨쥬게이트를 반응물에 첨가한 후, 여기에 세포를 첨가하였다. 이후, 세포를 PBS로 2.5회 세척하고, 1% 파라포름알데히드(#19943, USB, Cleveland, Ohio)로 고정하였다. 이 세포를 유세포 계측법(FACs캘리버(FACsCalibur) 장치 및 셀퀘스트(CelIQuest) 소프트웨어 사용)(BD Biosciences, San Jose, CA)으로 분석하였다.
- [0201] FACs 가교 차단 검정법(FACs cross blocking assays)에 있어서, 2.5×10^5 개의 BJAB-세포를, 컨쥬게이트화되지 않은 항-CD37 mAb(5μg/ml) 염색 매질의 존재하에 실온의 암실에서 45분 동안, 염색 매질(2% 마우스 혈청을 함유하는 PBS)이 담겨있는 96-웰 V-바닥 평판 중에서 항온 처리하였다. 이후, FITC-컨쥬게이트화 항-CD37 mAb을 최종 농도 2 ug/ml가 될 때까지 첨가한 결과, 표지화되지 않은 시약이 3.3μg/ml로 희석되었다. 이후, 반응물을 실온의 암실에서 45분 더 항온 처리하였다. 반응물을 PBS로 2.5회 세척하고, 이를 PBS 중 1% 파라포름알데히드(#19943, USB, Cleveland, Ohio)로 고정하였다. 이 세포를 유세포 계측법(FACs캘리버 장치 및 셀퀘스트 소프트웨어 사용)(BD Biosciences, San Jose, CA)으로 분석하였다.
- [0202] 세포 결합 검정법에 있어서, 세포를, 2% FBS(#16140-071, Gibco/Invitrogen, Grand Island, NY)를 함유하는 PBS(#14040-133, Gibco/Invitrogen, Grand Island NY)(염색 매질)(농도 = 약 4×10^6 세포/ml) 중에 현탁하였다. 세포를 도말한 후, 염색 매질로 희석된 테스트 시료를 1:1의 비율로 첨가하여 소정의 최종 농도로 만들었다. 반응물을 얼음 상에서 45분 동안 항온 처리하였다. 시료를 원심 분리하고, 이를 PBS로 2회 세척하였다. FITC 염소 항-인간 IgG(#H10501, CalTag, Burlingame CA)를 최종 희석물 1:50이 되도록 만들고, 이를 얼음 상에서 45분 동안 항온 처리하였다. 시료를 원심 분리하고, PBS로 세척한 다음, PBS중 200μl의 1% 파라포름알데히드(#19943, USB, Cleveland, Ohio) 중에서 고정하였다. 이 세포를 유세포 계측법(FACs캘리버 장치 및 셀퀘스트 소프트웨어 사용)(BD Biosciences, San Jose, CA)으로 분석하였다.
- [0203] 각각의 항체는 투여량 의존적으로 결합을 억제하였는데, 이는 곧, 테스트된 모든 분자가 동일하거나 또는 밀접한 관련이 있는 에피토프와 결합한다는 사실을 말해주는 것이다. 각 항체는 결합 억제 가능성이 상이함을 알 수 있었다. TRU-016 SMIP는 테스트된 모든 항체를 차단하는 활성이 가장 높았으며, HH1의 차단 활성은 중간 정도의 수준이었고, WR17, IPO24는 MB371보다 차단 활성이 좋았으나; 나머지 2개의 비 표지화 분자보다는 차단 활성이 떨어졌다(도 2).
- [0204] 차단 활성 분석 이외에, 유사한 일련의 실험이 수행되었는데, 이 실험에서는 다양한 CD37 표적화 항체를, 이 항체가 CD37 수용체와의 결합에 대해 다른 항체와 경쟁하는지 여부를 테스트하였다. 이 실험으로부터 얻어진 결과는, 테스트된 모든 분자에 대한 차단 연구에서 얻어진 결과와 유사하게, 다양한 CD37 표적화 항체 및 TRU-016은 동일하거나 밀접하게 중첩되는 에피토프를 가진다는 사실을 말해준다.
- [0205] **실시예 3**
- [0206] TRU-016은 C1q와 결합하지 않으며, 통상의 보체 활성화 경로를 활성화하지도 못한다.
- [0207] 본 실험은, TRU-016 이량체 피크가 B-세포 표적의 보체 의존성 사멸 과정을 거의 매개하지 못하는 이유를 알아내기 위해 수행하였다. 그 이유 중 하나는, TRU-016 이량체가, 보통의 인간 IgG1 항체에 비하여, 보체 캐스케이드에 관여하는 성분들의 결합을 감소시키기 때문인 것으로 추측된다. 그러므로, TRU-016과 C1q가 결합하는지 여부를 관찰하여, TRU-016이 통상의 보체 활성화 경로를 활성화하는지 여부를 측정하는 실험을 수행하였다. C1q는

혈청 보체 시스템을 활성화하는 C1 효소 복합체의 서브유닛으로서, 통상의 보체 활성화 경로에 관여하는 인지 성분이다.

[0208] 문헌[Cragg외 다수, Blood 2004, 103:2738-2743]에 개시된 바와 같이, C1q 결합 연구를 수행하였다. 간단히 말해서, 혈청을 함유하지 않는 아이스코브스(Iscoves) 매질(#12440-053, Gibco/Invitrogen, Grand Island, NY) 중 라모스 B-세포를 96-웰 V 바닥 평판에 $100\mu\text{l}$ 중 5×10^5 개/웰의 밀도로 도말하였다. 이 세포를 37°C 에서 15분 동안 시약과 함께 항온 처리한 후, 아이스코브스 중에 희석된 정상 인간 혈청(NHS, #A113, Quidel Corp., San Diego, CA)을 각각의 웰에 부피 $50\mu\text{l}$ 씩, 인간 혈청의 최종 농도가 10, 5, 2.5 또는 1.25%가 되도록 첨가하였다. 매질 $50\mu\text{l}$ 를 대조군 웰에 가하였다. 코브라 독 인자(CVF) 실험에 있어서, CVF를 90분 동안 37°C 에서, 인간 혈청 보체 시료에 20 유닛 CVF/ml로 첨가하고 나서, 이 보체 검정물에 혈청을 첨가하고, 시료를 희석하면서 CVF에 의한 혈청 희석물을 측정하였다.

[0209] 보체 공급원을 더한 세포를 37°C 에서 5분 더 항온 처리한 후, 이를 냉각 PBS(#14040-133, Gibco/Invitrogen, Grand Island, NY)로 2회 세척(원심 분리함)한 다음, PBS $100\mu\text{l}$ 중에 재현탁시켰다. 각 웰에서 $50\mu\text{l}$ 씩 취하여, 이를 두 번째 단계인 대조 염색 단계용으로서 제2 평판에 옮겼다. 상기 2개의 평판을 암실의 얼음 상에서, FITC 양 항-HU C1q(#C7850-06A, US Biological, Swampscott, Mass) 또는 FITC 양 IgG(#11904-56P, US Biological, Swampscott, Mass)으로 15분 동안 염색하였다. 시료를 세척한 다음, 이를 냉각 PBS 중에 재현탁하고, FACs캘리버 유동성 혈구 계측기로 즉시 관독하여, 셀레스트 소프트웨어(Becton Dickinson, San Jose, CA)로 분석하였다.

[0210] FITC C1q는 SEC 정제 TRU-016의 임의의 부분 분획과는 잘 결합하지 못하였으나, 고 분자량(HMW)인 A2 응집 분획은 다른 형태의 것보다 잘 결합하였다(도 3a). 이와는 대조적으로, 리톡산은 특히, NHS의 수준이 낮을 때 C1q와 상당한 수준으로 결합하였음을 알 수 있었다. CVF가 존재하면, 이러한 결합을 완전히 차단하지 못하였으나, 매질만이 존재하는 경우에 비해서 MFI 수준은 상당히 감소하였음을 알 수 있었다.

[0211] 이후, CDC 검정법을 수행하여, 정제된 형태의 TRU-016과 리톡산의 상이한 부분 분획이 CVF 및 인간 혈청 보체의 존재 또는 부재 하에 세포 사멸을 매개하는 능력을 비교하였다(도 3b). 요드화프로피듐 염색법을 이용하여 CDC 검정법을 수행한 결과, 항체, 융합 단백질, 복수액, TRU-016 분자형 또는 매질, 그리고 보체 공급원 예를 들어, 인간 혈청과 표적 세포를 항온 처리한 후의 생 세포와 사멸 세포를 구별할 수 있었다. 간단히 말해서, 3×10^6 개의 라모스 B-세포를 37°C 에서 30~45분 동안 테스트 시약과 함께 예비-항온 처리한 후, 여기에 보체를 첨가하였다. 이미 결합된 시료를 원심 분리, 세척, 그리고 아이스코브스 중에서 소정 농도의 인간 혈청(#A113, Quidel, San Diego, CA)으로 재현탁한 다음, 이를 37°C 에서 90분 동안 항온 처리하였다. 시료를 세척한 다음, 여기에 요드화프로피듐(#P-16063, Molecular Probes, Eugene, OR)을 첨가하여, 최종 농도 PBS 중 $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 만들었다. 이후, 상기 세포를 실온의 암실에서 15분 동안 요드화프로피듐과 함께 항온 처리한 다음, 유세포 계측법(FACs캘리버 장치 및 셀레스트 소프트웨어 사용)(Becton Dickinson)으로 분석하였다.

[0212] TRU-016 및 리톡산의 A2 분획 각각에 의해 매개되는 세포 사멸물은 C1q 결합을 완전히 억제하지 못함에도 불구하고, CVF의 존재 하에 상당한 수준으로 감소하였다(도 3b).

[0213] 이후, 인간 및 토끼 보체를 TRU-016의 존재하에서의 CDC 활성화에 대해 비교하였다. 라모스 B-세포와 인간 또는 토끼의 보체와 항온 처리된 TRU-016 분자형의 CDC 활성을 측정하였다(도 3c). 라모스 B-세포를 무 혈청 배지가 담겨있는 웰에 가하였다. 리톡산 또는 이량체, HMW A2, 또는 TRU-016의 pA 분획을 세포에 가하여, 최종 농도 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 만들었으며, 이를 37°C 에서 15분 동안 항온 처리한 후, 무 혈청 배지 중에서 1.5회 세척하고, 다시 정상의 인간 혈청(NHS) 또는 토끼 보체(Pelfreez)를 10, 5 또는 2.5% 첨가하였다. 보체 공급원이 더해진 세포를 37°C 에서 90분 동안 항온 처리하였다. 세포를 냉각 PBS로 1회 세척하고, 여기에 요드화프로피듐(Molecular Probes #P3566)을 냉각 PBS 중 최종 농도 $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 첨가하였다. PI를 포함하는 세포를 실온의 암실에서 15분 동안 항온 처리한 다음, 유세포 계측법을 통하여 분석하였다.

[0214] 보체 분획의 기원은 CDC 결과에 영향을 미친다(도 3c). TRU-016 분자형의 존재하에서, 토끼의 보체는 인간의 보체에 비하여 CDC를 더욱 높은 수준으로 매개하였다. 놀라운 사실은, TRU-016의 이량체 형은 토끼의 보체를 사용하여 CDC를 양호하게 매개하지만, 인간 보체가 존재할 때에는 CDC 활성 수준이 매우 낮았다는 점이다.

[0215] 실시예 4

[0216] TRU-016 다량체의 활성 및 결합 능력

[0217] 용액 중 TRU-016의 다량체형(TRU-016 다량체)의 생물 활성을 관찰하기 위하여 실험을 수행하였다. 우선, 용액

중 TRU-016 융합 단백질의 크기를 측정하기 위하여, 단백질 A 정제 물질을 SEC HPLC로 분석한 결과, TRU-016은 용액 중에서 다량체의 형태를 갖는다는 사실을 알 수 있었다(도 4).

[0218] TRU-016을 GPC 정제하여 HPLC 크기별 배제 크로마토그래피(SEC) 패턴을 얻었으며, 이를 바탕으로 하여, 수집된 상이한 분획에 대한 흡광도 대 체류 시간에 관한 그래프를 작성하였다(도 4). 우선, TRU-016을 단백질 A 세파로스를 사용하는 친화성 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제하였다. 재조합 분자를 100mM 글리신(pH 3.5)과 함께 컬럼으로부터 용리하였다. 용리된 생성물 10ml 분획을 회수한 후, 용리 부피의 20%에 해당하는 0.5M 2-(N-모폴리노)에탄설포산(MES)(pH 6.0)을 사용하여 용리된 생성물의 pH를 5.0으로 맞추었다. 시료를 약 25mg/ml의 TRU-016으로 농축시킨 후, 이를 GPC 정제용 체제로서 멸균 여과하여, 이와 같이 용리된 생성물을 GPC 정제용으로 제조하였다. GE 헬스케어(GE Healthcare)의 AKTA 엑스플로러 100 에어 장치[GE 헬스케어 XK 컬럼 및 분석용 등급의 수퍼텍스 200(GE Healthcare) 사용] 상에서 크기별 배제 크로마토그래피를 수행하였다.

[0219] HMW 또는 A2 폴의 체류 시간은 약 6.23분이었던 반면에, 가장 활성이 큰 폴의 체류 시간은 8.38분이었다. 본 실험에서 사용된 참고 기준(pA 표준 또는 std)은 이량체 형 및 HMW 다량체형 둘 다를 함유하는 단백질 A 정제 물질로 하였다(도 4의 첫 번째 패널 참조). 가장 활성이 큰 형태의 것은 체류 시간 8.38분에 이동하였는데, 이는 비-환원성 SDS-PAGE에서 살펴볼 수 있는 이량체 분자와 거의 유사한 결과이며, 또한 소수의 몇몇 형태의 것은 비-환원성 SDS-PAGE에서 분명하게 나타나지 않는, 비공유 상호 작용을 통하여 결합하는 다량체와 거의 유사할 수 있다. 이와 같이 상이한 형태의 TRU-016을 분리하기 위하여, 배양 상청액을 단백질 A 세파로스 친화성 크로마토그래피시켜 얻어진 물질을 GPC 및 HPLC 분획화하여 추가로 정제한 결과, 고 분자량 다량체(HMW 또는 A2 응집 분획이라 칭함)로부터 이량체 형("이량체" 또는 이량체 피크"라 칭함)을 분리할 수 있었다. 이후, 이와 같은 3개의 부분 분획들을 각각 결합 능, ADCC 및 CDC 검정법을 통해 시험관 내에서의 기능상 활성에 대해 분석하였다.

[0220] SEC로부터 분리된 분획들이 상이한 결합 특성을 나타내는지 여부를 확인하기 위해, TRU-016 SEC의 각 분획을 라모스 세포와의 결합 여부에 대해 테스트하였다. SEC 분획의 결합 특성을 측정하기 위해, 세포를 약 4×10^6 세포/ml의 농도로 염색 매질 중에 현탁시킨 후, 이를 염색 매질 중에 $50 \mu\text{l}$ /웰(2×10^5 세포/웰)의 농도로 도말하였다. SEC 분획을 연속적으로 희석한 다음, 이를 일련의 웰에 가하고 나서, 45분 동안 항온 처리 및 세척하고, FITC 염소 항-인간 IgG를 사용하여 결합 활성을 측정하였다. 시료를 PBS 중 1% 파라포름알데히드 200 μl 중에서 고정하였다. 이 세포를 유세포 계측법(FACs캘리버 장치 및 셀렉스트 소프트웨어 사용)(BD Biosciences, San Jose, CA)으로 분석하였다(도 5a).

[0221] SEC 분획의 CDC 활성을 측정하기 위해, 세포를 $75 \mu\text{l}$ 의 IMDM 중에서 5×10^5 세포/웰의 농도로 현탁시켰다. TRU-016 SEC 분획($75 \mu\text{l}$)을 소정의 농도로 세포에 2회 첨가하였다. 결합 반응을 45분 동안 진행시킨 후, 원심분리한 다음, 무 혈청 아이스코브스 중에서 세척하였다. 세포를 인간 혈청(#A113, Quidel, San Diego, CA)을 포함하는 아이스코브스 중에 소정 농도로 재현탁하였다. 이 세포를 37°C에서 60분 동안 항온 처리하고, 세척한 다음, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 요드화프로피듐(PI, #P-16063, Molecular Probes, Eugene OR)을 함유하는 염색 매질 중에 재현탁하였다. 이후, 시료를 실온의 암실에서 15분 동안 항온 처리한 다음, 유세포 계측법(FACs캘리버 장치 및 셀렉스트 소프트웨어 사용)(Becton Dickinson)으로 분석하였다(도 5b).

[0222] SEC 분획의 ADCC 활성을 측정하기 위해, BJAB, 라모스 및 다우디 림프 아 B세포(10^7) 세포를, 37°C의 IMDM/10% FBS 중에서 2시간 동안 500 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ ^{51}Cr 크롬화나트륨으로 표지화하였다. 헤파린으로 처리된, 인간 전 혈을 림프구 분리 매질(Lymphocyte Separation Media; LSM, ICN Biomedical) 구배에 의해 분획화하여, 이로부터 PBMC를 분리하였다. 10% FBS를 함유하는 RPMI 매질에 시약 시료를 첨가하고, 각 시약에 대해 5회 연속 희석하였다. 이들을 합하기 위해서, 시약들을 미리 혼합한 후 희석한 다음, 웰에 가하였다. ^{51}Cr 표지화 BJAB를 2×10^4 세포/웰로 가하였다. 이후, PBMC를 5×10^4 세포/웰로 첨가하여, 효과기(PBMC) : 표적(BJAB)의 최종 비율이 25:1이 되도록 만들었다. 96웰 평판 중 4개의 웰에 반응물을 나누어 가하였다. TRU-016 SEC 분획은 그래프에 나타난 바와 같이, 최종 농도 10ng/ml~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 웰에 첨가하였다. 각각의 데이터들을 사용하여, 전술한 바와 같은 적정 범위에 있는 상이한 SEC 분획에 대한 그래프를 작성하였다. 반응을 5% CO_2 하에 37°C에서 6시간 동안 진행시킨 후, 반응물을 수집 및 계수하였다. $50 \mu\text{l}$ 의 무수 배양 상청액으로부터 방출된 CPM의 수를 팩커드 탑 카운트 NXT(Packard TopCounNXT) 상에서 측정하였다. 공식 (시료의 cpm[4개 시료의 평균값] - 동시에 방출된 CPM의 수)/(최대 방출된 CPM 수 - 동시에 방출된 CPM의 수) $\times 100$ 을 이용하여, 시료의 비 사멸률을 계산하였다(도 5c).

- [0223] 도 5a는 라모스 세포와 결합한 상이한 SEC 분획의 적정 곡선을 나타내는 것이다. 분획화된 분자 모두는 유사한 결합 곡선에 따라서 CD37과 결합하였는데[다만, 테스트된 최고 농도에서는 그렇지 않음], 이 경우, HMW 물질은 pA 표준 및 이량체 피크 형보다 결합 능이 뛰어났다(즉, 형광 강도가 더 높았다).
- [0224] TRU-016 SEC 분획이 기능상 활성 예를 들어, CDC 및 ADCC 매개 표적 세포 사멸 특성을 상이한 수준으로 나타내는지 여부를 측정하는 실험도 실시하였다. 도 5b에 나타난 그래프는, 인간 보체를 이용하여 정제된 HMW 다량체만이 라모스 B-세포에 대한 CDC 활성 수준을 상당 수준으로 매개하였음을 말해주는 것이다. pA 표준은 고 농도에서 CDC 활성을 어느 정도 나타냈지만, 이량체 형의 경우에는 테스트된 모든 농도에서 CDC 활성을 거의 나타내지 않았거나 또는 아예 나타내지 않았다.
- [0225] 표지화된 BJAB B-세포를 표적으로, 그리고 인간 PBMC를 효과기 세포로 사용하여, 다양한 TRU-016 크기별 분획을 연속으로 희석시켜 ADCC 검정법을 수행하였다. TRU-016 SEC 분획은, 도 5c의 그래프에 나타난 바와 같이 최종 농도 10ng/ml ~ 20μg/ml로 웰 내에 존재하였다. 각각의 데이터들을 바탕으로 하여, 지정된 적정 범위에서 상이한 SEC 분획에 대한 그래프를 작성하였다. 데이터를 사용하여, 비 사멸% 대 단백질 농도의 그래프를 작성하였다. SEC 부분 분획 예를 들어, pA 표준, HMW 또는 A2 분획 전부와, 이량체 피크는, BJAB 표적 세포에 대해 ADCC를 강력하면서도 투여량-의존적인 방식으로 매개하였다. 표지화된 표적으로서 라모스 세포를 사용할 경우에도 유사한 결과가 얻어졌다(데이터는 나타내지 않음).
- [0226] **실시예 5**
- [0227] CD20-특이적 결합 분자의 제조
- [0228] CD20-특이적 SMIP에 관하여는 공동 출원인 미국 특허 공보 2003/133939, 2003/0118592 및 2005/0136049에 개시되어 있다. 대표적인 CD20-특이적 SMIP인 TRU-015는 이하와 같이 제조된다.
- [0229] TRU-015는 CD20 항원과 결합하는 재조합 (젓과 동물/인간) 단일 사슬 단백질이다. 결합 도메인은 주로 공중이 입수 가능한 인간 CD20 항체 서열로 이루어져 있다. 결합 도메인은, 변형 CSS 힌지부를 통하여, 효과기 도메인 즉, 인간 IgG1의 CH2 및 CH3 도메인과 연결되어 있다. TRU-015는 용액 중에서는 이량체의 형태로 존재하고 이 이량체의 이론상의 분자량은 약 106,000 달톤이다. TRU-015를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열과 TRU-015의 아미노산 서열을 각각 서열 번호 3 및 서열 번호 4에 제시하였다.
- [0230] 서열 번호 4에 제시된 아미노산 서열에 있어서, TRU-015는 1~23번 아미노산으로부터 유래하는 2e12 리더 펩티드 클로닝 서열; 가변부의 11번 위치에 있던 리신이 세린(VHL11S)으로 아미노산 치환된 2H7 젓과 동물 항-인간 CD20 경쇄 가변부(34번 위치에 상응함); 129번 잔기로부터 시작되며, 말단부에 세린이 또 존재하여 카세트 서플링시 이용되는 SacI 제한 위치를 통합할 수 있는, asp-gly3-ser-(gly4ser)2 링커; 중쇄 부위의 말단에 세린 잔기가 존재하지 않는, 즉, VTVSS에서 VTVS로 변이된 2H7 젓과 동물 항-인간 CD20 중쇄 가변부; (CSS) 서열을 포함하는 변형된 힌지부와, 야생형 CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함한다.
- [0231] TRU-015를 생산하는 CHO 세포를 부유 배지를 이용하여 생물 반응기 내에서 배양하였다. 크로마토그래피와 여과 단계(바이러스 감소 필터 사용)를 여러 번 수행하여 TRU-015를 정제하였다. 이후, 상기 물질을 농축하고, 20 mM의 인산 나트륨과 240 mM의 수크로스로 제형화하였다(pH 6.0). 조성물을 여과한 후, 이를 10mg/ml의 농도로 유리 바이알에 충전하였다. 각각의 유리 바이알에는 TRU-015가 5ml씩 담겨 있었다(50mg/바이알).
- [0232] **실시예 6**
- [0233] TRU-016와 TRU-015 또는 리톡산을 병용할 경우 B-세포의 세포 자살을 상당 수준 증가시킨다
- [0234] B-세포주 세포 자살에 대한 B-세포 표적화 SMIP의 효과를 관찰하는 실험을 수행하였다. 각각의 SMIP를 개별적으로 테스트한 후, 이들을 함께 테스트하였다. 항온 처리 반응을 개시한 지 24시간 및 48시간 경과 후 시료들을 분석하였다. 어넥신(Annexin)/PI 분석법을 다음과 같이 수행하였다: BJAB(courtesy of Ed Clark, University of Washington), 라모스(ATCC#CRL-1596) 및 다우디 세포를, 5% CO₂ 및 37°C 하에, 10% FBS(3×10⁵ 세포/ml)와 20μg/ml의 SMIP 단백질을 함유하는 아이스코브스(Gibco) 완전 배지 내에서 24시간 또는 48시간 동안 항온 처리하였다. 뿐만 아니라, 이 반응물에 20μg/ml의 염소 항-인간 IgG를 첨가하여, 세포 표면상의 시약들을 가교시켰다. 이후, 세포를 어넥신 V-FITC와 요드화프로피듐으로 염색하고(BD 파미겐 세포 자살 확인 키트 I(#556547) 사용), 키트에 적혀있는 지시 사항에 따라서 진행시켰다. 요약하면, 세포를 냉각 PBS로 2회 세척하고, 이를 "결합 완충액" 중에 1×10⁶ 세포/ml가 될 때까지 재현탁하였다. 이후, 결합 완충액 중 100μl의 세포를 5μl의 어넥신

V-FITC와 5 μ l의 요드화트로피둠으로 염색하였다. 세포를 가볍게 와동시켜 주고, 이를 실온의 암실에서 15분 동안 항온 처리하였다. 이후, 결합 완충액 400 μ l를 각각의 시료에 첨가하였다. 이후, 이 반응물을 관독하여, FACs 캘리버(Becton Dickinson) 장치(Cell Quest 소프트웨어(Becton Dickinson) 사용) 상에서 분석하였다.

이하, 표 2는, 가교 시, TRU-016로 처리하였을 경우에는 TRU-015만을 단독처리하였을 경우보다 세포 자살을 유도하는 효과가 더욱 우수하였음을 나타내는 것으로서, 다만, 상기 TRU-016과 TRU-015 분자는 각각 단독으로 사용할 경우 세포 자살을 미약하게 유도하기만 하였음을 말해주는 것이다. 증가 폭은 세포주에 따라서 다르다.

표 2

BJAB	어넥신 V 존재시	
SMIP 부재	17.5	
CD20 SMIP	27	
CD37 SMIP	30.6	
CD19 SMIP	29.1	
CD20 + CD37 SMIP	41	
CD20 + CD19 SMIP	37.1	
CD37 + CD19 SMIP	35.3	
		GAM 첨가
라모스	어넥신 V 존재시	어넥신 V 존재시
세포 단독 첨가	3	3.3
CD20 mAb	1.4	3.1
CD37 mAb	18.3	8.7
CD19 mAb	3.7	3.1
CD40 mAb	3.9	8.3
CD20 + CD37	32.3	35.7
CD20 + CD19	5	10.5
CD20 + CD40	5.7	19.4
CD19 + CD37	26.9	50
CD19 + CD40	8.2	18.4

실시예 7

TRU-016과 CD20-특이적 항체 또는 SMIP를 병용하면 CDC를 상당 수준 증가시킨다

TRU-016과 CD20-특이적 항체 또는 SMIP를 함께 사용할 경우의 B-세포에 대한 CDC 활성을 측정하기 위한 실험을 수행하였다. 이와 같은 병용 실험에 사용하기 위해 선택한 시약의 양은 TRU-016 0.5 μ g/ml였으며, TRU-015도 또한 0.5 μ g/ml였다. 리톡산은 단일 시약 CDC 실험에서의 활성이 높았기 때문에, 그 농도는 일반적으로 0.04~0.06 μ g/ml로 하였다. 일부 실험에서는, CDC 시약의 농도를 차선의 농도(suboptimal concentration)로 일정하게 유지시켰던 반면에, TRU-016의 농도는, CDC에 대한 효과가 증가하는지 여부를 관찰하는데 필요한 CD37 유도 시약의 최소 수준을 알아내기 위해 다양하게 변화를 주었다.

세포를 아이스코브스(#12440-053, Gibco/Invitrogen, Grand Island, NY) 중에 5×10^5 세포/웰(75 μ l 중)로 현탁하였다. TRU-016(75 μ l), TRU-015, 리톡산, 또는 이 시약의 조합물을 소정의 농도의 2배에 해당하는 만큼 세포에 첨가하였다. 결합 반응을 45분 동안 진행시킨 다음, 원심 분리 및 세척(무 혈청 아이스코브스 중)을 수행하였다. 세포를 인간 혈청(#A113, Quidel, San Diego, CA)과 함께 소정의 농도만큼 아이스코브스 중에 재현탁하였다. 이 세포를 37℃에서 60분 동안 항온 처리하였다. 세포를 원심 분리하여 세척하고, 이를 125 μ l의 PBS 중에, 염색 매질인 2% FBS (#16140-071, Gibco, Invitrogen, Grand Island, NY)와 함께 재현탁하였다. 이 세포를 FACS 클러스터 튜브(#4410, CoStar, Corning, NY)에 옮기고, 여기에 5 μ l의 요드화트로피둠을 포함하는 염색 매질 125 μ l(PI, #P-16063, Molecular Probes, Eugene OR)를 첨가하였다. 시료를 실온의 암실에서 15분 동안 항온 처리한 후, FACs캘리버 및 셀레스트 소프트웨어(Becton Dickinson)를 이용하는 유세포 계측법에 의하여 분석하였다.

도 6에는 단일 제제로서 사멸에 요구되는 차선 농도가 표시되어 있는데, 여기서, TRU-015와 리톡산을 사용할 경우에는, TRU-015와 TRU-016을 함께 사용할 경우에 비하여 CDC 활성이 높다는 사실을 알 수 있다. TRU-016 단독

처리시에는 응집이 일어나지 않는 한 CDC를 매개하지 못한다. 이 반응에서 C1q가 감소하면 관찰한 모든 CDC 활성도 줄어들게 된다.

[0242] 도 7은 DHL-4 B-세포에 대해 병용 실험을 수행한 결과를 나타내는 것이다. CDC 반응물에 TRU-016을 첨가하면, TRU-015 사멸 곡선은 밑으로 하강하였는데, 이는 곧, TRU-016 단독으로는 활성을 거의 나타내지 못하거나 또는 아예 나타내지 못할 경우에도, 각각의 테스트 농도로 첨가할 경우에는 보다 효율적으로 사멸 활성을 나타냄을 입증하는 것이다.

[0243] 도 8은 시료 시약을 다음과 같은 비율로 혼합하는 또 다른 CDC 실험 결과를 나타내는 것이다: $0.5\mu\text{g/ml}$ TRU-015, $0.5\mu\text{g/ml}$ TRU-016, 및 $0.06\mu\text{g/ml}$ 리툭산. 또한, TRU-016의 존재 하에서의 증가 효과를 확인하기 위해 각각의 제제들을 차선 농도로 사용한다. TRU-015 및 리툭산 둘 다를 첨가한 경우에 있어서, TRU-016을 검정법에 첨가할 때 CDC 사멸 수준이 증가한다.

[0244] 도 9 및 도 10은 TRU-015 또는 리툭산 농도를 일정하게 유지시키면서 TRU-016 농도를 증가시킬 경우, CDC 검정법에서 얻어진 데이터 결과를 그래프로 나타낸 것이다. 또한, 이 반응물에 TRU-016을 첨가하였을 때 CDC 활성은 증가하였으나, TRU-016의 농도를 $0.5\mu\text{g/ml}$ 에서 $2.5\mu\text{g/ml}$ 으로 증가시켰을 때에는 이 실험에 있어서 CDC-매개 사멸 활성이 거의 증가하지 않았다.

[0245] 실시예 8

[0246] TRU-016은 CD20-특이적 항체 및 SMIP의 CDC 활성 및 ADCC 활성을 증가시킨다.

[0247] 본 실험은 TRU-016 SMIP를, CD20-특이적 항체 또는 SMIP와 함께 사용할 경우, B-세포 표적에 대한 ADCC 및 CDC 활성이 증가하는지 여부를 측정하기 위해 수행되었다.

[0248] BJAB, 라모스 및 다우디 림프아세포 B-세포(10^7)를 $500\ \mu\text{Ci/ml}$ ^{51}Cr 크롬산나트륨으로 37°C 에서 2 시간 동안 IMDM/10% FBS 중에서 표지화하였다. 표지화된 BJAB-세포를 RPMI/10% FBS 중에서 3회 세척한 다음, RPMI 중에 4×10^5 세포/ml로 재현탁하였다. 헤파린 처리한 인간 전 혈을 익명의 내부 공여자로부터 얻어서, 이를 림프구 분리용 매질(LSM, ICN Biomedical)에 대해 구배를 걸어주어 분획화하여 PBMC를 분리하였다. 연막을 수집하고, 이를 RPMI/10% FBS 중에서 2회 세척한 다음, RPMI/10% FBS 중에 최종 농도 3×10^6 세포/ml가 되도록 재현탁하였다. 혈구 계산기를 사용하여 트리판 블루 배제법(trypan blue exclusion)으로 세포를 계수한 후, 추후의 검정법을 수행하였다. 10% FBS를 함유하는 RPMI 매질에 시약 시료들을 최종 농도의 4배가 되도록 첨가하였으며, 각 시약에 대해 5회 연속 희석하였다. 시약들을 병용함에 있어서, 이 시약들을 미리 혼합하여 희석한 후, 이를 웰에 첨가하였다. 이후, 상기 시약들을 96웰 U 바닥 평판에 $50\mu\text{l}$ /웰 씩 가하여 소정의 최종 농도가 되도록 하였다. ^{51}Cr 표지화된 BJAB를 이 평판에 $50\mu\text{l}$ /웰(2×10^4 세포/웰)의 농도로 가하였다. 이후, 상기 PBMC를 상기 평판에 $100\mu\text{l}$ /웰(3×10^5 세포/웰)의 농도로 가하여, 효과기(PBMC) : 표적(BJAB)의 최종 비율이 15:1이 되게 하였다.

[0249] 효과기 및 표적을 매질만을 포함하는 반응물에 첨가하여 백그라운드 사멸 수준을 측정하였다. 상기 ^{51}Cr 표지화된 BJAB를 매질만을 포함하는 배지에 첨가하여 ^{51}Cr 이 자발적으로 방출되는 수준을 측정하였으며, 또한 상기 세포를 5% NP40(#28324, Pierce, Rockford, IL)를 함유하는 배지에 첨가하여 ^{51}Cr 의 최대 방출량을 측정하였다. 반응물을 96-웰 평판의 웰 중 4개의 웰에 나누어 담았다. SMIP를 웰에 가하였다(최종 농도 = $12\text{ ng/ml} \sim 10\mu\text{g/ml}$; 그래프에 표시된 바와 같음). SMIP를 병용하는 경우, 시약들을 혼합한 후 웰에 가하였다. 상이한 각각의 SMIP 또는 혼합 시약을 표시된 적정 범위로 첨가하였을 때의 데이터들을 바탕으로 하여, 이에 관한 그래프를 작성하였다. 5% CO_2 하에, 37°C 에서 6시간 동안 반응을 진행시킨 후, 수집 및 계수하였다. 이후, 각 웰로부터 얻어진 $50\mu\text{l}$ 의 상청액을 루마 평판 96(Luma Plate 96; #6006633, Perkin Elmer, Boston, Mass)로 옮긴 후, 이를 실온에서 밤새도록 건조시켰다. 방출된 CPM을 팩커드 탐 카운트 NXT 상에서 측정하였다. 다음과 같은 공식을 이용하여 비 사멸률을 계산하였다: $(\text{cpm}[4\text{개 시료의 평균값}] - \text{동시에 방출된 CPM의 수}) / (\text{최대 방출된 CPM 수} - \text{동시에 방출된 CPM의 수}) \times 100$.

[0250] 데이터를 바탕으로 하여, 비 사멸% 대 SMIP 농도의 그래프를 작성하였다. 효과기 대 표적의 비율을 각각의 도면으로 도시하였으며, 이때, 표적 세포주도 표시하였다. 도 11, 도 12 및 도 13은 동일한 공여체로부터 유래하는 상이한 세포주(BJAB, 다우디 및 라모스)를 사용하는 실험 데이터를 나타내는 것이다.

- [0251] 도 14 및 도 15(리톡산 + TRU-016)과 도 16 및 도 17(TRU-015 + TRU-016)은, 표적 세포주로서 BJAB를 사용하는 실험에 대한 데이터를 나타내는 것이다. 각각 병용하는 경우에 있어서 관찰된 비 사멸률은, 단일 시약을 동일한 농도로 첨가하였을 경우에 비하여 더 높았는데, 이는 곧, CD20 및 CD37 표적화 SMIP가 상호 작용하여 사멸 활성을 증가시킨다는 사실을 의미하는 것으로서, 이때의 증가 효과는 반드시 부가적인 것만은 아니다.
- [0252] 그러므로, TRU-016은 B-세포의 CD20-특이적 SMIP 또는 CD20-특이적 항체 ADCC 매개 사멸 활성을 증가시킬 수 있다.
- [0253] TRU-016과 CD20-유도 항체를 함께 사용할 때의 효과를 관찰하기 위한 초기 실험을 디자인하여, 사용된 각 시약의 상대량을 측정한 결과, CDC 상승 효과를 볼 수 있었다. 라모스 세포를 IMDM중에 현탁하고, 이 세포에 TRU-016, 리톡산, 또는 이 시약의 조합물을 첨가하였다(최종 농도 = 도 18에 표시된 바와 같음). 45분 동안 결합 반응을 진행시킨 후, 원심 분리하여, 무 혈청 아이스코브스 중에서 세척하였다. 세포를 10% NHS를 함유하는 아이스코브스 중에 재현탁하였다. 이 세포를 37℃에서 60분 동안 항온 처리하였다. 도 18a~도 18c에 나타난 실험에 있어서, 세포를 원심 분리하여 세척하고, 이를 0.5 μ g/ml의 요드화프로피듐(PI, #P-16063, Molecular Probes, Eugene OR)을 함유하는 염색 매질 중에 재현탁하였다. 시료를 실온의 암실에서 15분 동안 항온 처리한 후, FACs 캘리버 및 셀렉스트 소프트웨어(Becton Dickinson)를 이용하는 유세포 계측법으로 분석하였다.
- [0254] 도 18a의 고 농도 편평형 투여량-반응 곡선에 따르면, 고 순도로 정제된 TRU-016 이량체 피크는 단독으로 사용될 경우, CDC를 거의 매개하지 못함을 알 수 있다. CD20 유도 시약은 CDC 활성의 효율적인 유도제이기 때문에, 병용 투여 실험에서는 CD20 유도 시약을 비 포화량으로 투여하는 것이 바람직하고, 이와 같이 투여하여야 시약 간 상승 작용을 볼 수 있었다. 이와 같은 초기 연구에 따르면, 병용 실험에 사용하기 위해 선택한 시약의 통상 용량은 0.5 μ g/ml 또는 2 μ g/ml(TRU-016)로 하였다. 리톡산은 단일 시약 CDC 실험에 있어서 활성이 높았기 때문에, 이 리톡산은 일반적으로 0.04~0.06 μ g/ml의 농도로 투여하였다. 일부 실험에서는, CD20 시약의 농도를 차선의 농도로 일정하게 유지시켰던 반면에, TRU-016의 농도는, CDC에 대한 효과가 증가하는지 여부를 관찰하는데 필요한 CD37 유도 시약의 최소 수준을 알아내기 위해 다양하게 변화를 주었다. 그러므로, TRU-016 단독으로는 이것이 응집이 되지 않는 한 CDC를 매개할 수 없다.
- [0255] 도 18b는 소정의 적정 범위(0.06~0.5 μ g/ml)에서 관찰되는 생 세포(PI 네거티브)의 비율을 나타내는 그래프로서, 이때, 리톡산은 단독으로 사용되거나 또는 TRU-016 2.5 μ g/ml와 함께 사용된다. 리톡산 단독으로 차선 투여량 범위 내에서 사용될 경우, 이 리톡산이 TRU-016과 함께 사용될 때 각 농도에서의 CDC 활성 수준은 높았다(도 18b). 반응물로부터 C1q를 제거하면, CDC 활성은 전혀 나타나지 않는다(도 3b).
- [0256] 도 18c에 있어서는, 시료를 FITC 항-C1q와 함께 45분 동안 얼음 상에서 항온 처리한 후, 유세포 계측법에 의해 분석하였다. 활성을 나타내지 않는 세포에 대해 림프구 게이팅을 실시하였다. 이 게이트에 있어서 세포 비율은 리톡산 농도가 증가함에 따라서 증가하였으며, 이 세포 군집에 대한 상대적인 MFI를 그래프로 나타내었다. 도 18c는 시료 시약을 다음과 같은 비율로 혼합하는 CDC 실험의 결과를 나타내는 것이다: TRU-016 0.5 μ g/ml, 리톡산 농도 = 0.06~0.5 μ g/ml. 이후, 세포를 PI로 염색한 다음, 유세포 계측법으로 분석하였다. 그 결과를 통하여, MFI는 투여량에 따라서 증가하므로, 리톡산 투여량을 증가시키기에 따라서 MFI도 증가함을 알 수 있다. TRU-016 이량체 형을 첨가하면, 각각의 리톡산 농도에서의 MFI도 더 증가하였다. CDC 검정법에 약간의 변형을 가하여 유사한 실험을 수행하였는데, 이때, 리톡산의 농도는 일정하게 유지시켰고, TRU-016 농도는 증가시켰다. 또한, TRU-016이 리톡산 반응물에 첨가될 때 CDC 활성은 증가하였지만, TRU-016의 농도를 0.5 μ g/ml에서 2.5 μ g/ml으로 증가시켰을 때에는 이 실험에 있어서 CDC-매개 사멸 활성이 거의 증가하지 않았다(데이터는 나타내지 않음).
- [0257] CDC 검정법에서 사용된 농도 범위와 유사한 농도로, 리톡산과 TRU-016 단백질을 각각 단독으로 사용할 경우 및 병용할 경우의 시험관 내 ADCC 활성들을 비교하였다. 도 18d는 표지화된 라모스 세포 표적과 인간 PBMC 효과기 세포를, 효과기 : 표적 비율 25 : 1로 사용할 때의 ADCC 검정 결과를 나타내는 것으로서, 이 검정법에서는 TRU-016 또는 리톡산을 소정의 농도 범위로 단독 사용 및 병용하였다. 효과기 : 표적 비율이 12.5 : 1이었을 때 유사한 데이터가 얻어졌다. TRU-016 이량체 형과 리톡산은 둘 다 CD20 및 CD37 표적 항원을 발현하는 라모스 세포에 대한 ADCC를 상당한 수준으로 매개하였으나; 상기 2개의 시약을 병용하였을 경우에는 사멸 수준을 거의 증가시키지 못하였다.
- [0258] **실시예 9**
- [0259] TRU-016은 B-세포 내에서 세포 자살을 유도한다
- [0260] B-세포주의 세포 자살에 TRU-016이 미치는 영향을 관찰하는 실험을 수행하였다. 고 분자량의 응집체를 함유하고

있는 단백질 A 정제 물질을 이용하여, 상이한 B-세포 수용체를 표적으로 하는 TRU-016 분자의 세포 자살에 미치는 영향력을 검정하는 초기 검정법을 수행하였다. CD37 항체 또는 조작된 TRU-016 분자로 24시간 처리한 후, 어넥신 V 양성 세포의 비율을 세포 자살 활성의 척도로서 이용하고, 라모스 및 BJAB를 결합 표적으로 사용하는 다수의 실험에서도 세포 자살 활성은 유사한 패턴으로 증가하였다(데이터는 표시하지 않음).

[0261] 도 19a는 비 분획화 TRU-016과 B-세포주를 함께 항온 처리한 후 세포 자살률이 상당히 증가함을 보여주는 것이다. 도 19a는 라모스 세포를 TRU-016($10\mu\text{g}/\text{ml}$)과 함께 24시간 동안 항온 처리한 후, 이 라모스 세포를 어넥신 V-PI로 염색한 결과를 점 그래프로 나타내는 것이다. 어넥신 V-PI 이중 양성 세포의 비율(%)은 총 군집 중 11.3%에서 32.8%로 증가하였으며, 어넥신 V 양성-PI 음성 세포의 비율(%)은 8.5%에서 19.7%로 증가하였는데, 이는 곧, 이 세포가 TRU-016에 노출되었을 때 세포 자살이 유도된다는 사실을 말해주는 것이다. 이 검정법에서 라모스 또는 BJAB-세포가 결합 표적으로 사용되는지 여부에 대하여 유사한 데이터가 얻어졌다.

[0262] 고 순도로 정제된 TRU-016 이량체 형을 사용하여, TRU-016의 B-세포주 세포 자살에 대한 TRU-016의 효과를 관찰하는 추가의 실험을 수행하였다(도 19b). 항온 처리 반응을 개시한 이후 24시간 및 48시간 경과한 때 시료를 분석하였다. $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 TRU-016 단백질을 사용하여 몇몇 세포 유형에 대해 어넥신/PI 분석을 수행하였다. TRU-016의 이량체 형을 사용하면 세포 자살률이 감소하였기 때문에, $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 염소 항-인간 IgG를 반응물에 첨가하여, 세포 표면상에서 시약들을 가교시켰다. 이후, 세포를 어넥신 V-FITC 및 요드화프로피듐으로 염색하였다. 도 19b에 나타난 데이터를 통하여, 이 TRU-016 이량체 피크는 24~48시간 경과시 다우디 세포의 세포 자살을 유도하였으나, 가교제 예를 들어, 항-인간 IgG가 존재할 경우에는 CD37 표적화 세포의 자살 수준을 상당한 수준으로 증가시켰음을 알 수 있었다.

[0263] 인간 PBMC를 사용하여 정상의 인간 B-세포에 대한 TRU-016의 효과를 측정하는 실험도 수행하였다. 도 20a 및 도 20b는 이와 같은 실험을 수행하였을 경우에 얻어진 결과에 대한 그래프를 나타내는 것으로서, 즉, 48~72 시간 동안 매질로만 처리한 경우, TRU-016을 처리한 경우 또는 리툭산을 처리한 경우, PBMC 배양액에 존재하는 CD19 또는 CD40 존재 림프구(B-세포)의 비율에 관한 막대 그래프를 나타내는 것이다.

[0264] LSM 밀도 원심 분리에 의하여 전 혈로부터 인간 PBMC를 분리하였다. 이 세포를 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 리툭산 또는 TRU-016과 함께 48시간 또는 72시간 동안 항온 처리하였다. 항온 처리 반응물의 일부를, 실험 개시 후 48시간 경과시에, 그리고 72시간 경과시에 수집하였다. PBMC를 세척하고, FITC 항-CD19, FITC 항-CD40, 또는 FITC 항-CD3과 함께 얼음 상에서 45분 동안 항온 처리하였다. 이후, 이와 같은 시약으로 염색된 총 림프구의 비율을 플로 만들고, 이를 유사한 조건[다만, 테스트 시약은 포함하지 않음] 하에서 항온 처리된 PBMC 시료와 비교하였는데, 이때, 이 시약을 처리한 시료를 염색하였다. 도 20a 및 도 20b는 소정의 시약으로 처리한 지 48시간 및 72시간 경과 후 FACS 신호를 발생하는 림프구 군의 총 비율(%)에 관한 막대 그래프이다. 도 20c는 유사한 실험을 통하여 얻어진 데이터를 바탕으로 한 복합 그래프로서, 이 그래프를 통하여, PBMC와 TRU-016($1\mu\text{g}/\text{ml}$)을 24시간 및 72시간 동안 항온 처리한 후의, CD 항원을 발현하는 림프구(즉, CD19, CD40 또는 CD3 양성 림프구)의 원래 수의 감소율을 알 수 있다.

[0265] 가교가 진행될 때, TRU-016 이량체 형 또는 리툭산으로 처리하면 PBMC 배양액 중 B 림프구의 비율이 감소하였는데, 이는 CD19와 CD40이 염색이 되었다는 사실을 바탕으로 하여 확인할 수 있었다. 실험 개시시에는 배양액 중 B 림프구 비율이 낮았지만, 리툭산이나 TRU-016을 함께 배양할 경우, 배양 후 48시간 경과시 PBMC 배양액 중 CD19 및 CD40 양성 림프구 수의 수는 약 1.5~2배 감소하였으며, 72시간 경과시 PBMC 배양액 중 CD19 및 CD40 양성 림프구 수의 수는 3배 이상 감소하였다. 48~72 시간 경과 후 이와 같은 B-세포 감소 패턴은 배양액 중 B 림프구의 배양 초기 비율에 상관없이, 테스트된 정상 PBMC 배양액 모두 동일하였는데, 즉, 시료에 따라서 전체 림프구 중 약 3%~약 7% 정도 감소하였다.

[0266] 도 20c는 TRU-016과 24~72시간 동안 항온 처리된, 단기 PBMC 배양액 중 T 림프구에 비한 B 림프구의 감소 비율을 막대 그래프로 나타내는 것이다. 이러한 데이터를 통하여, TRU-016은 정상의 말초 혈액 배양액으로부터 유래하는 CD37 양성 B 림프구를 특이적으로 감소시킬 수 있으며, TRU-016과 비-B 림프구는 낮은 수준으로 결합하므로(도 1c) 이들은 세포 군집으로부터 상기 림프구를 높은 수준으로 감소시키는 것을 매개하기에는 부족하다는 사실을 알 수 있다.

[0267] 실시예 10

[0268] TRU-016과 리툭시맙을 병용하면 쥐와 동물 종양 이중 이식 모델 내 종양 부피를 상당 수준 감소시킨다

[0269] 누드 마우스(할란(Harlan)) 및 라모스 또는 다우디 인간 종양 세포주를 이용하여, 병용 치료법에 관하여 연구하

는 마우스 종양 이종 이식 연구법을 수행하였다. 라모스 또는 다우디 종양 세포가 80%의 합류 상태가 될 때까지, IMDM/10% FBS가 담겨있는 T150 플라스크 내에서 상기 종양 세포들을 생육하였다. 마우스당 500만(5×10^6)개의 종양 세포를 접종하였다. 총 부피 0.1ml 또는 $5.0 \times 10^7/\text{ml}$ 인 PBS를 사용하여, 상기 세포를 누드 마우스의 옆구리에 피하 주사하였다. 누드 마우스에서 종양을 발생시킨 후, 종양 크기/부피에 따라서 여러 개의 군으로 나누었다. 각 치료 군에 있어서, 평균 종양 부피가 약 222mm³(152~296mm³)인 12 마리의 마우스를 사용하였다. 평균 종양 부피가 237~251mm³인 일부 마우스도 사용하였다. 실험 개시 후 0일, 2일, 4일, 6일 및 8일 경과시 다음과 같은 시약들 중 어느 하나를 상기 동물에 정맥 내(IV) 주사하였다: TRU-016 GPC POI(목적 피크), 200μg/마우스; 리톡산, 200μg/마우스, 또는 인간 IgG(대조군) 200 또는 400μg/마우스를 단독으로 투여하거나, 또는 리톡산 + TRU-016(마우스당 각각 100μg씩); 또는 리톡산 + TRU-016(마우스당 각각 200μg씩)을 병용 투여함. 실험을 마칠 때까지(동물을 안락사시키거나 동물이 쇠약해질 때까지) 매일 종양 부피를 캘리퍼로 측정하였다. 처리 시간에 대한 함수인 종양 부피 함수를 각 동물에 대해 그래프로 나타내었으며, 각 처리 군 내 얻어진 결과를 평균 내었다.

[0270] 유사한 종양을 발생시켜 유사한 연구를 수행하였는데, 이때 마우스는 다음과 같은 군으로 분류하였다: 평균 종양 부피가 작은(153~158mm³) 군과, 평균 종양 부피가 큰 군. 단, 상기 종양 부피가 큰 군은 라모스 세포가 아닌 다우디 세포를 사용하였다. 이러한 연구는, 동물 실험 윤리 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee; IACUC)의 지침에 따라서 AAALAC 인준 설비와 동물 사용 프로그램에서 이루어졌다.

[0271] 도 21의 그래프는 huIgG, 리톡산을 각각 첨가하였을 때와 이들을 각각 100μg 및 200μg씩 혼합하여 투여하였을 때에 비한, TRU-016의 효능을 나타내는 것으로서, 여기서, 상기 효능은 12 마리의 동물들로 이루어진 각각의 군에 대해 평균 내어 표평가하였다. IV 주사 처리 후 시간에 따른 종양 부피 변화를 그래프로 작성하였다. TRU-016으로 처리한 후 평균 종양 부피는 네거티브 대조군(huIgG)을 사용하였을 때에 비하여 더욱 작았다. 생존 % 또는 종양 제거 동물 %를 그래프로 나타내었을 때, 투여량을 증가시킨 병용 치료법의 경우 이러한 생체 내 종양 모델에서의 항-종양 활성은 더욱 컸다. 그러나, 투여량이 낮았을 때(각각 100μg씩), 병용 요법은 단일 시약을 각각 높은 투여량으로 투여하였을 경우보다 비효율적이었다.

[0272] 이와 같은 데이터를 통하여, TRU-016 요법에 리톡산을 적당량 함께 사용하면 리톡산만을 단독 투여하는 경우에 비하여 종양 환자의 치료 효율이 더 커짐을 알 수 있다.

[0273] 실시예 11

[0274] TRU-016은 쥐와 동물 종양 이종 이식 모델에서 종양 부피를 감소시키고, 생존율을 증가시킨다.

[0275] 누드 마우스(할란) 및 라모스 또는 다우디 인간 종양 세포주를 이용하여, 마우스 종양 이종 이식 연구법을 수행하였다. TRU-016 또는 기타 테스트 시약을 사용하여 치료하면서 종양 유형과 종양 크기를 바탕으로 하여 3회의 상이한 연구를 수행하였다. 라모스 또는 다우디 종양 세포를 생육하고, 5×10^6 개의 세포를 종양이 발생한 마우스의 오른쪽 옆구리에 피하 주사하여 접종하였다. 누드 마우스에서 종양을 발생시킨 다음, 이 마우스들을 그것들의 종양 크기/부피를 바탕으로 하여 몇 개의 군으로 나누었다. 첫 번째 연구의 경우, 각 처리군에는 평균 종양 부피가 155~237mm³인 마우스를 12마리 사용하였다. 실험 개시 후 0일, 2일, 4일, 6일 및 8일 경과시 다음과 같은 시약들 중 어느 하나를 상기 동물에 정맥 내(IV) 주사하였다: 리톡시맵, 200μg/마우스; TRU-016 GPC 이량체 피크, 200μg/마우스; 또는 인간 IgG(대조군) 400μg/마우스. 실험을 마칠 때까지(동물을 안락사시키거나 동물이 쇠약해질 때까지) 종양 부피를 매일 캘리퍼로 측정하였다. 처리 시간에 대한 함수인 종양 부피 함수를 각 동물에 대해 그래프로 나타내었으며, 각 처리 군 내 얻어진 결과를 평균 내었다. 처리 군의 종양 평균을 22a에 나타내었으며, 도 22b에는 시간에 대한 함수인, 각 마우스 군의 생존율 데이터를 비교한 결과를 나타내었다.

[0276] 도 22a는 라모스 종양 모델에 huIgG와 리톡산을 투여하였을 때의 효능에 비한, TRU-016의 효능을 나타내는 것으로서, 상기 효능은 12 마리의 동물들로 이루어진 각각의 군에 대해 평균을 내어 평가하였다. IV 주사 처리 후 시간에 따른 종양 부피 변화를 그래프로 작성하였다. TRU-016으로 처리한 후 평균 종양 부피는 네거티브 대조군(huIgG)을 사용하였을 때에 비하여 더욱 작았다. 도 22b는 huIgG, 리톡산 및 TRU-016을 투여한, 상이한 처리 군의 생존 곡선을 그래프로 나타낸 것이다. TRU-016을 투여할 때에는 기본 종양 부피가 증가한(힘든 케이스인) 라모스 종양 모델을 이용하였는데, 이때, 인간 IgG를 투여한 경우에 비하여 종양의 성장을 더욱 많이 억제하였다(데이터는 나타내지 않음). 소형의 라모스 종양이 발생한 마우스에 TRU-016을 투여한 결과, 종양 성장이 억제되었을 뿐만 아니라, 중간 생존 시간도 연장되었다.

- [0277] **실시예 12**
- [0278] TRU-016은 기타 B-세포 표면 수용체의 CDC 활성에 영향을 주지 못한다.
- [0279] CD20 이외에 예를 들어, MHCII, CD19, CD80/86, 및 CD40와 같은 기타 B-세포 표면 수용체에 대한 항체를 처리하면 TRU-016 분자가 CDC 활성 수준을 증가시키는지 여부를 측정하기 위하여, CD20 및 CD37 유도성 병용 실험과 유사한 실험 조건에서 실험을 수행하였다.
- [0280] 10% FBS를 함유하는 아이스코브스 완전 배지가 담긴 웰에 라모스 세포를 첨가하였다. mAb(시약 B: HD37-항 CD19, 시약 C: 9.4-항-CD45), 융합 단백질(시약 D: CTLA-4 muIg-IgG2a, Ance11 #501-820) 및 복수액(시약 A: HB10a-항-MHCII)을 소정의 희석률로 희석하여 첨가하고(도 23 참조), 리톡시맵($0.05\mu\text{g}/\text{mL}$) 또는 TRU-016($2\mu\text{g}/\text{mL}$)을 첨가하여 반응을 수행하고 또한 이 물질을 첨가하지 않고 반응을 수행하였다. 반응물을 37°C 에서 30분 동안 항온 처리하였다. 세포를 세척하고, 여기에 NHS를 첨가하여 최종 농도가 무 혈청 배지 중 10%가 되도록 만들었다. 보체 공급원을 첨가하여 37°C 에서 90분 동안 세포를 항온 처리하였다. 이 세포를 세척하고; 여기에 요드화프로피듐을 첨가하여 최종 농도가 PBS 중 $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 가 되도록 만든 후; 이 세포를 실온의 암실에서 15분 동안 항온 처리한 다음; 유세포 계측법을 이용하여 세포를 검정하였다. 도 23a~도 23d의 각 그래프는 소정의 적정 범위에서의 PI 양성 세포 비율(%)을 나타내는 그래프이다.
- [0281] 일반적으로, 상기 데이터는 상기 수용체에 대해 생성된 항체가 단독으로 사용될 때, 또는 TRU-016과 함께 사용될 때 CDC 활성 수준은 그다지 큰 차이가 나지 않았음을 보여주는 것이다(도 23a~도 23d). TRU-016을 차선 농도로 함께 사용할 때, CD19 및 CD45 유도 시약에 대한 CDC 수준은 약간 증가할 수 있다. 그러나, CDC 수준은 CD20-CD37을 함께 사용할 때 살펴볼 수 있는 CDC 수준과 거의 차이가 없었다. CD20 및 CD37 유도 시약이 함께 사용될 때, CDC 수준은 증가하였을 뿐만 아니라, 항-II군(HB10a), 항-CD19, 항-CD45(9.4) 또는 CTLA4Ig와 리톡산을 차선 투여량으로 병용하였을 때에 관찰되는 사멸 수준도 증가하는 것으로 파악된다.
- [0282] **실시예 13**
- [0283] TRU-016은 기타 표적화된 수용체 예를 들어, MHCII, CD19, CD80/86 및 CD40의 CDC 활성을 증가시키지 못한다.
- [0284] CD20 이외에 기타 B-세포 표면 수용체에 대한 항체를 처리하면 TRU-016 분자가 CDC 활성 수준을 증가시키는지 여부를 측정하기 위하여, CD20-CD37 유도성 병용 실험에서와 유사한 실험 조건에서 실험을 수행하였다(실시예 8 참조). 이 실험의 결과들을 도 23에 나타내었다. 일반적으로, 이러한 수용체에 대하여 생성된 항체가 단독으로 사용되거나 또는 TRU-016과 함께 사용될 때, CDC 활성 수준에는 거의 차이가 없었다. CDC 수준은 CD19 및 CD45 유도 시약을 차선 농도의 TRU-016과 함께 사용할 경우, 이 시약에 반응하여 약간 증가할 뿐이었다. 그러나, CDC 수준은 CD20-CD37을 병용하였을 때 관찰되는 CDC 수준과 거의 차이가 없었다(실시예 8 참조). CD20 및 CD37 유도 시약을 함께 사용할 때 CDC는 증가하였을 뿐만 아니라, 항-MHCII(HB10a), 항-CD19, 항-CD45(9.4) 또는 CTLA4Ig와 리톡산을 차선 투여량으로 함께 투여하였을 때 사멸 수준도 또한 증가하였음을 알 수 있었다.
- [0285] **실시예 14**
- [0286] TRU-016은 쥐와 동물 종양 이종 이식편 모델의 생존율을 증가시킨다.
- [0287] 누드 마우스(할란)와, 라모스 또는 다우디 인간 종양 세포주를 사용하여, 상기 실시예 11에 기술된 바와 같은 마우스 종양 이종 이식 연구를 수행하여, 장기 생존률을 증가시키는데 있어서의 TRU-016의 효능을 관찰하였다.
- [0288] 라모스 및 다우디 종양 세포를 각각 생육시킨 다음, (5×10^6) 세포를 마우스의 오른쪽 옆구리에 피하 주사하여, 마우스 종양 이종 이식편의 형성을 개시하였다. 종양이 형성된 후, 마우스를 종양 크기/부피를 바탕으로 하여 몇 개의 군으로 나누었다(제0일). 실험 개시 후 0일, 2일, 4일, 6일 및 8일 경과시 다음과 같은 시약들 중 어느 하나를 상기 동물에 정맥 내(IV) 주사하였다: 리톡시맵, $200\mu\text{g}/\text{마우스}$; TRU-016, $200\mu\text{g}/\text{마우스}$; 리톡시맵 + TRU-016, 100 또는 $200\mu\text{g}/\text{마우스}$; 또는 인간 IgG(대조군), $400\mu\text{g}/\text{마우스}$. 실험을 마칠 때까지(동물을 안락사시키거나 동물이 쇠약해질 때까지) 캘리퍼를 사용하여 매주 3회씩 종양 부피를 측정 측정하였다. 처리 시간에 대한 함수인 종양 부피 함수를 각 동물에 대해 그래프로 나타내었으며, 각 처리 군 내 얻어진 결과를 평균 내었다. 도 24는 TRU-016, 리톡시맵 또는 이들을 혼합하여 처리한 후(최장 90일), 라모스 종양이 발생한 마우스의 생존율(%)을 나타내는 것이다. TRU-016과 리톡시맵을 함께 처리하면, 단일 제제만으로 처리하였을 경우에 비하여, 종양 생존 시간을 상당히 증가시켰다. 도 25 및 도 26은, TRU-016 또는 리톡시맵으로 처리한 후(최장 90일), 다우디 종양이 발생한 마우스의 생존율(%)을 나타내는 것이다. TRU-016을 처리하면 확립된 다우디 종양의 종양 생존 시간이 증가하였다(도 25). TRU-016은 다우디 종양이 발생한 마우스의 생존율을, 리톡시맵을 사용하

였을 경우보다 더욱 효과적으로 유지시켰다(도 26).

[0289] 라모스 종양이 확립된 마우스에 단일 제제로서 TRU-016을 투여한 결과, 단일 제제로서 리툽시맵을 투여하였을 때와 마찬가지로 종양의 성장이 억제되고 또한 생존 시간이 개선됨을 알 수 있었으며, 또한 이러한 경향은 HuIgG 대조군 처리된 마우스에서 더욱 강하였다. 3회 실험을 통하여 수집한 데이터를 통하여는, TRU-016과 리툽시맵을 함께 투여하면 TRU-016($p=0.028$) 또는 리툽시맵($p=0.045$)을 단독 처리한 경우에 비하여, 생존 시간이 통계학적으로 유의한 수준으로 개선됨을 알 수 있었다. TRU-016과 리툽시맵을 함께 투여한 군의 경우에도 종양이 훨씬 강력하게 퇴화되었다. TRU-016 + 리툽시맵 $200\mu\text{g}$ 을 함께 투여한 군의 42%는, TRU-016이나 리툽시맵을 단독으로 처리한 마우스 군(종양 퇴화 비율 = 20%)에 비하여, 종양을 장기간에 걸쳐 완전히 퇴화시킬 수 있었다(표 3 및 도 24 참조).

표 3

[0290]

확립된 라모스 종양 처리 후의 생존율		
	90일 경과시 종양이 제거된 마우스의 비율(%)	중간 생존 시간(일)
TRU-016 + 리툽시맵 ($200\mu\text{g}$)	42	31
TRU-016 + 리툽시맵 ($100\mu\text{g}$)	25	24
TRU-016 ($200\mu\text{g}$)	20	16
리툽시맵 ($200\mu\text{g}$)	20	17
HuIgG	0	10

[0291] 다우디 종양 이종 이식 모델에 TRU-016을 처리한 후에는 종양 성장이 감소하였으며, 생존 시간이 증가하였다(표 4 및 도 25 및 도 26 참조). TRU-016을 투여하면, 대조군에 비하여 생존 시간이 유의적으로 연장되었다. 종양이 제거된 마우스의 비율(%)은 또한, 대조군 및 리툽시맵을 처리한 군보다 이 모델에 SMIP-016을 처리한 군에서 증가하였다.

표 4

[0292]

확립된 다우디 종양 처리 후의 생존율		
	90일 경과시 종양이 제거된 마우스의 비율(%)	중간 생존 시간(일)
TRU-016 ($100\mu\text{g}$)	25	24
리툽시맵 ($100\mu\text{g}$)	0	17
HuIgG	0	15

[0293] CD37-유도 SMIP(TRU-016)를 처리하였을 때가 리툽시맵을 단독 처리하였을 때에 비하여, 라모스 종양 이식 모델에 있어서 종양 부피를 더욱 많이 감소시켰고, 또한 생존 시간도 더욱 길게 연장시켰다. TRU-016과 리툽시맵을 함께 처리하였을 경우에는, 라모스 종양 이종 이식 모델에 있어 리툽시맵 또는 TRU-016을 단독 처리하였을 경우에 비하여, 라모스 종양 이종 이식 모델의 종양 부피를 더욱 많이 감소시켰고, 생존 시간도 더욱 길게 연장시켰다. 다우디 이종 이식 모델에 있어서, TRU-016 처리된 마우스는 HuIgG 대조군에 비하여, 중간 생존 시간이 통계학적으로 유의적으로 연장되었음을 알 수 있었다. 리툽시맵을 처리하였을 경우에는 대조군 마우스에 비하여 중간 생존 시간이 유의적으로 연장되지 않았다. 이와 같은 데이터는, NHL 이종 이식 모델에 있어 CD37-유도 요법의 효능을 입증해 준다.

[0294] 실시예 15

[0295] TRU-016은 CLL 세포 내 플루다라빈-유도 세포 사멸을 시험관 내에서 촉진한다.

[0296] 플루다라빈은 혈액학적 악성 종양의 치료에 사용되는 화학 요법 약품이다. 플루다라빈은 리보뉴클레오타이드 리덕타제 및 DNA 중합 효소를 방해함으로써 DNA 합성을 억제하는 퓨린 유사체이다. 플루다라빈은 분열중인 세포와 휴지 세포 둘 다에 대해 활성을 갖는다. 플루다라빈은 만성 림프구성 백혈병(CLL)의 치료에 매우 유효한데, 즉, 클로람부실과 같은 알킬화제를 단독으로 처리하였을 경우보다 반응률이 더욱 높았다[Rai와 다수, N. Engl. J.

Med. 343:1750-1757, 2000]. 플루다라빈은 진행이 더딘 림프종과 비-호지킨 림프종 치료에서 사이클로포스파미드, 미토잔트론, 텍사메타손 및 리톡시맵과 다양하게 혼합 사용된다. 그러나, 치료시 플루다라빈에 의한 내성이 생긴다는 사실이 확인되었다. 플루다라빈은 CLL 세포에서 카스파제-의존성 세포 자살을 유도하며, TRU-016에 의해 매개된 세포 자살은 카스파제 활성화와는 독립적인 것으로 파악된다. 본 연구에서는 TRU-016과 플루다라빈을 함께 처리할 경우 CLL 세포에 미치는 효과를 관찰하였다.

[0297] 세포를 투여량 0.1~100 μ g/ml의 TRU-016과 투여량 0~20 μ M의 플루다라빈으로 처리하였다(도 27 참조). TRU-016은 트루비온 파마슈티컬스(Trubion Pharmaceuticals; Seattle, WA)로부터 입수하였다. 플루다라빈(F-araA)은 시그마(SIGMA; St. Louis, MO)로부터 구입하였다. RPMI 1640 배지는 인비트로젠(Invitrogen; Carlsbad, CA)으로부터 구입하였다. 플루오세인 이소티오시아네이트(FITC)-표지화 어넥신 V와, 요드화프로피듐(PI)은 BD 파밍겐(BD Pharmingen; San Diego, CA)으로부터 구입하였다. 브롬화 [3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸륨(MTT)은 시그마(SIGMA; St. Louis, MO)로부터 구입하였다. B-CLL 세포를 분리한 직후, 피콜(ficoll) 밀도 구배 원심 분리하였다[Ficoll-Paque Plus, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ]. 분리된 단핵 세포를, 10% 열-불활성화 소 태아 혈청(FBS, Hyclone Laboratories, Logan, UT), 2 mM L-글루타민(Invitrogen, Carlsbad, CA), 및 페니실린(100U/ml)/스트렙토마이신(100 μ g/ml; Sigma-Aldrich, St. Louis)이 보강된 RPMI 1640 배지 중에서 항온 처리하였다[37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 대기 하]. 새로이 분리된 B-CLL 세포를 본원에 개시된 모든 실험(표면 염색 제외)에 사용하였다. 제조자가 제안한 프로토콜에 따라서, 90% 미만의 B-세포를 함유하는 시료에 대해, 네거티브 선택을 수행하여 비 B-세포를 제거하였다[B-세포 분리 키트 II(Miltenyi Biotec, Auburn, CA), 또는 스템 셀 테크놀로지스(Stem Cell Technologies; Vancouver, British Columbia, Canada)의 "로제트-셉(Rosette-Sep)" 키트를 사용]. 라지(Raji; 인간 버킷 림프종 세포주) 세포주는 ATCC로부터 구입하였으며, 이를 10% FBS를 함유하며, 페니실린, 스트렙토마이신 및 글루타민이 보강된 RPMI 1640 배지 중에 보관하였다. 세포 밀도가 1 \times 10⁶/ml가 되었을 때, 세포를 1:3의 비율로 나누었다. 각각의 연구를 수행하기 하루 전날 밤에 배지를 교환하여, 연구에 사용될 새로운 세포를 확보하여 두었다.

[0298] 본원에 개시된 바와 같이, 세포를 시험관 내 처리하였다. 약품을 2ml 함유하는 배지를 6ml의 블랭크배지를 함유하는 이웃 웰에 옮겨서 6-웰 평판 내에서 플루다라빈을 1:4로 연속 희석시켰다(44, 11, 2.8, 0.7, 0.17 및 0.04 μ M). 각각의 6-웰 평판에 있어서, 1:4의 비율로 배지 중 연속 희석한 TRU-016(44, 11, 2.8, 0.7, 0.17 및 0.04 μ M)을 동일한 희석법으로 희석하여 제조하였다. 상기 각각의 평판으로부터, 0.45ml의 배지를 취하여 이를 48-웰 평판의 지정 웰로 옮겨, 배지 중 혼합 약품 용액을 제조하였다(각 웰 당 총 0.9ml). 이후, 배지 중 1 \times 10⁷ 세포/ml(0.1ml)의 밀도로 현탁된 CLL 세포를 각 웰에 담겨있는 0.9ml의 배지에 가하여, 최종 밀도 1 \times 10⁶ 세포/ml가 되도록 만들었다. 라지 세포의 최종 세포 밀도는 5 \times 10⁴ 세포/ml였다. 그러므로, 사용된 세포 현탁액의 세포 밀도는 5 \times 10⁵ 세포/ml였다. MTT 검정법에 있어서는, 96-웰 평판 내에서 약품을 연속적으로 희석하여, 이를 다른 96-웰 평판에 옮겨 담은 후, 세포와 함께 항온 처리하였다. 항온 처리할 총 부피는 200 μ l이었다[플루다라빈 용액 = 90 μ l, TRU-016 용액 = 90 μ l, 및 세포 현탁액 = 20 μ l]. 48시간 경과시 MTT 검정법을 통하여 세포의 자생력을 평가하였으며, 세포 자살률은 24시간 경과시 어넥신 V/PI를 사용하여 측정하였다.

[0299] MTT 검정법을 수행하여, 본원에 개시된 바와 같이 세포 자생력을 측정하였다. 요약하면, 10⁶개의 CLL 세포를 96-웰 평판에 접종하였다. 세포를 48시간 동안 항온 처리하였다. MTT 작업 용액(2mg/ml, RPMI 1640과 MTT 시약 5mg/ml를 2:3 v/v로 혼합하여 제조)을 각 웰에 가하고, 이 세포를 8시간 동안 항온 처리하였다. 평판을 원심 분리한 다음, 상청액을 제거하고, 이를 100 μ l의 용해 용액 중에 용해시켰다. 평판 판독기(O.D. 540)를 사용하여 시료를 분석하였다. 세포의 자생력을 대조군 배지와 비교하여, 자생 비율(%)로서 나타내었다.

[0300] 어넥신 V-FITC/요드화프로피듐(PI) 염색을 이용하는 FACS 분석법을 통하여, 항체와 함께 항온 처리한 후의 CLL 세포의 세포 자살률을 측정하였다. 200 μ l의 1 \times 결합 완충액(BD Pharmingen) 중 5 \times 10⁵ 세포를 5 μ l 어넥신 V(BD Pharmingen)와 5 μ l PI(BD Pharmingen)로 염색하고, 이를 실온의 암실에서 15분 동안 방치한 다음, 300 μ l의 1 \times 완충액으로 현탁하고 나서, 유세포 계측법으로 분석하였다. 염색이 되지 않은 세포, 어넥신 V로만 염색된 세포, 그리고 PI로만 염색된 세포를 준비하였다. 모든 유동성 혈구 계측 실험에 있어서, 벡만-쿨터(Beckman-Coulter) EPICS XL 혈구 계측기(Beckman-Coulter, Miami, FL)를 사용하여, FACS 분석법을 수행하였다. 형광 단을 488nm에서 여기시켰다. FL1을 사용하여 FITC-형광도를 측정하였으며, PI 및 PE 형광도는 FL3을 사용하여 측정하였다. 시스템 II 소프트웨어 패키지(Beckman-Coulter)를 사용하여 데이터를 분석하였다. 계측된 세포의 수는 각 시료

당 10,000개였다.

[0301] 약효 등효도법(isobologram method)을 활용하여 상승 효과를 측정하였다. 상승 효과를 확인하기 위해, 약물 병용 효과를 각 약물을 단독으로 투여하였을 때의 효과와 비교하였다. 이는 다음과 같은 등식에 입각한다: $Ca/Ca,b + Cb/Cb,a = CI$ [식 중, Ca 및 Cb는 각각 목적으로 하는 효과(예를 들어, 50% 세포 사멸)를 내기 위한 약물 A와 약물 B의 단독 투여시 농도임]. Ca,b 및 Cb,a는 각각 동일한 효과를 내기 위한 약물 A와 약물 B의 병용 투여시 농도이다. CI는 병용 지수(combination index)이다. 플루다라빈과 TRU-016의 농도 즉, 50% 사멸률을 나타내는 농도(IC50)를 측정하여, 이를 도 27c에 나타내었다[플루다라빈(I)의 IC50 및 TRU-016(II)의 IC50]. 축 상 상기 2개의 물질이 나타내는 2개의 점 사이 직선은 부가 효과를 나타내는 선이다. 이후, 세포를 50% 사멸시키는 플루다라빈과 TRU-016의 상이한 병용 투여량도 자생력 연구로부터 측정되었으며, 또한 동일한 그래프에 나타내었다. 점들이 부가 효과 선(additivity line) 아래에 위치할 때, 상승 효과를 볼 수 있다. 점이 이 선 위에 위치할 때, 길항 효과를 볼 수 있다. 점이 이 선 상에 위치할 때, 부가 효과를 볼 수 있다.

[0302] 도 27은, TRU-016이 플루다라빈으로 처리된 세포 내 상대적 세포 자생력은 감소시켜, 플루다라빈 단독 처리시 세포 독성 효과를 촉진한다는 사실을 보여주는 것이다. 그러므로, 이 연구를 통하여, TRU-016이 플루다라빈과 함께 투여되면, 혈액 악성 종양 치료시 효능 증가(즉, CLL 세포를 상당 수준 감소시키는 효과)를 볼 수 있음을 알 수 있다.

[0303] 실시예 16

[0304] TRU-016은 리툽시맵-내성 세포 내에서의 직접적인 세포 독성을 유도한다

[0305] 본원에 개시된 바와 같이, 리툽시맵은 NHL, FCC, MCL, DLCL, SLL 및 CLL 치료에 사용되는 모노클로날 항체이다. 본 연구는 리툽시맵에 내성인 세포 내에서 직접적인 세포 독성을 유도하는데 있어서의 TRU-016의 효능을 측정하기 위해 수행되었다.

[0306] 리툽시맵-내성 세포(1×10^6 개의 세포)[라지 4RH 및 RL 4RH; 뉴욕 버팔로에 위치하는 로즈웰 파크 암 연구소(Roswell Park Cancer Institute)의 마이론 에스. 츠쿠즈맨(Myron S. Czuczman) 박사로부터 제공받음]를, 5배 과량의 염소 항-인간 IgG의 존재 하에, 허셉틴($10 \mu\text{g}/\text{ml}$), 리툽시맵($10 \mu\text{g}/\text{ml}$) 또는 TRU-016($5 \mu\text{g}/\text{ml}$)으로 24시간 동안 처리하였다. 직접 세포 독성(Direct cytotoxicity)은 어넥신/PI 염색법에 의해 측정하였으며, 세포의 자생력(%)은 대조군 세포(허셉틴 처리 세포)를 기준으로 하여 이와 상대적으로 계산하였다.

[0307] 리툽시맵-내성 세포주 내에서, TRU-016은 세포 독성을 리툽시맵보다 더욱 강력하게 유도하였다(도 28 참조). 그러므로, TRU-016은 리툽시맵-내성 세포 내 세포 독성을 유도하는데 유효한 제제로서, 리툽시맵-내성 세포 예를 들어, 일부 B-세포가 관여하거나 또는 이 B-세포를 특징으로 하는 질병에 있어서 치료제로서 유효하다.

[0308] 실시예 17

[0309] TRU-016은 CD19+ 1차 CLL B-세포 내 티로신 인산화 작용을 유도한다

[0310] TRU-016이 B-세포 내에서 어떻게 신호 전달 작용을 유도하는지를 알아내기 위하여, 티로신 인산화 작용에 미치는 TRU-016의 영향력을 측정하는 실험을 수행하였다.

[0311] CLL 환자로 부터 새로이 분리한 CD19+ 세포(약 $50 \sim 100 \times 10^6$ 개)를 $5 \times 10^6/\text{ml}$ PBS의 농도로 현탁하였다. 이후, 세포를 37°C 및 5% CO_2 하에서, 10분 동안, 대조군, 트라스트주맵(허셉틴) 또는 TRU-016(최종 농도 = $5 \mu\text{g}/\text{ml}$)과 함께 항온 처리하였다. 세포를 원심 분리하여 침강시키고, 상청액을 따라낸 후, 세포를 처음 부피의 신선한 PBS 중에 재현탁하였다. 염소 항-인간 Fc 단편 특이 가교제($25 \mu\text{g}/\text{ml}$)를 첨가하고, 세포를 5분 더 항온 처리하였다. 세포를 다시 원심 분리하여 침강시키고, 상청액을 따라낸 다음, 세포를 1ml의 RIPA 용해 완충액 중에서 프로테아제 및 포스파타제 억제제와 함께 용해시켰다[10mM Tris, pH7.4, 150mM NaCl, 1 % Triton X-100, 1 % 테옥시콜린산, 0.1 % SDS 및 5mM EDTA (모두 최종 농도로 포함됨)]. 시그마의 프로테아제 억제제 혼합물(cat#P-8340); 시그마의 포스파타제 억제제 혼합물; 세린/트레오닌 포스파타제 억제제 혼합물(cat#P-2850); 및 티로신 포스파타제 억제제(cat#P-5726); 및 PMSF(100mM)도 모두 사용하였다. 억제제를 용해 완충액에 첨가한 직후, 이 용액을 1:100의 비율로 희석하여 사용하였다. 용해물 중 단백질의 농도는 비신 코닌산(BCA) 방법(Pierce, Rockford, IL)에 의해 정량하였다. 대조군 및 처리 단백질 시료(총 단백질 50ug)를 2차원 겔 전기영동법(pH 3 ~ 10)(제1 차원) 및 10% SDS-PAGE (제2 차원)]으로 분리하였다. 단백질을 0.2 Nm 니트로셀룰로스 막(Schleicher & Schuell, Keene, NH)으로 옮기고, 표준적인 방법에 따라서 항-포스포티로신 항체 클론

4G10(Upstate Biotechnology)을 사용하여 면역 블롯 분석법을 수행하였다. 호오스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-컨쥬 게이트화 염소 항-토끼 IgG를 2차 항체로서 사용하였다. 화학 발광 기질[수퍼시그널(SuperSignal), Pierce Inc. Rockford, IL]로 인 단백질을 검출하였다.

[0312] TRU-016은 2-차원 겔 분석법에 의해 확인되는 바와 같이, CD19+ 1차 CLL B-세포 내에서 티로신 인산화 작용을 유도하였다(도 29 참조). 그러므로, 이 실험을 통하여, TRU-016은 티로신 인산화 경로를 통해 작용한다는 사실을 알 수 있다.

[0313] **실시예 18**

[0314] 인간화된 TRU-016 분자

[0315] 실시예 1에 제시한 바와 같은, CD37-특이적 SMIP(예를 들어, TRU-016)에 관하여는 공동 출원인 미국 특허 출원 제10/627,556호와 미국 특허 출원 공보 2003/133939, 2003/0118592 및 2005/0136049에 개시되어 있다. 이와 같은 문헌들은 본원에 참고용으로 인용된 것이다. 대표적인 CD37-특이적 SMIP인, TRU-016 폴리펩티드(서열 번호 2)는 상기 문헌에 개시된 바와 같이 제조하였다. 본 실시예에서는 인간화된 TRU-016 SMIP를 제공한다.

[0316] 인간화된 항체에 관하여는 당 업계에 공지되어 있으며, 미국 특허 출원 공보 2006/0153837에 개시되어 있다. 본 출원에서는 SMIP 특허, TRU-016을 인간화하기 위하여 항체를 인간화하는(이하에 기술됨) 기술을 이용한다.

[0317] "인간화"를 통해서는, 면역원성이 약하고, 원래 항체 분자의 항원-결합 특성을 완전히 보유하는 항체를 생산할 것으로 예상된다. 원래 항체의 항원-결합 특성 모두를 보유하도록 만들기 위하여, 이 항체의 항원 결합 위치 구조를 "인간화된" 형태로서 모의하여야 할 것이다. 이는 비인간 CDR을, 중요 프레임워크 잔기를 보유하거나 보유하지 않는 인간 항체의 불변 부 및 인간 항체의 가변 프레임워크 도메인 상에 이식시키거나[Jones와 다수, Nature 321 :522 (1986); Verhoeyen와 다수, Science 239:1539 (1988)], 또는 (리간드-결합 특성을 보존하기 위해) 전체 비인간 가변 도메인을 재조합하되, (항원성을 감소시키기 위해) 노출된 잔기를 합리적으로 재배치하여 이 도메인을 인간-유사 표면으로 "위장"시킴으로써 이루어질 수 있다[Padlan, Molec. Immunol. 28:489 (1991)].

[0318] 본질적으로, CDR 이식에 의한 인간화 방법은, 비인간 항체의 CDR을 인간 가변부 프레임워크 및 인간 불변 부에 재조합시키는 과정을 포함한다. 이론적으로, 이 과정은 실제 면역원성을 감소시키거나 없애준다(다만, 동종 이형 또는 유전자형 간 차이가 존재하는 경우는 제외). 그러나, 기원 항체의 일부 프레임워크 잔기들도 보존될 필요가 있다고 보고된 바 있다[Reichmann와 다수, Nature, 332:323 (1988); Queen와 다수, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10,029 (1989)].

[0319] 보존될 필요가 있는 프레임워크 잔기들은 컴퓨터 모델링 과정에 의해 동정될 수 있다. 대안적으로, 중요한 프레임워크 잔기는, 공지의 항원-결합 위치의 구조를 비교함으로써 효율적으로 동정될 수 있다[Padlan, Molec. Immun., 31(3):169-217 (1994); 본원에 참고용으로 인용됨].

[0320] 항원 결합 능에 잠재적인 영향을 주는 잔기는 몇 개의 군으로 분류된다. 첫 번째 군은 항원 위치 표면에 인접하여 존재하여, 항원과 직접 접촉하는 잔기들을 포함한다. 이 잔기들은 아미노-말단 잔기와 CDR에 인접하여 존재하는 잔기를 포함한다. 두 번째 군은 CDR의 구조 또는 상대적 배열을 바꾸어, CDR 또는 항체 내 기타 펩티드 사슬과 접촉할 수 있는 잔기를 포함한다. 세 번째 군은 가변 도메인의 구조적 일체성에 영향을 줄 수 있는 매립 측쇄(buried side chain)를 가지는 아미노산을 포함한다. 이 군에 속하는 잔기는, 이 잔기의 특정 위치가 번호 매김 시스템에 따라서 달라질 수 있다고 하더라도, 일반적으로는 동일한 위치(Padlan, 1994, 상동)에서 발견된다[Kabat와 다수, "Sequences of proteins of immunological interest, 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991 참조].

[0321] 본 발명은 SMIP의 인간화에 관한 것이기는 하나, 당 업계에 알려진 인간화 항체에 관한 사실은 본 발명에 의한 SMIP에도 해당할 수 있다. 인간화된 TRU-016 분자에 관한 몇몇 예로서는 이하 표 5에 제시하였다.

[0322] 본 발명의 인간화된 TRU-016 구조물을 제조하기 위해, TRU-016의 마우스 프레임워크 영역을, 중쇄에 대한 인간의 VH1 및 VH5 틀 잔기와, 경쇄에 대한 VK1 및 VK3와 배열하였다. 최상으로 매칭되는 부분을 마우스 가변부의 CDR과 프레임워크 양립성에 대해 분석하였다. 때때로 선택된 부위들은 균일하게 양립하여 조합되긴 하지만, VK3(X01668)와 VH5-51(Z12373)을 조합하여 이미 성공을 거둔 바 있으며, 그 결과, 15aa Gly₄Ser((g4s)3) scFv 링커에 의해 연결된 인간 프레임워크 영역들을 이용하여 인간화된 항-CD37 SMIP를 디자인하였다. 이미 개시된 구조물과 같이, VK3 구조물은 바람직한 FR4 매칭 부위로서 JK1을 가지도록 구성되며, VH5 구조물은 FR4를 암호화

하는 JH2를 가지도록 구성하였다. SMIP는 중첩 올리고뉴클레오타이드 PCR에 의해 새로이 구성하였다. 전장 생성물을 인간 IgG1 힌지, CH2 및 CH3와 함께, SMIP 발현 벡터에 인 프레임(in frame) 상태로 클로닝하였다. 이 클론을 서열 결정하여 확인하고, 다시 COS-7 세포에 형질 감염시켜, 3일 동안 컨디셔닝한 배지에 접종하여, B-세포 림프종 세포주인 라모스 세포와 결합하는지 여부에 대해 테스트하였다. 인간화를 촉진하기 위해, 경쇄 CDR1의 L25, L27 및 L28 위치에 변이를 가하여, 내성을 갖게 만들어, 기원 인간화 분자 019001과의 결합 활성이 동일하게 나타나도록 하였다. 또한, DNA 구조물을, 생식 계열 아미노산 H100-H102(다양한 인간 JH 부위에 의해 암호화됨)를 통합함으로써 VH 부위의 CDR3을 변이시키는 것과 유사한 방식으로 제조하였다. 구조물의 발현 수준과 라모스 세포 상에 있는 CD37과 결합하는 정도에 관하여 관찰하였다.

표 5a

구조물 번호	구조물에 관한 설명	펩 키	힌 지	DNA 서열 번호	아미노산 서열번호
019001	Vk3:VH5-51	15aa gly4ser	SSC-P	5	6
019002	Vk3:VH5-51 링 키 (TG-SS)	15aa gly4ser	SSC-P	7	8
019003	Vk3:VH5-51 VH V11S	15aa gly4ser	SSC-P	9	10
019004	Vk3:VH5-51 VK3, cdr1 (E → Q)	15aa gly4ser	SSC-P	11	12
019005	Vk3:VH5-51 VK3, cdr1 (N → S)	15aa gly4ser	SSC-P	13	14
019006	Vk3:VH5-51 VK3, cdr1 (T → A)	15aa gly4ser	SSC-P	15	16
019010	mVk:VH5-5a	15aa gly4ser	SSC-P	17	18
019011	Vk3:mVH (링 키 G-S 돌연변이)	15aa gly4ser	SSC-P	19	20

[0323]

표 5b

019017	Vk3:VH5 VH3 FW1	15aa gly4ser	SSC-P	21	22
019018	mVH:Vk3	15aa gly4ser	SSC-P	23	24
019019	Vk3:mVH (019011 : 2H7 리더 포함)	15aa gly4ser	SSC-P	25	26
019021	mVH:Vk3	15aa gly4ser	SSC-P	27	28
019023	Vk3:mVH (fixed 019011 GS4 돌연변이)	15aa gly4ser	SSC-P	29	30
019024	Vk3:mVH (fixed 019011 GS4 돌연변이)	15aa gly4ser	SSC-P	31	32
019025	Vk3:VH5 VH3 FW1	15aa gly4ser	SSC-P	33	34
019026	Vk3:VH5 VH3 FW1	15aa gly4ser	SSC-P	35	36
019032	Vk3:VH5 VH3- 13 FW1	15aa gly4ser	SSC-P	37	38
019033	Vk3:VH5 VH3- 13 FW1	15aa gly4ser	SSC-P	39	40
019034	Vk3:VH5 VH3- 13 L11S FW1	15aa gly4ser	SSC-P	41	42
019035	Vk3:VH5 VH3- 13 L11S FW1	15aa gly4ser	SSC-P	43	44
019037	Vk3(CDR-L1 변이):VH5	15aa gly4ser	SSC-P	45	46
019041	019006 - CDR-H3 JH4	15aa gly4ser	SSC-P	47	48
019043	019006 - CDR-H3 JH6	15aa gly4ser	SSC-P	49	50
019044	019006 - CDR-H3 JH5a	15aa gly4ser	SSC-P	51	52
019045	019006 - CDR-H3 JH5b	15aa gly4ser	SSC-P	53	54
019046	019006 - CDR-H3 JH1	15aa gly4ser	SSC-P	55	56
019047	019006 - CDR-H3 JH3a	15aa gly4ser	SSC-P	57	58
019048	019006 - CDR- H3 JH3b	15aa gly4ser	SSC-P	59	60
019049	019006 - CDR- H3 JH2	15aa gly4ser	SSC-P	79	80
019050	019006 - CDR- H2 변이	15aa gly4ser	SSC-P	81	82
019051	019044	20aa	CPPCP	83	84

표 5c

		gly4ser			
019008				85	86
019009				87	88

[▲ 표 5a~표 5c: 인간화된 TRU-016 구조물]

인간화된 TRU-016 구조물(019001; 서열 번호 6; H016-019001)과 비인간화 TRU-016(서열 번호 2; 016-G28-1)의 아미노산 공통 서열을 도 30a에 나타내었다[캐벗(Kabat) 번호 매김 방식에 따름]. 도 30b는 인간화된 TRU-016[019001(서열 번호 6); 019008(서열 번호 86); 및 019009(서열 번호 88)의 아미노산 서열의 배열을 나타낸 것이다.

3개의 인간화된 TRU-016 구조물(019001, 019041 및 019044)의 DNA 및 아미노산 서열의 배열을 도 31에 나타내었는데, 이 도면을 통하여, CD37이 라모스 B-세포에 고도의 특이성을 가지고 결합한다는 사실을 알 수 있다.

TRU-016의 동일한 3개의 인간화된 구조물(019001, 019041 및 019044)에 대한 FASTA 방식 DNA 및 아미노산 서열 배열을 도 32에 나타내었다.

[0330] 본 발명의 인간화된 TRU-016 분자에 사용될 수 있는 부가의 힌지부(표 6) 및 프레임워크 영역(표 7)을 이하에 제시하였다.

표 6a

힌지에 관한 설명	DNA 또는 아미노산 서열	서열 번호
ccc(p)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgtccaccgtgccca	89
ccc(p)- hlgG1 (AA)	EPKSCDKTHTCPPCP	90
scc(p)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgtccaccgtgccca	91
scc(p)- hlgG1 (AA)	EPKSSDKTHTCPPCP	92
scc(s)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgtccaccgtgctca	93
scc(s)-	EPKSSDKTHTCPPCS	94

[0331]

표 6b

hlgG1 (AA)		
scs(s)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgtccaccgagctc a	95
scs(s)- hlgG1 (AA)	EPKSSDKTHTCPPSS	96
sss(p)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgagccc a	97
sss(p)- hlgG1 (AA)	EPKSSDKTHTSPPSP	98
sss(s)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgagctca	99
sss(s)- hlgG1 (AA)	EPKSSDKTHTSPPSS	100
csc(p)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgtgccca	101
csc(p)- hlgG1 (AA)	EPKSCDKTHTSPPCP	102
csc(s)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgtgctca	103
csc(s)- hlgG1 (AA)	EPKSCDKTHTSPPCS	104
ssc(p)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgtgccca	105
ssc(p)- hlgG1 (AA)	EPKSSDKTHTSPPCP	106
scs(s)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgtgctca	107
scs(s)- hlgG1 (AA)	EPKSSDKTHTSPPCS	108
css(p)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgagccc a	109
css(p)- hlgG1 (AA)	EPKSCDKTHTSPPSP	110
css(s)- hlgG1 (DNA)	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatctccaccgagctca	111
css(s)- hlgG1 (AA)	EPKSCDKTHTSPPSS	112
scs(s)- hlgG1	gagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgtccaccgagctc a	113

[0332]

표 6c

(DNA)		
scs(s)- hlgG1 (AA)	EPKSSDKTHTCPPSS	114
hlgA1	VPSTPPTPSPSTPPTPSPS	115
hlgA2	VPPPPP	116
hlgG3 (DNA)	gagctcaaaactctctcggggatacgacccatacgtgtccccgc tgtctgaaccgaagtctcgatacgctccgccatgtccacggt gcccagagcccaaatcatcgatacgccccaccgtgtccccgc tgtctgaaccgaagtcatcgataccccaccacatgtccaaga tgccca	117
hlgG3 (AA)	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP EPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP	118
IgG315hsc (DNA)	gagcccaaatcttctgacacacctccccatgccacgggtcccc	119
IgG315hsc (AA)	EPKSSDTPPPCPRCP	120
IgG315hcss (DNA)	gagcccaaatcttctgacacacctccccatccccacgggtccca	121
IgG315hcss (AA)	EPKSCDTPPPSPRSP	122
IgG315hsss (DNA)	gagcccaaatcttctgacacacctccccatccccacgggtccca	123
IgG315hsss (AA)	EPKSSDTPPPSPRSP	124
IgG315csc (DNA)	gagcccaaatcttctgacacacctccccatccccacgggtccca	125
IgG315csc (AA)	EPKSCDTPPPSPRCP	126
hlgD	ESPKAQASSVPTAQPPAQEGSLAKATTAPATTR NTGRGGEEKKEKEKEEQEERETKTP	127

[0333]

[0334]

[▲ 표 6a~표 6c: 인간화된 TRU-016 SMIP의 현지부]

표 7a

V- 부위	항-CD37 인간화를 위한 인간 VH 틀 부위	서열 번호
	FR1	
VH1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	140
VH1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS	141
VH1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS	142
VH1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFT	143
VH5	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	144
VH5	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFT	145
VH7	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFT	146
	FR2	
VH1	WVRQAPGQGLEWMG	147
VH1	WVRQAPGQGLEWMG	148

[0335]

표 7b

VH1	WVRQAPGQGLEWMG	149
VH1	WVQQAPGKGLEWMG	150
VH5	WVRQMPGKGLEWMG	151
VH5	WVRQMPGKGLEWMG	152
VH7	WVRQAPGQGLEWMG	153
FR3		
VH1	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR	154
VH1	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR	155
VH1	RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR	156
VH1	RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAT	157
VH5	QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR	158
VH5	HVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR	159
VH7	RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCAR	160
FR4		
	WGQGT LVT VSS	161
	WGRGT LVT VSS	162
	WGQGT MVT VSS	163
	WGQGT MVT VSS	164
	WGQGT LVT VSS	165
	WGQGT LVT VSS	166
	WGQGT LVT VSS	167
	WGQGT TVT VSS	168
	WGKGT TVT VSS	169
항-CD37 인간화를 위한 인간 VK 틀 부위		
FR1		
VK3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC	170
VK3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	171
VK1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	172
VK1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	173
VK1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	174
VK1	NIQMTQSPSAMSASVGDRVTITC	175
VK1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	176
VK1	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC	177
VK1	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC	178
VK1	AIRMTQSPFSLASVGDRVTITC	179
VK1	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	180
VK1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC	181
FR2		
VK3	WYQQKPGQAPRLIY	182
VK3	WYQQKPGQAPRLIY	183
VK1	WYQQKPGKAPKLLIY	184
VK1	WYQQKPGKVPKLLIY	185
VK1	WYQQKPGKAPKRLIY	186
VK1	WFQQKPGKVPKHLIY	187
VK1	WFQQKPGKAPKSLIY	188

표 7c

VK1	WYQQKPGKAPKLLIY	189
VK1	WYQQKPGKAPKLLIY	190
VK1	WYQQKPAKAPKLFYI	191
VK1	WYQQKPGKAPKLLIY	192
VK1	WYQQKPGKAPKLLIY	193
FR3		
VK3	GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC	194
VK3	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC	195
VK1	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	196
VK1	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYC	197
VK1	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC	198
VK1	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC	199
VK1	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	200
VK1	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	201
VK1	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC	202
VK1	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYC	203
VK1	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC	204
VK1	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAVYYC	205
FR4		
	FGQGTKVEIK	206
	FGQGTKLEIK	207
	FGPGTKVDIK	208
	FGGGTKVEIK	209
	FGGTRLEIK	210

019049	80	MEAPAQLLFLLLLWLPDITTEIVLTQSPATSLSLSPGERATLSR ASENVYSYLAWYQQKPGQAPRLIYFAKTLAEIGIPARFSGSGS GTDFTLTISLEPEDFAVYYCQHHSDNPWTFGGQTKVEIKGGG GSGGGSGGGGTGTEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYS FTGYNMNVWRQMPGKGLEWMGNIDPYGGTTYNRKFKGQ VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSVGPFDLWGRGT LVTYSSDQEPKSSDKTHTSPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
019050	81	aagcttccgccaatggaagcccccagctcagcttctctctcgtactctggtccag ataccaccggagaaatttgtttgacacagctccagccaccctgtcttctcctcaggcga acagagccacctctctcgtccgagcaagtggaatgtttacagctactagctggtacca acagaaacctgcccaggctcctaggtctctcatctattttgcaaaaacctagcagaagg aattccagccaggttcagtggtcagtggtatccgggacagacttctactctaccatcagca gcttagcccgtagaagattttgcagtttattactgcaacatcattccgataatccgtggacat tcggccgaagtgaccgaaggttggaatacaaggtggcgggtggtctggcggtggtgat ctggaggagggtggggctagcgagggtgcagctggtgcagctggtgagcagagggtgaaaa agcccgagagagctctgaagatttctctgaaggatccgggtactctacttagctagctaca tatgaactgggtgcgccagatgcgccgggaaggcctggagtggtgggcaatatgtat ccttattatgttggtactactacagcccgacagaggttccagggccaggctactactccgcg acaagttcatcagcaccgcctacctgcaattggagcagcctgaaggccctcggacaccg ccatgtattactgtgcacgctcagtcggccctatggaactactggggccgcgcgccctgg tcactgtctctctgacagggcccaaatctctgacaaaactcacacatctccaccgtg ccagcaccctgaaactcctgggtggcagctcagcttctctctcccccacaaacccga acacctcatgatctccgggagccctgagctacatcgtggtggtggacgtgagccac gaagaccctgaggtcaagttcaactggtagctggagcggcgtggagggtgcataatgcc agacaaagccgcgggaggagcaglacaaacagcagctaccgtgtggtcagcgtctct accgtctctgccaggagactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaagggtctccaac aaagcctcccaagcccccactcaggaataaacatctccaagcgaaggcagcgcgcg agaaccacagggtgtacacctgcgcccatccgggatgagctgaccaagaaccaggt cagcctgacctcctgtgcaaggctcttatccaagcgacatcgcggtggagtgaggaga gcaatgggcagccgggagaacaactacaagaccagcctcccgctgctggtactccgac ggctctctctctcagcagagctcaccgtggaagaagagcaggtggcagcagggga acgtctctcatgctcgtgatgcatgaggtctgcacaaacctactacgcagaaagac ctctccctgctccgggttaaata

[0342]

019050	82	<p>MEAPAQLLFLLLWLPDITTEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASENVSYSYLAWYQQKPGQAPRLIYFAKTLAEGIPARFSGSGS GTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQHHSDNPWTFGGTKVEIKGGG GSGGGGSGGGGASEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYS FTSYNMNVWRQMPGKGLEWMGNIDPYYGGTNYAQKFQGGQ VTISADKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARSVGPMDYWGRG TLVTVSDDQEPKSSDKTHTSPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
019051	83	<p>aagcttgcgcgcaggaagcccccagcagcttctctctctctctccag ataccaccggagaaattgtgtgacacagctccagccaccctgtcttctccagggga aagagccaccctctctccgagcaagtgagaatgtttacagctactagcctggtagca acagaaacctgcccaggtccttaggtctctcatctatcttcaaaaacctagcagaagg gattccagccagattcagtgagcagtggttcggggacagactctactctaccatcagcag cctagagcctgaagatttgcagtttattactgtcaacatcattccgataatccgtggacatt cggccaagggaaccaagggtggaatcaaaaggtggcgggtggctcgggctgggtggat ctggaggaggtgggagcggaggaggagctagcgggtgcagctgggtgcagctctgga gcagaggtgaaaaagcccgagagctctgaagatttctgtaagggaatccgggtactc attcactggctacaatatgaactgggtgcgcagatgcccggaaaggcctcgaatgg atgggcaatatgtatccttattgtgtgtactacctaaccggaagttcaaggccagg tcactatctccgcgacaagtcacatcagcacccgctacctgcaaggagcagcctgaag gcctcggacaccgccaatgttactgtgcacgtcagtcggccttctgactcctggggcc agggcaccctgtgctactgtctcaggtgtccacgtgcccagcacctgaactcctgggtg gaccgtcagttctctctccccccaaaaccgaaggacaccctcatgatctccggaccc ctgaggtcacatgcgtgtgtgtgtgacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaa ctggtacgtggacggcgtggagggtgcataatgccaagacaagcccgaggaggagc agtacacagcagtcaccgtgtgtgcagctcctcaccgtcctgcaccaggactggctg aatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaagccctccagcccccatcgag aaaaccatctccaagccaaggcagccccgagaaaccacaggtgtacaccctgcc cccatccgggagtgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctgggtcaagg ctctatccaagcgacatgcgtggagtgaggagcaatgggagcgggaggaacaa ctacaagaccacgctccgtgtgactccgacggtcctctctctctacagcaagctc accgtggacaagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctcctgtatgatg aggcctctgcacaaccactacacgcagaagacgtctccctgtctccgggtaaatgactc taga</p>

[0343]

019051	84	MEAPQAQLLFLLLWLPDITGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC ASENVVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYFAKTLAEGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSDNPWTFGQGKTVEIKGGG GSGGGGSGGGGSGGGGASEVQLVQSGAEVKKPGESLKISKKG SGYSYFTGYNMNWVRQMPGKGLEWMGNIDGNYGGTTYNRKF KGQVTSADKKSISTAYLQWSSLSKASDTAMYYCARSVGPFDSW GQGTLVTVSSCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYVLTPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK
019008	85	aagcttcggccatggaagcccgagctcagctctctcctcctgactactggctccag ataccacaggagaaattgtgtgacacagctctccagccaccctgtcttgcacaggcga aagagccaccctcctcctcgccagcaagtgaaaattttacagctacttagcctggtacca acagaaacctggccaggctcctaggctcctcatctatttgcacaaaccttagcagaagg aattcagccagggtcaagtggcagtggtatccgggacagacttcactcaccatcagca gcttagagcctgaagatttgcagtttattacttgcacatcattccgataatccgtggacat tcggccaaggggaccaagtggaatacaagggtggcggtggctcggcggtgtgtggat ctggaggaggtgggacgggtgaggtgcagctggtgtgactgtggagcagaggtgaaaa agcccgaggagatctcgaagatttctgtgaaggatccgggtactcattcactgctcaca tatgaactgggtgcgcagatgccccgggaaggcctggagtggtgggcaataattgat ccttattatgtgtgactactacaacgaagtgtaacggccagggtcactatccgcccg acaagtcctacagcaccgctcactcgtgaagtgagcagcgtgaaggcctggacacgg ccatgtattactgtgcacgctcagctgcccttaggtactctggggccgcggccaccctgg tcactgtctcctcgtatcaggagcccaaatctctgacacaaactcacacatctccacogt ccacgacctgaactcctgggtggagcctcagctcttctcttcccccaaaacccaagg acacccctcatgatctccgggacccctgagggtcacatgcgtgggtgtggagctgagccac gagacccctgaggtcgaagtcgaactgtgaactggagcgtggagcgtgacataatgcc agacaaagccgcgggagagcagtgatacaacagcagctgacgtgtgtgtagcgtctct accgtctcgtcaccaggactgctgataatggcaaggagtagacaagtgcagggtctccaac aaagccctccagcccccattcgagaaacacatctccaaagccaaaggcgagccccc agaaccacaggtgtacacccctgcccccattccgggatgagctgaccaagaaccagggt cagctcgtacctcctggtcgaaggctcttattccaagcgacatccggtggagtggggaga gcaatcgagcagccggagacaaactacaaagaccacgcctcctcgtctgactccgac ggctccttctcctctacagcaagctcaccgtggacaaagcagggtggcagcagggga acgtctctcatgctcctggtgatgatgaggtctctgcacaaactacacgcagaaagagc ctctcctcgtctcgggtgaaatga

[0344]

019008	86	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR TSENVVSYSLAWYQKPGQAPRLLIYFAKTLAEGIPARFSGSGS GDTFTLTISSELEDFAVVYQCQHSNDPNWTFGGQGTKEIKGGG GSGGGGSGGGGASEVQLVQSGAEVKKPKGPELSLKSGSGSY FTGYNNMNWVRQMPGKGLEWGMNIDPPYGGTTYNRKFKQV TISADKSIStAYLQWSSLKASDTAMYYCARSVGPMDYWGRT LVTVSSDQEPKSSDKTHTSPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD LMISRTPEVTCVVVDVSHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHLEALHNNHYTKSLSLSPGK
019009	87	aagcttcgcgcgaaggaaagcccgagctcagctctctctcctgactctgctccag ataccaccgctgaaatgtgtgacacacgctccagccaccctgcttctgctccaggcga aagagccaccctctcctgcggaacaagtgaaaattgttacgactactgacctgtgaccaa acagaaacctgcgcgaagctccttaggctcctcatctattttgcaaaaacctagcagaaagg aattccagccagggttcagtcggcagtggaatccgggacagacitcactctaccatcagca ccttagagccctgaagattttgacgtttattactgtcaacatcatccgataatccgtggacat tcggccaagggaacaagggtgaaatcaaaaggtggcggtgctcgggcgtgtgtggtat ctggaggaaggtggggctagcggaggtgcagctgtgtgcagctggagcagaggtgaaaa agcccggaagagctctcagagatttccctgaagggaatccggttactcaattcaatggctacaa ttagtaactgggtgcgcagatgcgccgggaaggccgtgcagtcggatggatggcaalatgat ccttattatgggttgataactctcaaacccggaagctcaaggccagcactactctccgcgg acaagtcactacgacccgctactctgcaatggagcagcctgaaggcctcggacaccg ccatgtattactctgcgcagctcagtcggccctatggactacttgggccgcgcggcaccctgg tctactgtctctctgatcaggagcccaaatctctgcagaaaaactcacacatctccaccgtg ccagaccgctgaactcctgtggcagccgtcagctctctctctctcccccacaaacccaagg acacctcatgatctccggaccctcagggtcacatgcgtgtgtgtgacgtgagccac gaagaccctgaggtcgaagttcaactgtgacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaa agcacaagaacgcgggggagggcagctgaacaacagcacgtaccgtctgtgctcagcgtctct accgtctgcacacgagctggtcgaatggcaaggagtgacaagtgcaaggtctccaac aaagccctccagcccccctatgcagaacaaacctctcaaaaggccaaaggggcagcccg agaaccacaggtgtacacctgcccccactccgggagtgagctgaccaagaaccaggt cagcctgacctgccgtgcaaaaggtctctatccaagcgacatctgccgtggagtgggaga gcaatgggcagccgggaagaacaactacaagaccacgctcccgctgtgacctgcagac gcctctctctctctacagcaagctcaccgtggcagaaagacaggtggcagcaggga acgtctctcatgctcctgtagtcagtgaggtctgcacaacacctacacgcagaagagc ctctcctgctccgggtaaatga

[0345]

019009	88	MEAPAQLFLLLLWLPDTTGEIMLTQSPATLSLSPGERATLSCR TSENVYSYLAWYQQKGPQAPRLLIYFAKTLAEGIPARFSGSGS. GTDFTLTISSELEPDAFVYVCQHHSNDNPWTFGGQTKVEIKGGG GSGGGGSGGGGGAASEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKSGSGYS FTGYNNMNVWRQMPGKGLEWMGNIDPYGGETTYNRKFKGQV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSGVPMDDYWGRGT LVTVSSDQEPKSSDKTHTSPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQQPREPQVYTLPPSRDELTKNPQSRLCLVKGYFSPDAIV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNNHYTKQSLSLSPGK
--------	----	---

[0346]

도면의 간단한 설명

[0145]

도 1a는 TRU-016 분자의 구조를 도시한 것이고; 도 1b는 SDS-PAGE 분석 결과를 나타낸 것으로서, 여기에서는 발현 단백질이 비 환원 조건 하에서 약 110kDa인 마커까지 이동하고, 환원 조건 하에서는 약 52kDa인 마커까지 이동함을 보여주고 있으며; 도 1c는 유동성 혈구 계측법에 의한 분석을 통해, TRU-016 분자가 인간의 말초 혈액 B 림프구에 높은 수준으로 특이적으로 결합하고, 비 B-세포 림프구 게이트 내 기타 세포 하위 군집(CD19 네거티브 군집)에는 훨씬 낮은 수준으로 결합함을 보여주는 것이다.

[0146]

도 2a~도 2e는 상이한 CD37 표적화 시약에 의해 결합이 억제됨을 입증하는 것이다.

[0147]

도 3a는 코브라 독 인자(CVF)의 존재 및 부재 하, 정상적인 인간 혈청 중 라모스(Ramos) B-세포를, TRU-016 분자형에 결합한 FITC C1q와 함께 항온 처리한 결과를 나타내는 것이고; 도 3b는 CVF의 존재 및 부재 하, 정상적인 인간 혈청 중 라모스 B-세포와 함께 항온 처리한 TRU-016 분자형의 CDC 활성을 나타내는 것이며; 도 3c는 라모스 B-세포 및 인간이나 토끼의 보체와 함께 항온 처리한 TRU-016 분자형의 CDC 활성을 나타내는 것이다.

- [0148] 도 4는 TRU-016의 GPC 정제로부터 얻어진 미량 물질의 HPLC 크기별 배제 크로마토그래피(SEC)의 결과를 나타낸 것으로서, 상이한 분획의 흡광도 대 수집된 체류 시간을 바탕으로 그래프로 나타내었다.
- [0149] 도 5a는 SEC 분획의 결합 특성을 나타내는 것이고; 도 5b는 SEC 분획의 CDC 활성을 나타낸 것이며; 도 5c는 SEC 분획의 ADCC 활성을 나타낸 것이다.
- [0150] 도 6은 TRU-015, 리툭산, TRU-016 또는 이들의 조합물의 라모스 B-세포에 있어서의 CDC 활성을 나타낸 것이다.
- [0151] 도 7은 DHL-4 B-세포에 있어서, TRU-015의 CDC 활성에 대한 TRU-016의 효과를 나타내는 것이다.
- [0152] 도 8은 TRU-015와 리툭산의 CDC 활성에 대한 TRU-016의 효과를 나타내는 것이다.
- [0153] 도 9는 CDC 검정법에 있어서 TRU-015에 대한 TRU-016의 효과를 나타내는 것이다.
- [0154] 도 10은 CDC 검정법에 있어서 리툭산에 대한 TRU-016의 효과를 나타내는 것이다.
- [0155] 도 11은 BJAB-세포를 사용하는 ADCC 검정법에 있어서 TRU-015 및 TRU-016의 상호 작용을 나타내는 것이다.
- [0156] 도 12는 다우디(Daudi) 세포를 사용하는 ADCC 검정법에 있어서 TRU-015 및 TRU-016의 상호 작용을 나타내는 것이다.
- [0157] 도 13은 라모스(Ramos) 세포를 사용하는 ADCC 검정법에 있어서 TRU-015 및 TRU-016의 상호 작용을 나타내는 것이다.
- [0158] 도 14는 BJAB-세포를 특이적으로 사멸시키는, 리툭산, TRU-016 및 이들의 조합물의 효과를 나타내는 것이다.
- [0159] 도 15는 BJAB-세포를 특이적으로 사멸시키는, 리툭산, TRU-016 및 이들의 조합물의 효과를 나타내는 것이다.
- [0160] 도 16은 BJAB-세포를 특이적으로 사멸시키는, TRU-015, TRU-016 및 이들의 조합물의 효과를 나타내는 것이다.
- [0161] 도 17은 BJAB-세포를 특이적으로 사멸시키는, TRU-015, TRU-016 및 이들의 조합물의 효과를 나타내는 것이다.
- [0162] 도 18a~도 18d는, TRU-016 이량체 형은 단독으로 CDC를 매개하지 않지만, 시험관 내에서 리툭시맙의 CDC 활성을 촉진함을 나타내는 것이다.
- [0163] 도 19a~도 19b는, 단백질 A 정제 TRU-016은 이량체 형태를 가지게 되어 가교될 때, 라모스 및 다우디 세포의 세포 사멸을 유도함을 나타내는 것이다.
- [0164] 도 20은 TRU-016이 PBMC 배양액으로부터 유래하는 정상 B-세포를 우선적으로 감소시킴을 보여주는 것이다.
- [0165] 도 21은 huIgG과 리툭산을 각각 처리하였을 때, 그리고 TRU-016과 리툭산을 함께 처리하였을 때에 비한, TRU-016의, 동물 내 종양 부피에 대한 효과를 입증하는 것이다.
- [0166] 도 22a 및 도 22b는 TRU-016 이량체 형이 상당한 항-종양 활성을 나타냄을 보여주는 것으로서, 이는, 마우스 이종 이식 종양 모델에서의 종양 부피 및 생존율에 미치는 효과를 측정함으로써 확인할 수 있다.
- [0167] 도 23은 TRU-016 이량체가 MHCII, CD19, CD80/86 또는 CD45 특이 시약으로 처리하여도 CDC 활성을 상승시키지 않음을 입증하는 것이다.
- [0168] 도 24는 TRU-016, 리툭시맙 또는 이들의 조합물로 처리한 후(최대 90일) 라모스 종양이 발생한 마우스의 생존율을 나타내는 것이다.
- [0169] 도 25 및 도 26은 TRU-016 또는 리툭시맙으로 처리한 후(최대 90일) 다우디 종양이 발생한 마우스의 생존율을 나타내는 것이다.
- [0170] 도 27은 TRU-016이 플루다라빈으로 처리된 세포 내 세포의 상대적 자생력을 효과적으로 줄일 수 있으므로, 플루다라빈 단독 처리시 세포 독성 효과를 촉진할 수 있음을 나타내는 것이다.
- [0171] 도 28은 리툭시맙-내성 세포주에 있어서, TRU-016이 허셉틴 또는 리툭시맙 보다 세포 독성이 더욱 강력함을 보여주는 것이다.
- [0172] 도 29는 TRU-016이 CD19+ 1차 CLL B-세포 내 티로신 인산화를 유도함을 나타내는 것이다.
- [0173] 도 30a는 인간화된 TRU-016 구조물(번호: 019001(서열 번호 6)) 및 TRU-016(서열 번호 2)의 공통 아미노산 서열을 나타내는 것이고(번호 메깅 방식은 캐벗 방식에 따름); 도 30b는 3개의 인간화된 TRU-016 구조물(019001,

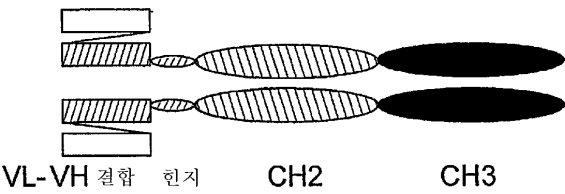
019008 및 109009)의 아미노산 서열의 배열을 나타내는 것이다.

[0174] 도 31은 TRU-016의 3가지 인간화된 구조물(019001, 019041 및 019044)의 DNA 및 아미노산 서열의 배열을 나타내는 것이다.

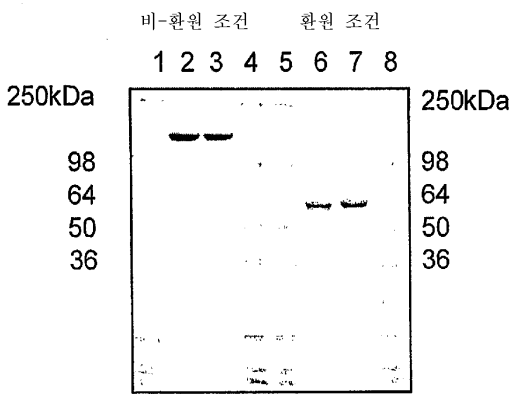
[0175] 도 32는 TRU-016의 동일한 3가지 인간화된 구조물(019001, 019041 및 019044)의 FASTA 방식의 서열 배열을 나타내는 것이다.

도면

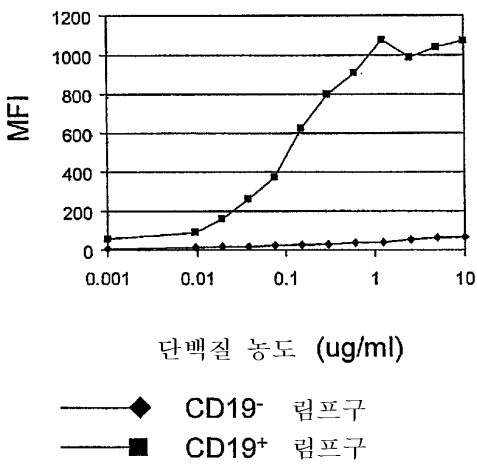
도면1a



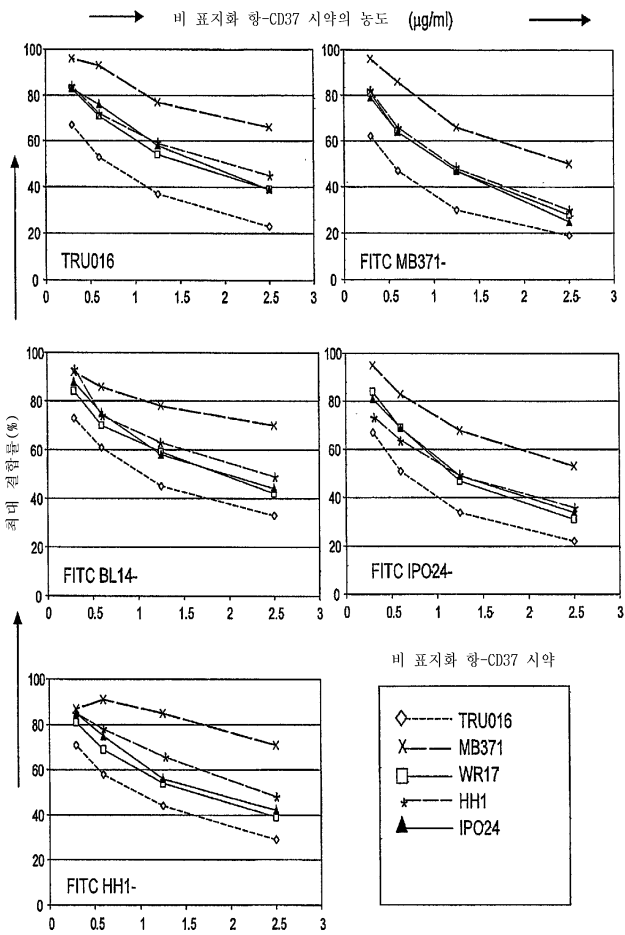
도면1b



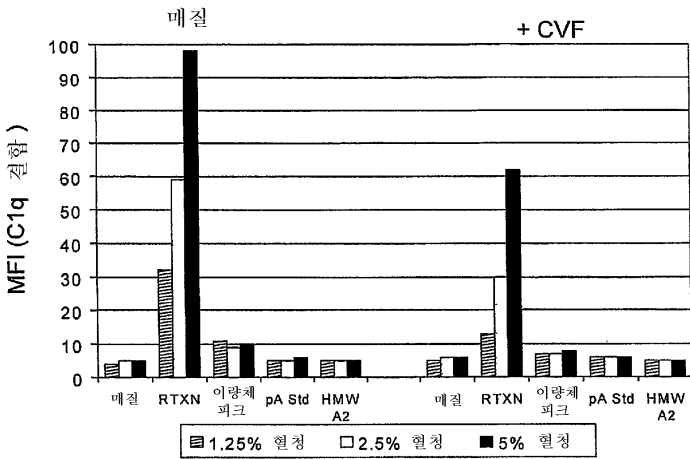
도면1c



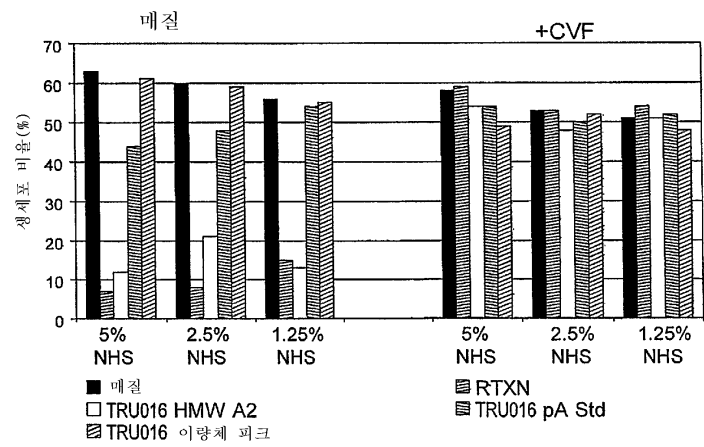
도면2



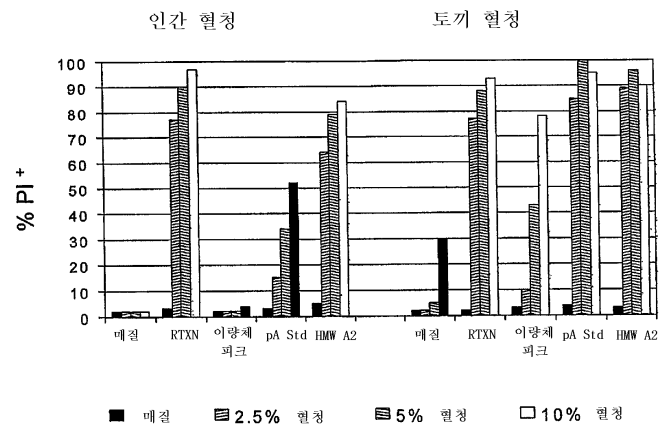
도면3a



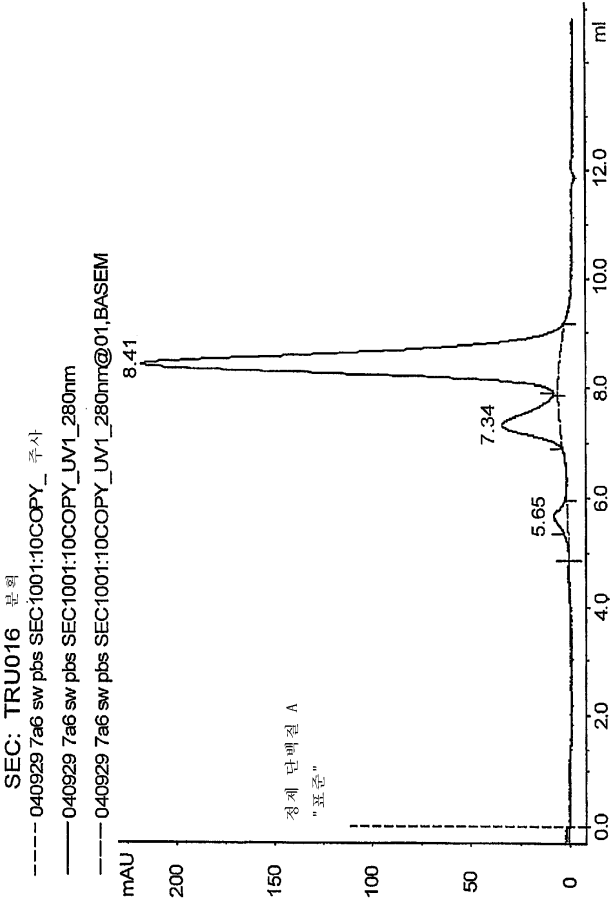
도면3b



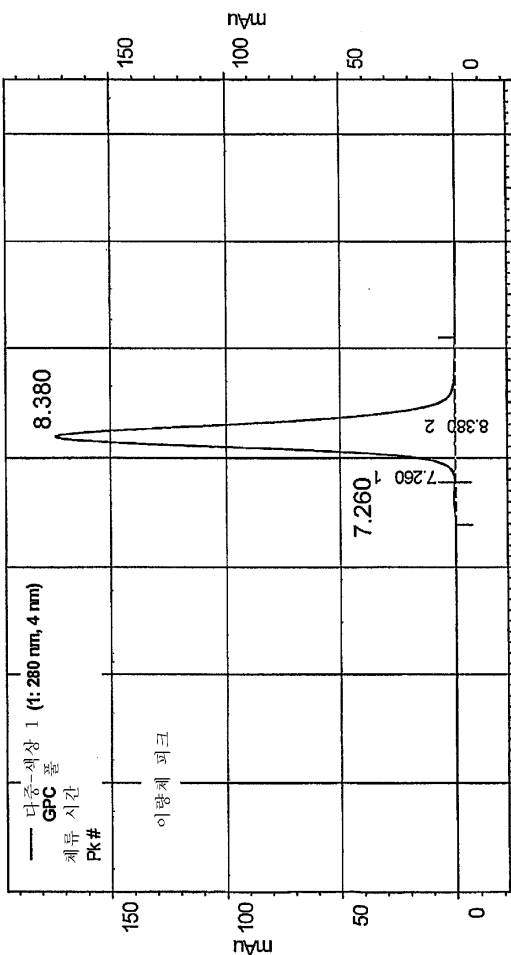
도면3c



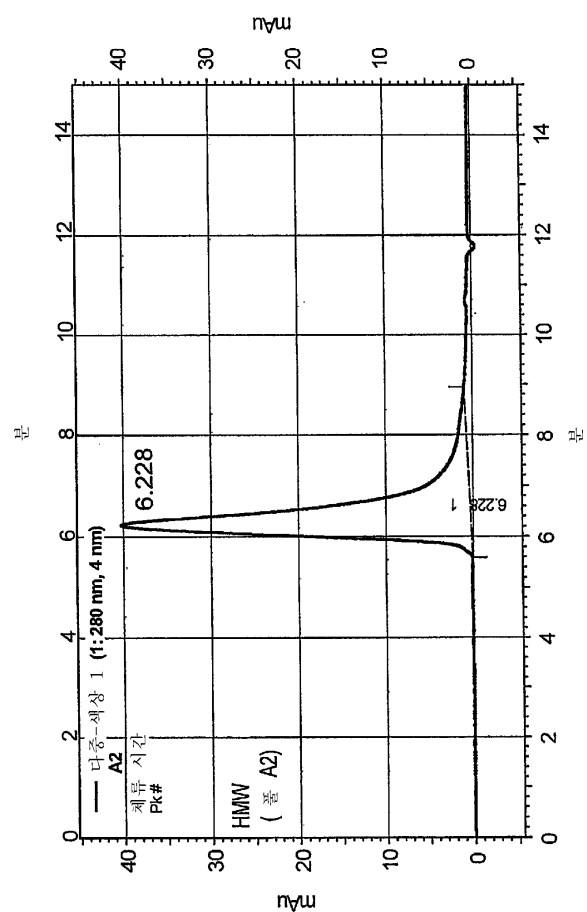
도면4a



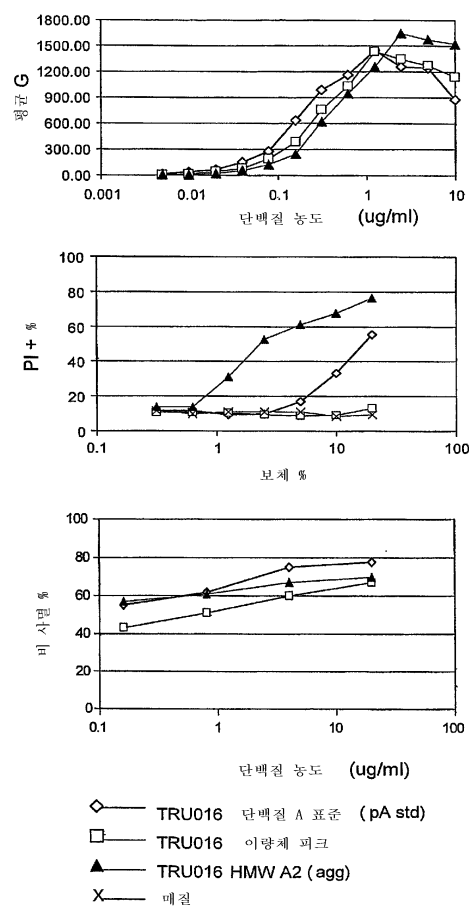
도면4b



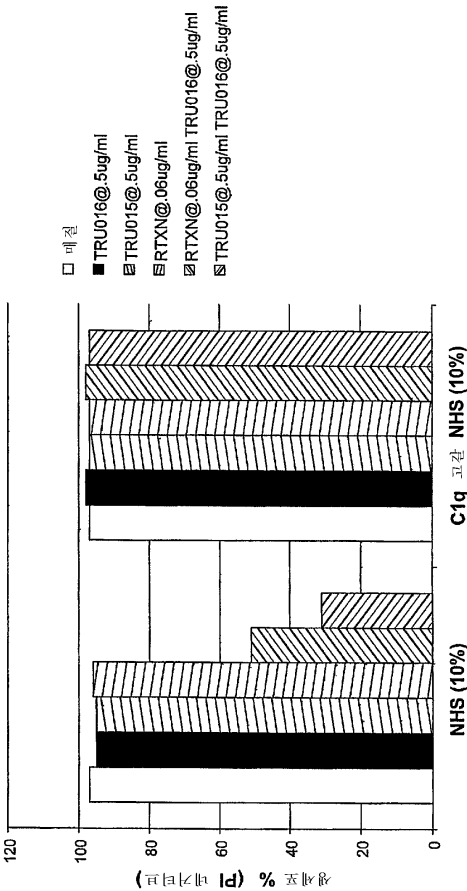
도면4c



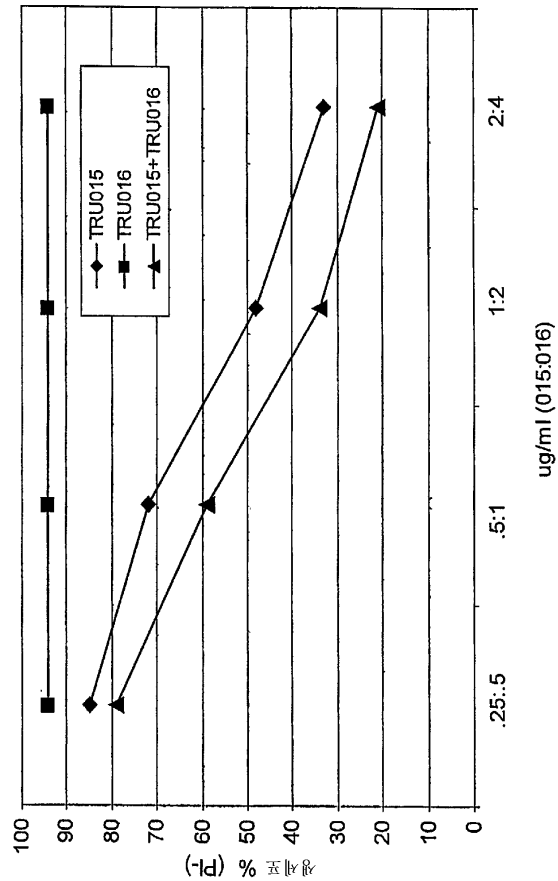
도면5



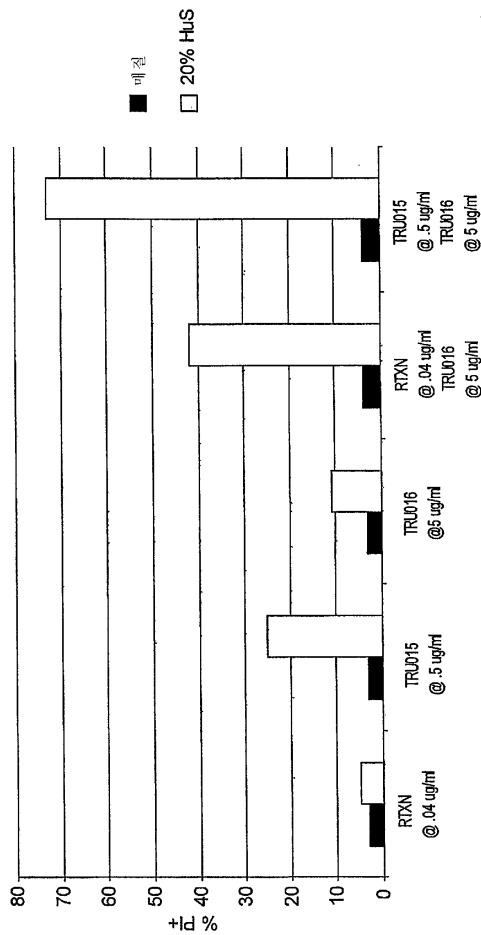
도면6



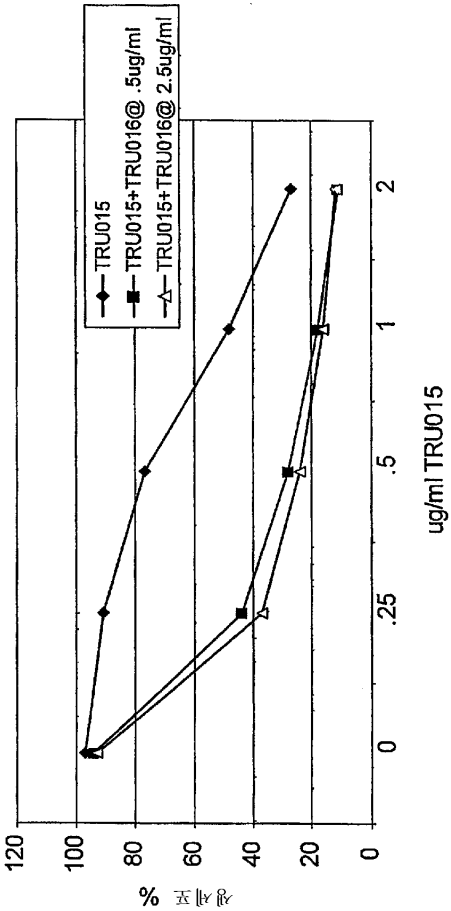
도면7



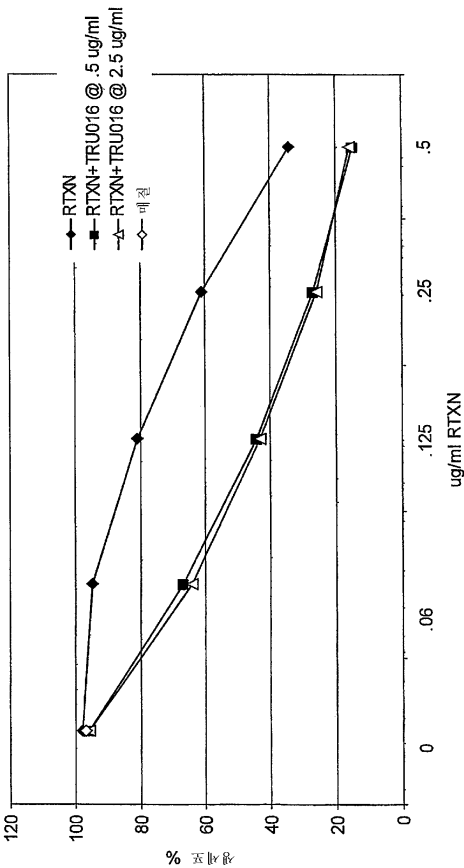
도면8



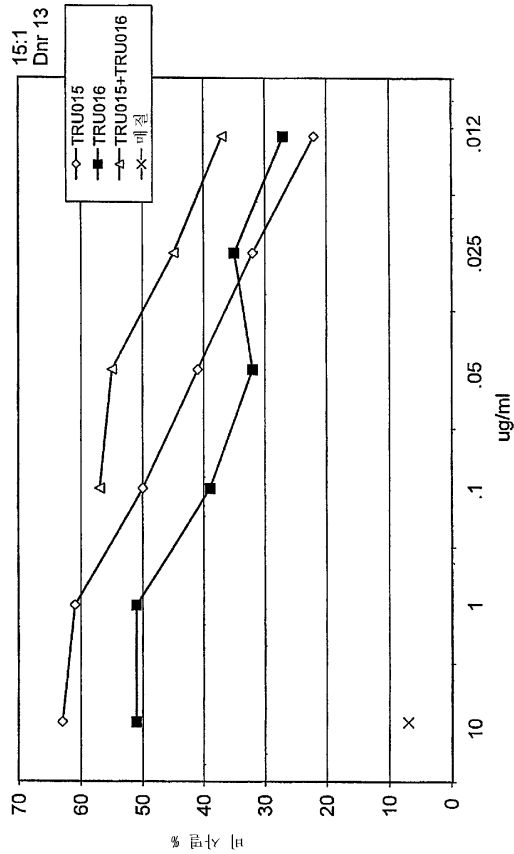
도면9



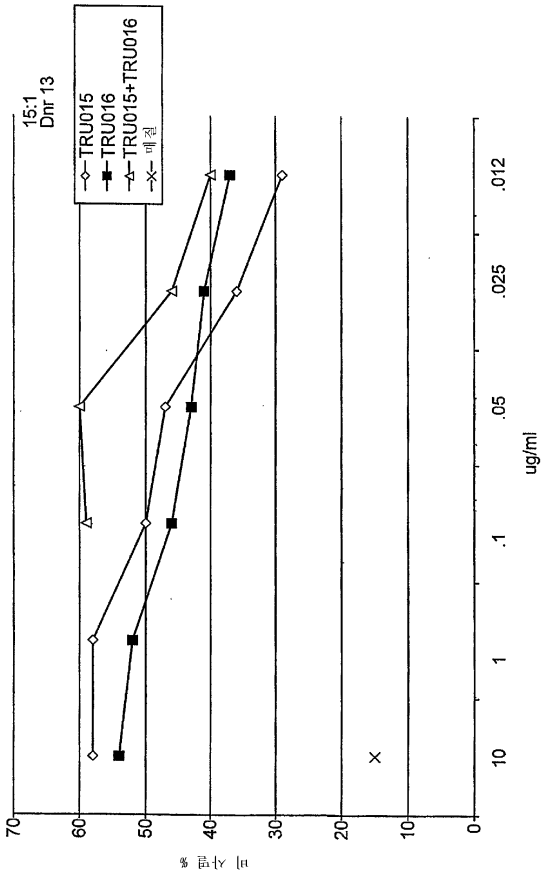
도면10



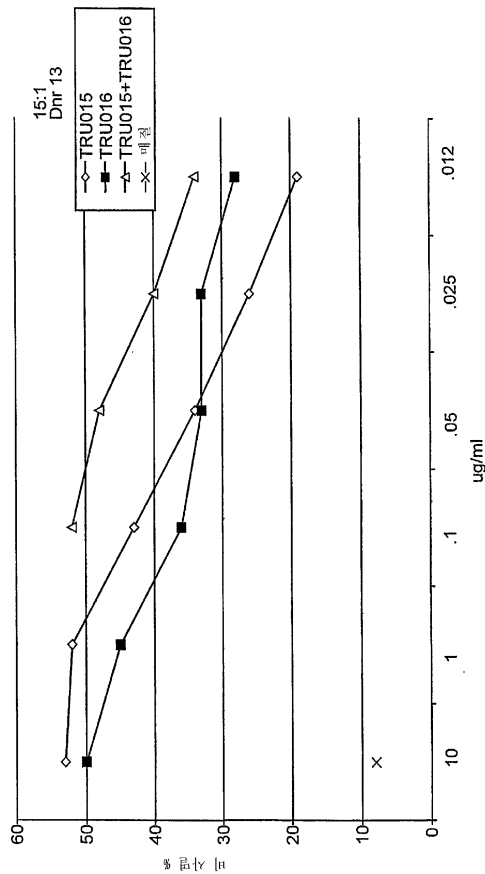
도면11



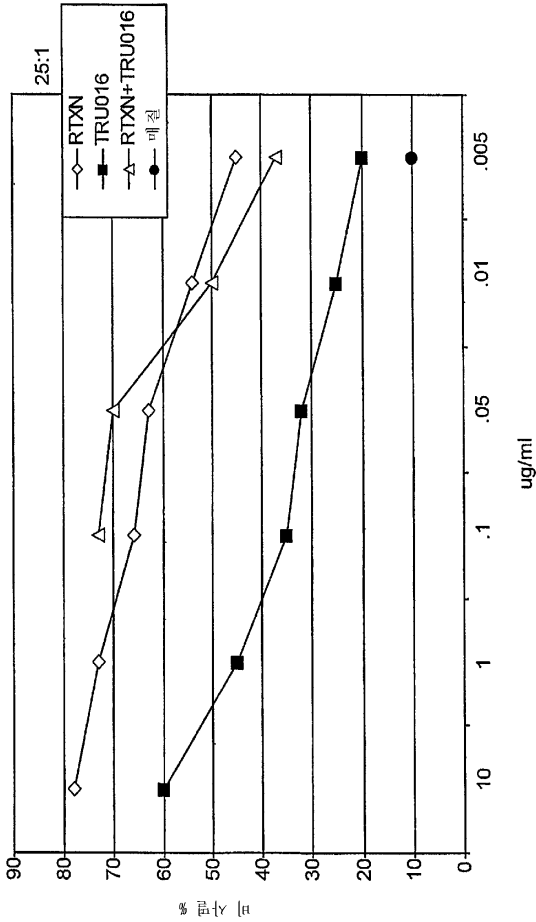
도면12



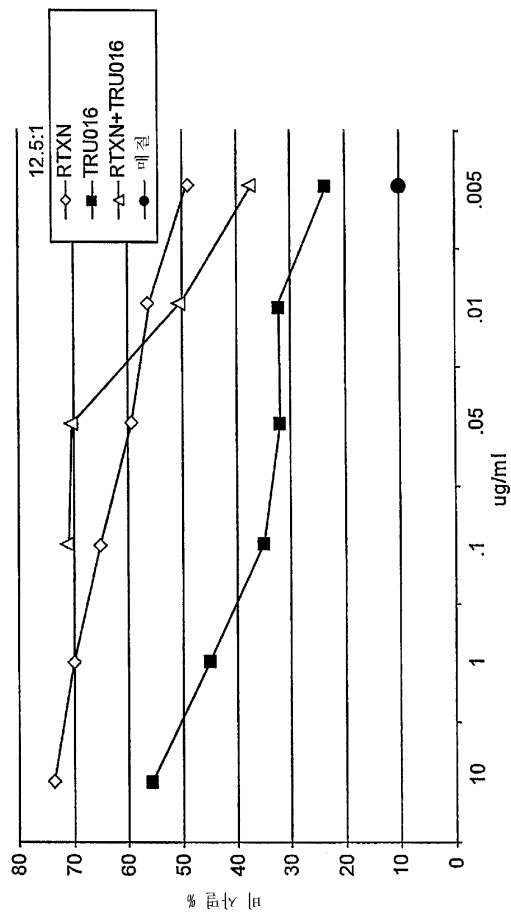
도면13



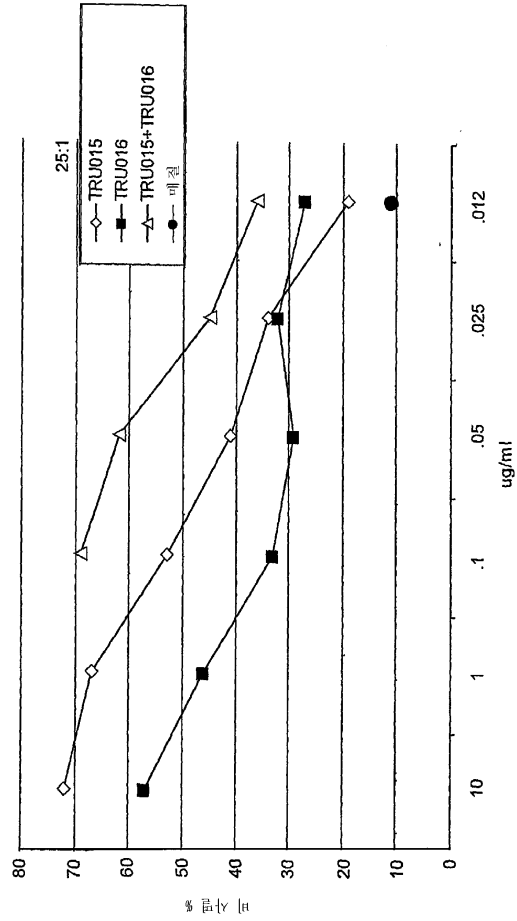
도면14



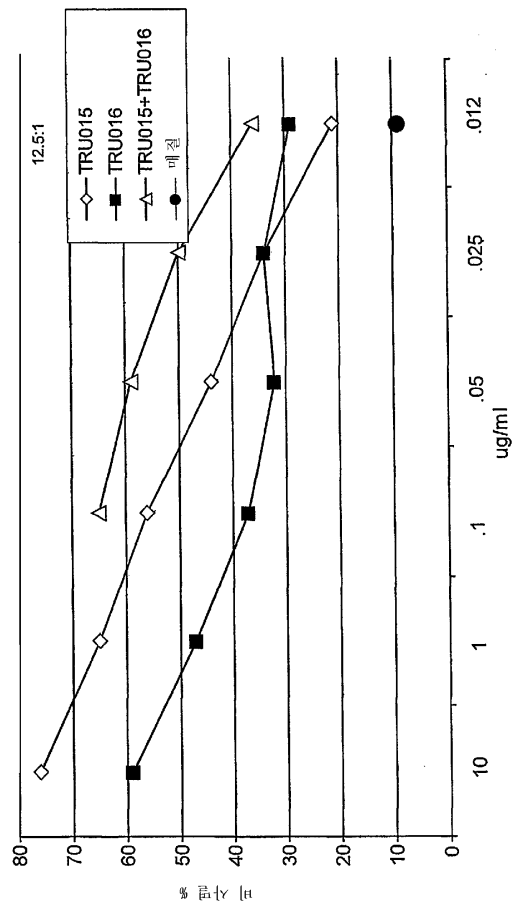
도면15



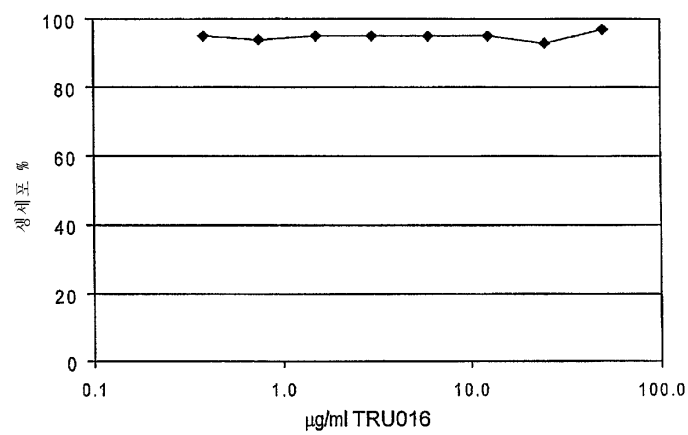
도면16



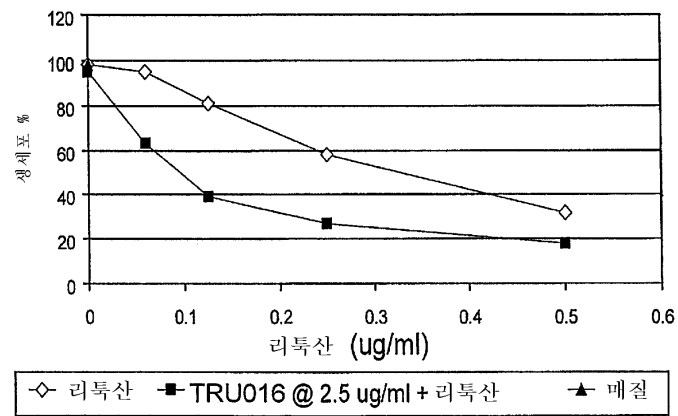
도면17



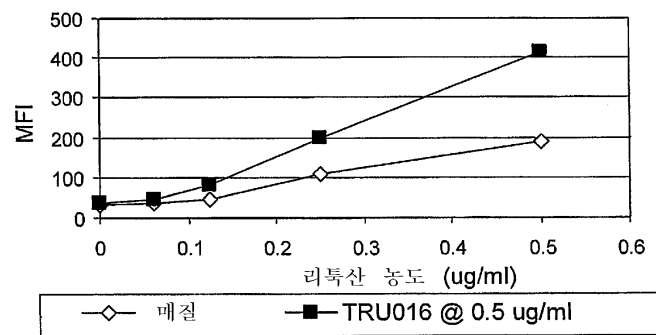
도면18a



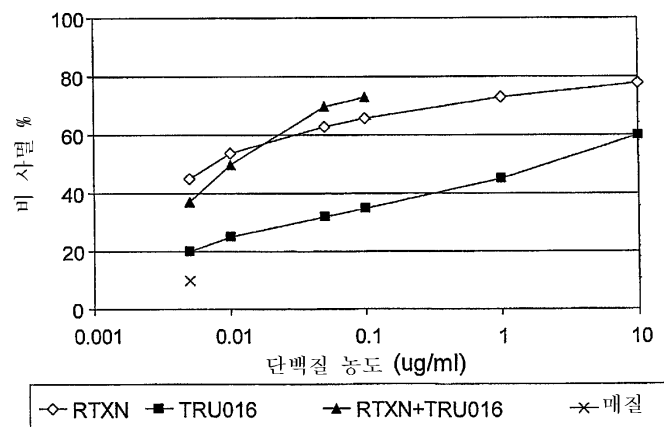
도면18b



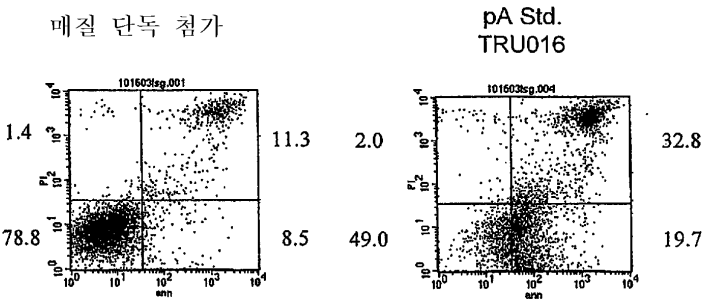
도면18c



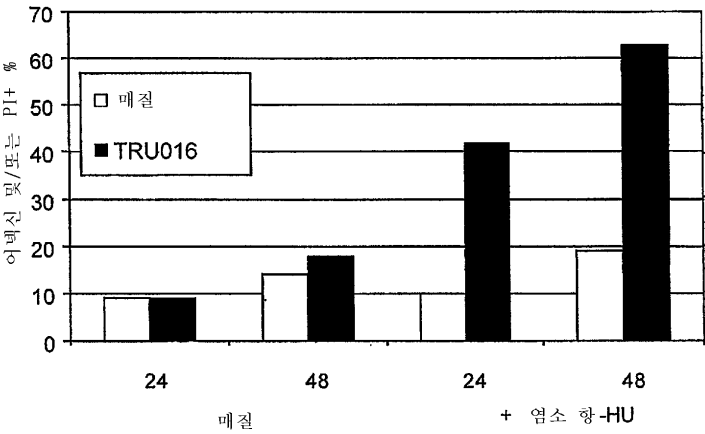
도면18d



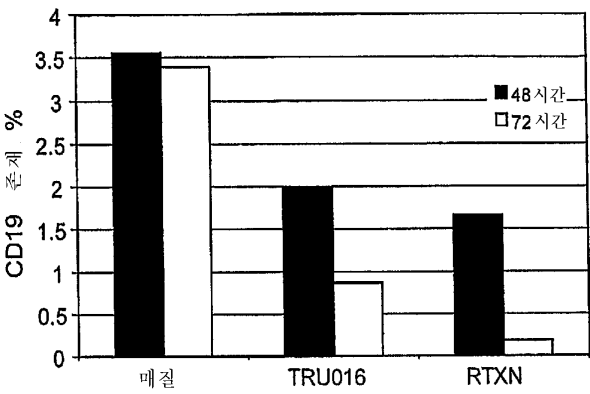
도면19a



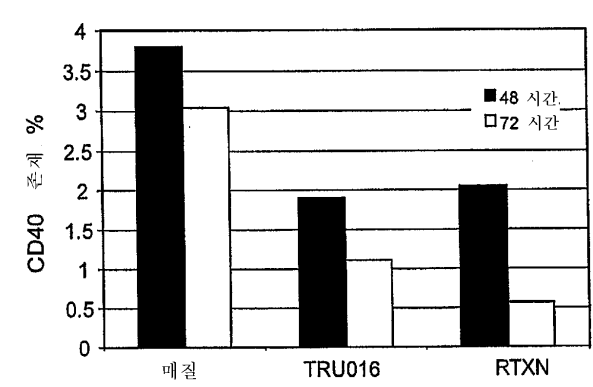
도면19b



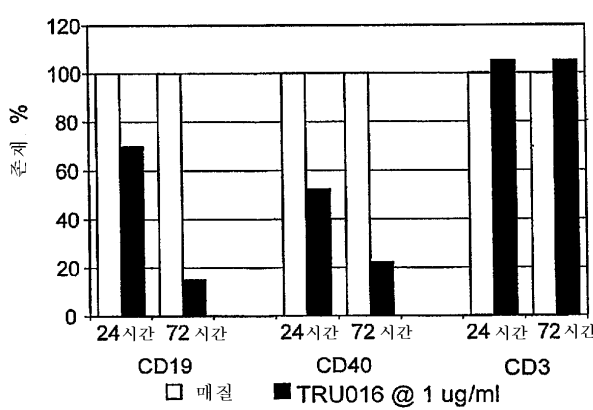
도면20a



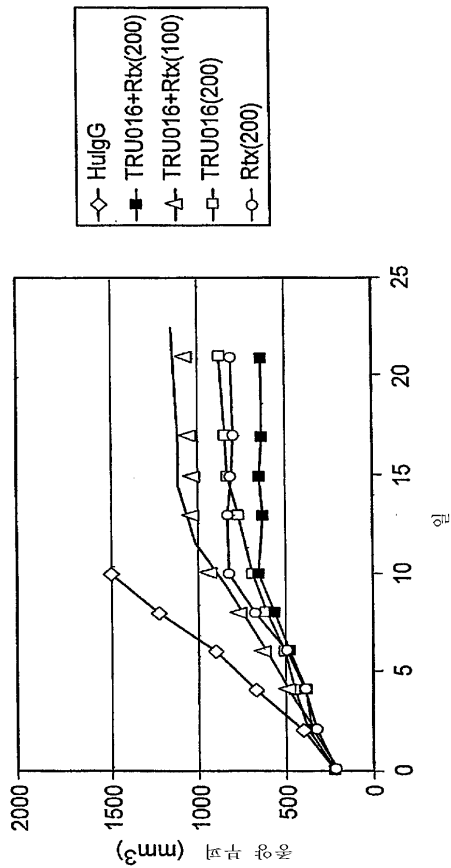
도면20b



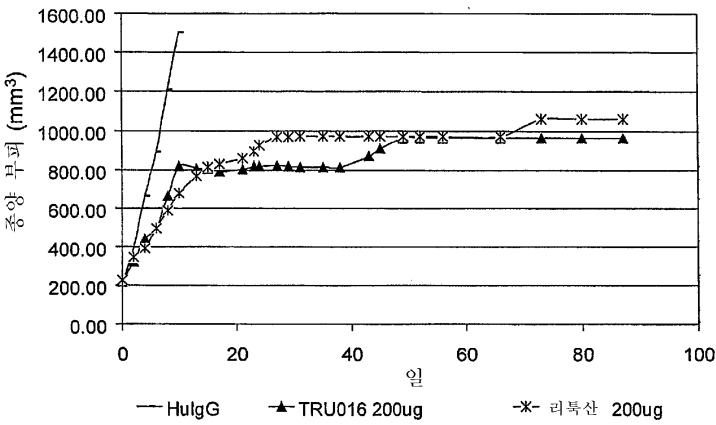
도면20c



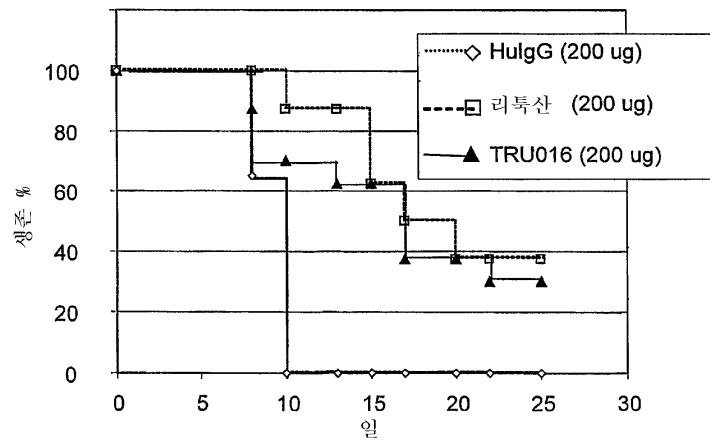
도면21



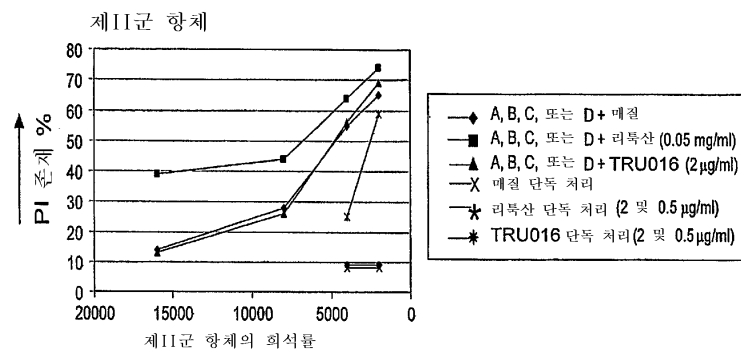
도면22a



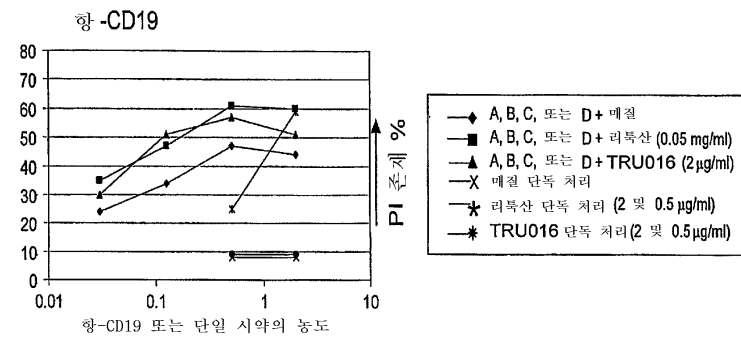
도면22b



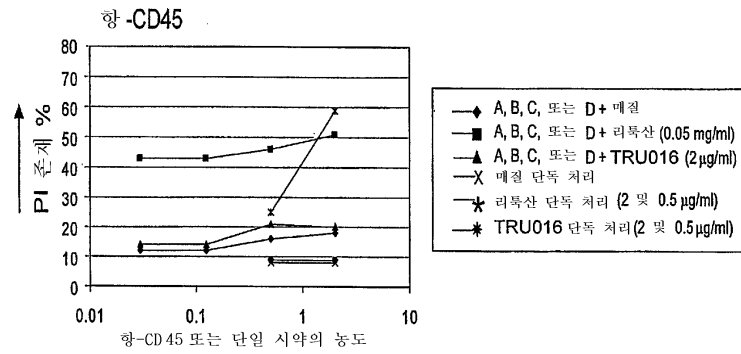
도면23a



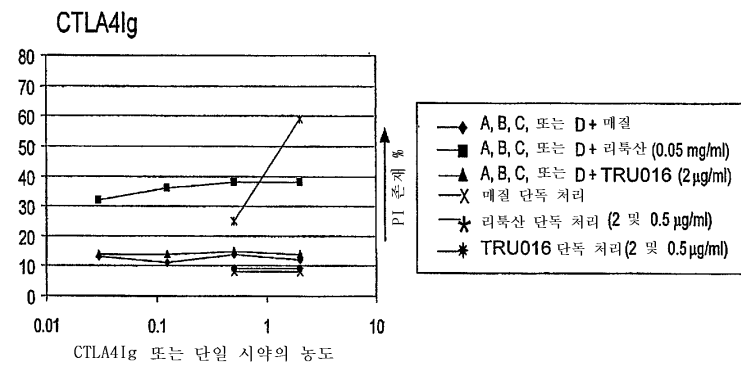
도면23b



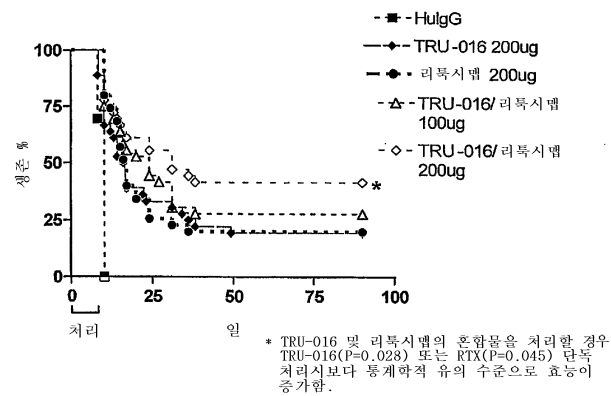
도면23c



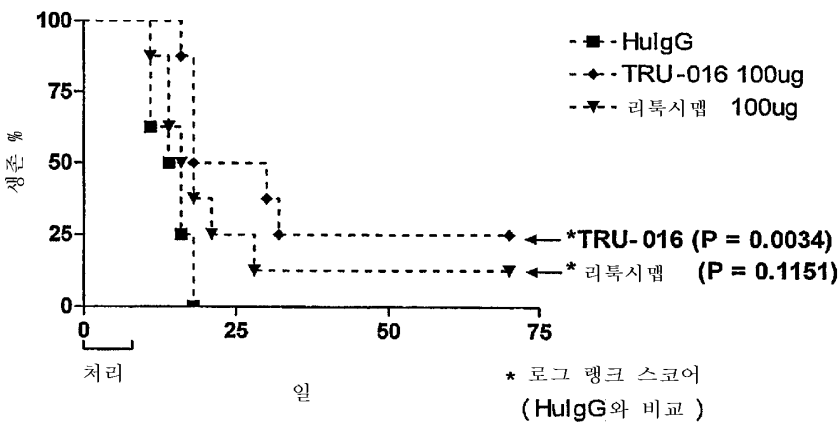
도면23d



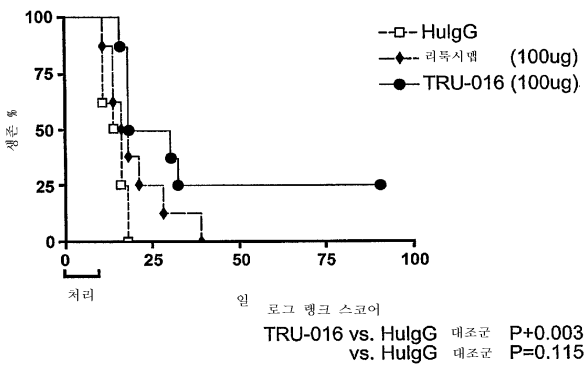
도면24



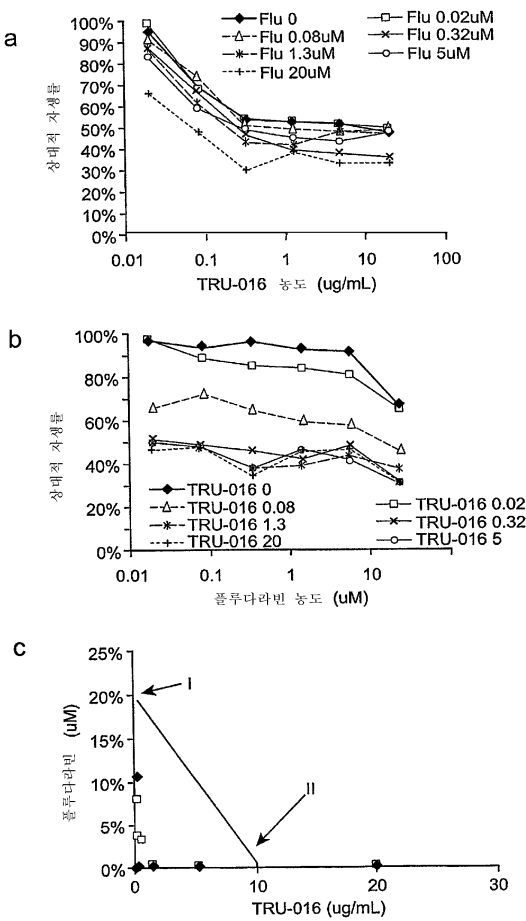
도면25



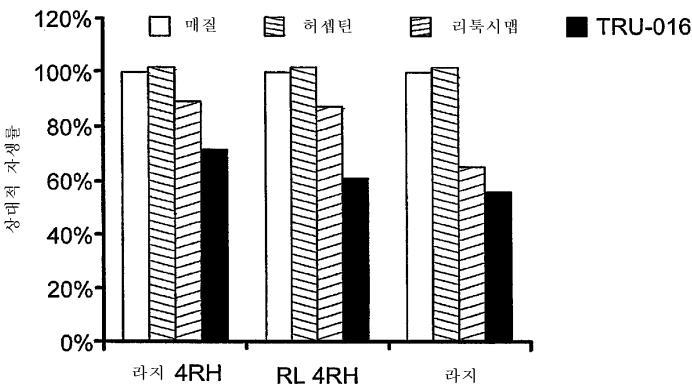
도면26



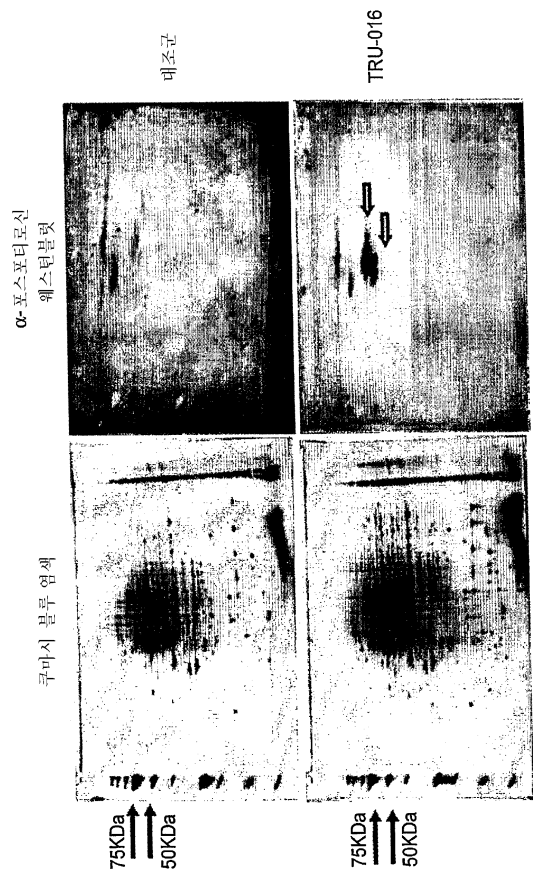
도면27



도면28



도면29



도면30a

	L-FR1	L-CDR1	L-FR2	
016_-G28-1	1			49
H016_-019001	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RTSENVYSYLA	WYQQKQKGSPQLLV	
공통 서열	I TQSPA LS S GE T C	RTSENVYSYLA	WYQQK G P LL	
		I		
	L-CDR2	L-FR3	L-CDR3	
016_-G28-1	50			97
H016_-019001	FAKTLAE GVP5RFSGSGGTQFSLKISSLPEDSGSYFC	QHHSNPNWT		
공통 서열	FAKTLAE G P RFSGSGGT F L ISSL PED	Y C QHHSNPNWT		
	L-FR4	{G4S}3 링커	H-FR1	
016_-G28-1	98		1	30
H016_-019001	FGSGTELEIK GGGGSGGGGSGGGGSS	AVQLQQSGPESEKPGASVKISCKASGYSFT		
공통 서열	FG GT EIK GGGGSGGGGSGGGG	VQL QSG E KPG S KISCK SGYSFT		
	H-CDR1	H-FR2	H-CDR2	
016_-G28-1	31			76
H016_-019001	GYNMN WVKQNGKSLIEWIG	NIDPYYGGTTYNRKFKG	KATLTVDKSSS	
공통 서열	GYNMN WY Q GK LEW G	NIDPYYGGTTYNRKFKG	T DKS S	
	H-FR3	H-CDR3	H-FR4	
016_-G28-1	77			113
H016_-019001	TAYMLQSLTSSEDSAVYYCAR	SVGPMIDY WGGTSTVTSS		
공통 서열	TAY Q SL D A YYCAR	SVGPMIDY WG GT VTVSS		

도면32a

	경쇄FR1.....	_____CDR1_____FR2.....	
019041		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	RASENVYSYLA	WYQQKPGQAPRLLIY	
019044		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	RASENVYSYLA	WYQQKPGQAPRLLIY	
019001		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	RTSENVYSYLA	WYQQKPGQAPRLLIY	
		_____CDR2_____FR3.....	_____CDR3_____FR4....
019041		FAKTLAE	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYC	QHSDNPWT	FGQGTKVEIK
019044		FAKTLAE	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYC	QHSDNPWT	FGQGTKVEIK
019001		FAKTLAE	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYC	QHSDNPWT	FGQGTKVEIK
	중쇄FR1.....	_____CDR1_____FR2.....	
019041		EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	GYNMN	WVRQMPGKGLEWMG	
019044		EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	GYNMN	WVRQMPGKGLEWMG	
019001		EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	GYNMN	WVRQMPGKGLEWMG	
		_____CDR2_____FR3.....		
019041		NIDFYYGGTTYNRKFKG	QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCAR		
019044		NIDFYYGGTTYNRKFKG	QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCAR		
019001		NIDFYYGGTTYNRKFKG	QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCAR		
		_____CDR3_____FR4....		
019041		SVGPFDDY	WGQGLTVTVSS		
019044		SVGPFDDY	WGQGLTVTVSS		
019001		SVGPFDDY	WGQGLTVTVSS		

클러스탈 더블유 (1.83) 다중 서열 배열

```

019041 -----ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTCTCTGCTACTCTGGCTCCCA 48
019044 -----ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTCTCTGCTACTCTGGCTCCCA 48
019001 AAGCTTGCCGCCATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTCTCTGCTACTCTGGCTCCCA 60

```



도면32b



```

*****
019041 GATACCAACCGGAGAAATGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGC 108
019044 GATACCAACCGGAGAAATGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGC 108
019001 GATACCAACCGGAGAAATGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGC 120
*****
019041 GAAAGAGCCACCCTCTCTCTGCCGAGCAAGTGAAGTGTTCACAGCTACTTAGCCTGGTAC 168
019044 GAAAGAGCCACCCTCTCTCTGCCGAGCAAGTGAAGTGTTCACAGCTACTTAGCCTGGTAC 168
019001 GAAAGAGCCACCCTCTCTCTGCCGAGCAAGTGAAGTGTTCACAGCTACTTAGCCTGGTAC 180
*****
019041 CAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCTAGGCTCCTCATCTATTTTGCAAAAACCTTAGCAGAA 228
019044 CAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCTAGGCTCCTCATCTATTTTGCAAAAACCTTAGCAGAA 228
019001 CAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCTAGGCTCCTCATCTATTTTGCAAAAACCTTAGCAGAA 240
*****
019041 GGAATTCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACCTCTCACCATCAGC 288
019044 GGAATTCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACCTCTCACCATCAGC 288
019001 GGAATTCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACCTCTCACCATCAGC 300
*****
019041 AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTTCAGTTTATTAAGTGTCAACATCATTCGATAATCCGTGG 348
019044 AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTTCAGTTTATTAAGTGTCAACATCATTCGATAATCCGTGG 348
019001 AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTTCAGTTTATTAAGTGTCAACATCATTCGATAATCCGTGG 360
*****
019041 ACATTCGGCCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAGGTGGCGGCGGCTCGGGCGGTGGTGA 408
019044 ACATTCGGCCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAGGTGGCGGCGGCTCGGGCGGTGGTGA 408
019001 ACATTCGGCCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAGGTGGCGGCGGCTCGGGCGGTGGTGA 420
*****
019041 TCTGAGGAGGTTGGGACCGGTGAGGTGACAGTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAG 468
019044 TCTGAGGAGGTTGGGACCGGTGAGGTGACAGTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAG 468
019001 TCTGAGGAGGTTGGGACCGGTGAGGTGACAGTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAG 480
*****
019041 CCCGAGAGTCTCTGAAGATTTCTGTAAGGGATCCGGTTACTCATTTCACTGGGTACAAAT 528
019044 CCCGAGAGTCTCTGAAGATTTCTGTAAGGGATCCGGTTACTCATTTCACTGGGTACAAAT 528
019001 CCCGAGAGTCTCTGAAGATTTCTGTAAGGGATCCGGTTACTCATTTCACTGGGTACAAAT 540
*****
019041 ATGAACCTGGGTGCGCCAGATGCCCGGGAAGGCCCTCGAGTGGATGGGCAATATTGATCCT 588
019044 ATGAACCTGGGTGCGCCAGATGCCCGGGAAGGCCCTCGAGTGGATGGGCAATATTGATCCT 588
019001 ATGAACCTGGGTGCGCCAGATGCCCGGGAAGGCCCTCGAGTGGATGGGCAATATTGATCCT 600
*****
019041 TATTATGGTGGTACTACCTACAACCGGAAGTTCAAGGGCCAGGTACATATCTCCGCCGAC 648

```



도면32c



```

019044 TATTATGTTGTTACTACCTACACCGGAAGTTCAAGGGCCAGGTCACTATCTCGCCGAC 648
019001 TATTATGTTGTTACTACCTACACCGGAAGTTCAAGGGCCAGGTCACTATCTCGCCGAC 660
*****

019041 AAGTCCATCAGCACCGCTACCTGCAATGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCATG 708
019044 AAGTCCATCAGCACCGCTACCTGCAATGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCATG 708
019001 AAGTCCATCAGCACCGCTACCTGCAATGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCATG 720
*****

019041 TATTACTGTGCACGCTCAGTCGGCCCTTTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACT 768
019044 TATTACTGTGCACGCTCAGTCGGCCCTTTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACT 768
019001 TATTACTGTGCACGCTCAGTCGGCCCTTTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACT 780
*****

019041 GTCTCCTCTGATCAGGAGCCCAATCTTCTGACAAAATCAGACATCTCCACCGTGCCCA 828
019044 GTCTCCTCTGATCAGGAGCCCAATCTTCTGACAAAATCAGACATCTCCACCGTGCCCA 828
019001 GTCTCCTCTGATCAGGAGCCCAATCTTCTGACAAAATCAGACATCTCCACCGTGCCCA 840
*****

019041 GCACCTGAATCTCTGGGTGGACCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACC 888
019044 GCACCTGAATCTCTGGGTGGACCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACC 888
019001 GCACCTGAATCTCTGGGTGGACCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACC 900
*****

019041 CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTTCACATGCGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGAC 948
019044 CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTTCACATGCGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGAC 948
019001 CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTTCACATGCGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGAC 960
*****

019041 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGTTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG 1008
019044 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGTTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG 1008
019001 CCTGAGGTCAAGTTCAACTGTTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG 1020
*****

019041 CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCTCTCACCCTCTCTGCAC 1068
019044 CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCTCTCACCCTCTCTGCAC 1068
019001 CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCTCTCACCCTCTCTGCAC 1080
*****

019041 CAGGACTGGCTGAATGGCAGAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCACCAAGGCCCTCCAGCC 1128
019044 CAGGACTGGCTGAATGGCAGAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCACCAAGGCCCTCCAGCC 1128
019001 CAGGACTGGCTGAATGGCAGAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCACCAAGGCCCTCCAGCC 1140
*****

019041 CCCATCGAGAAAACCATCTCCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACC 1188
019044 CCCATCGAGAAAACCATCTCCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACC 1188
019001 CCCATCGAGAAAACCATCTCCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACC 1200
*****

```



도면32d



```

019041 CTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTACAGCTGACCTGCTGGTCAAA 1248
019044 CTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTACAGCTGACCTGCTGGTGGTCAAA 1248
019001 CTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTACAGCTGACCTGCTGGTGGTCAAA 1260
*****

019041 GGCCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAGAACAC 1308
019044 GGCCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAGAACAC 1308
019001 GGCCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAGAACAC 1320
*****

019041 TACAAGACCAAGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTC 1368
019044 TACAAGACCAAGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTC 1368
019001 TACAAGACCAAGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTC 1380
*****

019041 ACCGTGACCAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAGCTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG 1428
019044 ACCGTGACCAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAGCTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG 1428
019001 ACCGTGACCAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAGCTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG 1440
*****

019041 GCTCTGCACAAACCATACACGAGAAAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAATGA----- 1482
019044 GCTCTGCACAAACCATACACGAGAAAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAATGA----- 1482
019001 GCTCTGCACAAACCATACACGAGAAAGAGCTCTCCCTGTCTCCGGTAATGATCTAGA 1500
*****

```

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Grosmaire, Laura S.
 Hayden-Ledbetter, Martha S.
 Ledbetter, Jeffrey A.
 Thompson, Peter A.
 Simon, Sandy A.
 Brady, William

<120> CD37 IMMUNOTHERAPEUTICS AND USES THEREOF

<130> EMER-012

<140> National Phase of PCT/US2006/029038

<141> 2006-07-25

<150> US 60/702,499

<151> 2005-07-25

<150> US 60/800,595

<151> 2006-05-16

<160> 226

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1510

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> TRU-016 polynucleotide

<400> 1

aagcttgccg ccattgattt tcaagtgcag attttcagct tctgtctaata cagtgtcttca 60

gtcataattg ccagaggagt cgacatccag atgactcagt ctccagcctc cctatctgca 120

tctgtgggag agactgtcac catcacatgt cgaacaagtg aaaatgttta cagttatttg 180

gcttggtatc agcagaaaaca gggaaaatct cctcagctcc tggctctctt tgcaaaaacc 240

ttagcagaag gtgtgccatc aagggtcagt ggagctggat caggcacaca gttttctctg 300

aagatcagca gcctgcagcc tgaagattct ggaagttatt tctgtcaaca tcattccgat 360

aatccgtgga cgttcggtgg aggcaccgaa ctggagatca aaggtggcgg tggctcgggc 420

gggtgggtgggt cgggtggcgg cggatcgtca gcggtccagc tgcagcagtc tggacctgag	480
tcggaaaagc ctggcgcttc agtgaagatt tctgcaagg cttctggtta ctcattcact	540
ggctacaata tgaactgggt gaagcagaat aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat	600
attgatcctt attatgggtg tactacctac aaccggaagt tcaagggcaa ggccacattg	660
actgtagaca aatcctccag cacagcctac atgcagctca agagtctgac atctgaggac	720
tctgcagtct attactgtgc aagatcggtc ggccctatgg actactgggg tcaaggaacc	780
tcagtcaccg tctcttcaga tctggagccc aaatcttctg aaaaaactca cacatctcca	840
ccgtgcccag cacctgaact cttgggtgga ccgtcagtct tctcttccc cccaaaaccc	900
aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc	960
cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc	1020
aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc	1080
gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc	1140
ctcccagccc ccacgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggacgccccg agaaccacag	1200
gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc	1260
ctggtcaaag gcttctatcc aagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcaaccg	1320
gagaacaact acaagaccac gcctcccgctg ctggactccg acggtctctt ctctcttac	1380
agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg	1440
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa	1500
tgagtctaga	1510

<210> 2
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> TRU-016 polynucleotide

<400> 2

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Val Ile Ile Ala Arg Gly Val Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala
 20 25 30

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

Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly
 50 55 60

Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly
 65 70 75 80

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu
 85 90 95

Lys Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Gln
 100 105 110

His His Ser Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu
 115 120 125

Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140

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

Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
165 170 175

Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu
180 185 190

Trp Ile Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg
195 200 205

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr
210 215 220

Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
245 250 255

Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
260 265 270

His Thr Ser Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
275 280 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
290 295 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305 310 315 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
325 330 335

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

340 345 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
355 360 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
370 375 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385 390 395 400

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
405 410 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
420 425 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
435 440 445

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

<210> 3
<211> 1518
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> TRU-015 polynucleotide

<400> 3

aagcttgccg ccatggattt tcaagtgcag attttcagct tctgctaata cagtgtctca	60
gtcataatgt ccagaggaca aattgtttct tcccagcttc cagcaatcct gtctgcatct	120
ccaggggaga aggtcacaaat gacttgcagg gccagctcaa gtgtaagtta catgcactgg	180
taccagcaga agccaggatc cteccccaaa ccttgattt atgccccatc caacctggct	240
tctggagtcc ctgctcgctt cagtggcagt gggctctggga cctcttactc tctcacaatc	300
agcagagtgg aggtcgaaga tgctgccact tattactgcc agcagtggag ttttaacca	360
cccacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaagatg gcggtggctc gggcgggtgt	420
ggatctggag gaggctggag ctctcaggct tatctacagc agtctggggc tgagtcggtg	480
aggcctgggg cctcagtga gatgtcctgc aaggcttctg gctacacatt taccagttac	540
aatatgcact gggtaaagca gacacctaga cagggcctgg aatggattgg agctatttat	600
ccaggaaatg gtgatacttc ctacaatcag aagttcaagg gcaaggccac actgactgta	660
gacaaatcct ccagcacagc ctacatgcag ctacagagcc tgacatctga agactctgcg	720
gtctatttct gtgcaagagt ggtgtactat agtaactctt actggtactt cgatgtctgg	780
ggcacaggga ccacggtcac cgtctctgat caggagccca aatcttgtga caaaactcac	840
acatctccac cgtgctcagc acctgaactc ctgggtggac cgtcagttct cctcttcccc	900
ccaaaaccca aggacacct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg	960
gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg	1020
cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc	1080
gtcctcaccg tctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc	1140

aacaaagccc tccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagcccca 1200

gaaccacagg tgiacacct gccccatcc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc 1260

ctgacctgcc tggtaaagg cttctatcca agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1320

gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1380

ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1440

tgctccgtga tgcattaggg tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1500

ccgggtaaat gatctaga 1518

<210> 4
 <211> 499
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> TRU-015 polynucleotide

<400> 4

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Val Ile Met Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser
 50 55 60

Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
100 105 110

Ser Phe Asn Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
115 120 125

Asp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
130 135 140

Gln Ala Tyr Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Ser Val Arg Pro Gly Ala
145 150 155 160

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
165 170 175

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Arg Gln Gly Leu Glu Trp Ile
180 185 190

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
195 200 205

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
210 215 220

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
225 230 235 240

Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
245 250 255

Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Cys
260 265 270

Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Ser Ala Pro Glu Leu Leu Gly
275 280 285

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
290 295 300

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
305 310 315 320

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
325 330 335

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
340 345 350

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
355 360 365

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
405 410 415

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
485 490 495

Pro Gly Lys

<210> 5

<211> 1482

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 5

atggaagccc cagctcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtagca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggctcct catctatttt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa 360

gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt 420

gggaccggtg aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg tgaaaaagcc cggagagtct 480

ctgaagattt cctgtaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg 540

cgccagatgc cgggaaaagg cctcgagtgg atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtactatct cgcgcgacaa gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca cgcctatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcacc cggtcactgt ctctctgat 780

caggagccca aatcttctga caaaactcac acatctccac cgtgcccagc acctgaactc 840

ctgggtggac cgtcagtcctt cctcttcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc 900

cggaccctg aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 960

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1020

cagtacaaca gcacgtaccg tgtgttcagc gtcttcaccg tctgcacca ggactggctg 1080

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1140

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc 1200

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg ctctatcca 1260

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag 1320

cctcccgtgc tggactccga cggctcttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1380

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1440

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1482

<210> 6
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 6

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 7
<211> 1482
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 7
atggaagccc cagctcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggtcct catctatctt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct	300
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa	360
gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt	420
gggagctctg aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg tgaaaaagcc cggagagtct	480
ctgaagattt ccgttaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg	540
cgccagatgc cgggaaagg cctcagtggt atgggcaata ttgatccta ttatggtggt	600
actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgaca gtccatcagc	660
accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca	720
cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcacc tggtcactgt ctctctgat	780
caggagccca aatctttctga caaaactcac acatctccac cgtgcccagc acctgaactc	840
ctgggtggac cgtcagctct cctcttcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc	900
cggaccctg aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag	960
ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag	1020
cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg	1080
aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa	1140
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc	1200
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg ctcttatcca	1260
agcgacatcg ccgtggagt ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag	1320
cctcccgctg tggactccga cggctcttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag	1380

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgcctcgtga tgcattgaggc tctgcacaac 1440

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1482

<210> 8

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 8

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 9
<211> 1482
<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 9

atggaagccc cagctcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga	60
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc	120
ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct	180
ggccaggctc ctaggtcctt catctatctt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc	240
aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct	300
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgcccaa	360
gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt	420
gggaccgggt aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagt cgaaaaagcc cggagagtct	480
ctgaagattt cctgtaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg	540
cgccagatgc ccgggaaagg cctcgagtgg atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt	600
actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgacaa gtccatcagc	660
accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca	720
cgtcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggtcactgt ctctctgat	780
caggagccca aatcttctga caaaactcac acatctccac cgtgcccagc acctgaactc	840
ctgggtggac cgtcagtcct cctcttcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc	900
cggacccttg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag	960

ttcaactggg acgtggacgg cgtggagggtg cataatgccca agacaaagcc gcgggaggag 1020

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcttgacca ggactggctg 1080

aatggcaagg agtacaagtg caaggctctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1140

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 1200

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatcca 1260

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1320

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1380

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgcctcgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1440

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1482

<210> 10
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 10

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
 35 40 45

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

50

55

60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr

245

250

255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

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

435

440

445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 11

<211> 1482

<212> DNA

<213> Artificial sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Humanized TRU-016

<400> 11

atggaagccc cagctcagct tetettctct ctgtactct ggctcccaga taccaccgga 60

gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtca aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggtcct catctatfff gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa 360

gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt 420

gggaccggtg aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg taaaaaagcc cggagagtct 480

ctgaagattt cctgtaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg 540

cgccagatgc ccgggaaagg cctcagtggt atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtactatctt ccgccgacaa gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgccatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgccggcacc ttgtcactgt ctctctgat 780

caggagccca aatcttctga caaaactcac acatctccac cgtgcccagc acctgaactc 840

ctgggtggac cgtcagtcct cctcttcccc caaaaccca aggacaccct catgatctcc 900

cggacccttg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 960

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1020

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tctgcacca ggactggctg 1080

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1140

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccaccatc 1200

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg ctcttatcca 1260

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1320

cctcccgtagc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1380

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgagc tctgcacaac 1440

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1482

<210> 12
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 12

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Gln Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

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

180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

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

370

375

380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 13

<211> 1482

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 13

atggaagccc cagctcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtga aagtgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggtcct catctatitt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa 360

gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtgtggatc tggaggaggt 420

gggaccgggt aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg tgaaaaagcc cggagagtct 480

ctgaagattt cctgtaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg 540

cgccagatgc ccgggaaagg cctcagtggt atgggcaata ttgatccta ttatgttggt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtactatct ccgccgaca gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcacc ttgtcactgt ctctctgat 780

caggagccca aatcttctga caaaactcac acatctccac cgtgcccagc acctgaactc 840

ctgggtggac cgtcagtcct cctcttcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc 900

cggaccctg aggtcacatg cgtgtgtgtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 960

ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1020

cagtacaaca gcacgtaccg tgtgttcagc gtctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1080

aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1140

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc 1200

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg ctctatcca 1260

agcgacatcg ccgtggagt ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag 1320

cctccgtgc tggactccga cggctcttc ttctctaca gcaagtcac cgtggacaag 1380

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1440

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1482

<210> 14

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 14

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Ser
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly

115	120	125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu		
130	135	140
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser		
145	150	155
160		
Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn		
165	170	175
Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly		
180	185	190
Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys		
195	200	205
Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu		
210	215	220
Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala		
225	230	235
240		
Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr		
245	250	255
Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser		
260	265	270
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu		
275	280	285
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
290	295	300
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys		

305											310											315											320
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys																		
				325					330								335																
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu																		
				340					345								350																
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys																		
				355					360								365																
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys																		
				370					375								380																
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser																		
385								390								395								400									
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys																		
				405								410								415													
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln																		
				420								425								430													
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly																		
				435								440								445													
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln																		
450								455								460																	
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn																		
465								470								475								480									
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys																					
				485								490																					

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 15

atggaagccc cagctcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga	60
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc	120
ctctcctgcc gagcaagiga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct	180
ggccaggctc ctaggtcctt catctatctt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc	240
aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct	300
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgcccaa	360
gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt	420
gggaccggtg aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg tgaaaaagcc cggagagtct	480
ctgaagattt ccigtaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg	540
cgccagatgc ccgggaaagg cctcagtggt atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt	600
actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgacaa gtccatcagc	660
accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca	720
cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggctactgt ctctctgat	780
caggagccca aatcttctga caaaactcac acatctccac cgtgcccagc acctgaactc	840
ctgggtggac cgtcagtcct cctcttcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc	900
cggaccctg aggtcacatg cgtggtgggt gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag	960
ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag	1020

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tctgcacca ggactggctg 1080

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1140

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gcccccatcc 1200

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatcca 1260

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1320

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1380

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgagc tctgcacaac 1440

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaata ga 1482

<210> 16
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 16

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

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

435	440	445
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
450	455	460
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
465	470	475 480
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
485	490	
<210> 17		
<211> 1479		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> Humanized TRU-016		
<400> 17		
atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgtactctt ggctcccaga taccaccggt	60	
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga gactgtcacc	120	
atcacatgtc gaacaagtga aaatgtttac agttatttgg cttggtatca gcagaaacag	180	
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctctttt gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccatca	240	
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttctctga agatcagcag cctgcagcct	300	
gaagattctg gaagttattt ctgtcaacat cattccgata atccgtggac gttcggtgga	360	
ggcacccgaac tggagatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtgggtc ggggtggcggc	420	
ggagctagcg aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg tgaaaaagcc cggagagtct	480	
ctgaggattt cctgtaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg	540	

cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgacaa gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgccatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgccggcacc tggtcactgt ctctcagc 780

gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccgt gcccagcacc tgaactctg 840

ggtggaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg 900

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctccaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1479

<210> 18
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 18

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro
50 55 60

Gln Leu Leu Val Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu
130 135 140

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

Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

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

370

375

380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 19

<211> 1479

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 19

atggaagcac cagcgagct tctcttcctc ctgtactctt ggctcccaga taccaccggt 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggtcct catctatitt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc	240
aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct	300
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa	360
gggaccaagg tggaaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtagtggatc tggaggaggt	420
ggagctagcg cggtcagct gcagcagctt ggacctgagt cgaaaagcc tggcgcttca	480
gtgaagattt cctgcaaggc ttctggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg	540
aagcagaata atggaaagag ccttgagtgg attggaata ttgatcctta ttatgttgtt	600
actacctaca accggaagtt caagggaag gccacattga ctgtagaca atcctccagc	660
acagcctaca tgcagctcaa gactctgaca tctgaggact ctgcagtcta ttactgtgca	720
agatcggtcg gccctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctcgagc	780
gagcccaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccgt gcccagcacc tgaactcctg	840
ggtggaccgt cagtttctt ctcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctccgg	900
accctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	960
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagcccg ggaggagcag	1020
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagctc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	1080
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	1140
atctccaaag ccaaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatccgg	1200
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	1260
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccagcct	1320
cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	1380

agggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaata 1479

<210> 20
<211> 492
<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 20

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Ala
130 135 140

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

Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
210 215 220

Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 21
<211> 1479

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 21

atggaagcac cagcgagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc	120
ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct	180
ggccaggctc ctaggctcct catctatfff gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc	240
aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct	300
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgcccaa	360
gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt	420
ggagctagcc aggtgcagct ggtggagtct ggtggaggcg tggccagcc tgggaggtcc	480
ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg gctacaatat gaactgggtc	540
cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt	600
actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgacaa gtccatcagc	660
accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgccatgta ttactgtgca	720
cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggtcactgt ctctcagac	780
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tctccaccgt gcccagcacc tgaactcctg	840
ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctccgg	900
acctctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc	960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccatt cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 1260

gacatgcgcg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgctctgg actccgacgg ctcttcttct ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1479

<210> 22
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 22

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Gln
130 135 140

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
145 150 155 160

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr

245

250

255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

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

435	440	445
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
450	455	460
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
465	470	475 480
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
485	490	
<210> 23		
<211> 1503		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> Humanized TRU-016		
<400> 23		
atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60	
gcggtccagc tgcagcagtc tggacctgag tcggaaaagc ctggcgcttc agtgaagatt	120	
tcctgcaagg ctcttggtta ctattcact ggctacaata tgaactgggt gaagcagaat	180	
aatggaaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt attatggtgg tactacctac	240	
aaccggaagt tcaagggaac ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac	300	
atgcagctca agagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatcggtc	360	
ggccctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcttctgg tggcgggtggc	420	
tcgggcggtg gtgggtcggg tggcggcgga tcaggaggag gcgggagtgc tagcgaaatt	480	
gtgttgacac agtctccagc caccctgtct ttgtctccag gcgaaagagc caccctctcc	540	

tgccgaacaa gtgaaaatgt ttacagctac ttagcctggt accaacagaa acctggccag	600
gtccttaggc tctcatcta ttttgcaaaa accttagcag aaggaattcc agccaggttc	660
agtggcagtg gatccgggac agacttact ctcacatca gcagcctaga gcctgaagat	720
tttgagttt attactgtca acatcattcc gataatccgt ggacattcgg ccaagggacc	780
aaggtggaat tcaaaggctc gagcgagccc aaatcttctg acaaaactca cacatctcca	840
ccgtgcccag cacctgaact cctgggtgga ccgtcagtct tctcttccc cccaaaacc	900
aaggacacc tcatgatctc ccggaccct gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc	960
cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc	1020
aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtctcacc	1080
gtctgcacc aggactggct gaatggcaag gactacaagt gcaaggctc caacaaagcc	1140
ctcccagccc ccacgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggagccccg agaaccacag	1200
gtgtacacc tgccccatc ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc	1260
ctggtcaaag gcttctatcc aagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg	1320
gagaacaact acaagaccac gcctccctg ctggactccg acggtcctt cttctctac	1380
agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg	1440
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa	1500
tga	1503

<210> 24
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 24

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Ser Glu
20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
35 40 45

Phe Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr
65 70 75 80

Asn Arg Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Glu Ile
145 150 155 160

Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg
165 170 175

Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr Leu Ala
180 185 190

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Phe
195 200 205

Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp
225 230 235 240

Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp Thr Phe
245 250 255

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser Ser Glu Pro Lys Ser
260 265 270

Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305 310 315 320

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
405 410 415

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
485 490 495

Ser Pro Gly Lys
500

<210> 25
<211> 1488
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 25
atggattttc aagtcagat tttagcttc ctgctaatca gtgcttcagt cataattgcc 60

agaggagtcg aaattgtgtt gacacagtct ccagccaccc tgtctttgtc tccaggcgaa 120

agagccaccc tctcctgccg aacaagtga aatgtttaca gctacttagc ctggtaccaa 180

cagaaacctg gccaggctcc taggtcctc atctattttg caaaaacctt agcagaagga 240

attccagcca ggttcagtgg cagtggatcc gggacagact tcactctcac catcagcagc 300

ctagagcctg aagattttgc agtttattac tgtcaacatc attccgataa tccgtggaca 360

ttcggccaag ggaccaaggt ggaaatcaaa ggtggcggtg gtcgggaggg tgggtgatct 420

ggaggagggtg gagctagcgc ggtccagctg cagcagctctg gacctgagtc ggaaaagcct 480

ggcgcttcag tgaagatttc ctgcaaggct tctggttact cattcactgg ctacaatatg 540

aactgggtga agcagaataa tggaaagagc cttgagtggg ttggaaatat tgatccttat 600

tatggtggta ctacctacaa ccggaagttc aagggaagg ccacattgac ttagacaaa 660

tcctccagca cagcctacat gcagctcaag agtctgacat ctgaggactc tgcagtctat 720

tactgtgcaa gatcggtcgg ccctatggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc 780

tcctcgagcg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat ctccaccgtg cccagcacct 840

gaactcctgg gtggaccgtc agtcttctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg 900

atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agacctgag 960

gtcaagtcca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1200

ccatccccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaagcttc 1260

tatccaagcg acatgccgtt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gtcaccgtg 1380

gacaagagca ggtaggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatga 1488

<210> 26
 <211> 495
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 26

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Val Ile Ile Ala Arg Gly Val Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
 20 25 30

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr
 35 40 45

Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 50 55 60

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly
 65 70 75 80

Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 85 90 95

Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
100 105 110

His His Ser Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
115 120 125

Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

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

Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
165 170 175

Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu
180 185 190

Trp Ile Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg
195 200 205

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr
210 215 220

Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
245 250 255

Ser Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
260 265 270

Thr Ser Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
275 280 285

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
290 295 300

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
305 310 315 320

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
325 330 335

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
340 345 350

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
355 360 365

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
370 375 380

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
385 390 395 400

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
405 410 415

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
420 425 430

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
435 440 445

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
450 455 460

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
465 470 475 480

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

485

490

495

<210> 27
<211> 1503
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 27
atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gcggtccagc tgcagcagtc tggacctgag tcggaaaagc ctggcgcttc agtgaagatt 120

tcctgcaagg cttctggtta ctcttctact ggctacaata tgaactgggt gaagcagaat 180

aatggaaga gccttgagtg gattggaaat attgatcctt attatggtgg tactacctac 240

aaccggaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 300

atgcagctca agagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatcggtc 360

ggccctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcttctgg tggcgggtggc 420

tcgggcggtg gtgggtcggg tggcggcgga tcaggaggag gcgggagtgc tagcgaaatt 480

gltgtgacac agtctccagc caccctgtct ttgtctccag gcgaaagagc caccctctcc 540

tgccgaacaa gtgaaaatgt ttacagctac ttagcctggt accaacagaa acctggccag 600

gtctctaggc tctctatcta ttttgcaaaa accttagcag aaggaattcc agccaggttc 660

agtggcagtg gatccgggac agacttcaact ctccacctca gcagcctaga gcctgaagat 720

tttgcagttt attactgtca acatcattcc gataatccgt ggacattcgg ccaagggacc 780

aaggtggaaa tcaaaggtc gagcgagccc aaatcttctg acaaaactca cacatgccca 840

ccgtgcccag cacctgaact cctgggtgga ccgtcagtct tctcttccc cccaaaaccc 900

aaggacaccc tcattgatctc ccggaccctt gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc 960

cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 1020

aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc 1080

gtcctgcacc aggactggct gaattggcaag gattacaagt gcaaggcttc caacaaagcc 1140

ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 1200

gigtacaccc tgcccccatc ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc 1260

ctggtcaaag gcttctatcc aagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 1320

gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggtcctt ctctctctac 1380

agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1440

atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1500

tga 1503

<210> 28
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 28

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Ser Glu
 20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
35 40 45

Phe Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr
65 70 75 80

Asn Arg Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Glu Ile
145 150 155 160

Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg
165 170 175

Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr Leu Ala
180 185 190

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Phe
195 200 205

Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp
225 230 235 240

Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp Thr Phe
245 250 255

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser Ser Glu Pro Lys Ser
260 265 270

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305 310 315 320

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
405 410 415

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
485 490 495

Ser Pro Gly Lys
500

<210> 29
<211> 1479
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 29
atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgtactctt ggctcccaga taccaccggt 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggctcct catctatitt gcaaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa aggtggcggt ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt 420
 ggagctagcg cggiccagct gcagcagtct ggacctgagt cggaaaagcc tggcgcttca 480
 gtgaagattt cctgcaaggc ttctggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg 540
 aagcagaata atggaaagag ccttgagtgg attggaata ttgatcctta ttatggtggt 600
 actacctaca accggaagtt caagggaag gccacattga ctgtagacaa atcctccagc 660
 acagcctaca tgcagctcaa gagtctgaca tctgaggact ctgcagtcta ttactgtgca 720
 agatcggtcg gccctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctctgagc 780
 gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 840
 ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctcccgg 900
 accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc 960
 aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctccaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1140
 atctcaaag ccaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acacctgcc cccatcccgg 1200
 gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 1260
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgct 1320
 cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct ctctacagca agtcaccgt ggacaagagc 1380
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac 1440
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1479

<210> 30
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 30

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
 100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Ala
 130 135 140

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

Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
210 215 220

Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 31

<211> 1479

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 31
atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagiga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggctcct catctatfff gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtgtggatc tggaggaggt 420

ggagctagcg cggctccagct gcagcagtct ggacctgagt cggaaaagcc tggcgcttca 480

gtgaagattt cctgcaaggc ttctggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg 540

aagcagaata atggaaagag ccttgagtgg attggaata ttgatcctta ttatgttgtt 600

actacctaca accggaagtt caagggaag gccacattga ctgtagaca atcctccagc 660

acagcctaca tgcagctcaa gagtctgaca tctgaggact ctgcagtcta ttactgtgca 720

agatcggctg gccctatgga ctactggggg caaggaacct cagtcaccgt ctctcgagc 780

gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 840

ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg 900

accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctacacgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcacctg ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1479

<210> 32
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 32

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Ala
130 135 140

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

Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
210 215 220

Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 33
<211> 1479
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 33
atggaagcac cagcgagct tctctctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtagca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggctcct catctatctt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgcccaa 360

gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt 420

ggagctagcc aggtgcagct ggtggagtct ggtggaggcg tggccagcc tgggaggtcc 480

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg gctacaatat gaactgggtc 540

cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgacctta ttatgtgtgt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgcgcagaa gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggtcactgt ctctcagagc 780

gagcccaaat ctctcgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 840

ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg 900

accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaagctt ctatccaagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1479

<210> 34
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 34

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Gln
130 135 140

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
145 150 155 160

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

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

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

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgccaa	360
gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggt ggctcggcg gtggtggatc tggaggagt	420
ggagctagcc aggtgcagct ggtggagtct ggtggaggcg tggccagcc tgggaggtcc	480
ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg gctacaatat gaactgggtc	540
cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt	600
actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgacaa gtccatcagc	660
accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca	720
cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggtcactgt ctctcagc	780
gagcccaat ctctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg	840
ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctcccg	900
acctctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc	960
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagcccg ggaggagcag	1020
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	1080
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	1140
atctccaaag ccaaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acacctgcc cccatcccg	1200
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	1260
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgct	1320
cccgctctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	1380
aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc tccgtgatgc atgaggtct gcacaaccac	1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaata

1479

<210> 36

<211> 492

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 36

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Gln

130

135

140

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
145 150 155 160

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 37

<211> 1476

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 37

atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc	120
ctctctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct	180
ggccaggctc ctaggtcct catctatctt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc	240
aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct	300
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa	360
gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtgtgggatc tggaggaggt	420
ggggctagcg aggtgcagct ggtggagtct ggtggaggct tggccagcc tggagggtcc	480
ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg gctacaatat gaactgggtc	540
cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgatcctta ttatgttggt	600
actacctaca accggaagtt caagggccag gtactatct ccgccgaca gtccatcagc	660
accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca	720
cgctcagtgc gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggtcactgt ctctcgagc	780
gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccgt gccagcacc tgaactcctg	840
ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctcccgg	900
accctgagg tcacatgctt ggtgtgtggc gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc	960
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	1020
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctacacgtcc tgcaccagga ctggctgaat	1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcacctg ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1476

<210> 38
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 38

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu
130 135 140

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
145 150 155 160

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 39
<211> 1476
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 39
atggaagcac cagcgagct tctctctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctcaggcga aagagccacc 120

ctctctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggctcct catctatctt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgccaa 360

gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtgtggatc tggaggaggt 420

ggggctagcg aggtgcagct ggtggagtct ggtggaggct tggccagcc tggagggtcc 480

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg gctacaatat gaactgggtc 540

cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgacctta ttatgttgt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgcgcagaa gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggtcactgt ctctcagagc 780

gagcccaaat ctctcgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 840

ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg 900

accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctccacgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaagctt ctatccaagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctctcttctt ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1476

<210> 40
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 40

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu
130 135 140

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
145 150 155 160

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

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

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

385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210>	41
<211>	1476
<212>	DNA
<213>	Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 41
atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggctcct catctatttt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgccaa 360

gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtggtggatc tggaggaggt 420

ggggctagcg aggtgcagct ggtggagtct ggtggaggct ctgtccagcc tggagggtcc 480

ctgagactct ccgtgcagc ctctggattc accttcagt gctacaatat gaactgggtc 540

cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgatccta ttatggtggt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgacaa gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcacc tggtcactgt ctctcagac 780

gagcccaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 840

ggtggaccgt cagtcttct ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctccgg 900

acctctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1140

atctcaaag ccaaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acacctgcc cccatcccg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 1260

gacatgcgg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccagcct 1320

ccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc ctctacagca agtcaccgt ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa

1476

<210> 42

<211> 492

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 42

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu

130

135

140

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly Ser
145 150 155 160

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 43

<211> 1476

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 43

atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc	120
ctctctgcc gaacaagtga aaatgtttac agctacttag cctggtacca acagaaacct	180
ggccaggctc ctaggctcct catctatttt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc	240
aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct	300
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcggccaa	360
gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtgtgggatc tggaggaggt	420
ggggctagcg aggtgcagct ggtggagtct ggtggaggct ctgtccagcc tggagggtcc	480
ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagt gctacaatat gaactgggtc	540
cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atgggcaata ttgatcctta ttatgttggt	600
actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgaca gtccatcagc	660
accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca ccgccatgta ttactgtgca	720
cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcaccc tggtcactgt ctctcagac	780
gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg	840
ggtggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctcccgg	900
accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc	960
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	1020
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctacacgtcc tgcaccagga ctggctgaat	1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaaggcca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct ctctacagca agctcacctg ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1476

<210> 44
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 44

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu
130 135 140

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly Ser
145 150 155 160

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

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

260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 45
<211> 1482
<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 45
atggaagccc cagctcagct tctcttcttc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggcga aagagccacc 120

ctctcctgcc gagcaagtca aagtgtttac agctacttag cctggtagca acagaaacct 180

ggccaggctc ctaggctcct catctatctt gcaaaaacct tagcagaagg aattccagcc 240

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat cattccgata atccgtggac attcgcccaa 360

gggaccaagg tggaatcaa aggtggcggg ggctcgggcg gtgtgggatc tggaggaggt 420

gggaccggtg aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg tgaaaaagcc cggagagtct 480

ctgaagattt cctgtaaggg atccggttac tcattcactg gctacaatat gaactgggtg 540

cgccagatgc ccgggaaagg cctcagtggt atgggcaata ttgatcctta ttatggtggt 600

actacctaca accggaagtt caagggccag gtcactatct ccgccgacaa gtccatcagc 660

accgcctacc tgcaatggag cagcctgaag gcctcggaca cgcctatgta ttactgtgca 720

cgctcagtcg gccctatgga ctactggggc cgcggcacc cggcactgt ctctctgat 780

caggagccca aatcttctga caaaactcac acatctccac cgtgcccagc acctgaactc 840

ctgggtggac cgicagtctt cctcttcccc ccaaaacca aggacaccct catgatctcc 900

cggaccctg aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 960

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1020

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tcctgcacca ggactggctg 1080

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1140

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc 1200

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg ctctatcca 1260

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag 1320

ctccccgtgc tggactccga cggctcttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1380

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1440

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1482

<210> 46
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 46

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

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

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

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

385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210>	47
<211>	1500
<212>	DNA
<213>	Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

```
<400> 47
aagcttgccg ccaatggaagc cccagcgcag ctctctcttc tcttgctact ctggctccca    60

gataccaccg gagaaattgt gttgacacag tctccagcca ccctgtcttt gtctccaggc    120

gaaagagcca ccctctcctg ccgagcaagt gaaaatgttt acagctactt agcctggtac    180

caacagaaac ctggccaggc tcttaggctc ctcatctatt ttgcaaaaac cttagcagaa    240

ggaattccag ccaggttcag tggcagtgga tccgggacag acttcactct caccatcagc    300
```

agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcaac atcattccga taatccgtgg 360
 acattcggcc aagggaccaa ggtggaaatc aaaggtggcg gcggctcggg cgggtgtgga 420
 tctggaggag gtgggaccgg tgaggtgcag ctggtgcagt ctggagcaga ggtgaaaaag 480
 cccggagagt ctctgaagat ttcctgtaag ggatccggtt actcattcac tggctacaat 540
 atgaactggg tgcgccagat gcccgggaaa ggctcagagt ggatgggcaa tattgatcct 600
 tattatggtg gtactaccta caaccggaag ttcaagggcc aggtcactat ctccgccgac 660
 aagtccatca gcaccgccta cctgcaatgg agcagcctga aggcctcgga caccgccatg 720
 tattactgtg cacgtcagc cgccctttc gactactggg gccagggcac cctggtcact 780
 gtctcctctg atcaggagcc caaatcttct gacaaaactc acacatctcc accgtgccca 840
 gcacctgaac tcttgggtgg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900
 ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 960
 cctgaggta agttcaactg gtacgtggac ggctgaggagg tgcataatgc caagacaaag 1020
 ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1080
 caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc 1140
 cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1200
 ctgcccccat cccgggaatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 1260
 ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 1320
 tacaagacca cgcctccgt gctggactcc gacggctcct tcttctcta cagcaagctc 1380
 accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgtccgt gatgcatgag 1440
 gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atgatctaga 1500

<210> 48
<211> 493
<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 48

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Thr Gly Glu

130

135

140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

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

325

330

335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 49

<211> 356

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 49

gctagcgagg tgcagctggg gcagctctgga gcagaggtga aaaagcccgg agagtctctg 60
 aagatttcct gtaagggtac cggttactca ttacttggt acaatatgaa ctgggtgcgc 120
 cagatgcccc ggaaggcct ggagtgatg ggcaatattg atccttatta tgggtgtact 180
 acctacaacc ggaagttcaa gggccaggtc actatctccg ccgacaagtc catcagcacc 240
 gcctacctgc aatggagcag cctgaaggcc tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc 300
 tcagtgcggc ctatggacgt ctggggccaa ggcaccactg tcactgtctc ctcgag 356

<210> 50

<211> 143

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 50

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly
130 135 140

<210>	51
<211>	1381
<212>	DNA
<213>	Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 51	
aagcttgccg ccatggaagc cccagcgcag ctctctcttc tctgtctact ctggctccca	60
gataccaccg gagaaattgt gttgacacag tctccagcca ccctgtcttt gtctccaggc	120
gaaagagcca ccctctcctg ccgagcaagt gaaaatgttt acagctactt agcctggtac	180
caacagaaac ctggccaggc tcttaggctc ctcatctatt ttgcaaaaac cttagcagaa	240
ggaattccag ccaggttcag tggcagtgga tccgggacag acttcactct caccatcagc	300
agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcaac atcattccga taatccgtgg	360
acattcggcc aagggaacaa ggtggaaatc aaaggtggcg gtggctcggg cgggtgtgga	420
tctggaggag gtgggaccgg tgaggtgcag ctgggtgcagt ctggagcaga ggtgaaaaag	480

cccggagagt ctctgaagat ttctgtgaag ggatccggtt actcattcac tggctacaat 540
 atgaactggg tgcgccagat gcccgggaaa ggctctgagt ggatgggcaa tattgatcct 600
 tattatgggtg gtactaccta caaccggaag ttcaagggcc aggtcactat ctccgccgac 660
 aagtccatca gcaccgccta cctgcaatgg agcagcctga aggcctcgga caccgccatg 720
 tattactgtg cagctcagt cggccctttc gactcctggg gccagggcac cctggtcact 780
 gtctcctctg atcaggagcc caaatcttct gacaaaactc acacatctcc accgtgcccc 840
 gcacctgaac tcttgggtgg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900
 ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 960
 cctgaggtea agttcaactg gtacgtggac ggctgaggg tgcataatgc caagacaaag 1020
 ccgcgaggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1080
 caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc 1140
 cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1200
 ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtaaaa 1260
 ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 1320
 tacaagacca cgctcccggt gctggactcc gacggctcct tcttctcta cagcaagctc 1380
 a 1381

<210> 52
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 52

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 53

<211> 356

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 53

gctagcgagg tgcagctggt gcagctctgga gcagagggtga aaaagcccg agagtctctg 60

aagatttctt gtaagggtac cggttactca ttactgggt acaatatgaa ctgggtgcgc 120

cagatgcccg ggaaggcct ggagtggatg ggcaatatg atccttatta tgggtgtact 180
 acctacaacc ggaagttcaa gggccaggtc actatctccg ccgacaagtc catcagcacc 240
 gcctacctgc aatggagcag cctgaaggcc tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc 300
 tcagtgggcc cttttgaccc ctggggccaa ggcaccctgg tcactgtctc ctcgag 356

<210> 54
 <211> 143
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 54

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
 100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly
130 135 140

<210> 55
<211> 356
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 55
gctagcgcagg tgcagctggt gcagctctgga gcagaggtga aaaagcccgg agagtctctg 60

aagatttcct gtaagggtac cggttactca ttacttggct acaatatgaa ctgggtgcgc 120

cagatgcccg ggaaggcct ggagtgatg ggcaatatg atccttatta tgggtgtact 180

acctacaacc ggaagttaa gggccaggtc actatctccg ccgacaagtc catcagcacc 240

gcctacctgc aatggagcag cctgaaggcc tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc 300

tcagtcggcc cttttcagca ctggggccaa ggcaccctcg tcactgtctc ctcgag 356

<210> 56
<211> 143
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 56

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly
130 135 140

<210> 57

<211> 356

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 57

gctagcgagg tgcagctggt gcagctctgga gcagaggtga aaaagcccg agagtctctg 60

aagatttctt gtaagggtac cggttactca ttacttggtt acaatatgaa ctgggtgcgc 120
cagatgcccg ggaaggcct ggagtggatg ggcaatatg atccttatta tgggtgtact 180
acctacaacc ggaagttaa gggccaggtc actatctccg ccgacaagtc catcagcacc 240
gcctacctgc aatggagcag cctgaaggcc tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc 300
tcagtgggcc cttttgacgt ctggggccaa ggcacatgg tcactgtctc ctcgag 356

<210> 58
<211> 143
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 58

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly
130 135 140

<210> 59
<211> 356
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 59
gctagcgagg tgcagctggt gcagctctgga gcagaggtga aaaagcccgg agagtctctg 60

aagatttcct gtaagggtac cggttactca ttacttggct acaatatgaa ctgggtgcgc 120

cagatgcccg ggaaaggcct ggagtggatg ggcaatatg atccttatta tgggtgtact 180

acctacaacc ggaagttaa gggccaggtc actatctccg ccgacaagtc catcagcacc 240

gcctacctgc aatggagcag cctgaaggcc tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc 300

tcagtcggcc cttttgacat ctggggccaa ggcacatgg tcactgtctc ctcgag 356

<210> 60
<211> 143
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 60

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly
130 135 140

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 61

Arg Ala Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 62

Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 63
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 63

Gly Tyr Asn Met Asn
 1 5

<210> 64
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 64

Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

<210> 65
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 65

Asn	Ile	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Thr	Thr	Tyr	Asn	Arg	Lys	Phe	Lys
1				5				10						15	

Gly

<210> 66
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 66

Gln	His	His	Ser	Asp	Asn	Pro	Trp	Thr
1				5				

<210> 67
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 67

Ser Val Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5

<210> 68
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 68

Ser Val Gly Pro Phe Asp Ser
 1 5

<210> 69
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 69

Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr
 1 5

<210> 70
 <400> 70
 000

<210> 71
 <400> 71
 000

<210> 72
 <400> 72
 000

<210> 73
<400> 73
000

<210> 74
<400> 74
000

<210> 75
<400> 75
000

<210> 76
<400> 76
000

<210> 77
<400> 77
000

<210> 78
<400> 78
000

<210> 79
<211> 1500
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 79
aagcttgccg ccatggaagc cccagcgcag cttctcttcc tctgctact ctggctccca 60

gataccaccg gagaaattgt gttgacacag tctccagcca cctgtcttt gtctecaggc 120

gaaagagcca ccctctcctg ccgagcaagt gaaaatgttt acagctactt agcctggtac	180
caacagaaac ctggccaggc tcctaggctc ctcatctatt ttgcaaaaac cttagcagaa	240
ggaattccag ccaggttcag tggcagtggg tccgggacag acttcactct caccatcagc	300
agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcaac atcattccga taatccgtgg	360
acattcggcc aagggaccaa ggtggaaatc aaaggtggcg gtggctcggg cgggtggtgga	420
tctggaggag gtgggaccgg tgaggtgcag ctggtgcagt ctggagcaga ggtgaaaaag	480
cccggagagt ctctgaagat ttctgttaag ggatccggtt actcattcac tggctacaat	540
atgaactggg tgcgccagat gcccgggaaa ggcctcgagt ggatgggcaa tattgatcct	600
tattatggtg gtactaccta caaccggaag ttcaagggcc aggtcactat ctccgccgac	660
aagtccatca gcaccgccta cctgcaatgg agcagcctga aggcctcgga caccgcatg	720
tattactgtg cacgctcagt cggccctttc gacctctggg gcagaggcac cctggtcact	780
gtctcctctg atcaggagcc caaatcttct gacaaaactc acacatctcc accgtgcccc	840
gcacctgaac tcctgggtgg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc	900
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac	960
cctgaggtea agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag	1020
ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac	1080
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc	1140
cccctcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc	1200
ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa	1260

ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 1320

tacaagacca cgctcccggt gctggactcc gacggctcct tcttctctta cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atgatctaga 1500

<210> 80
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 80

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
 100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 81
 <211> 1494
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 81
 aagcttgccg ccatggaagc cccagctcag cttctcttcc tctgctact ctggctccca 60

 gataccaccg gaaaaattgt gttgacacag tctccagcca ccctgtcttt gtctccaggc 120

 gaaagagcca ccctctcctg ccgagcaagt gaaaatgttt acagctactt agcctggtac 180

 caacagaaac ctggccaggc tcttaggtc ctcacttatt ttgcaaaaac cttagcagaa 240

 ggaattccag ccaggttcag tggcagtgga tccgggacag acttcactct caccatcagc 300

 agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcaac atcattccga taatccgtgg 360

 acattcggcc aagggaccaa ggtggaaatc aaaggtggcg gtggctcggg cgggtgtgga 420

 tctggaggag gtggggctag cgaggtgcag ctggtgcagt ctggagcaga ggtgaaaaag 480

 cccggagagt ctctgaagat ttctgttaag ggatccggtt actcattcac tagctacaat 540

 atgaactggg tgcgccagat gcccgggaaa ggcttgaggt ggatgggcaa tattgatcct 600

 tattatggtg gtactaacta cgcccagaag ttccagggcc aggtcactat ctccgccgac 660

 aagtccatca gcaccgccta cctgcaatgg agcagcctga aggcctcgga caccgcatg 720

 tattactgtg cacgtcagt cggccctatg gactactggg gccgcggcac cctggtcact 780

 gtctctcttg atcaggagcc caaatcttct gacaaaactc acacatctcc accgtgcccc 840

 gcacctgaac tctgggtgg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 960

cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac ggcggtggagg tgcataatgc caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa ggcgagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccagggtca gcctgacctg cctggtcaaa 1260

ggctttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 1320

tacaagacca cgctcccggt gctggactcc gacggctcct tcttctctta cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 1494

<210> 82
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 82

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 83
<211> 1476
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 83
aagcttgccg ccatggaagc cccagcgcag cttctcttcc tctgtctact ctggtccca 60

gataccaccg gagaaattgt gttgacacag tctccagcca cctgtcttt gtctccaggc 120

gaaagagcca ccctctcctg ccgagcaagt gagaatgttt acagctactt agcctggtac 180

caacagaaac ctggccaggc tcttaggctc ctcatctatt ttgcaaaaac cttagcagaa 240

gggattccag ccagattcag tggcagtggc tccgggacag acttcactct caccatcagc 300

agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcaac atcattccga taatccgtgg 360

acattcggcc aagggaccaa ggtggaaatc aaaggtggcg gtggtcggg cgggtggtgga 420

tctggaggag gtgggagcgg aggaggagct agcgaggtgc agctggtgca gtctggagca 480

gaggtgaaaa agcccgaga gtctctgaag atttctgtga agggatccgg ttactcattc 540

actggctaca atatgaactg ggtgcgccag atgcccgga aaggcctcga atggatgggc 600

aatattgata cttattatgg tggctactacc tacaaccgga agttcaaggg ccaggctact 660

atctcgcgcg acaagtccat cagcaccgcc tacctgcaag gagcagcctg aaggcctcgg 720

acaccgcat gtattactgt gcacgctcag tcggcccttt cgactcctgg ggccagggca 780

ccctggtcac tgtctcgagt tgctcacctg gccagcacc tgaactcctg ggtggaccgt 840

cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg 900

tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg 960

tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca 1020

cgtaacctgt ggtcagcgtc ctcacctcc tgcaccagga ctggtgaat ggcaaggagt 1080

acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag 1140

ccaaagggca gccccagaaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg gatgagctga 1200

ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc gacatcgccg 1260

tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg 1320

actccgacgg ctctttcttc ctctacagca agctcacctg ggacaagagc aggtggcagc 1380

aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac tacacgcaga 1440

agagcctctc cctgtctccg ggtaaatgac tctaga 1476

<210> 84
 <211> 485
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 84

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Ala Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
145 150 155 160

Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe
165 170 175

Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu
180 185 190

Glu Trp Met Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn
195 200 205

Arg Lys Phe Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser
210 215 220

Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met
225 230 235 240

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Val Gly Pro Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
260 265 270

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
275 280 285

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
290 295 300

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
305 310 315 320

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
325 330 335

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
340 345 350

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
355 360 365

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
370 375 380

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
385 390 395 400

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
405 410 415

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
420 425 430

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
435 440 445

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
450 455 460

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
465 470 475 480

Leu Ser Pro Gly Lys
485

<210> 85

<211> 1494

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 85

aagcttgccg ccatggaagc cccagctcag cttctcttcc tctgtctact ctggctccca 60

gataccaccg gagaaattgt gttgacacag tctccagcca cctgtctttt gtctccaggc 120

gaaagagcca cctctcctg ccgaacaagt gaaaatgttt acagctactt agcctggtac	180
caacagaaac ctggccaggc tcctaggctc ctcatctatt ttgcaaaaac cttagcagaa	240
ggaattccag ccaggttcag tggcagtggg tccgggacag acttcactct caccatcagc	300
agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcaac atcattccga taatccgtgg	360
acattcggcc aagggaccaa ggtggaaatc aaaggtggcg gtggctcggg cgggtggtgga	420
tctggaggag gtgggaccgg tgaggtgcag ctggtgcagt ctggagcaga ggtgaaaaag	480
cccgagaggt ctctgaagat ttctgttaag ggatccggtt actcattcac tggtacaat	540
atgaactggg tgcgccagat gcccgggaaa ggcttgaggt ggatgggcaa tattgatcct	600
tattatggtg gtactaccta caaccggaag ttcaagggcc aggtcactat ctccgccgac	660
aagtccatca gcaccgccta cctgcaatgg agcagcctga aggcctcgga caccgcatg	720
tattactgtg cagctcagt cgccctatg gactactggg gccgcggcac cctggtcact	780
gtctctctg atcaggagcc caaatcttct gacaaaactc acacatctcc accgtgcca	840
gcacctgaac tcctgggtgg accgtcagtc ttctctctcc ccccaaaacc caaggacacc	900
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac	960
cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggctggagg tgcataatgc caagacaaag	1020
ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac	1080
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc	1140
cccacgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc	1200
ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa	1260
ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac	1320

tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc gacggctcct tcttctctta cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 1494

<210> 86

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 86

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu
130 135 140

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

Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 87
 <211> 1494
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 87
 aagcttgccg ccattggaagc cccagctcag cttctcttcc tctgctact ctggctccca 60

 gataccaccg gtgaaattgt gttgacacag tctccagcca ccctgtcttt gtctccaggc 120

 gaaagagcca ccctctcctg ccgaacaagt gaaaatgttt acagctactt agcctggtac 180

 caacagaaac ctggccaggc tcttaggtc ctcacttatt ttgcaaaaac cttagcagaa 240

 ggaattccag ccaggttcag tggcagtga tccgggacag attcactct caccatcagc 300

 agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcaac atcattccga taatccgtgg 360

 acattcggcc aagggaccaa ggtggaaatc aaaggtggcg gtggctcggg cgggtgtgga 420

 tctggaggag gtggggctag cgaggtgcag ctggtgcagt ctggagcaga ggtgaaaaag 480

 cccggagagt ctctgaggat ttctgttaag ggatccggtt actcattcac tggctacaat 540

 atgaactggg tgcgccagat gcccgggaaa ggcttgaggt ggatgggcaa tattgatcct 600

 tattatggtg gtactaccta caaccggaag ttcaagggcc aggtcactat ctccgccgac 660

 aagtccatca gcaccgccta cctgcaatgg agcagcctga aggcctcgga caccgcatg 720

 tattactgtg cagctcagt cggccctatg gactactggg gccgcggcac cctggtcact 780

 gtctctcttg atcaggagcc caaatcttct gacaaaactc acacatctcc accgtgccca 840

 gcacctgaac tctgggtgg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 960

cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac ggcggtggagg tgcataatgc caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa ggcgagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccagggtca gcctgacctg cctggtcaaa 1260

ggctttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 1320

tacaagacca cgctcccggt gctggactcc gacggctcct tcttctctta cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 1494

<210> 88
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 88

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
 20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn
 35 40 45

Val Tyr Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His His Ser
100 105 110

Asp Asn Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Glu
130 135 140

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

Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
180 185 190

Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
195 200 205

Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
210 215 220

Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
225 230 235 240

Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser Asp Gln Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser
260 265 270

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
275 280 285

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
290 295 300

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
305 310 315 320

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
325 330 335

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
340 345 350

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
355 360 365

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
370 375 380

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
385 390 395 400

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
405 410 415

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
420 425 430

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
435 440 445

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
450 455 460

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
465 470 475 480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 89
<211> 45
<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 89
gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgtccaccgt gccca 45

<210> 90
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 90

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 91

<211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 91
 gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgtccaccgt gccca 45

<210> 92
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 92

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
1			5				10						15	

<210> 93
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 93
 gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgtccaccgt gctca 45

<210> 94
 <211> 15

<212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 94

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Ser
1				5					10					15

<210> 95

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 95

gagcccaaat ctgtgacaa aactcacaca tgtccaccga gctca 45

<210> 96

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 96

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Ser	Ser
1				5					10					15

<210> 97

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 97

gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccga gccca 45

<210> 98
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 98

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser	Pro
1			5				10						15	

<210> 99
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 99
 gagcccaaatt cttctgacaa aactcacaca tctccaccga gctca 45

<210> 100
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 100

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser	Ser
1			5				10						15	

<210> 101
 <211> 45
 <212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 101

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tctccaccgt gccca

45

<210> 102

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 102

Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Cys	Pro
1				5					10					15

<210> 103

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 103

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tctccaccgt gctca

45

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 104

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Ser
1 5 10 15

<210> 105
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 105
gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccgt gccca 45

<210> 106
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 106

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 107
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 107
gagcccaaat ctctgacaa aactcacaca tctccaccgt gctca 45

<210> 108
<211> 15

<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 108

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Ser

1 5 10 15

<210> 109
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 109
gagcccaaat ctgtgacaa aactcacaca tctccaccga gccca 45

<210> 110
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 110

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro

1 5 10 15

<210> 111
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 111

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tctccaccga gctca

45

<210> 112

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 112

Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser	Ser
1				5					10					15

<210> 113

<400> 113

000

<210> 114

<400> 114

000

<210> 115

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 115

Val	Pro	Ser	Thr	Pro	Pro	Thr	Pro	Ser	Pro	Ser	Thr	Pro	Pro	Thr	Pro
1				5					10					15	

Ser Pro Ser

<210> 116
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 116

Val Pro Pro Pro Pro Pro
 1 5

<210> 117
 <211> 186
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 117
 gagctcaaaa ctctctcgg ggatacgacc catacgtgtc cccgctgtcc tgaaccgaag 60
 tcctgcgata cgctecgcc atgtccacgg tgcccagagc ccaaatactg cgatacgccc 120
 ccaccgtgtc cccgctgtcc tgaaccaaag tcatgcgata ccccaccacc atgtccaaga 180
 tgccca 186

<210> 118
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 118

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
50 55 60

<210> 119

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 119

gagcccaaat cttctgacac acctcccca tgcccacggt gcccc 45

<210> 120

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 120

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
1 5 10 15

<210> 121

<211> 45

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 121
gagcccaaat cttgtgacac acctcccca tccccacggt ccca 45

<210> 122
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 122

Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Ser	Pro	Arg	Ser	Pro
1			5					10					15	

<210> 123
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 123
gagcccaaat cttctgacac acctcccca tccccacggt ccca 45

<210> 124
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 124

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Ser	Pro	Arg	Ser	Pro
1			5					10					15	

<210> 125

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 125

gagcccaaat	ctgtgacac	acctcccca	tccccacggt	gccca	45
------------	-----------	-----------	------------	-------	----

<210> 126

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 126

Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Ser	Pro	Arg	Cys	Pro
1			5					10					15	

<210> 127

<211> 58

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 127

Glu	Ser	Pro	Lys	Ala	Gln	Ala	Ser	Ser	Val	Pro	Thr	Ala	Gln	Pro	Gln
1			5					10					15		

Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala Thr Thr Arg
20 25 30

Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu
35 40 45

Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro
50 55

<210> 128
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 128

Arg Thr Ser Gln Asn Val Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 129
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 129

Arg Thr Ser Glu Ser Val Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 130
<211> 11
<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 130

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 131

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 131

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 132

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 132

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Tyr	Tyr	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 133

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 133

Ser Tyr Met Asn Met
1 5

<210> 134

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 134

Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5

<210> 135

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 135

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 136

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 136

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 137

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 137

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 138

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 138

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 139

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 139

Arg	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Ser	Pro	Ser	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 140

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 140

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

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
			20						25				30

<210> 141

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 141

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

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

20 25 30

<210> 142
<400> 142
000

<210> 143
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 143

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30

<210> 144
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 144

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
20 25 30

<210> 145
<211> 30

<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 145

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

Ser	Leu	Arg	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr
				20				25					30

<210> 146
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 146

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

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
				20				25					30

<210> 147
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 147

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10

<210> 148
<400> 148
000

<210> 149
<400> 149
000

<210> 150
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 150

Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10

<210> 151
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 151

Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10

<210> 152
<400> 152
000

<210> 153
<400> 153
000

<210> 154
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 154

Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1			5					10						15	

Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
		20					25						30		

<210> 155
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 155

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1			5					10						15	

Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
		20					25						30		

<210> 156
<211> 32
<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 156

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5					10					15	

Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210> 157

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 157

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5					10					15	

Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Thr
			20					25					30		

<210> 158

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 158

Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

1 5 10 15

Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 159
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 159

His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 160
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 160

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 161
<211> 11
<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 161

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 162

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 162

Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 163

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 163

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 164

<400> 164

000

<210> 165

<400> 165
000

<210> 166
<400> 166
000

<210> 167
<400> 167
000

<210> 168
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 168

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 169
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 169

Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 170
<211> 23
<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 170

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

Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys
						20

<210> 171

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 171

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	

Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys
						20

<210> 172

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 172

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
20

<210> 173
<400> 173
000

<210> 174
<400> 174
000

<210> 175
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 175

Asn Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala Met Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 176
<400> 176
000

<210> 177
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 177

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys
			20			

<210> 178

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 178

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys
			20			

<210> 179

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 179

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 180
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 180

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 181

<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 181

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 182
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 182

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 183

<400> 183

000

<210> 184

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 184

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 185

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 185

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Val	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 186

<211> 15

<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 186

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 187
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 187

Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Val	Pro	Lys	His	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 188
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 188

Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Ser	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 189
<400> 189
000

<210> 190

<400> 190
000

<210> 191
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 191

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Ala	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Phe	Ile	Tyr
1			5					10					15	

<210> 192
<400> 192
000

<210> 193
<400> 193
000

<210> 194
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 194

Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr
1			5					10					15		

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 195
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 195

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 196
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 196

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 197
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 197

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 198

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 198

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 199

<400> 199

000

<210> 200

<400> 200

000

<210> 201

<400> 201

000

<210> 202

<400> 202
000

<210> 203
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 203

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr
1				5					10					15	

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 204
<400> 204
000

<210> 205
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 205

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr
1				5					10					15	

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 206

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 206

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 207
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 207

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 208
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Humanized TRU-016

<400> 208

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 1 5 10

<210> 209
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 209

Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5					10

<210> 210

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 210

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Arg	Leu	Glu	Ile	Lys
1				5					10

<210> 211

<400> 211

000

<210> 212

<400> 212

000

<210> 213

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 213

Ser Val Gly Pro Met Asp Val

1 5

<210> 214
<400> 214
000

<210> 215
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 215

Ser Val Gly Pro Phe Asp Pro
1 5

<210> 216
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 216

Ser Val Gly Pro Phe Gln His
1 5

<210> 217
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Humanized TRU-016

<400> 217

Ser Val Gly Pro Phe Asp Val
1 5

<210> 218

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 218

Ser Val Gly Pro Phe Asp Ile
1 5

<210> 219

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Humanized TRU-016

<400> 219

Ser Val Gly Pro Phe Asp Leu
1 5

<210> 220

<400> 220

000

<210> 221

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker peptide

<400> 221
 Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

<210> 222
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Linker peptide

<400> 222
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 223
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Linker peptide

<400> 223
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 224
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Linker peptide

<400> 224
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 225
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Linker peptide

<400> 225
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25

<210> 226
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Linker peptide

<400> 226
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25 30