

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(21) 출원번호	10-1999-7010193	(65) 공개번호	10-2001-0012243
(22) 출원일자	1999년11월04일	(43) 공개일자	2001년02월15일
번역문 제출일자	1999년11월04일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1998/009160	(87) 국제공개번호	WO 1998/50433
국제출원일자	1998년05월05일	국제공개일자	1998년11월12일

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르키즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크맨,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장 08/851,362 1997년05월05일 미국(US)

(73) 특허권자 아브게닉스, 잉크.
미국 94555 캘리포니아주 프레몬트 던바톤 씨클 7601

(72) 발명자 자코보비츠에이야
미국캘리포니아주94025메로파크모터레이애비뉴2021

양지아오-동
미국캘리포니아주94306팔로알토브리언트스트리트2833

갈로마이클
미국캘리포니아주95130산조스클라매스드라이브1376

지아지아오-치
미국캘리포니아주94403산마테오버뱅크애비뉴64

(74) 대리인

심사관 : 김지윤

(54) 상피 성장 인자 수용체에 대한 인간의 모노클로날 항체

요약

본 발명은 인간의 상피 성장 인자 수용체(EGF-r)에 대한 완전한 인간 모노클로날 항체에 관한 것이다. 또한, 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 분자를 함유하는 아미노산 서열 및 이를 암호하는 뉴클레오티드 서열, 구체적으로 CDR1 내지 CDR3의 인접 중쇄 및 경쇄 서열에 상응하는 서열도 제공한다. 이와 같은 면역글로불린 분자 및 모노클로날 항체를 발현하는 하이브리드 마도 제공한다.

대표도

도 36

명세서

기술분야

본 발명은 인간의 상피 성장 인자 수용체(EGF-r)에 대한 모노클로날 항체의 상보성 결정 영역에 전개되어 있는 완전한 인간의 인접 중쇄 및 경쇄 서열에 관한 것이다. 또한, 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 분자를 포함하는 아미노산 서열 및 이를 암호하는 뉴클레오티드 서열, 구체적으로 CDR, 특히 CDR1 내지 CDR3에 상응하는 서열도 제공한다. 또한, 본 발명은 이와 같은 면역글로불린 분자 및 모노클로날 항체를 발현하는 하이브리도마도 제공한다.

배경기술

EGF-r은 다양한 종류의 인간 고체 종양에서 과잉발현되는 것으로 밝혀져 있다[Mendelsohn Cancer Cells 7:359(1989), Mendelsohn Cancer Biology 1:339-344(1990), Modjtahedi and Dean Int'l J.Oncology 4:277-296(1994)]. EGF-r의 과잉발현은, 예컨대 특정 암인, 폐암, 유방암, 결장암, 위암, 뇌암, 방광암, 두부 및 경부 암, 난소암 및 전립선암에서 관찰되었다[Modjtahedi and Dean Int'l J.Oncology 4:277-296(1994)]. 상피 성장 인자(EGF) 및 형질전환 성장 인자-알파(TFG- α)는 둘다 EGF-r에 결합하고 세포 증식과 종양 성장을 유도하는 것으로 입증되었다.

따라서, 일부 연구진은 EGF-r을 발현 또는 과잉 발현하는 종양 치료법에 EGF, TGF- α 및 EGF-r에 대한 항체가 유용할 수 있다고 제안하였다[Mendelsohn Cancer Cells 7:359(1989), Mendelsohn Cancer Biology 1:339-344(1990), Modjtahedi and Dean Int'l J.Oncology 4:277-296(1994), Tosi et al. Int'l J.Cancer 62:643-650(1995)]. 또한, 항EGF-r 항체가 수용체에 대한 EGF 및 TGF- α 의 결합을 차단하면서 종양 세포 증식을 억제한다는 증거도 제시되었다. 하지만, 이와 동시에 항EGF-r 항체는 EGF 및 TGF- α 독립적 세포 성장을 억제하지는 않는 것으로 나타났다[Modjtahedi and Dean Int'l J.Oncology 4:277-296(1994)].

이와 같은 발견을 통해, EGF-r에 대한 다양한 쥐 및 래트의 모노클로날 항체도 개발되어 시험관내 및 생체내에서 종양 세포의 성장을 억제하는 작용에 대하여 시험되었다[Modjtahedi and Dean Int'l J.Oncology 4:277-296(1994)]. 이 임상 분야에서 명백하게 가장 발전된 항체는 C225라는 키메라 항체로서, 이 항체는 쥐의 가변 영역과 인간의 IgG1 불변 영역을 보유한다[Modjtahedi and Dean Int'l J.Oncology 4:277-296(1994)]. C225 항체를 기본으로 하는 225라고 표시되는 쥐 항체는 유니버시티 오브 캘리포니아 및 로러에 의해 개발되었다. 본 명세서에 참고 인용되는 미국 특허 제4,943,533호 및 유럽 특허 제359,282호를 참조하라. C225 항체는 시험관내에서 EGF 매개의 종양 세포 성장을 억제하고 누드 마우스의

생체내에서 인간 종양이 형성되는 것을 억제하는 것으로 증명되어 있다. 또한, 이 항체는 특정 화학치료제와 상승 작용하여 이종이식편 마우스 모델의 생체내에 존재하는 인간 종양을 근절시키는 것으로 밝혀져 있다[Modjtahedi and Dean Int'l J.Oncology 4:277-296(1994)].

임클론(ImClone)은 C225라고 표시되는 항EGF-r 항체를 사용하여 인간의 임상 시험을 실시하였다. 지금까지, 명백히 C225를 이용하여 실시되었거나, 또는 현재 실시되고 있는 시험은 두경부암, 전립선암 및 폐암에 걸린 환자에 대한 제I단계 및 제I/II단계 임상 시험이다. 제I단계 임상 시험에서는 면역타협성 환자와 관련있는 경우에도 최대 약 400 mg/m²의 투여량을 수회 주사하여도 독성이 전혀 검출되지 않았다. 이 연구는 약 5 내지 약 200 mg/m²의 투여량을 5회 투여하는 것을 포함하는 용량의 단계적 확대 연구로 실시하였고, 화학치료법(즉, 독소루비신, 아드리아미신, 탁솔 및 시스플라틴)도 동시에 실시하였다. 이 연구를 통해 얻어진 분명한 안전성 데이터외에도 이 연구의 예비 결과를 통해 전립선암 환자의 80%에서 종양 축소의 증거가 일부 나타나는 것으로 밝혀졌다.

하지만, 전술한 각 항체는 쥐 또는 래트의 가변 영역 및/또는 불변 영역을 보유하고 있다. 이와 같은 쥐 또는 래트 유래의 단백질 존재로 인해 그 항체가 급속히 제거되거나 그 항체에 대한 환자의 면역 반응이 생성될 수 있다. 이러한 쥐 또는 래트 유래의 항체 이용을 대체하기 위하여, 완전한 인간의 항체를 생성하는 설치류로 인간 항체 기능을 도입시키는 방안이 제시되었다.

또한, 매우 크거나 미완성적으로 지도화된 유전자좌의 기능적 성분을 해명하고 인간 질환의 유용한 모델을 만들기 위한 유력한 방법으로 메가 염기 크기의 인간 좌를 YAC중에 클로닝 및 재구성하고 이 유전자좌를 마우스 배선으로 도입시키는 방법이 제시되었다. 또, 이와 같은 기법을 이용하여 마우스 유전자좌 대신 이것의 인간 등가물을 사용하면 발육 동안 그 인간 유전자 생성물의 발현과 조절 및 다른 시스템과의 상호관계 및 질병 유도와 진행시의 관련성을 고유하게 관찰할 수 있다.

이 기법이 실제 적용되는 주요 예는 마우스 체액 면역계의 "인체화"이다. 내인성 Ig 유전자를 불활성화시킨 마우스 종에 인간 면역글로불린(Ig) 유전자좌를 도입시킨 결과 항체의 프로그램된 발현과 어셈블리 뿐만 아니라 B 세포 발생에 대한 역할에 기본이 되는 기작을 연구할 수 있는 기회를 얻게 되었다. 또한, 이 기법은 인간 질환의 항체 치료법의 가능성을 충족시키는 중요한 이정표인 완전한 인간의 모노클로날 항체(Mab)를 생성하는 이상적인 공급원을 제공할 수 있다. 완전한 인간 항체는 마우스 Mab 또는 마우스 유도체화된 Mab 고유의 면역원성 반응 및 알레르기 반응을 최소로 줄이고, 이에 따라 투여된 항체의 효능과 안정성을 증가시키는 것으로 예상된다. 따라서, 완전한 인간 항체의 이용은 만성 인간 질환 및 재발성 인간 질환, 예컨대 반복적인 항체 투여가 필요한 염증, 자가면역 및 암의 치료에 실질적인 잇점을 제공하는 것으로 예상된다.

이와 같은 목표를 달성하기 위한 1가지 시도는 마우스 항체 생산성이 결손된 마우스 균주를 인간 Ig 유전자좌의 큰 단편으로 유전자 조작하는 것인데, 그 이유는 이와 같은 마우스가 마우스 항체 대신 인간 항체를 다량의 집적물로 생성할 수 있을 것으로 예상되기 때문이다. 인간 Ig의 큰 단편은 항체 생성 및 발현의 적절한 조절 뿐 아니라 매우 큰 가변 유전자 다양성을 보유할 수 있다. 이와 같은 항체 다양화 및 선택에 대한 마우스 기구와 인간 단백질에 대한 면역학적 내성의 결실을 이용하면, 이 마우스 균주내 복제된 인간 항체 목록으로는 인간 항원을 비롯한 임의의 목적 항원에 대한 높은 친화성의 항체가 생성될 것이다. 또한, 하이브리도마 기법을 사용하면, 바람직한 특이성이 있는 항원 특이적 인간 Mab를 쉽게 제조 및 선택할 수 있다.

이와 같은 일반적인 전략의 유용성은 1994년에 공개된 최초 XenoMouse(등록상표명)의 생성을 통해 입증하였다[Green et al. Nature Genetics 7:13-21(1994)]. 이 XenoMouse(등록상표명) 균주는 코어 가변 영역 서열과 불변 영역 서열을 각각 포함하는 인간 중쇄 좌 및 카파 경쇄 좌의 245 kb 및 190 kb 크기의 배선 형태 단편을 함유하는 효모 인공 염색체(YAC)에 의해 유전자조작된 것이다(동일 서적). YAC를 포함하는 인간 Ig은 항체 재배열과 발현을 위한 마우스 시스템과 화합성인 것으로 입증되어 있으며, 불활성화된 마우스 Ig 유전자 대신 사용될 수 있다. 이것은 B 세포 발생을 유도하고, 성인계 인간의 완전한 인간 항체 목록을 생성하고, 항원 특이적 인간 Mab를 생성하는 특성을 통해 입증되었다. 또한, 이와 같은 결과는 다수의 V 유전자, 부가 조절 인자 및 인간 Ig 불변 영역을 포함하는 인간 Ig 대유전자좌부 도입을 통해 감염 및 면역화에 대한 인간 체액 반응의 특징인 완전한 목록을 실질적으로 반복할 것이라는 암시를 제공하였다. 최근에는 그런 등(Green et al)의 연구에 따라, 각각 인간 중쇄 좌 및 카파 경쇄 좌의 메가염기 크기의 배선 형태인 YAC 단편의 도입을 통해 인간 항체 목록의 약 80% 이상을 도입시킬 수 있게 되었다[본 명세서에 참고 인용되는 문헌 Mendez et al. Nature Genetics 15:146-156(1997) 및 미국 특허 출원 일련 번호 08/759,620(1996.12.3)].

이와 같은 시도에 대해서는 미국 특허 출원 일련 번호 07/466,008(1990.1.12), 07/610,515(1990.11.8), 07/919,297(1992.7.24), 07/922,649(1992.7.30), 08/031,801(1993.3.15), 08/112,848(1993.8.27), 08/234,145(1994.4.28), 08/376,279(1995.1.20), 08/430,938(1995.4.27), 08/464,584(1995.6.5), 08/464,582(1995.6.5), 08/463,191(1995.6.5)

, 08/462,837(1995.6.5), 08/486,853(1995.6.5), 08/486,857(1995.6.5), 08/486,859(1995.6.5), 08/462,513(1995.6.5), 08/724,752(1996.10.2) 및 08/759,620(1996.12.3)에 더욱 상세히 토론되고, 설명되어 있다. 또한, 문헌[Mendez et al. *Nature Genetics* 15:146-156(1997)]과, 유럽 특허 EP 0 463 151 B1(1996.6.12 특허 허여 공개됨), 국제 특허 출원 번호 WO94/02602(1994.2.3), 국제 특허 출원 번호 WO 96/34096(1996.10.31 공개) 및 PCT 출원 번호 PCT/US96/05928(1996.4.29)을 참조하라. 이와 같은 특허, 출원 및 참조 문헌들 각각의 명세서는 전체적으로 본 발명에 참고 인용되었다.

진팜 인터내셔널 인크.(GenPharm International Inc.)를 비롯한 다른 연구자들의 또 다른 시도로는, "미니좌(minilocus)" 시도의 이용이 있다. 미니좌 시도에서는 Ig 좌 유래의 조각(각 유전자)의 병입을 통해 외인성 Ig 좌를 유사하게 만들었다. 따라서, 1 이상의 V_H 유전자, 1 이상의 D_H 유전자, 1 이상의 J_H 유전자, 뮤(mu) 불변 영역 및 제2 불변 영역(바람직하게는 카마 불변 영역)을 동물에 삽입시키기 위한 작제물을 만들었다. 이와 같은 시도에 대해서는 미국 특허 제5,545,807호(Surani et al.) 및 미국 특허 제5,545,806호와 제5,625,825호(Lonberg and Kay) 및 진팜 인터내셔널 인크의 미국 특허 출원 일련 번호 07/574,748(1990.8.29), 07/575,962(1990.8.31), 07/810,279(1991.12.17), 07/853,408(1992.3.18), 07/904,068(1992.6.23), 07/990,860(1992.12.16), 08/053,131(1993.4.26), 08/096,762(1993.7.22), 08/155,301(1993.11.18), 08/161,739(1993.12.3), 08/165,699(1993.12.10), 08/209,741(1994.3.9)[본 명세서에 참고 인용됨]에 기재되어 있다. 또한, 본 명세서에 참고 인용되는 국제 특허 출원 번호 WO 94/25585(공개일: 1994.11.10), WO 93/12227(1993.6.24), WO 92/22645 (1999.12.23), WO 92/03918(1992.3.19), 문헌[Taylor et al., 1992, Chen et al., 1993, Tuailion et al., 1993, Choi et al., 1993, Lonberg et al.(1994), Taylor et al.(1994) 및 Tuailion et al.(1995)]을 참조하라.

메디컬 리서치 카운슬("MRC")에 양도된 전술한 특허(Surani et al.)의 발명자들은 미니좌 시도를 사용하여 Ig 좌를 보유하는 돌연변이 마우스를 제조하였다. 이 발명자들에 이어 전술한 진팜 인터내셔널의 작업에 참여한 발명자(Lonberg와 Kay)는 상기 수라니 외 다수의 연구를 실질적으로 반복하면서 동시에 내인성 마우스 Ig좌의 불활성화를 제안하였다.

미니좌 시도의 장점은 Ig 좌의 일부를 포함하는 작제물을 제조하여 동물 중으로 도입시킬 때의 신속성이다. 하지만, 미니좌 시도는 이론적으로 V , D 및 J 유전자를 소수 병입하여 충분한 다양성을 얻을 수 없다는 큰 단점이 있다. 이와 같은 사실은 공개된 연구를 통해 지지되는데, 미니좌 시도의 이용을 통해 제조된 동물의 B 세포 발생 및 항체 생성은 저해된 상태인 것으로 나타난다. 따라서, 본 발명에 관한 연구는 주로 Ig 대유전자좌 부를 도입시켜 보다 큰 다양성을 얻고, 동물의 면역 목록을 재구성하려는 시도에 관한 것이다.

인간 항마우스 항체(HAMA) 반응은 키메라 항체 또는 다른 인체화된 항체 제조 산업의 주요 역할을 하고 있다. C225 항체는 인간 불변 영역과 쥐의 가변 영역을 보유하는 키메라 항체인 바, 특히 이 항체의 만성 투여 또는 복수 투여량 이용시 특정 인간 항키메라 항체(HACA) 반응이 관찰될 것으로 예상된다.

따라서, HAMA 또는 HACA 반응의 관여 및/또는 효과를 무효화하기 위하여 C225와 비교하여 유사하거나 향상된 활성을 보유하는 EGF-r에 대한 완전한 인간 항체를 제공하는 것이 바람직하다.

도면의 간단한 설명

도 1은 하이브리도마 E1.1에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E1.1 분비형 중쇄 서열 간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 2는 하이브리도마 E1.1로부터 클로닝된 도 1의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 3은 하이브리도마 E1.1에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E1.1 분비형 경쇄 서열 간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 4는 하이브리도마 E1.1로부터 클로닝된 도 3의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 5는 하이브리도마 E2.4에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E2.4 분비형 중쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 6은 하이브리도마 E2.4로부터 클로닝된 도 5의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 7은 하이브리도마 E2.4에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E2.4 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 8은 하이브리도마 E2.4로부터 클로닝된 도 7의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 9는 하이브리도마 E2.5에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E2.5 분비형 중쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 10은 하이브리도마 E2.5로부터 클로닝된 도 9의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 11은 하이브리도마 E2.5에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E2.5 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 12는 하이브리도마 E2.5로부터 클로닝된 도 11의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 13은 하이브리도마 E6.2에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E6.2 분비형 중쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 14는 하이브리도마 E6.2로부터 클로닝된 도 13의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 15는 하이브리도마 E6.2에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E6.2 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 16은 하이브리도마 E6.2로부터 클로닝된 도 15의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 17은 하이브리도마 E6.4에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E6.4 분비형 중쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 18은 하이브리도마 E6.2로부터 클로닝된 도 17의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 19는 하이브리도마 E6.4에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E6.4 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 20은 하이브리도마 E6.4로부터 클로닝된 도 19의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 21은 하이브리도마 E2.11에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-61에 의해 암호화되는 서열과 E2.11 분비형 중쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 22는 하이브리도마 E2.11로부터 클로닝된 도 21의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 23은 하이브리도마 E2.11에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E2.11 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 24는 하이브리도마 E2.11로부터 클로닝된 도 23의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 25는 하이브리도마 E6.3에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-61에 의해 암호화되는 서열과 E6.3 분비형 중쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 26은 하이브리도마 E6.3으로부터 클로닝된 도 25의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 27은 하이브리도마 E6.3에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E6.3 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 28은 하이브리도마 E6.3으로부터 클로닝된 도 27의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 29는 하이브리도마 E7.6.3에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-61에 의해 암호화되는 서열과 E7.6.3 분비형 중쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 30은 하이브리도마 E7.6.3으로부터 클로닝된 도 29의 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 31은 하이브리도마 E7.6.3에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E7.6.3 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵고 큰 활자로 나타내었다. CDR1에서 CDR3까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하고 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열에는 각각 2중선 표시를 하였다.

도 32는 하이브리도마 E7.6.3으로부터 클로닝된 도 31의 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 33은 특정 항체의 중쇄를 암호하는 특정 V_H 유전자의 아미노산 서열과 특정 항EGF-r 항체 중쇄 아미노산 서열을 비교 제시한 것이다.

도 34는 특정 항체의 경쇄를 암호하는 특정 V_K 유전자의 아미노산 서열과 특정 항EGF-r 항체 경쇄 아미노산 서열을 비교 제시한 것이다.

도 35는 인간 항EGF-r 항체를 사용하여 시험관내 실험한 인간 유상피암 A431 세포에 대한 EGF 결합의 차단 결과를 도시한 것이다. 이 도면에서 (□)는 본 발명에 따라 항EGF-r 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (●)은 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▲)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

도 36은 인간 항EGF-r 항체를 사용하여 시험관내 실험한 인간 유상피암 A431 세포에 대한 EGF 결합의 억제 결과를 도시한 것이다. 이 도면에서 (□)는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (○)은 쥐의 모노클로날 항체 528에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▼)은 본 발명에 기재된 E1.1 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (▲)은 본 발명에 기재된 E2.4 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (▶)은 본 발명에 기재된 E2.5 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (◀)은 본 발명에 기재된 E2.6 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (◆)은 본 발명에 기재된 E2.11 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (☒)은 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이다.

도 37은 인간 항EGF-r 항체를 사용하여 시험관내 실험한 인간 유상피암 A431 세포에 대한 TGF- α 결합의 억제 결과를 도시한 것이다. 이 도면에서 (□)는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (◆)은 본 발명에 기재된 E6.2 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (●)은 본 발명에 기재된 E6.3 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (▲)은 본 발명에 기재된 E7.2 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (■)은 본 발명에 기재된 E7.10 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (▼)은 E7.6.3 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (☒)은 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이다.

도 38은 인간 항EGF-r 항체를 사용하여 시험관내 실험한 인간 결장암 SW948 세포에 대한 EGF 결합의 억제 결과를 도시한 것이다. 이 도면에서, (●)은 본 발명에 기재된 항EGF-r 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (□)는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▲)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이다.

도 39는 제노마우스(XenoMouse) II 균주 유래의 인간 항EGF-r 항체가 시험관내에서 SW948 세포의 성장을 억제함을 도시한 것이다. 이 도면에서 (○)는 본 발명에 기재된 항EGF-r 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (□)는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▲)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

도 40은 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체를 생체내에서 이용하여 실험한 누드 마우스에 존재하는 인간 유상피암 A431 세포 성장의 억제 결과를 도시한 것이다. 이 도면에서 (▲)는 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체 1 mg을 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (▼)는 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체 0.2 mg을 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (□)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (○)는 대조군으로 인산염 완충 식염수를 이용하여 얻은 결과를 도시한 것이다.

도 41은 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체를 생체내에서 이용하여 얻은, 19일째 종양 발생도를 나타내는 누드 마우스 내 유상피암 형성의 억제에 관한 데이터를 도시한 것이다.

도 42는 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체를 생체내에서 이용하여 얻은, 120일째 종양 발생도를 나타내는 누드 마우스내 유상피암 형성의 억제에 관한 데이터를 도시한 것이다.

도 43은 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체를 생체내에서 이용하여 얻은, 누드 마우스내 형성된 인간 유상피 종양의 근절에 관한 데이터를 도시한 것이다. 이 도면에서 (▲)는 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체(E7.6.3)를 각각 1 mg씩 복수 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (×)는 독소루비신을 각각 125 μ g씩 2회 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (☒)는 독소루비신을 각각 125 μ g 씩 2회 투여함과 동시에 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체(E7.6.3)를 각각 1 mg씩 복수 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (■)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (◆)는 대조군으로 인산염 완충 식염수를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이다.

도 44는 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체를 생체내에서 이용하여 얻은, 누드 마우스내 형성된 인간 유상피 종양의 근절에 관한 데이터를 도시한 것이다. 이 도면에서 (◆)는 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체(E2.5)를 각각 0.5 mg씩 복수 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (■)는 독소루비신을 각각 125 μ g씩 2회 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (▲)는 독소루비신을 각각 125 μ g 씩 2회 투여함과 동시에 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체(E2.5)를 각각 0.5 mg씩 복수 투여하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (×)는 대조군으로 인산염 완충 식염수를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (☒)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체를 1 mg의 투여량으로 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이다.

발명의 상세한 설명

발명의 개요

본 발명의 제1 목적은, 도 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26 및 30에 도시된 뉴클레오티드 서열로 표시되는 인간 V_H 4계 유전자 및 이것의 임의의 돌연변이에 의해 서열 중 일부가 암호화되는 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 잔기 10번에 아스파르트산 아미노산 치환을 포함한다.

본 발명의 제2 목적은, 도 2, 6, 10, 14 및 18에 도시된 뉴클레오티드 서열로 표시되는 인간 V_H 4-31 유전자 및 이것의 임의의 돌연변이에 의해 서열 중 일부가 암호화되는 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 중쇄 가변 영역은 서열 23에 나타낸 바와 같은 CDR1에서부터 CDR3까지의 인접 서열을 포함한다. 또 다른 바람직한 양태로서, 이 항체는 서열 24에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함한다. 또한, 중쇄 가변 영역은 서열 25에 나타낸 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 포함하는 것이 바람직하다. 또, 항체는 서열 26에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 바람직하다. 중쇄 가변 영역은 서열 27에 나타낸 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 포함하는 것도 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 항체는 서열 28에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 중쇄 가변 영역은 서열 29에 나타낸 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 항체는 서열 30에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 중쇄 가변 영역은 서열 31에 나타낸 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 항체는 서열 32에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제3 목적은, 도 22, 26 및 30에 도시된 뉴클레오티드 서열로 표시되는 인간 V_H 4-61 유전자 및 이것의 임의의 돌연변이에 의해 서열 중 일부가 암호화되는 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 중쇄 가변 영역은 서열 33에 나타낸 바와 같은 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 항체는 서열 34에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다. 또한, 중쇄 가변 영역은 서열 35에 나타낸 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 포함하는 것이 바람직하다. 또, 항체는 서열 36에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 바람직하다. 중쇄 가변 영역은 서열 37에 나타낸 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 포함하는 것도 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 항체는 서열 38에 나타낸 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제4 목적은, 도 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 및 32에 도시된 뉴클레오티드 서열로 표시되는 인간 V_K I계 유전자 및 이것의 임의의 돌연변이에 의해 서열 중 일부가 암호화되는 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 24에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 26에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 28에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 30에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 32에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 34에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 36에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다. 또 다른 바람직한 양태로서, 경쇄 가변 영역은 서열 38에 나타낸 서열을 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제5 목적은, 서열 23에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 24에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제6 목적은, 서열 25에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 26에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제7 목적은, 서열 27에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 28에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제8 목적은, 서열 29에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 30에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제9 목적은, 서열 31에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 32에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제10 목적은, 서열 33에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 34에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제11 목적은, 서열 35에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 36에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제12 목적은, 서열 37에 기재된 CDR1 내지 CDR3의 인접 서열을 함유하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 제공하는 것이다. 바람직한 양태로서, 항체는 서열 38에 기재된 서열을 함유하는 경쇄 가변 영역을 더 포함하는 것이 좋다.

본 발명의 제13 목적은, 전술한 본 발명의 항체 중 하나를 고체 종양이 있는 환자에게 투여하는 것을 특징으로 하여, 상피 성장 인자 수용체에 대한 항체를 사용하여 고체 종양을 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

바람직한 양태의 상세한 설명

본 발명은 인간 상피 성장 인자 수용체(EGF-r)에 대한 완전한 인간 모노클로날 항체를 제공한다. 또한, 본 발명은 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 분자를 포함하는 아미노산 서열 및 상기 면역글로불린 분자를 암호하는 뉴클레오티드 서열, 구체적으로 CDR1에서부터 CDR3까지의 인접 중쇄 및 경쇄 서열에 해당하는 서열도 제공한다. 이와 같은 면역글로불린 분자 및 모노클로날 항체를 발현하는 하이브리도마 역시 제공한다.

정의

다른 표시가 없는 한, 본 명세서에 기재된 모든 과학적, 기술적 용어는 당해 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자가 이해하고 있는 의미를 나타내는 것이다. 또한, 문맥상 다른 의미가 필요 없는 한, 단수 표현은 복수의 의미도 포함하고, 복수 표현은 단수의 의미도 포함한다. 일반적으로, 본 명세서에 기재된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 단백질 및 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 화학 및 하이브리드화와 관련하여 사용된 명명법과 그 기법은 당해 기술 분야에 공지되고 널리 사용되는 것이다. 재조합 DNA, 올리고뉴클레오티드 합성 및 조직 배양과 형질전환(예, 전기침투, 리포렉션)의 기법으로는 표준 기법을 사용하였다. 효소 반응과 정제 기법은 당해 기술분야에 통상적인 방법이나 본 명세서에 기재된 방법 또는 제조자의 설명에 따라 실시하였다. 전술한 기법과 절차는 일반적으로 당해 기술 분야에 공지된 통상적인 방법 및 본 명세서에 기재된 여러 일반 문헌 및 구체적인 참조 문헌에 기재된 바와 같이 실시한다[예컨대, 본 명세서에 참고 인용되는 Sambrook et al. Molecular Cloning : A Laboratory Manual(2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.(1989)]. 본 명세서에 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학, 약제 및 의약 화학의 실험 절차와 기법, 및 이와 관련하여 사용되는 명명법들은 당해 기술 분야에 공지되고 일반적으로 사용되는 것이다. 화학 합성, 화학 분석, 약제 제조, 배합, 투여, 환자 치료에는 표준 기법을 사용하였다.

본 명세서에 사용된 바와 같이, 다음 용어는 다른 표시가 없는 한 다음과 같은 의미를 나타내는 것이다.

본 명세서에 사용된 "분리된 폴리뉴클레오티드"란 용어는 계놈, cDNA 또는 합성 기원의 폴리뉴클레오티드 또는 이것의 일부 조합체를 의미하며, 그 기원에 따라 "분리된 폴리뉴클레오티드"는 (1) 이 "분리된 폴리뉴클레오티드"가 천연에서 발견되는 폴리뉴클레오티드 전체 또는 일부에 결합되어 있지 않거나, (2) 천연에서 결합되어 있지 않은 폴리뉴클레오티드에 작동 가능하게 결합되어 있거나, 또는 (3) 보다 큰 서열의 일부로서 천연에서는 발견되지 않는 것이다.

본 명세서에 사용된 "분리된 단백질"이란 용어는 cDNA, 재조합 RNA 또는 합성 오리진의 단백질이거나 이것의 일부 조합체를 의미하며, 그 기원이나 유도체화 공급원에 따라 "분리된 단백질"은 (1) 천연에서 발견되는 단백질들에 결합되어 있지 않거나, (2) 같은 공급원 유래의 다른 단백질, 예컨대 쥐 단백질이 없거나, (3) 이종 유래의 세포에 의해 발현되거나 또는 (4) 천연에서는 발견되지 않는 것이다.

본 명세서에 사용된 "폴리펩티드"란 용어는 일반적인 용어로서 천연 단백질, 단편 또는 폴리펩티드 서열의 유사체를 의미한다. 이와 같은 천연 단백질, 단편 및 유사체는 그 폴리펩티드 속의 종이다. 본 발명에 따른 폴리펩티드는 도 1, 도 5, 도 9, 도 13, 도 17, 도 21, 도 25 및 도 29에 도시된 인간의 중쇄 면역글로불린 분자 및 도 3, 도 7, 도 11, 도 15, 도 19, 도 23, 도 27 및 도 31에 기재된 인간 카파 경쇄 면역글로불린 분자, 뿐만 아니라 카파 경쇄 면역글로불린 분자와 같은 경쇄 면역글로불린 분자와 함께 중쇄 면역글로불린 분자를 포함하는 조합체로 형성된 항체 분자 및 그 반대의 양태로 형성된 항체 분자, 이것의 단편 및 유사체를 포함하는 것이 바람직하다.

대상물에 대하여 본 명세서에 사용된 "천연 발생"이란 용어는 그 대상물이 천연에서 발견된다는 사실을 의미하는 것이다. 예컨대, 유기체(바이러스 포함) 중에 존재하고, 천연의 공급원으로부터 분리할 수 있으며, 실험실에서 사람에 의해 또는 다른 방식으로 의도적으로 변형되지 않은 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 천연 발생인 것이다.

본 명세서에 사용된 "작동가능하게 결합된"이란 용어는 기재된 성분의 위치가 의도된 방식으로 기능을 할 수 있는 관계에 있음을 의미하는 것이다. 암호 서열에 "작동가능하게 결합된" 조절 서열은 암호 서열의 발현이 조절 서열과 화합성인 조건 하에서 이루어질 수 있는 방식으로 결찰된 것이다.

본 명세서에 사용된 "조절 서열"이란 용어는 결찰된 암호 서열의 발현과 프로세싱을 실시하는데 필수적인 폴리뉴클레오티드 서열을 의미한다. 이와 같은 조절 서열의 특성은 숙주 유기체에 따라 다른데, 원핵 세포의 경우 이러한 조절 서열로는 일반적으로 프로모터, 리보솜 결합 부위 및 전사 종지 서열을 포함하고, 진핵 세포의 경우 이러한 조절 서열로는 프로모터 및 전사 종지 서열을 포함한다. "조절 서열"이란 용어는 최소한의 범위로 그 존재가 발현 및 프로세싱에 필수적이고, 그 존재가 잇점을 제공하는 부가 성분, 예컨대 리더 서열 및 융합 파트너 서열을 포함할 수 있다.

본 명세서에 사용된 "폴리뉴클레오티드"란 용어는 리보뉴클레오티드이거나 데옥시뉴클레오티드, 또는 이 중 어느 한 뉴클레오티드 형태의 변형된 형태이거나 간에 염기 길이가 10개 이상인 뉴클레오티드의 중합체 형태를 의미한다. 이 용어는 DNA의 1분쇄 및 2분쇄 형태를 포함한다.

본 명세서에 사용된 "올리고뉴클레오티드"란 용어는 천연 발생의 뉴클레오티드 및 천연 발생의 올리고뉴클레오티드 연쇄와 합성 올리고뉴클레오티드 연쇄에 의해 함께 결합된 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 올리고뉴클레오티드는 일반적으로 염기 길이가 200 이하인 폴리뉴클레오티드 아군이다. 이 올리고뉴클레오티드의 염기 길이는 10 내지 60인 것이 바람직하고, 특히 12 내지 40인 것이 가장 바람직하다. 올리고뉴클레오티드는 일반적으로 1분쇄(예, 프로브용)이지만, 2분쇄(예, 유전자 돌연변이체 작제용)일 수도 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 센스 올리고뉴클레오티드 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드일 수 있다.

본 명세서에 사용된 "천연 발생의 뉴클레오티드"란 용어는 데옥시리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드를 포함한다. 본 명세서에 사용된 "변형된 뉴클레오티드"란 용어는 변형 또는 치환된 당기 등을 보유하는 뉴클레오티드를 포함한다. 본 명세서에 사용된 "올리고뉴클레오티드 연쇄"라는 용어는 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로셀레노에이트, 포스포로디셀레노에이트, 포스포로아닐로티오에이트, 포스포아닐라레이트, 포스포로아미데이트 등과 같은 올리고뉴클레오티드 연쇄를 포함한다[예컨대, LaPlanche et al. Nucl. Acids Res. 14:9081(1986); Stec et al., J.Am.Chem.Soc. 106:6077(1984); Stein et al. Nucl.Acids Res. 16:3209(1988); Zon et al. Anti-Cancer Drug Design 6:539(1991); Zon et al. Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108(F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England(1991)); Stec et al., 미국 특허 제5,151,510호; Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543(1990), 본 발명에 참고 인용됨]. 이 올리고뉴클레오티드는 필요한 경우 검출용 표지를 포함할 수 있다.

본 명세서에 사용된 "선택적으로 하이브리드하는"이란 용어는 검출가능하고 특이적으로 결합하는 것을 의미한다. 본 발명에 따른 폴리뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 및 이의 단편은 비특이적 핵산에 대한 검출가능한 결합 양을 최소로 하는 하이브리드화 및 세척 조건하에 핵산 가닥에 선택적으로 하이브리드한다. 당해 기술 분야에 공지되어 있고 본 명세서에 기재된 바와 같은 선택적 하이브리드화 조건을 얻기 위해서는 고 스트린겐시(stringency) 조건을 사용할 수 있다. 일반적으로 본 발명의 폴리뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 및 단편과 당해의 핵산 간의 핵산 서열 상동성은 80% 이상, 보다 일반적으로 최소 85%, 90%, 95%, 99% 및 100%인 증가된 상동성을 보유하는 것이 좋다. 2개의 아미노산 서열은 그 서열간

에 부분적 동일성 또는 완전한 동일성이 있다면 상동성이다. 예컨대, 85% 상동성이란 두 서열을 최대 정합 상태로 정렬하였을 때 아미노산의 85%가 동일한 것을 의미한다. 정합을 최대화하기 위해서는 캡(정합되어 있는 두 서열 중 어느 한 서열 중에 존재)도 허용한다. 캡의 길이는 5 이하인 것이 바람직하고, 특히 2 이하인 것이 바람직하다. 또는, 두 단백질 서열이 돌연변이 데이터 매트릭스를 보유한 프로그램 ALIGN을 사용하였을 때 정렬 스코어가 5 이상(표준 편차 단위)이고, 캡 패널티가 6 이상인 경우 이 두 단백질 서열(또는 이 서열에서 유래되고 아미노산 길이가 30 이상인 폴리펩티드 서열)은 상동성이다(이 용어가 본 명세서에 사용됨)[Dayhoff, M.O., in *Atlas of Protein Sequence and Structure*, pp.101-110 (Volume 5, National Biomedical Research Foundation(1972)) 및 이 책의 중보판 2, pp 1-10]. 이 두 서열이나 이것의 단편은 ALIGN 프로그램을 사용하여 최적으로 정렬하였을 때 그 아미노산 동일성이 50% 이상이라면 상동성인 것으로 보다 바람직하다. 본 명세서에 사용된 "에 상응하는"이란 용어는 폴리뉴클레오티드 서열이 대조 폴리뉴클레오티드 서열 전체 또는 일부와 상동성(또는 염중하게 진화적으로 관련있는 것이 아니라 동일한 것)이거나 또는 폴리펩티드 서열이 대조 폴리펩티드 서열과 동일한 것을 의미한다. 이와 대조적으로, 본 명세서에 사용된 "에 상보적인"이란 용어는 상보적 서열이 대조 폴리뉴클레오티드 서열 전체 또는 일부에 상동성임을 의미하는 것이다. 예컨대, 뉴클레오티드 서열 "TATACT"는 대조 서열 "TATAC"에 상응하고, 대조 서열 "GTATA"에 상보적이다.

2 이상의 폴리뉴클레오티드 서열이나 아미노산 서열 간의 서열 관계를 나타내기 위하여 다음과 같은 용어, "대조 서열", "비교 윈도우", "서열 동일성", "서열 동일성%" 및 "실질적 동일성"을 사용하였다. "대조 서열"이란 서열 비교의 기준으로 사용된 소정의 서열을 말하는 것으로, 대조 서열은 예컨대 전길이 cDNA의 분절 또는 서열 목록에 제공된 유전자 서열의 분절로서 보다 큰 서열의 아군이거나 완전한 cDNA 또는 유전자 서열을 포함할 수 있다. 일반적으로, 대조 서열은 뉴클레오티드 길이가 18개 이상 또는 아미노산 길이가 6개 이상이고, 바람직하게는 뉴클레오티드 24개 이상 또는 아미노산 8개 이상이며, 보다 바람직하게는 뉴클레오티드 48개 이상 또는 아미노산 16개 이상이다. 2개의 폴리뉴클레오티드 서열이나 아미노산 서열은 각각 (1) 두 문자 간에 유사한 서열(즉, 완전한 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 서열의 일부)을 포함하고 (2) 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 서열간에 상이한 서열을 더 포함할 수 있으므로, 두 문자(또는 그 이상의 문자) 간의 서열 비교는 일반적으로 두 문자의 "비교 윈도우" 상의 서열을 비교하여 서열 유사성이 있는 국소 영역을 동정하고 비교하여 실시한다. 본 명세서에 사용된 "비교 윈도우"란 용어는 18개 이상의 인접 뉴클레오티드 또는 6개 이상의 아미노산 서열을 가진 대조 서열과 비교될 수 있고, 이 비교 윈도우 중의 일부 폴리뉴클레오티드 서열이 두 서열을 최적 정렬할 경우 대조 서열(첨가 또는 결실을 포함하지 않는 서열)에 의해 20% 이하의 첨가, 결실, 치환 등(즉, 캡)을 포함할 수 있는 18개 이상의 인접 뉴클레오티드 위치 또는 6개 이상의 아미노산으로 된 관념상의 분절을 의미한다. 비교 윈도우를 정렬시킬 경우 서열의 최적 정렬은 문헌[Smith and Waterman Adv.Appl.Math. 2:482(1981)]에 기재된 국소 상동성 알고리듬이나, 문헌[Needleman and Wunsch J.Mol.Biol. 48:443(1970)]에 기재된 상동성 정렬 알고리듬, 문헌[Pearson and Lipman Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A) 85:2444(1988)]에 기재된 유사성 방법에 대한 연구, 이 알고리듬의 컴퓨터 연산 수행[위스 콘신 제네티스 소프트웨어 팩키지 릴리즈 7.0(미국 위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575 소재, 제네티스 컴퓨터 그룹), 진웍스(Geneworks) 또는 맥벡터(MacVector) 소프트웨어 팩키지 중의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA] 또는 조사(inspection)를 통해 실시할 수 있으며, 그 결과 각종 방법으로 생성되는 최상의 정렬(즉, 비교 윈도우 상에서 최고의 상동률을 나타냄)을 선택한다.

"서열 동일성"이란 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 서열이 비교 윈도우 상에서 동일(즉, 뉴클레오티드 대 뉴클레오티드 간에, 또는 잔기 대 잔기 간에)하다는 것을 의미한다. "서열 동일성 %"는 최적으로 정렬된 비교 윈도우 상의 두 서열을 비교하고, 두 서열 중에 나타나는 동일한 핵산 염기(예, A, T, C, G, U 또는 I) 또는 잔기에 의해 정합된 위치의 수를 얻고, 이 정합된 위치의 수를 비교 윈도우내 위치의 총 수(즉, 윈도우 크기)로 나눈 다음, 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성 %를 얻는다. 본 명세서에 사용된 "실질적인 동일성"이란 용어는 서열 동일성%를 비교 윈도우 상에서 대조 서열의 총 20% 이하에 해당하는 결실이나 첨가를 포함할 수 있는 서열과 대조 서열을 비교하여 측정하고, 18개 이상의 뉴클레오티드(6개 아미노산) 위치에 해당하는 비교 윈도우, 흔히 24개 내지 48개 이상의 뉴클레오티드(8개 내지 16개 아미노산) 위치에 해당하는 윈도우 상에서 대조 서열과 비교하였을 때 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 서열이 85% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 90 내지 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 서열의 특징을 의미한다. 대조 서열은 보다 큰 서열의 아군일 수 있다.

본 명세서에 사용된 통상적인 20개 아미노산 및 이들의 약어는 통용되는 용법에 따라 사용하였다[*Immunology - A Synthesis*(2nd Edition, E.S.Golub and D.R.Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass.(1991), 본 발명에 참고 인용됨]. 또한, 이와 같은 통상적인 20개 아미노산의 입체이성질체(예, D-아미노산), α - α -이치환된 아미노산과 같은 비천연 아미노산, N-알킬 아미노산, 젖산 및 기타 통상적이지 않은 아미노산 역시 본 발명의 폴리펩티드에 사용하기에 적합한 성분이다. 통상적이지 않은 아미노산의 예로는 4-히드록시프롤린, γ -카르복시글루타메이트, ϵ -N,N,N-트리메틸리신, ϵ -N-아세틸리신, O-포스포세린, N-아세틸세린, N-포르밀메티오닌, 3-메틸히스티딘, 5-히드록시리신, σ -N-메틸아르기닌 및 기타 유사 아미노산과 아미노산(예, 4-히드록시프롤린)을 포함한다. 본 명세서에 사용된 폴리펩티드 표기에 있어서 표준 용법과 관례에 따라 좌측 방향은 아미노 말단 방향이고, 우측 방향은 카르복시 말단 방향이다.

이와 유사하게, 다른 표시가 없는 한 1본쇄 폴리뉴클레오티드 서열의 좌측 말단은 5' 말단이고, 2본쇄 폴리뉴클레오티드 서열의 좌측 방향은 5' 방향이다. 발생 RNA 전사체의 5'에서 3'로의 첨가 방향은 전사 방향이라 하며, RNA와 동일한 서열을 보유하는 DNA 가닥 상에서 RNA 전사체의 5' 말단에 대해 5'쪽에 위치한 서열 영역은 "상류 서열"이라 부른다. RNA와 동일한 서열을 보유하는 DNA 가닥 상에서 RNA 전사체의 3' 말단에 대해 3'쪽에 위치한 서열 영역은 "하류 서열"이라 부른다.

폴리펩티드의 경우, "실질적인 동일성"이란 2개의 펩티드 서열을 최적 상태로 정렬했을 때, 예컨대 디폴트 캡 웨이트 (weight)를 사용하는 프로그램 GAP 또는 BESTFIT으로 정렬하였을 때 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 95% 이상의 서열 동일성, 가장 바람직하게는 99% 이상의 서열 동일성을 보유하는 것을 의미한다. 또한, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환으로 상이한 것이 바람직하다. 보존적 아미노산 치환이란 유사한 측기를 가진 잔기의 상호교환가능성을 의미한다. 예컨대, 지방족 측쇄를 가진 아미노산 군은 글리신, 알라닌, 발린, 로이신 및 이소로이신이고, 지방족 히드록실 측쇄를 가진 아미노산 군은 세린 및 트레오닌이며, 아미드 함유 측쇄를 가진 아미노산 군은 아스파라긴 및 글루타민이고, 방향족 측쇄를 가진 아미노산 군은 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판이며, 염기성 측쇄를 가진 아미노산 군은 리신, 아르기닌 및 히스티딘이고, 황 함유 측쇄를 가진 아미노산 군은 시스테인과 메티오닌이다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 군은 발린-로이신-이소로이신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루탐산-아스파르트산 및 아스파라긴-글루타민이다.

본 명세서에 기재된 바와 같이, 항체 또는 면역글로불린 분자의 아미노산 서열에 나타나는 작은 변형은 이 변형이 있어도 75% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 가장 바람직하게는 99% 이상의 아미노산 서열을 유지한다면 본 발명에 포함되는 것으로 간주한다. 구체적으로, 보존적 아미노산 치환을 예로 들어 보면, 보존적 치환이란 측쇄에 관련성이 있는 아미노산 군 내에서 일어나는 것이다. 유전자적으로 암호된 아미노산은 일반적으로 다음과 같은 군으로 나뉜다. (1) 산성 = 아스파테이트, 글루타메이트, (2) 염기성 = 리신, 아르기닌, 히스티딘, (3) 비극성 = 알라닌, 발린, 로이신, 이소로이신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판, (4) 하전을 띠지 않는 극성 = 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신. 보다 바람직한 군으로는 지방족 히드록시 군인 세린과 트레오닌, 아미드 함유 군인 아스파라긴과 글루타민, 지방족 군인 알라닌, 발린, 로이신 및 이소로이신, 방향족 군인 페닐알라닌, 트립토판 및 티로신이 있다. 예컨대, 로이신을 이소로이신이나 발린으로 단독 치환하거나, 아스파테이트를 글루타메이트로 단독 치환하거나, 트레오닌을 세린으로 단독 치환하거나, 또는 이와 유사하게 한 아미노산의 구조적 관련성이 있는 아미노산으로의 치환이, 특히 프레임워크 부위내 아미노산의 치환이 아니라면 최종 분자의 결합이나 성질에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 추정할 수 있다. 그 분석법에 대해서는 본 명세서에 상세하게 기재하고 있다. 항체 또는 면역글로불린 분자의 단편 또는 유사체는 당업자에 의해 용이하게 제조될 수 있다. 단편이나 유사체의 바람직한 아미노 말단 및 카르복시 말단은 기능적 도메인의 경계 부근인 것이 좋다. 구조 도메인과 기능 도메인은 뉴클레오티드 및/또는 아미노산 서열 데이터를, 공지이거나 소유권이 있는 서열 데이터베이스와 비교하여 확인할 수 있다. 구조 및/또는 기능이 공지인 기타 다른 단백질에서 나타나는 소정의 단백질 형태 도메인이나 서열 모티프를 동정하는데에는 컴퓨터 연산 처리된 비교 방법을 사용한다. 공지의 3차원 구조로 풀딩되는 단백질 서열을 동정하는 방법은 잘 알려져 있다[Bowie et al. Science 253:164(1991)]. 따라서, 전술한 예는 당업자라면 본 발명에 기재된 구조 도메인 및 기능 도메인을 한정하는데 사용할 수 있는 서열 모티프와 구조 형태를 충분히 알아낼 수 있다는 것을 나타내는 것이다.

바람직한 아미노산 치환이란, (1) 단백분해 작용에 대한 민감성을 감소시키고, (2) 산화 민감성을 감소시키며, (3) 단백질 복합체를 형성하기 위한 결합 친화성을 변화시키고, (4) 결합 친화성을 변화시키며, (5) 이와 같은 유사체의 다른 물리화학적 성질이나 기능적 성질을 부여하거나 변화시키는 것이다. 유사체는 천연 발생의 펩티드 서열 이외에 서열의 다양한 뮤테인을 포함할 수 있다. 예컨대, 단독 또는 복수의 아미노산 치환(바람직하게는 보존적 아미노산 치환)은 천연 발생의 서열(바람직하게는 분자간 접촉을 형성하는 도메인 외측에 있는 폴리펩티드의 부분)에서 일어날 수 있다, 보존적 아미노산 치환은 모 서열의 구조적 특징을 실질적으로 변화시키지 않아야 한다(예컨대, 치환 아미노산이 모 서열에서 나타나는 나선 구조를 파괴하거나 모 서열의 특징인 다른 종류의 2차 구조를 봉괴하지 않아야 한다). 당해 기술 분야에 공지된 폴리펩티드 2차 구조 및 3차 구조의 예에 대해서는 문헌[Proteins, Structures and Molecular Principles(Creighton, Ed., W.H.Freeman and Company, New York(1984); Introduction to Protein Structure(C. Branden and J. Tooze eds., Garland Publishing, New York, N.Y.(1991)); 및 Thornton et al. Nature 354:105(1991), 본 발명에 참고 인용됨]에 기재되어 있다.

본 명세서에 사용된 "폴리펩티드 단편"이란 용어는 아미노 말단 및/또는 카르복시 말단이 결실되고, 나머지 아미노산 서열이 예컨대 전길이 cDNA 서열에서 추론된 천연 발생의 서열내의 상응하는 위치의 서열과 동일한 폴리펩티드를 의미한다. 단편은 일반적으로 아미노산 길이가 5개, 6개, 8개 또는 10개 이상, 바람직하게는 아미노산 길이가 14개 이상, 보다 바람직하게는 아미노산 길이가 20개 이상, 보통 50개 이상, 보다 더 바람직하게는 70개 이상인 것이다. 본 명세서에 사용된 "유

사체"란 용어는 (1) 적합한 결합 조건하에서 EGF-r에 대한 특이적 결합성, (2) 수용체에 대한 EGF 결합성 또는 (3) 시험관내 또는 생체내에서 EGF-r을 발현하는 세포 성장의 억제성 중 1가지 이상의 성질을 보유하고 추론된 아미노산 서열 중 일부와 실질적인 동일성이 있는 25개 이상의 아미노산 단편으로 구성된 폴리펩티드를 의미하는 것이다. 일반적으로, 폴리펩티드 유사체는 천연 발생의 서열에 대해 보존적 아미노산 치환(또는 결실이나 첨가)을 포함하는 것이다. 유사체는 일반적으로 아미노산 길이가 20개 이상, 바람직하게는 50개 이상인 것이고, 종종 완전 길이의 천연 발생 폴리펩티드 만큼 긴 경우도 있다.

펩티드 유사체는 주형 펩티드와 유사한 성질이 있는 비펩티드성 약물로서 의약 산업에 널리 사용되는 것이다. 이와 같은 종류의 비펩티드성 화합물은 "펩티드 모방체" 또는 "펩티도미메틱"이라 불린다[Fauchere, J.Adv.Drug Res. 15:29(1986); Veber and Freidinger TINS p.392(1985); and Evans et al. J.Med.Chem. 30:1229(1987), 본 발명에 참고 인용됨]. 이와 같은 화합물은 종종 컴퓨터 연산 처리된 문자 모델링의 도움으로 개발된다. 치료적으로 유용한 펩티드와 구조적으로 유사한 펩티드 모방체는 등가의 치료 또는 예방 효과를 제공하는데 사용할 수 있다. 일반적으로, 펩티도미메틱은 인간 항체와 같은 표본 폴리펩티드와 구조적으로 유사하지만(즉, 생화학적 성질이나 약리적 활성이 있는 폴리펩티드), 경우에 따라 당해 기술 분야에 공지된 방법으로 --CH₂NH--, --CH₂S--, --CH₂-CH₂--, --CH=CH--(시스 및 트란스), --COCH₂--, --CH(OH)CH₂-- 및 --CH₂SO--로 구성된 군 중에서 선택되는 연쇄로 치환되는 1종 이상의 펩티드 연쇄를 보유한다. 콘센서스 서열의 1개 이상의 아미노산을 계획적으로 동일한 종류의 D-아미노산(예컨대, L-리신 대신 D-리신)으로 치환시키면 보다 안정한 펩티드를 얻을 수 있다. 또한, 콘센서스 서열이나 실질적으로 동일한 콘센서스 서열의 변형을 포함하는 제한된 펩티드는 당해 기술 분야에 공지된 방법[Rizo and Giersch Ann. Rev. Biochem. 61:387(1992), 본 발명에 참고 인용됨], 예컨대 펩티드를 고리화시키는 문자간 이황화 가교를 형성할 수 있는 내부 시스테인 잔기를 첨가하여 제조할 수 있다.

"항체" 또는 "항체 펩티드"는 본래의 항체 또는 특정 결합에 대해 본래의 항체와 경쟁하는 그 항체의 결합 단편을 의미한다. 결합 단편은 재조합 DNA 기법이나 본래 항체의 효소적 또는 화학적 절단을 통해 제조한다. 결합 단편으로는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 및 1본쇄 항체를 포함한다. "이중특이적" 또는 "이작용성" 항체 이외에 기타 다른 항체는 각 결합 부위가 동일한 것을 의미한다. 과량의 항체가 대응수용체에 결합되는 수용체의 양을 최소 약 20%, 40%, 60% 또는 80%, 보다 일반적으로 약 85% 이상(시험관내 경쟁 결합 분석법으로 측정) 감소시키는 경우, 그 항체는 대응수용체에 대한 수용체의 부착을 실질적으로 억제하는 것이다.

"에피토프"란 용어는 면역글로불린 또는 T 세포 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 모든 단백질 결정인자를 포함한다. 에피토프성 결정인자는 일반적으로 아미노산이나 당 측쇄와 같은 문자의 화학적 활성 표면 기를 포함하며, 보통 특이적인 3차원 구조 특성 및 특이적 하전 특성을 보유하는 것이 일반적이다. 해리 상수가 $\leq 1 \mu\text{M}$, 바람직하게는 $\leq 100 \text{ nM}$, 가장 바람직하게는 $\leq 10 \text{ nM}$ 인 경우에 항체가 항원에 특이적으로 결합한다고 말한다.

본 명세서에 사용된 "제제"란 용어는 화합물이나, 화합물의 혼합물, 생물학적 거대 분자 또는 생물학적 물질로부터 제조된 추출물을 의미한다.

본 명세서에 사용된 "표지" 또는 "표지된"이란, 표식된 아비딘(예컨대, 광학법이나 비색법으로 검출될 수 있는 효소 활성이거나 형광성 마커를 포함하는 스트렙트아비딘)에 의해 검출될 수 있는 비오티닐 부를 폴리펩티드에 부착시키거나 또는 방사능 표지된 아미노산을 병입시키는 것과 같이 검출가능한 마커를 병입시키는 것을 의미한다. 특정 양태에서, 표지 또는 마커는 치료제일 수도 있다. 폴리펩티드 및 당단백질을 표지하는 각종 방법에 대해서는 당해 기술 분야에 공지되어 있고, 이것을 사용할 수 있다. 폴리펩티드용 표지의 예로는 방사능동위원소 또는 방사능핵종(예, ³H, ¹⁴C, ¹⁵N, ³⁵S, ⁹⁰Y, ⁹⁹Tc, ¹¹¹In, ¹²⁵I, ¹³¹I), 형광성 표지(예, FITC, 로다민, 란타나이드 인광물질), 효소적 표지(예, 양고추냉이 페옥시다제, β -갈락토시다제, 루시페라제, 알칼리성 포스파타제), 화학발광체, 비오티닐기, 제2 리포터(예, 로이신 지피 쌍 서열, 2차 항체의 결합 부위, 금속 결합 도메인, 에피토프 태그)에 의해 인식되는 소정의 폴리펩티드 에피토프를 포함하며, 이것에 국한되는 것은 아니다. 일부 양태에서, 표지는 다양한 길이의 스페이서 아암에 의해 부착되어 강력한 입체 방해를 감소시킬 수 있다.

본 명세서에 사용된 "약제 또는 약물"이란 용어는 환자에게 적당하게 투여하였을 때 목적하는 치료 효과를 유도할 수 있는 화합물이나 조성물을 의미한다. 본 명세서에 사용된 다른 화학 용어는 예컨대 서적[The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco(1985), 본 발명에 참고 인용됨)]에 기재된 바와 같이 당해 기술 분야에 통상적인 용어를 사용하였다.

본 명세서에 사용된 "항종양제"란 용어는 인체내 종양, 구체적으로 암종, 육종, 림프종 또는 백혈병과 같은 악성(암) 병변의 발생이나 진행을 억제하는 기능적 성질을 보유한 제제를 의미한다. 전이 억제 역시 종종 항종양제의 성질이다.

본 명세서에 사용된 "실질적으로 순수한"이란 대상 종이 존재하는 주요 종(즉, 몰 기준으로 조성물에 존재하는 임의의 기타 다른 각 종보다 더 풍부한 종)이라는 것을 의미하고, 바람직하게는 실질적으로 정제된 분획은 목적 종이 존재하는 모든 거대분자 종의 약 50% 이상(몰 기준)을 차지하는 조성물인 것이 좋다. 일반적으로, 실질적으로 순수한 조성물은 조성물내 존재하는 모든 거대분자 종의 약 80% 이상, 보다 바람직하게는 약 85%, 90%, 95% 및 99% 이상을 차지하는 것이다. 가장 바람직하게는, 목적 종이 실질적으로 균질성이 되게 정제되어(즉, 통상적인 검출 방법을 통해 조성물내 오염종이 검출되지 않음), 조성물이 단독의 거대분자 종으로 실질적으로 구성되는 것이 좋다.

환자라는 용어는 인간 및 수의학적 검체를 포함하는 것이다.

항체 구조

공지된 기본적인 항체 구조 단위는 테트라머를 포함하는 것이다. 각 테트라머는 2개의 동일한 폴리펩티드쇄의 쌍으로 구성되며, 각 쌍은 1개의 "경쇄"(약 25 kDa)와 1개의 "중쇄"(약 50 내지 70 kDa)를 보유한다. 각 쇄의 아미노 말단 부는 항원 인식에 주요 역할을 하는 약 100 내지 110개 또는 그 이상의 아미노산으로 된 가변 영역을 포함한다. 각 쇄의 카르복시 말단부는 작동인자 기능에 주요 역할을 하는 불변 영역을 의미한다. 인간 경쇄는 카파 경쇄와 람다 경쇄로 나뉘어진다. 중쇄는 뮤, 엘타, 감마, 알파 또는 입실론으로 분류되어, 항체의 이소타입을 각각 IgM, IgD, IgA 및 IgE로 나눈다. 경쇄 및 중쇄 내에는 가변 영역과 불변 영역이 약 12개 이상의 아미노산으로 이루어진 "J" 영역에 의해 결합되어 있으며, 중쇄는 또 약 10개 이상의 아미노산으로 이루어진 "D" 영역을 포함하기도 한다. 그 개론적인 내용에 대해서는 문헌[Fundamental Immunology Ch.7(Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y.(1989), 본 발명에 참고 인용됨)]을 참조하라. 각 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 항체 결합 부위를 형성한다.

따라서, 본래의 항체는 2개의 결합 부위를 보유한다. 이작용성 또는 이중특이적 항체를 제외한 항체의 2개의 결합 부위는 동일하다.

이 쇄들은 모두 비교적 보전적인 프레임워크 영역(FR)이 상보성 결정 영역, 또는 CDR이라고도 불리는 3개의 초가변 영역을 통해 결합되어 있는 동일한 일반 구조를 나타낸다. 각 쌍의 양쇄에 존재하는 CDR은 프레임워크 영역과 정렬되어 특이적 에피토프에 결합할 수 있게 된다. 경쇄와 중쇄는 N 말단에서부터 C 말단까지 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 각 도메인에 지정되는 아미노산은 문헌[Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1987 및 1991)), 또는 Chothia & Lesk J.Mol.Biol. 196:901-917(1987); Chothia et al. Nature 342:878-883(1989)]에 기재 내용에 따라 결정한다.

이중특이적 또는 이작용성 항체는 2개의 다른 중쇄/경쇄 쌍과 2개의 다른 결합 부위를 보유하는 합성 하이브리드 항체이다. 이중특이적 항체는 하이브리도마의 융합이나 Fab' 단편의 결합을 비롯한 다양한 방법으로 제조할 수 있다[예컨대, Songsivilai & Lachmann Clin.Exp.Immunol. 79:315-321(1990), Kostelny et al. J.Immunol. 148: 1547-1553(1992)]. 이중특이적 항체의 제조는 종래 항체 제조 방법에 비해 비교적 노동집약적인 공정이며, 이중특이적 항체의 순도의 수율과 정도는 일반적으로 낮다. 이중특이적 항체는 단독 결합 부위를 보유하는 단편 형태(예, Fab, Fab' 및 Fv)로 존재하지 않는다.

항체 제조

본 발명에 기재된 항체는 인간 항체 생성 계놈의 실질적인 부분이 삽입되어 있고 내인성의 쥐 항체 생성은 결손되어 있는 돌연변이 마우스를 이용하여 제조하는 것이 바람직하다. 이와 같은 마우스는 인간 면역글로불린 분자와 항체를 생성할 수 있으나 쥐의 면역글로불린 분자와 항체는 생성하지 못한다. 이와 같은 방법에 사용되는 기법은 본 명세서의 배경 기술 부분에 기재된 특허, 특히 출원 및 참조 문헌에 개시되어 있다. 특히, 마우스 돌연변이 제조 및 이로부터 항체 생성의 바람직한 양태는 본 발명에 참고 인용되는 미국 특허 출원 번호 08/759,620호(1996.12.3)에 개시되어 있다. 또한, 본 발명에 참고 인용되는 문헌[Mendez et al. Nature Genetics 15:146-156(1997)]도 참조하라.

이와 같은 기법을 이용하여 본 발명자들은 다양한 항원에 대한 완전한 인간 모노클로날 항체를 제조하였다. 실질적으로, 본 발명은 목적 항원으로 XenoMouse™계통의 마우스를 면역화시키고, 항체를 발현하는 마우스로부터 림프 세포(예, B 세포)를 회수하고, 이와 같이 회수된 세포를 골수종계 세포주와 융합시켜 무한증식성의 하이브리도마 세포주를 제조한 다

음, 이러한 하이브리도마 세포주를 선별하고 선택하여 목적 항원에 특이적인 항체를 생성하는 하이브리도마 세포를 동정한다. 본 발명자들은 본 발명에 있어서 EGF-r에 특이적인 항체를 제조하기 위하여 전술한 바와 같은 기법을 이용하였다. 본 발명자들은 본 명세서를 통해 EGF-r에 특이적인 항체를 생성하는 8종의 하이브리도마 세포주 생성에 대한 설명을 제시한다. 또한, 이와 같은 세포주에 의해 생성되는 항체에 대한 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열 분석을 비롯한 특성도 제공한다.

본 명세서에 기재된 하이브리도마 세포주는 E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 및 E7.6.3으로 표시되는 것이다. 이 세포주들에 의해 생성되는 각 항체는 인간 카파 경쇄를 가진 완전한 인간 IgG2 중쇄이다. 일반적으로, 본 발명에 기재된 항체는 고체상과 용액상에서 측정하였을 때 일반적으로 약 10^{-9} 내지 약 10^{-11} M의 Kd를 나타내는 매우 높은 친화성을 갖고 있다.

또한, 본 발명에 기재된 항체는 하이브리도마 세포주 이외에 다른 세포주에서도 발현될 수 있다는 것은 자명한 것이다. 즉, 특정 항체를 암호하는 서열을 사용하여 적합한 포유류 숙주 세포를 형질전환시키는 방법이 있다. 형질전환은, 예컨대 바이러스(또는 바이러스 벡터) 중에 폴리뉴클레오티드를 팩키징하고 이 바이러스(또는 벡터)로 숙주 세포를 형질도입시키는 것을 비롯하여, 숙주 세포 중으로 폴리뉴클레오티드를 도입시키는 임의의 공지된 방법이나, 또는 미국 특허 제4,399,216호, 제4,912,040호, 제4,740,461호 및 제4,959,455호(본 명세서에 참조 인용됨)에 예시된 바와 같이 당해 기술 분야에 공지된 형질감염 절차를 통해 실시할 수 있다. 사용되는 형질전환 절차는 형질전환될 숙주에 따라 달라진다. 이종의 폴리뉴클레오티드를 포유류 세포 중으로 도입시키는 방법은 당해 기술 분야에 공지되어 있으며, 예컨대 렉스트란 매개의 형질감염, 인산칼슘 침전, 폴리브렌 매개의 형질감염, 원형질 융합, 전기침투, 리포좀 중에 폴리뉴클레오티드의 캡슐화 및 핵 중으로 DNA의 직접 미량주입을 포함한다.

발현용 숙주로서 유용한 포유류 세포주 역시 당해 기술 분야에 공지되어 있으며, 미국 모식균 배양물 수집소(ATCC)로부터 입수용이한 다양한 무한증식성 세포주, 예컨대 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HeLa 세포, 어린 햄스터 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간세포 종양 세포(예, Hep G2) 및 다양한 기타 다른 세포주를 포함하며, 이것에 국한되는 것은 아니다. 특히 바람직한 세포주는 세포주가 높은 발현율을 나타내고, 구성형 EGF-r 결합성이 있는 항체를 생성하는지를 측정하여 선택한다.

본 발명에 따른 항체는 EGF의 수용체인 EGF-r에 대한 EGF 및 TGF- α 결합의 강력한 억제제이다. 이와 같은 결과는 실시 예 5와 6에서 논의하고 도 35에서 도 38에 제시하였다. 이와 같은 결과와 일치하는 것으로 도 39에 도시되고 실시 예 7에서 논의되는 바와 같이, 본 발명에 기재된 항체는 특정 인간 암종 세포주의 성장을 시험관내에서 억제한다. 또, 본 발명의 항체는 생체내에서 특정 인간 암종의 성장을 억제하기도 한다. 이와 같은 결과는 실시 예 8에서 논의되고 도 40 내지 도 42에 도시되어 있다. 실시 예 9에서는 본 발명의 항체가 최소한 항종양제와 조합하여 사용하면 동물 중에 존재하는 기존의 종양을 근절시킨다는 것을 입증하고 있다. 또한, 단독치료법(즉, 항종양제와 조합하지 않음)과 같은 항체 치료법도 본 발명의 항체를 이용하여 실시할 수 있는 것으로 나타난다. 이와 같은 단독치료법은 종래 기술에서는, 예컨대 항체 225를 통해서는 가능하지 않았던 것이다. 이와 같은 결과는 실시 예 9를 통해 논의되어 도 43과 44에 도시하였다.

본 발명에 따라 입증된 결과는 본 발명의 항체가 EGF-r에 대한 종래의 치료 항체, 예컨대 225보다 뛰어난 효능을 나타낼 수 있게 하는 특정 성질을 보유하고 있음을 시사한다. 임클론(Imclone)에 의해 임상 개발된 225 항체는 친화도가 2×10^{-10} M인 키메라 IgG1 항체로서, 항종양제와 조합하여 치료시 효능을 나타내지만 단독치료법으로 사용하면 크게 효능적이지 않은 것으로 나타난다. 이에 반해, 본 발명의 항체(특히, 본 발명의 E2.5 및 E7.6.3 항체)는 친화성이 매우 높고(E2.5 : 1.6 $\times 10^{-11}$ M, E7.6.3 : 5.7 $\times 10^{-11}$ M), C225 항체보다 낮은 투여량으로 사용하고, 항종양제와 조합 치료시 뿐만 아니라 단독치료법으로 사용하여도 효능적인 것으로 나타난다.

실시예

이하, 실시된 실험과 이로부터 얻어진 결과를 포함하는 실시예는 단지 예시적인 목적으로 기재한 것으로, 본 발명은 이 실시예에 의해 제한되지 않는다.

실시예 1

항EGF-r 항체 생성 하이브리도마의 제조

본 발명의 항체는 이하 실시예에 따라 제조, 선택 및 분석하였다.

면역화 및 하이브리도마 생성

8주 내지 10주령의 XenoMouse(제노마우스)에게 인산염 완충 식염수(PBS)에 재현탁시킨 2×10^7 A431(ATCC CRL-7907) 세포를 복강내 투여하여 면역화시켰다. 이 투여량을 3회 반복 투여하였다. PBS 중의 세포 주사액은 마지막으로 융합하기 4일 전에 투여하였다. 면역화된 마우스 유래의 비장과 림프절 림프구를 비분비성 골수종 NSO-bcl2 주(Ray and Diamond, 1994)와 융합하고, 전술한 바와 같이 HAT 선택하였다(Galfre and Milstein, 1981). EGF-r 특이적 인간 IgG_{2K} 항체를 모두 분비하는 다수 패널의 하이브리도마(검출 방법은 이하 기재됨)를 회수하였다. 실시예 2에 기재되는 바와 같이, 이 패널 중에서 선택되는 특정 항체는 225 항체와 경쟁하는 성질을 통해 선택한 것이다.

ELISA 분석법

마우스 혈청과 하이브리도마 상청액에 존재하는 항원 특이적 항체를 측정하기 위한 ELISA는 항체를 포획하기 위하여 A431 세포(시그마, E3641) 유래의 친화성 정제된 EGF-r을 사용하여 종래 개시된 바와 같이(Coligan et al., 1994) 실시하였다. 인간 및 마우스 면역글로불린의 농도는 다음과 같은 포획 항체를 사용하여 측정하였다. 즉, 인간의 감마 Ig, 카파 Ig 및 뮤 Ig을 포획하기 위한 각 래빗 항인간 IgG(서던 바이오테크놀로지, 6145-01), 염소 항인간 Igκ(벡터 레보레이토리즈, AI-3060), 마우스 항인간 IgM(CGI/ATCC, HB-57)과, 마우스 감마, 카파, 뮤 및 람다 Ig을 포획하기 위한 각 염소 항마우스 IgG(칼태그, M30100), 염소 항마우스 Igκ(서던 바이오테크놀로지, 1050-01), 염소 항마우스 IgM(서던 바이오테크놀로지, 1020-01) 및 염소 항마우스 λ(서던 바이오테크놀로지, 1060-01)를 사용하였다. ELISA 실험에 사용한 검출용 항체는 염소 항마우스 IgG-HRP(칼태그 M-30107), 염소 항마우스 Igκ-HRP(칼태그, M33007), 마우스 항인간 IgG2-HRP(서던 바이오테크놀로지, 9070-05), 마우스 항인간 IgM-HRP(서던 바이오테크놀로지, 9020-05) 및 염소 항인간 카파-비오틴(벡터, BA-3060)이다. 인간 및 마우스 Ig 정량시 사용된 표준물로는 인간 IgG_{2K}(칼바이오켐, 400122), 인간 IgMκ(카펠, 13000), 마우스 IgGκ(카펠 55939), 마우스 IgMκ(시그마, M-3795) 및 마우스 IgG₃λ(시그마, M-9019)을 사용하였다.

BIACore에 의한 완전한 인간 Mab의 친화성 상수 측정

BIACore 2000 기구를 사용하여 제조업자가 개략한 일반 절차에 따라 플라스몬 공명에 의해 정제된 인간 모노클로날 항체, Fab 단편 또는 하이브리도마 상청액의 친화성 측정을 실시하였다.

항체의 동력학적 분석은 저밀도로 센서 표면 상에 고정된 항원을 사용하여 실시하였다. A431 세포막(시그마, E-3641)으로부터 정제된 가용성 EGF-r은 일반적으로 228 RU의 표면 밀도로 사용하였다. 해리율(kd) 및 결합률(ka)은 제조업자가 제공한 소프트웨어(BIA 평가 방법 2.1)를 사용하여 측정하였다.

ELISA에 의한 용액내 친화성 상수 측정

용액내 항체 결합 친화성을 ELISA로 측정하기 위하여 EGF-r에 대한 다양한 농도의 모노클로날 항체와 일정 농도의 EGF-r을 평형에 이를 때까지 항온처리하였다. 그 다음, 반응 용액내 유리 EGF-r의 농도는 간접 ELISA법으로 측정하였다. 그 결과, 3.0×10^{-11} M 내지 2.7×10^{-7} M 농도의 모노클로날 항체를 4×10^{-10} M 농도의 EGF-r과 함께 0.5% BSA를 함유한 PBS 200 μ l 중에서 실온하에 15 시간 동안 항온처리하였다. 항온처리 후, 각 혼합물 70 μ l를 동일 모노클로날 항체(코팅 완충액내 2 μ g/ml 농도, 100 μ l/웰)로 미리 코팅되어 있는 96웰 미량역가 평판의 웰에 주입하고, 실온에서 15 분 동안 항온처리하였다. 세척 완충액으로 세척한 후, 평판 상에 보유된 EGF-r을 EGF-r 단백질의 탄수화물에 결합하는 마우스 항EGF-r-HRP로 검출하였다. EGF-r의 농도를 그 표준물을 이용하여 측정하고, 측정된 농도를 이용하여 본래의 항원-항체 반응 용액내 존재하는 결합 항체와 유리 항체의 농도를 계산하였다. EGF-r에 대한 각 모노클로날 항체의 결합 친화성은 스캐차드 분석법을 사용하여 계산하였다.

수용체 결합 분석

EGF 수용체 결합 분석은 A431 세포 또는 SW948 세포(0.4×10^6 세포/웰)를 PBS 결합 완충액내 첨가된 다양한 농도의 항체와 4 °C에서 30 분 동안 항온처리하여 실시하였다. 각 웰에 0.1 nM [125 I]EGF(아머샴, IM-196) 또는 [125 I]TGF- α (아머샴)를 첨가하고, 평판을 4 °C에서 90 분 동안 항온처리하였다. 이 평판을 5회 세척하고, 공기 건조한 뒤 신틸레이션 계수기로 계수하였다. 항EGF-r 마우스 항체 225 및 528(칼바이오켐)을 대조군으로 사용하였다.

실시예 2

m225 항체와 항EGF-r 항체의 동시선택

전술한 바와 같이, 항체 225는 EGF-r에 대해 높은 친화성을 보유하여, EGF-r에 대한 EGF 및 TGF- α 의 결합을 효과적으로 억제하는 것으로 입증되었다. 따라서, 경쟁 분석법으로 항체 225와 함께 본 발명에 따라 제조된 EGF-r에 대한 인간 항체를 선택할 수 있다면 225 항체가 결합하는 동일 에피토프 또는 유사 에피토프에 대한 항체를 선택할 수 있을 것으로 예상되었다.

따라서, 본 발명에서는 A431 세포막으로부터 정제된 가용성 EGF-r(시그마, E-3641)을 항체 225로 먼저 처리한 다음, 본 발명의 항체로 처리하는 BIAcore 분석을 실시하였다. 본 발명의 항체가 결합하지 않는 경우, 이와 같은 본 발명의 항체를 전술한 바와 같은 결합 친화성 분석으로 선별하였다.

다음 표는, 이와 같은 방법으로 선택된 특정 항체의 친화성 측정치를 제시한 것이다.

[표 I]

	고상(BIAcore)				용액상(ELISA)
하이브리도마	K_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)	K_{off} (s^{-1})	K_D (M)	표면 밀도(RU)	$KD(M)$
E1.1	2.3×10^6	1.7×10^{-4}	7.6×10^{-11}	228	1.1×10^{-10}
E2.4	2.8×10^6	9.78×10^{-5}	3.5×10^{-11}	818	1.1×10^{-10}
E2.5	1.2×10^6	1.9×10^{-5}	1.6×10^{-11}	228	3.6×10^{-10}
E2.11	1.9×10^6	3.0×10^{-4}	1.6×10^{-10}	228	1.1×10^{-10}
E7.6.3	2.0×10^6	1.1×10^{-4}	5.7×10^{-11}	228	ND

상기 표를 통해 알 수 있듯이, 전술한 바와 같은 방법으로 선택된 항체는 예상외로 높은 친화성과 결합 상수를 나타낸다.

실시예 3

본 발명에 따라 제조된 항EGF-r 항체의 구조

이하에서는 본 발명에 따라 제조된 항체에 관한 구조 정보를 제공한다.

본 발명에 따라 제조된 항체의 구조를 분석하기 위하여, 본 발명자들은 특정 하이브리도마로부터 중쇄 단편과 경쇄 단편을 암호하는 유전자를 클로닝하였다. 유전자 클로닝과 서열분석은 다음과 같이 실시하였다.

면역화된 제노마우스 유래의 하이브리도마 세포 약 2×10^5 으로부터 파스트-트랙(Fast-Track) 키트(인비트로겐)를 사용하여 폴리(A)⁺ mRNA를 분리하였다. 그 다음 PCR로 무작위 프라이밍된 cDNA를 얻었다. 인간 C γ 2 불변 영역(MG-40d; 5'-GCTGAGGGAGTAGAGTCCTGAGGA-3'(서열 2) 또는 C κ 불변 영역(h κ P2; Green et al. 1994에 종래 개시된 바 있음)에 특이적인 프라이머와 함께 인간 V_H 또는 인간 V_k에 특이적인 가변 영역 프라이머(Marks et al., 1991) 또는 보편 인간 V_H 프라이머 MG-30(CAGGTGCAGCTGGAGCAGTCIGG)(서열 1)을 사용하였다. 하이브리도마로부터 얻은 인

간 Mab 유래의 중쇄 및 카파쇄 전사체의 서열은 전술한 프라이머를 사용하여 폴리(A⁺) RNA로부터 생성되는 PCR 생성물을 직접 서열분석하여 얻었다. 또한, PCR 생성물을 TA 클로닝 키트(인비트로겐)를 사용하여 pCRII 중으로 클로닝하고 양 가닥을 프리즘 염료-종지인자 서열분석 키트 및 ABI 377 서열분석기를 사용하여 서열분석하였다. 모든 서열을 MacVector 소프트웨어 프로그램과 Geneworks 소프트웨어 프로그램을 사용하여 "V BASE 서열 디렉토리"(Tomlinson et al., MRC Centre for Protein Engineering, 영국 캠브리지)에 정렬시켜 분석하였다.

하이브리도마 E1.1

하이브리도마 E1.1에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H, D 및 J_H와 경쇄 V_K 및 J_K유전자의 유용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용성 간의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E1.1에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-31

D - 2

J_H - 5

V_K - 018

J_K - 4

V BASE 서열 디렉토리에 기록되어 있는 바와 같이, V_H 4-31 유전자에 의해 암호화되는 아미노산 서열은 다음과 같은 것으로 결정되었다.

(서열 19)

VSGGSIS3GGYYWSWIKQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAK

V BASE 서열 디렉토리에 기록되어 있는 바와 같이, V_K(018) 유전자에 의해 암호화되는 아미노산 서열은 다음과 같은 것으로 결정되었다.

(서열 20)

TITCQASQDIISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDEIATYYCQQYDMLP

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 1 내지 도 4와 관련하여 이하에 제공한다. 도 1은 하이브리도마 E1.1에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E1.1 분비형 중쇄 서열 간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밀줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 2는 하이브리도마 E1.1로부터 클로닝된 도 1에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 3은 하이브리도마 E1.1에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E1.1 분비형 경쇄 서열 간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밀줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 4는 하이브리도마 E1.1로부터 클로닝된 도 3에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

하이브리도마 E2.4

하이브리도마 E2.4에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H , D 및 J_H 와 경쇄 V_K 및 J_K 유전자의 이용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용성 간의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E2.4에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-31

D - A1/A4

J_H - 3

V_K - 018

J_K -4

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 5 내지 도 8과 관련하여 이하에 제공한다. 도 5는 하이브리도마 E2.4에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E2.4 분비형 중쇄 서열 간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 6은 하이브리도마 E2.4로부터 클로닝된 도 5에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 7은 하이브리도마 E2.4에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E2.4 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 8은 하이브리도마 E2.4로부터 클로닝된 도 7에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

하이브리도마 E2.5

하이브리도마 E2.5에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H , D 및 J_H 와 경쇄 V_K 및 J_K 유전자의 이용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용시의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E2.5에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-31

D - XP1/21-10

J_H - 4

V_K - 018

J_K - 2

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 9 내지 도 12와 관련하여 이하에 제공한다. 도 9는 하이브리도마 E2.5에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E2.5 분비형 중쇄 서열 간의 차이는 짙은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 10은 하이브리도마 E2.5로부터 클로닝된 도 9에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 11은 하이브리도마 E2.5에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E2.5 분비형 경쇄 서열간의 차이는 짙은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 12는 하이브리도마 E2.5로부터 클로닝된 도 11에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

하이브리도마 E6.2

하이브리도마 E6.2에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H , D 및 J_H 와 경쇄 V_K 및 J_K 유전자의 이용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용성 간의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E6.2에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-31

D - ?(CNTCCCTT)

J_H - 6

V_K - 018

J_K - 1

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 13 내지 도 16과 관련하여 이하에 제공한다. 도 13은 하이브리도마 E6.2에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E6.2 분비형 중쇄 서열 간의 차이는 짙은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 14는 하이브리도마 E6.2로부터 클로닝된 도 13에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 15는 하이브리도마 E6.2에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E6.2 분비형 경쇄 서열간의 차이는 짙은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 16은 하이브리도마 E6.2로부터 클로닝된 도 15에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

하이브리도마 E6.4

하이브리도마 E6.4에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H , D 및 J_H 와 경쇄 V_K 및 J_K 유전자의 이용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용성 간의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E6.4에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-31

D - A1/A4

J_H - 4

V_K - 012

J_K - 2

V BASE 서열 디렉토리에 기록되어 있는 바와 같이, V_K 012 유전자에 의해 암호화되는 아미노산 서열은 다음과 같은 것으로 결정되었다.

(서열 21)

TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQGGVPSRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTF

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 17 내지 도 20과 관련하여 이하에 제공한다. 도 17은 하이브리도마 E6.4에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E6.4 분비형 중쇄 서열 간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 18은 하이브리도마 E6.4로부터 클로닝된 도 17에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 19는 하이브리도마 E6.4에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 012에 의해 암호화되는 서열과 E6.4 분비형 경쇄 서열 간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 20은 하이브리도마 E6.4로부터 클로닝된 도 19에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

하이브리도마 E2.11

하이브리도마 E2.11에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H , D 및 J_H 와 경쇄 V_K 및 J_K 유전자의 이용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용성 간의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E2.11에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-61

D - XP1/21-10

J_H - 4

V_K - 018

J_K - 4

V BASE 서열 디렉토리에 기록되어 있는 바와 같이, V_H 4-61 유전자에 의해 암호화되는 아미노산 서열은 다음과 같은 것으로 결정되었다.

(서열 22)

```
VGGGSVSSGSYYWSW!RQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRTVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAK
```

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 21 내지 도 24와 관련하여 이하에 제공한다. 도 21은 하이브리도마 E2.11에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-31에 의해 암호화되는 서열과 E2.11 분비형 중쇄의 서열 간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 22는 하이브리도마 E2.11로부터 클로닝된 도 21에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 23은 하이브리도마 E2.11에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E2.11 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 24는 하이브리도마 E2.11로부터 클로닝된 도 23에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

하이브리도마 E6.3

하이브리도마 E6.3에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H, D 및 J_H와 경쇄 V_K 및 J_K유전자의 이용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용성 간의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E6.3에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-61

D - 1-2rc

J_H - 4V_K - 018J_K - 4

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 25 내지 도 28과 관련하여 이하에 제공한다. 도 25는 하이브리도마 E6.3에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-61에 의해 암호화되는 서열과 E6.3 분비형 중쇄 서열 간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 26은 하이브리도마 E6.3으로부터 클로닝된 도 25에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 27은 하이브리도마 E6.3에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E6.3 분비형 경쇄 서열간의 차이는 굵은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 28은 하이브리도마 E6.3으로부터 클로닝된 도 27에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

하이브리도마 E7.6.3

하이브리도마 E7.6.3에 의해 분비되는 항체로는 인간 카파 경쇄를 보유한 인간 IgG2 항체를 포함한다. 이 항체를 분석하여 이 항체의 중쇄 및 경쇄 유전자 이용성에 관한 구조 정보 및 아미노산 서열을 알아내었다. 즉, 중쇄 V_H , D 및 J_H 와 경쇄 V_K 및 J_K 유전자의 이용성을 분석하고, 암호된 생성물과 특정 유전자 이용성 간의 차이도 분석하였다. 그 결과, 하이브리도마 E7.6.3에 의해 분비되는 항체는 다음과 같은 유전자의 이용성을 나타내었다.

V_H - 4-61

D - XP4rc-XP1

J_H - 3

V_K - 018

J_K - 4

중쇄 및 경쇄에 관한 아미노산 및 뉴클레오티드 서열 정보는 도 29 내지 도 32와 관련하여 이하에 제공한다. 도 29는 하이브리도마 E7.6.3에 의해 분비되는 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 중쇄 가변 유전자 4-61에 의해 암호화되는 서열과 E7.6.3 분비형 중쇄의 서열 간의 차이는 짧은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 30은 하이브리도마 E7.6.3으로부터 클로닝된 도 29에 도시한 중쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

도 31은 하이브리도마 E7.6.3에 의해 분비되는 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이다. 경쇄 가변 유전자 018에 의해 암호화되는 서열과 E7.6.3 분비형 경쇄 서열간의 차이는 짧은 큰 활자로 표시하였다. CDR1에서부터 CDR3 까지의 인접 서열은 밑줄을 그어 표시하였고, CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 각각 2중선으로 표시하였다.

도 32는 하이브리도마 E7.6.3으로부터 클로닝된 도 31에 도시한 카파 경쇄 면역글로불린 분자를 암호하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열이다.

실시예 4

중쇄 및 경쇄의 아미노산 치환 분석

도 33은 특정 항체의 중쇄를 암호하는 특정 V_H 유전자의 아미노산 서열과 특정 항EGF-r 항체 중쇄 아미노산 서열을 비교한 것이다. 이와 유사하게, 도 34는 특정 항체의 경쇄를 암호하는 특정 V_K 유전자의 아미노산 서열과 특정 항EGF-r 항체 경쇄 아미노산 서열을 비교한 것이다. 이 도면들을 통해 알 수 있듯이, 중쇄 서열과 경쇄 서열 간에는 여러 개의 매우 보존적인 아미노산 치환이 존재한다. 구체적으로, 항체의 중쇄에서 모든 중쇄 분자는 V_H 4계 유전자에 의해 암호되고 V_H 4-31 암호성 항체 중의 10번 위치에 글리신을 보유하고, V_H 4-61 암호성 항체 중의 10번 위치에 있는 세린은 각각 아스파르트산으로 치환되어 있다. 또한, V_H 4-31 중쇄에서, 1개의 항체를 제외한 항체 모두는 7번 위치에 아스파라긴 대신 세린을 포함한다. 이와 유사하게, 주요 치환은 아니지만, V_H 4-31 암호성 항체 2개와 V_H 4-61 암호성 항체 2개 중에 존재하는 세린이 아스파라긴으로 치환되는 위치 35번이 관찰되기도 한다. 또, V_H 4-31 암호성 항체 2개와 V_H 4-61 암호성 항체 2개에서는 각각 티로신이 세린(E2.4) 또는 히스티딘(E6.4, E2.11 및 E7.6.3)으로 치환되는 위치 28번의 치환이 관찰되고 있다. V_H 4-31 암호성 항체 3개와 V_H 4-61 암호성 항체 2개인 총 5개의 항체에서는, 위치 50번에 발린 대신 로이신(E2.4 및 E2.11) 또는 이소로이신(E2.5, E6.2 및 E7.6.3)을 갖고 있다.

카파 경쇄 아미노산 서열과 관련하여, 이 서열은 모두 VκI 계 유전자에 의해 암호되고, 이 분자 중 7개는 018 유전자에 의해 암호되고 1개(E6.4)는 012 유전자에 의해 암호된다. 012 유전자 생성물과 018 유전자 생성물간에는, E6.4 분자를 다른 분자와 함께 018 유전자 생성물과 비교해 볼 때 도 34를 통해 알 수 있듯이 고도의 상동성이 있는 것으로 나타난다. E6.4 분자는 도 19에 도시되어 있듯이 012 유전자 생성물에 비해 단지 2개의 치환만을 갖고 있고, 018 유전자 생성물에 비해 13개의 치환을 보유한다. 이 항체들은 모두 CDR3 중의 74번 위치에 아스파라긴 대신 세린(E1.1, E2.5, E2.11 및 E6.3)이나, 히스티딘(E2.4, E6.2 및 E7.6.3) 또는 아르기닌(E6.4)이 존재하는 치환을 나타낸다. 나머지 치환은 고도로 보존적이지 않다. 하지만, 다수의 항체들은 CDR 중에 치환을 나타내는 것으로 관찰된다. 그러나, 매우 높은 친화성이 있는 항체인 E7.6.3은 CDR3내 및 CDR3 근접 부위까지 경쇄 아미노산 서열에 아미노산 치환을 전혀 보유하지 않는다는 것은 흥미로운 사실이다.

전술한 각 아미노산 치환들은 CDR내 또는 CDR과 근접 부위에서 나타나는 것이다. 이러한 치환은 EGF 수용체 분자에 대한 항체의 결합시 일부 영향을 미치는 것으로 보인다. 또한, 이러한 치환은 항체의 친화성에 유의적 효과를 나타내는 것이다.

전술한 바와 같이, 항EGF-r 항체는 특정 항종양 활성을 나타내는 것으로 입증되었다. 이하 실시예는 본 발명의 항체가 이와 같은 항종양 활성을 나타내는지를 측정하기 위한 것이다.

실시예 5

인간 항EGF-r 항체에 의한 인간 유상피암 A431 세포에 대한 EGF 및 TGF- α 결합의 시험관내 차단 실험

본 발명의 항체가 인간 암종 세포주에 대한 EGF 결합을 차단할 수 있는지를 측정하기 위하여 시험관내 분석을 실시하였다. 이 실험은 전술한 바와 같이 항암 활성이 종래 입증된 쥐의 모노클로날 항체 225와 본 발명에 기재된 항체의 결합을 비교하기 위한 것이다.

이 실시예에서는 인간 유상피암 A431 세포주를 사용하였다. A431 세포주는 EGF-r을 다량 발현하는 것으로 알려져 있다 (세포 당 EGF-r 분자 약 2×10^6). 따라서, 항EGF-r 항체는 모든 결합 부위를 다 포화시키려면 상기 보다 더 높은 농도가 필요로 된다. 이 실시예의 결과는 도 35에 도시하였다. 이 도면을 통해, 인간 유상피암 A431 세포에 대한 I^{125} 표지된 EGF 결합이 시험관내에서 인간 항EGF-r 항체에 의해 차단된다는 것을 관찰할 수 있다. 이 도면에서, (□)는 본 발명에 기재된 항EGF-r 항체(E7.6.3)에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (●)은 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▲)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

도 36은 인간 유상피암 A431 세포에 대한 EGF 결합이 본 발명에 따른 인간 항EGF-r 항체 패널에 의해 시험관내에서 억제되는지를 225, 528 및 비특이적 인간 IgG2 대조군과 비교하여 나타낸 것이다. 이 도면에서, (□)는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (○)은 쥐의 모노클로날 항체 528에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▼)는 본 발명에 기재된 E1.1 항체 사용시 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (▲)는 본 발명의 E2.4 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (▶)는 본 발명의 E2.5 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (◀)는 본 발명의 E2.6 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이며, (◆)는 본 발명의 E2.11 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이고, (☒)은 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체를 사용하여 얻은 결과를 도시한 것이다.

이와 같은 결과를 통해, 본 발명의 항체가 A431 세포상에 표면 발현된 EGF-r에 대한 EGF 결합을 225 항체 및 528 항체 보다 더 우수하게 차단할 수 있다는 것을 알 수 있다. 구체적으로, 결합을 억제하기 시작하는 농도가 225 항체는 10 nM인데 비해 본 발명의 항체는 8 nM인 것으로 나타난다.

TGF- α 결합의 억제면에서는, 225 항체와 비교했을 때 본 발명의 항체 이용시 유사한 효능이 관찰되었다. 도 37은 인간 유상피암 A431 세포에 대한 TGF- α 결합이 인간 항EGF-r 항체에 의해 시험관내에서 억제되는지를 도시한 것으로, 여기에서 (□)는 쥐 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (◆)는 본 발명의 E6.2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (●)은 본 발명의 E6.3 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (▲)는 본 발명의 E7.2 항체에 의해 얻어진 결과를 도시한 것이며, (■)은 본 발명의 E7.10 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (▼)는 E7.6.3을 사용하여 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (⊕)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체를 사용하여 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

이와 같은 결과를 통해, 본 발명의 항체가 A431 세포상에 표면 발현된 EGF-r에 대한 TGF- α 결합을 225 항체에 비해 더 우수하게 차단한다는 것을 알 수 있다. 구체적으로, 결합을 억제하기 시작하는 농도가 225 항체는 1 nM인데 비해 본 발명의 항체는 0.1 nM인 것으로 나타난다.

실시예 6

인간 항EGF-r 항체에 의한 시험관내 인간 결장 선암 SW948 세포에 대한 EGF 결합의 차단

또 다른 시험관내 분석으로 본 발명의 항체가 또 다른 인간 암종 세포주에 대한 EGF 결합을 차단할 수 있는지를 측정하였다. 이 실험은 전술한 바와 같이 항암 활성이 종래 입증된 쥐의 모노클로날 항체 225와 본 발명에 기재된 항체의 결합을 비교하기 위한 것이다.

이 실시예에서는 인간 결장 선암 SW948 세포주를 사용하였다. A431 세포주와는 반대로, SW948 세포주는 표면상에 EGF-r을 비교적 소량 발현한다(세포 당 약 40,000 분자). 따라서, 이보다 더 적은 농도의 항EGF-r 항체가 세포상의 수용체 결합 부위를 다 포화시키는데 필요로 된다. 이 실시예의 결과는 도 38에 도시하였다. 이 도면을 통해, 인간 결장 선암 SW948 세포에 대한 I^{125} 표지된 EGF 결합이 인간 항EGF-r 항체에 의해 시험관내에서 차단된다는 것을 관찰할 수 있다. 이 도면에서, (●)은 본 발명에 기재된 항EGF-r 항체(E7.6.3)에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (□)는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▲)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

이와 같은 결과는 본 발명의 항체가 적어도 225 항체 뿐만 아니라 SW948 세포에 대한 EGF 결합을 차단한다는 것을 시사한다. 사실상, 곡선은 본 발명의 항체에 의해 약간 개선된 것으로 보이나, 이것은 225 항체 보다 낮은 농도에서의 억제 결과를 나타낸 것이다.

실시예 7

인간 항EGF-r 항체에 의한 시험관내 인간 결장 선암 SW948 세포 성장의 억제

본 발명자들은 본 발명의 항체가 암 세포 성장을 억제할 수 있는지, 그리고 억제 정도가 225 항체에 비해 어느 정도인지를 측정하기 위하여 시험관내 분석으로 실시하였다. 이 실험은 전술한 바와 같이 이미 입증된 바 있는 항암 활성이 있는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의한 억제 정도와 본 발명의 항체에 의한 억제 정도를 비교하기 위하여 실시한 것이다.

이 실시예에서는 인간 결장 선암 SW948 세포주를 사용하였다. SW948 세포주만이 EGF 의존적 세포 성장을 나타내었다. 이와 반대로 A431 세포주는 시험관내 EGF의 존재하에 성장 억제를 나타내었다. 이와 같은 결과는 본 발명의 인간 항EGF-r 항체가 시험관내 SW948 세포 성장을 억제함을 입증하고 있는 도 39에 도시되어 있다. 이 도면에서, (●)은 본 발명에 기재된 항EGF-r 항체(E7.6.3)에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (□)는 쥐의 모노클로날 항체 225에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (▲)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

이와 같은 결과는 본 발명의 항체가 적어도 225 항체 뿐만 아니라 SW948 세포의 성장을 억제한다는 것을 시사한다. 사실상, 곡선은 본 발명의 항체에 의해 약간 개선된 것으로 보이나, 약 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 본 발명의 항체는 세포 성장을 명백히 100% 억제하는 반면, 225 항체는 동일 투여량 범위에서 80% 내지 90% 사이의 일정 억제율을 나타내는 것으로 관찰된다.

실시예 8

인간 항EGF-r 항체에 의한 누드 마우스내 인간 유상피암 성장의 생체내 억제

본 실험은 본 발명의 항체가 생체내 종양 세포 성장을 억제할 수 있는지를 측정하기 위한 것이다. 이 실험에서, 8주령의 누드 마우스에게 인간 유상피암 A431 세포주를 경피 접종하였다. 5×10^6 A431 세포를 마우스에 주사하였다. A431 세포를 접종한 날에 본 발명의 항체 2가지 투여량 중 1가지 투여량이나 2가지 대조군 중 1가지를 복강내 주사하였다. 이어서 항체 또는 대조군을 3회 투여하고, 경피 종양 형성과 크기를 측정하였다. 사용된 항체의 투여량은 1.0 mg 또는 0.2 mg이다. 대조군으로는 인산염 완충 식염수 또는 비특이적 인간 IgG2 항체를 사용하였다.

이 실험의 결과는 도 40에 도시하였다. 이 도면을 통해 생체내 본 발명의 인간 항EGF-r 항체의 이용을 통한 누드 마우스 내 인간 유상피암 세포 성장의 억제를 명백히 관찰할 수 있다. 이 도면에서, (▲)는 본 발명의 인간 항EGF-r 항체(E7.6.3) 1.0 mg 투여시 얻어지는 결과를 도시한 것이고(n=5), (▼)는 E7.6.3 항체 0.2 mg 투여시 얻어지는 결과를 도시한 것이며(n=4), (□)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이고(n=6), (○)은 대조군으로 인산염 완충 식염수를 이용하여 얻은 결과를 도시한 것이다(n=6).

E7.6.3 항체로 처리한 동물에서는 종양 성장이 관찰되지 않은 반면, 대조군 동물은 종양 세포 접종 25일 이내에 유의적인 종양 성장을 나타내었다.

이와 같은 실험을 통해 본 발명에 기재된 3가지 항체를 비교하였다. 그 결과는 도 41에 도시하였다. 본 발명의 각 항체를, 즉 E7.6.3은 마우스 5 마리에게 1 mg, 4 마리에게 0.2 mg, E2.5는 마우스 3 마리에게 1 mg, 다른 3 마리에게 0.2 mg, E1.1은 마우스 3 마리에게 1 mg 투여한 결과 대조군에 비하여 마우스내 인간 유상피암 형성이 억제되는 것으로 나타났다. 대조군 동물은 모두(PBS 처리 동물 6 마리와 인간 IgG2 처리 동물 6 마리) 접종 19일 이내에 유의적인 종양 형성을 나타내는 반면, 본 발명의 인간 항EGF-r 항체를 처리한 동물에서는 접종 19일 이내에 종양이 전혀 형성되지 않았다.

도 42는 인간 유상피암을 접종한 후 130일 동안 전술한 실험의 동물로부터 얻어지는 결과를 도시한 것이다. 이 실험의 결과는 도 42에 도시하였다. 이 도면에서 모든 대조군의 마우스는 종양 세포 접종 20일 이내에 종양 형성을 나타내는 것으로 관찰되었다. 이와 반대로, 본 발명의 항체로 처리된 첫번째 마우스에게서 종양이 형성되는 시기는 70일이었다. 130일까지, 실험 동물 15 마리중 4 마리에서만 종양 형성이 관찰되었다. 흥미로운 것은, E2.5 항체 0.2 mg을 투여한 실험 동물에서는 시험 기간내에 종양 형성을 전혀 나타내지 않았다.

전술한 실험을 통해 본 발명의 항체가 종양 세포주 접종과 동시적으로 투여된다면 종양 세포 성장의 개시와 종양의 개시를 거의 완전하게 예방한다는 결론을 얻었다. 또한, 종양 세포 성장에 미치는 억제 효과는 장기 지속적인 것으로 관찰되었다.

실시예 9

인간 항EGF-r 항체에 의한 누드 마우스내 인간 유상피암 성장의 생체내 균절

상기 실시예를 통해 논의한 바와 같이, 종양 세포 성장 및/또는 종양 형성의 예방은 긍정적인 결과이지만, 치료적인 관점에서는 형성되어 있는 종양의 균절이 더욱 절실히 요구된다. 따라서, 본 실험에서는 본 발명의 항체가 포유류내 형성된 종양을 균절시킬 수 있는지를 조사하였다. 225 항체에 대하여 제시된 종래 데이터에서는 225 항체를 이용하여 형성된 종양을 효과적으로 균절시키기 위해서 항종양제로의 치료를 보충하는 것이 필수적임을 시사하였다. 따라서, 본 실험에서는 항체 처리를 단독 처리 및 항종양제와의 병용 처리로 실시하였다.

본 실험을 위해, 누드 마우스에게 A431 인간 유상피암 세포 5×10^6 을 0일째 경피 접종하였다. 이 마우스에게 종양이 형성될 기회를 제공한 후(크기 $\geq 0.4 \text{ cm}^3$) 항체, 화학치료제 및/또는 대조군으로 치료하였다. 치료는 개시한 후 5일, 8일, 10일, 14일, 16일 및 21일간 계속하고, 화학치료제는 5일 및 6일째에만 투여하였다. 치료에는 본 발명의 항체(E7.6.3), 항종양제 독소루비신 및 항체와 독소루비신의 조합물을 사용하였다. 대조군으로는 인산염 완충 식염수 또는 비특이적 인간 IgG2 항체를 이용하였다. 각 치료군으로 5 마리의 동물을 사용하였다. 이 실험으로부터 얻어지는 결과를 도 43에 도시하였고, 이 도면에서 (△)는 본 발명의 인간 항EGF-r 항체(E7.6.3)를 1 mg 투여했을 때 얻어지는 결과를 도시한 것이고(n=5), (●)는 독소루비신 125 μg 을 투여하였을 때 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (×)는 본 발명의 인간 항EGF-r 항체 1 mg과 함께 독소루비신 125 μg 의 투여량을 투여하였을 때 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (◆)은 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체에 의해 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (■)는 대조용으로 인산염 완충 식염수를 이용하였을 때 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

이 도면을 통해 관찰되는 바와 같이, 독소루비신과 조합하여 E7.6.3 항체를 투여한 경우에는 종양 성장의 완전한 균절을 보였다. 또한, E7.6.3 항체를 단독 투여한 경우에도 종양 성장이 완전 정지되었다.

이와 유사한 실험으로서, 종양을 접종한 후, 5마리 마우스에게 5일, 8일, 10일, 14일, 16일 및 21일째 E2.5 항체 0.5 mg을 투여하고, 다른 5마리 마우스에게는 5일, 8일, 10일, 14일, 16일 및 21일째 E2.5 항체와 함께 5일과 6일째 독소루비신을 조합 투여하고, 그 결과를 도 44에 도시하였다. 이 도면에서, (◆)는 본 발명의 인간 항EGF-r 항체(E2.5) 0.5 mg을 투여하여 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (■)는 독소루비신 125 μg 을 투여하여 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (△)는 독소루

비신 $125 \mu\text{g}$ 과 함께 본 발명의 인간 항EGF-r 항체(E2.5) 0.5 mg 을 투여하여 얻어지는 결과를 도시한 것이고, (×)는 대조군으로 인산염 완충 식염수를 이용하여 얻어지는 결과를 도시한 것이며, (××)는 대조용의 비특이적 인간 IgG2 항체를 이용하여 얻어지는 결과를 도시한 것이다.

이 도면을 통해 관찰되는 바와 같이, E2.5 항체 단독 투여 또는 독소루비신과의 조합 투여에 의해 마우스내 종양이 거의 완전하게 근절되는 것으로 나타났다.

실시예 10

인간 항EGF-r 항체의 이용을 통해 생체내 인간 종양을 치료 및 진단하기 위한 인간에 대한 임상 시도

개요

본 발명의 항체는 특정 고체 종양의 치료에 효과가 있다. EGF-r 발현율을 비롯한 다수 인자에 근거할 때, 다음과 같은 종양 종류, 즉 유방암, 난소암, 결장암, 전립선암, 방광암 및 비소(non-small) 세포 폐암에 대하여 바람직한 효과를 나타내는 것으로 보인다. 이와 같은 각 효과와 관련하여, 3가지 임상 경로가 임상적 성과에 각별한 가능성을 제공하는 것으로 보인다.

보조 요법

보조 요법에서는 환자를 화학치료제 또는 항종양제 및/또는 방사선 요법과 함께 본 발명의 항체로 치료한다. 전술한 1차 표적은 본 발명의 항체를 표준 제1 및 제2 치료법에 부가하는 프로토콜하에 처리된다. 이 프로토콜은 표준 화학치료법의 통상의 투여량을 감소시키는 성질 뿐만 아니라 종양 질량의 감소로 측정되는 바와 같이 효과적임을 나타낸다. 이와 같은 투여량의 감소로 인하여 화학치료제의 용량 관련 독성을 감소시켜 추가 치료 및/또는 장기 치료의 가능성을 제공한다. 종래 기술의 항EGF-r 항체는 화학치료제 또는 항종양제인 아드리아마이신(C225: 전진성 전립선암), 시스플라틴(C225: 전진성 두경부 암과 폐암), 탁솔(C225: 유방암) 및 독소루비신(C225: 종상발현전)과 함께 여러 부속 임상 시도에 사용되었고, 현재도 사용되고 있다.

단독 치료법

종양의 단독치료법으로 본 발명에 기재된 항체를 사용하는 경우에는 항체를 화학치료제 또는 항종양제 없이 환자에게 투여한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이 본 발명의 항체를 사용함에 따라 얻어지는 증상발현전 결과는 보조 요법 및/또는 독립 요법과 유사한 결과를 나타내었다. 더욱이, 단독치료법은 상당한 전이 질병에 걸린 말기 암환자에 대하여 분명하게 실시하였다. 환자들은 일부 질환에 대하여 안정화를 나타내는 것으로 밝혀졌다. 본 시험은, 종양(암)에 걸린 치료저항성 환자에 대한 효과를 나타내기 위한 것이다.

영상화제

본 발명의 항체에 대하여 방사능핵종[예, 이트륨(^{90}Y)]을 결합시키면, 방사능핵종 결합된 본 발명의 항체를 진단용 영상화제로서 사용할 수 있다. 이 경우, 본 발명의 항체는 EGF 수용체를 발현하는 세포의 전이 병변부 뿐만 아니라 고체 종양에도 국재화한다. 따라서, 본 발명의 항체를 영상화제로 사용하면, 이 항체는 외과 수술전 검색 뿐만 아니라 수술 후에 어떤 종양이 남아있고 재발하는지를 측정하는 경우와 같이 고체 종양의 외과적 치료를 보조하는데 사용할 수 있다. 예컨대, (^{111}In)-C225 항체는 절제할 수 없는 인상 세포 폐암에 걸린 환자의 제I 단계 인간 임상 시험에 영상화제로서 사용된 바 있다(Divgi et al. J.Natl.Cancer Inst. 83:97-104(1991)]. 그 다음, 표준 전방 및 후방 감마 카메라를 사용하여 환자를 촬영하였다. 예비 데이터 결과 모든 1차 병변과 대형 전이 병변은 확인되는 반면, 소형 전이 병변(1 cm 이하)은 1/2 만이 검출되었다.

투여량 및 투여 경로

본 발명에 기재된 항체의 구체적인 투여량은 아직 확정된 것은 아니지만, 특정 투여량은 임상적으로 유사 제품(ImClone C225)과 비교하여 결정할 수 있다. C225 항체는 일반적으로 $5 \text{ mg}/\text{m}^2$ 범위의 투여량으로 사용될 수 있으나 안전성 측면에서 보다 낮은 투여량을 사용한다. 본 발명의 항체는 C225 항체보다 1 로그 이상 높은 친화성을 나타낸다. 또한, C225 항체는 키메라 항체인데 반하여 본 발명의 항체는 완전한 인간 항체로서, 항체 제거성이 보다 느릴 것으로 예상된다.

따라서, 본 발명자들은 본 발명에 기재된 항체의 환자내 투여량이 보다 낮은, 50 내지 300 mg/m² 범위이고, 지속적으로 효능을 유지할 것으로 예상한다. 통상적인 투여량 단위인 mg/kg에 비하여 mg/m²의 투여량은 표면적을 기준으로 한 측정 단위로서 유아에서부터 성인에 이르기까지 모든 크기의 환자에 해당되도록 고안된 편리한 투여량 단위이다.

3가지 독특한 전달 방법은 본 발명의 항체 전달시 유용한 것으로 예상된다. 즉, 대부분의 종양에 대한 표준 전달 기법은 통상적인 정맥내 전달이다. 하지만, 복강 종양, 예컨대 난소, 담즙관, 기타 관등의 종양의 경우에는 복강내 투여가 종양 부위에 높은 투여량의 항체를 제공하고, 항체 제거율을 최소화하는데 바람직한 것으로 입증된다. 이와 유사하게 특정 고체 종양은 국부적 관류에 적당한 맥관구조를 보유한다. 국부적 관류는 종양 부위에 높은 투여량의 항체를 제공하고 항체의 단기 제거를 최소화할 것이다.

임상 진행 계획(CDP)

개론 : CDP는 보조 요법, 단독 치료법 및 영상화제로서 본 발명에 기재된 항EGF-r 항체에 의한 치료 후 실시되고 진행되는 것이다. 이 실험은 초기에는 안정성을 입증하기 위하여 이용되고, 그 후에는 반복 투여량의 효능을 나타내기 위하여 이용되는 것이다. 이 실험은 본 발명의 항체를 이용한 표준 치료법과 표준 화학치료법을 비교하는 공개적인 지표이다. 환자가 입시 이용할 수 있는 1가지 기준은 잘 알려진 바와 같이, 생검시 측정되는 환자 종양의 EGF-r 발현율이다.

임의의 단백질이나 항체 주입을 기본으로 한 치료시 안전성의 문제는 주로 (i) 시토킨 방출 증후군, 즉 저혈압, 고열, 전율, 오한, (ii) 물질에 대한 면역원성 반응의 발생(즉, 인간 항체 치료제 또는 HAHA 반응에 대하여 환자에게 나타나는 인간 항체의 발생) 및 (iii) EGF 수용체를 발현하는 정상 세포, 예컨대 EGF-r을 발현하는 간세포에 대한 독성에 관한 것이다. 표준 시험과 후속 시험은 이러한 각 안전성 문제를 모니터하는데 이용된다. 구체적으로, 간 손상을 측정하기 위하여 필요한 경우 임상 시험 동안 간 기능을 종종 모니터한다.

인간 임상 시험 : 인간 항EGF-r 항체 및 화학치료제를 이용한 보조 요법

고체 종양, 예컨대 유방암의 치료와 관련하여 본 발명에 기재된 인간 항EGF-r 항체의 6회 정맥내 투여량의 안전성을 측정하기 위하여 제I 단계 인간 임상 시험을 개시한다. 이 연구에서는, 항종양제 또는 화학치료제, 예컨대 시스플라틴, 토토테칸, 독소루비신, 아드리아마이신, 턱솔 등에 대한 보조 요법으로 본 발명에 기재된 항체의 단독 투여량을 이용하여 그 안전성을 시험한다. 이 시험은 다음과 같은 계획에 따라 치료하는 과정에 있어서 약 25 mg/m² 내지 약 275 mg/m²으로 점증하는 항체 투여량으로 본 발명에 기재된 항체의 6가지 단독 투여량을 전달하는 것을 포함한다.

	0일	7일	14일	21일	28일	35일
Mab 투여량	25 mg/m ²	75 mg/m ²	125 mg/m ²	175 mg/m ²	225 mg/m ²	275 mg/m ²
화학치료제 (표준 투여량)	+	+	+	+	+	+

항체와 화학치료제를 각각 투여한 후 1주 동안 환자를 세밀하게 관찰한다. 구체적으로, 전술한 안전성 문제에 대하여 환자를 평가한다. (i) 시토킨 방출 증후군, 즉 고혈압, 고열, 전율, 오한, (ii) 물질에 대한 면역원성 반응의 발생(즉, 인간 항체 치료제 또는 HAHA 반응에 대하여 환자에게 나타나는 인간 항체의 발생) 및 (iii) EGF 수용체를 발현하는 정상 세포, 예컨대 EGF-r을 발현하는 간세포에 대한 독성. 이러한 각 안전성 문제를 표준 시험과 후속 시험을 이용하여 모니터한다. 특히, 간 기능은 필요한 경우 간 손상을 측정하기 위하여 임상 시험 동안 자주 모니터한다.

또한, 환자의 임상 결과, 구체적으로 MRI 또는 기타 영상화법으로 입증되는 종양 크기의 감소를 평가한다.

안전성과 효능 표시의 증거를 이용하여 제II 단계 시험을 실시하여 추가 효능과 최적 투여량을 평가한다.

인간 임상 시험 : 인간 항EGF-r 항체를 이용한 단독치료법

전술한 보조 시험에서 본 발명의 항체가 안전성을 나타냄을 고려하여 단독 치료법의 효능과 최적 투여량을 평가하기 위하여 인간 임상 시험을 실시한다. 이 시험은 환자에게 본 발명의 항체 투여량의 제공과 동시에 화학치료제를 제공하지 않는 점을 제외하고는 전술한 보조 시험에서와 동일한 안전성 및 결과 분석을 수반하여 실시한다.

인간 임상 시험 : 항EGF-r 항체를 이용한 진단 영상화

전술한 보조 요법을 통해 전술한 안전성 기준내에서 안전한 것으로 나타나는데 근거하여 본 발명의 항체를 진단 영상화제로서 이용하여 인간 임상 시도를 실시할 수 있다. 프로토콜은 문헌[Divgi et al. J.Natl.Cancer Inst. 83:97-104(1991)]에 기재된 것과 실질적으로 유사한 방식으로 디자인하였다.

참조 문헌

본 발명에 인용된 특허, 특히 출원, 논문, 서적 등과 여기에서 인용된 참조 문헌들을 비롯한 모든 참조 문헌은 그 전체 내용이 참고적으로 본 발명에 인용되었다. 또한, 다음 문헌들 역시 그 전체 내용 및 이 문헌들에 인용된 참조 문헌도 본 발명에 참고 인용되었다.

Abertsen et al., "Construction and characterization of a yeast artificial chromosome library containing seven haploid human genome equivalents." Proc.Natl.Acad.Sci. 87:4256(1990).

Anand et al., "Construction of yeast artificial chromosome libraries with large inserts using fractionation by pulsed-field gel electrophoresis." Nucl.Acids Res. 17:3425-3433(1989).

Berman et al. "Content and organization of the human Ig VH locus: definition of three new V_H families and linkage to the Ig C_H locus." EMBO J. 7:727-738(1988).

Breznitschek et al., "Analysis of the heavy chain repertoire of human peripheral B-cells using single-cell polymerase chain reaction." J. Immunol. 155:190-202(1995).

Brownstein et al., "Isolation of single-copy human genes from a library of yeast artificial chromosome clones." Science 244:1348-1351(1989).

Bruggeman et al. PNAS USA 86:6709-6713(1989).

Bruggemann et al., "Human antibody production in transgenic mice: expression from 100 kb of the human IgH locus." Eur.J.Immunol. 21:1323-1326(1991).

Bruggeman, M. and Neuberger, M.S. in Methods: A companion to Methods in Enzymology 2:159-165(Lerner et al. eds. Academic Press(1991)).

Bruggemann, M. and Neuberger, M.S. "Strategies for expressing human antibody repertoires in transgenic mice." Immunology Today 17:391-397(1996).

Chen et al. "Immunoglobulin gene rearrangement in B-cell deficient mice generated by targeted deletion of the J_H locus" International Immunology 5:647-656(1993).

Choi et al."Transgenic mice containing a human heavy chain immunoglobulin gene fragment cloned in a yeast artificial chromosome" Nature Genetics 4:117-123(1993).

Coligan et al., Unit 2.1, "Enzyme-linked immunosorbent assays," in Current protocols in immunology(1994).

Cook,G.P. and Tomlinson, I.M., "The human immunoglobulin V_H repertoire." Immunology Today 16:237-242 (1995).

Cox et al., "A directory of human germ-line V_x segments reveals a strong bias in their usage." Eur.J.Immunol. 24:827-836(1994).

Dariavach et al., "The mouse IgH 3'-enhancer." Eur.J.Immunol. 21:1499-1504(1991).

Den Dunnen et al., "Reconstruction of the 2.4 Mb human DMD-gene by homologous YAC recombination." *Human Molecular Genetics* 1:19-28(1992).

Feeney, A.J. "Lack of N regions in fetal and neonatal mouse immunoglobulin V-D-J junctional sequences." *J.Exp.Med.* 172:137-1390(1990).

Fishwild et al., "High-avidity human IgG₁monoclonal antibodies from a novel strain of minilocus transgenic mice." *Nature Biotech.* 14:845-851(1996).

Flanagan, J.G. and Rabbitts, T.H., "Arrangement of human immunoglobulin heavy chain constant region genes implies evolutionary duplication of a segment containing g, e and a genes." *Nature* 300:709-713(1982).

Galfre, G. and Milstein, C., "Preparation of monoclonal antibodies: strategies and procedures." *Methods Enzymol.* 73:3-46(1981).

Gemmill et al., "Protocols for pulsed field gel electrophoresis: Separation and detection of large DNA molecules." *Advances in Genome Biology* 1:217-251(1991).

Gill et al., "Monoclonal anti-epidermal growth factor receptor antibodies which are inhibitors of epidermal growth factor binding and antagonists of epidermal growth factor stimulated tyrosine protein kinase activity." *J.Biol.Chem.* 259:7755(1984).

Green et al., "Antigen-specific human monoclonal antibodies from mice engineered with human Ig heavy and light chain YACs." *Nature Genetics* 7:13-21(1994).

Hermanson et al., "Rescue of end fragments of yeast artificial chromosomes by homologous recombination in yeast." *Nucleic Acids Res.* 19:4943-4948(1991).

Huber et al., "The human immunoglobulin klocus. Characterization of the partially duplicated L regions." *Eur.J.Immunol.* 23:2860-2967(1993).

Jakobovits,A., "Humanizing the mouse genome." *Current Biology* 4:761-763(1994).

Jakobovits,A., "Production of fully human antibodies by transgenic mice." *Current Opinion in Biotechnology* 6:561-566(1995).

Jakobovits et al., "Germ-line transmission and expression of a human-derived yeast artificial-chromosome." *Nature* 362:255-258(1993).

Jakobovits A. et al., "Analysis of homozygous mutant chimeric mice: Deletion of the immunoglobulin heavy-chain joining region blocks B-cell development and antibody production." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2551-2555 (1993).

Kawamoto et al., "Growth stimulation of A431 cells by epidermal growth factor: Identification of high affinity receptors for EGF by an anti-receptor monoclonal antibody." *Proc.Nat.Acad.Sci., USA* 80:1337-1341(1983).

Lonberg et al., "Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic modifications." *Nature* 368:856-859(1994).

Lusti-Marasimhan et al., "Mutation of Leu25 and Val27 introduces CC chemokine activity into interleukin-8." *J.Biol.Chem.* 270:2716-2721(1995).

Marks et al., "Oligonucleotide primers for polymerase chain reaction amplification of human immunoglobulin variable genes and design of family-specific oligonucleotide probes." Eur.J.Immunol. 21:985-991(1991).

Matsuda et al., "Structure and physical map of 64 variable segments in the 3' 0.8-megabase region of the human immunoglobulin heavy-chain locus." Nature Genetics 3:88-94(1993).

Max, E. Molecular genetics of immunoglobulins. Fundamental Immunology. 315-382(Paul, WE, ed., New York:Raven Press(1993)).

Mendez et al., "A set of YAC targeting vectors for the interconversion of centric and acentric arms." Cold Spring Harbor Laboratory Press, Genome Mapping and Sequencing meeting, 163(1993).

Mendez et al., "Analysis of the structural integrity of YACs comprising human immunoglobulin genes in yeast and in embryonic stem cells." Genomics 26:294-307(1995).

Ray,S. and Diamond,B., "Generation of a fusion partner to sample the repertoire of splenic B-cells destined for apoptosis." Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:5548-5551(1994).

Sato et al., "Biological effects in vitro of monoclonal antibodies to human epidermal growth factor receptors" Mol.Biol.Med. 1:511-529(1983).

Schiestl, R.H. and Gietz,R.D., "High efficiency transformation of intact yeast cells using stranded nucleic acids as a carrier." Curr.Genet. 16:339-346(1989).

Sherman et al., "Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics."(Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY(1986)).

Silverman et al., "Meiotic recombination between yeast artificial chromosomes yields a single clone containing the entire BCL2 protooncogene." Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:9913-9917(19).

Srivastava, A. and Schlessinger, D., "Vectors for inserting selectable markers in vector arms and human DNA inserts of yeast artificial chromosomes(YACs)." Gene 103:53-59(1991).

Taylor et al., "A transgenic mouse that expresses a diversity of human sequence heavy and light chain immunoglobulins." Nucleic Acids Research 20:6287-6295(1992).

Taylor et al., "Human immunoglobulin transgenes undergo rearrangement, somatic mutation and class switching in mice that lack endogenous IgM." International Immunology 6:579-591(1994).

Tuaillon et al., "Human immunoglobulin heavy-chain minilocus recombination in transgenic mice: gene-segment use in m and g transcripts." Proc.Natl.Acad.Sci. USA 90:3720-3724(1993).

Tuaillon et al., "Analysis of direct and inverted DJ_H rearrangements in a human Ig heavy chain transgenic minilocus" J.Immunol. 154:6453-6465(1995).

Vaughan et al., "Human antibodies with subnanomolar affinities isolated from a large non-immunized phage display library." Nature Biotech. 14:309-314(1996).

Wagner et al., "The diversity of antigen-specific monoclonal antibodies from transgenic mice bearing human immunoglobulin gene minoloci." Eur.J.Immunol. 24:2672-2681(1994).

Weichhold et al., "The human immunoglobulin klocus consists of two copies that are organized in opposite polarity." *Genomics* 16:503-511(1993).

Yamada, M. et al., "Preferential utilization of specific immunoglobulin heavy chain diversity and joining segments in adult human peripheral blood B lymphocytes." *J.Exp.Med.* 173:395-407(1991).

등가물

전술한 상세한 설명과 실시예는 본 발명의 특정 바람직한 양태를 설명하고 본 발명자들에 의해 고찰된 최상의 양태를 기재한 것이다. 하지만, 본 명세서에 상세히 기재된 것 외에도, 본 발명은 다양한 방식으로 실시될 수 있으며, 본 발명의 범위는 첨부되는 청구의 범위와 그 등가물로서 이해되어야 한다.

서열 목록

(1) 일반 정보 :

(i) 출원인 : 아브게닉스, 임크.

(ii) 발명의 명칭 : 상피 성장 인자 수용체에 대한 인간의 모노클로날 항체

(iii) 서열의 수 : 38

(iv) 서신 주소 :

(A) 수신인 : 피시 앤드 니브, 제임스 에프. 하레이

(B) 스트리트 : 애비뉴 오브 더 아메리카스 1251

(C) 도시 : 뉴욕

(D) 주 : 뉴욕

(E) 국가 : 미국

(F) 우편번호(ZIP) : 10020-1104

(v) 컴퓨터 관독 형태 :

(A) 매체 유형 : 디스켓

(B) 컴퓨터 : IBM 호환기종

(C) 작동 체계 : DOS

(D) 소프트웨어 : FastSEQ Version 1.5

(vi) 현 출원 데이터 :

(A) 출원 번호 :

(B) 출원일 :

(C) 분류 :

(vii) 종래 출원 데이터 :

(A) 출원 번호 : US 08/851,362

(B) 출원일 : 1997.5.5

(viii) 변리사/대리인 정보:

(A) 성명 : 하레이 쥬니어, 제임스 애프.

(B) 등록 번호 : 27,794

(C) 참조 번호 : Cell 4.20 PCT

(ix) 통신 정보 :

(A) 전화 : (212)596-9000

(B) 팩스 : (212)596-9090

(C) 텔레스 :

(2) 서열 번호 1에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 22 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 1:

CAGGTGCAGC TGGAGCAGTC GG

22

(2) 서열 번호 2에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 24 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 2:

GCTGAGGGAG TAGAGTCCTG AGGA

24

(2) 서열 번호 3에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 294 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 3:

GTCTCTGGTG	GCTCCATCAA	CAGTGGTGAT	TACTACTGGA	GCTGGATCCG	CCAGCACCCA	60
GGGAAGGGCC	TGGACTGCAT	TGGGTACATC	TATTACAGTG	GGAGGCACCTA	CTACAAACCCG	120
TCCCTCAAGA	GTCGAGTTAC	CATATCAGTA	GACACGTCTA	AGAATCAGTT	CTTCCTGAG	180
CTGACCTCTG	TGACTGCCGC	GGACACGGCC	GTGTATTACT	GTGCCGAGATC	TACGGTGTTA	240
AATCCGGGGT	GGTTCGACCC	CTGGGGCCAR	GGAACCCCTGG	TCACCGTCTC	CTCA	294

(2) 서열 번호 4에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 264 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 4:

```

ACCATCACTT GCCAGGCGAG TCAGGACATT AACAACTATT TAAATTGGTT TCAGCAGAAA      60
CCAGGAAAG CCCCTAAGGT CCTGATCCAC GATGCATCCA ATTGGAAAC AGGGGGCCCA
TCAAGGTTCA GTGGAAAGTGG ATCTGGGACA GATTTTACTT TCACCATCAG CGGCCCTGCAG
CCTGAAGACA TTGCAACATA TTATTGTCAA CAGTATGAAA GTCTCCACT CACTTTCGGC      120
GGAGGGACCA AGGTGGAGAT CAAA                                         180
                                                               240
                                                               264

```

(2) 서열 번호 5에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 291 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 5:

```

GTCTCTGGTG GCTCCATCAA CAGTGGTGAT TACTACTGGA GCTGGATCCG CCAGCACCCA      60
GGGAAGGGCC TGGAGTGGAT TGGGTCCATC TATTACAGTG GGAACACCTT CTACAACCCG
TCCCTCAAGA GTCGAGTTAC CATATCACTA GACACGTCTA AGAACCAAGT TTCTCCCTGAAG      120
CTGAGTTCTG TGACTGCCGC GGACACGCCG GTGTGTTACT GTGGCAGAGAA TATAGTGACT      180
ACGGGTGCTT TTGATATCTG GGGCCAAGGG ACAATGGTCA CCGTCTCTTC A                                         240
                                                               291

```

(2) 서열 번호 6에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 264 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 6:

ACCATCACTT GTCAGGCGAG TCAGGACATT ACCATTATTAAATTGGTA TCAACAGAAA	60
CCAGGGAAAG CCCCTAAGCT CCTGATCAAC GACGCATCCA GTTGGAAAC AGGGGTCCCA	120
TTAAGGTTCA GTGGAAGTGG ATCTGGGACA GATTTTACTT TCACCATCAG CAGCTGCAG	180
CCTGAAGATA TTGCAACATA TTACTGTCAA CAGTATGATC ATCTCCCGCT CACTTCGGC	240
GGCGGGACCA AGGTGGCGAT CAAA	264

(2) 서열 번호 7에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 288 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 7:

GTCTCTGGTG GCTCCATCAG CAGTGGTGAT TACTACTGGA CCTGGATCCG CCAGCACCCA	60
GGGAAGGGCC TGGAGTGGAT TGGGTACATC TATTACAGTG GGAACACCTA CTACAACCG	120
TCCCTCAAGA GTCGAGTTTC CATGTCAATA GACACGCTG AGAACCGATT CTCCCTGAAG	180
CTGAGCTCTG TGAATGCCGC GGACACCGCC GTGTATTACT GTGGGAGAAA ACCAGTGACT	240
GGGGGGGAGG ACTACTGGGG CCAGGGAAACC CTGGTCACCG TCTCCTCA	288

(2) 서열 번호 8에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 262 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 8:

ACCATCACTT	GCCAGGGCGAG	TCAGGACATT	AGTAACCTATT	TAATTGGTA	TCAGCAGAAA	60
CCAGGGAAAG	CCCTAACGCTC	CTGATCTACG	ATGCTTCAA	TTGGAAACA	GGGGTCCCAT	120
CAAGGTTTCAG	TGGAGTGGAT	CTGGGACAGA	TTTACTTTTC	ACCATCAGCA	GCCTGCAGCC	180
TGAAGATGTT	GGAACATATG	TCTGTCACAA	GTATGAGAGT	CTCCCGTGCG	GTTTTGGCCA	240
GGGGACCAAA	CTGGAGATCA	AA				262

(2) 서열 번호 9에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 291 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 9:

GTCTCTGGTG GCTCCATCAA CAGTGGGTAT TTCTACTGGGA GCTGGATCCG CCAACACCCA
 GGGAAAGGGCC TGGACTGGAT TGGGTACATC TATTACAGTG GGAGCACCTA CTACAACCG
 TCCCTCAAGA GTCGAGTTAC CATGTAATA GACCCGTCTA AGAACCGAGTT CTCCCTGAAA
 CTGATCTCTG TGACTGCCGC GGACACGGCC GTTTATTACT GTGGGACNTC CCTTTACTAT
 GGCGGGGGTA TGGACGTCTG GGGCCAAGGG ACCACGGTCA CCGTCTCCTC A

60
120
180
240
291

(2) 서열 번호 10에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 264 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 10:

ACCATCACTT GCCAGGGCAG TCAGGACATT AACAACTATT TGAATTGGTA TCAGCAGAGG
 CCNNGGAACG CCCCTAAACT CCTGATCTAC GATGGCATCCA ATTGGAAAC AGGGGTCCCA
 TCAAGGGTCA GTGGAAGTGG ATCTGGGACA GATTTTACTT TCACCATCAA CAGCCTGCAG
 CCTGAAAGATA TTGGCAGATA TTATTGTCAA CACTATGATC ATCTCCCGTG GACGTTGGC
 CAAGGGACCA AGGTGGAANT CAAA

60
120
180
240
264

(2) 서열 번호 11에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 291 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 10:

GTCTCTGGTG	GCTCCATCAA	CAATGGTGAT	TACTACTGGA	GCTGGATCCG	CCAGCACCCA	60
GGGAAGGGCC	TGGACTGGAT	TGGGCACATC	TATTAACAGTG	GGAGCCACCTA	CTACATCCCG	120
CCCTCAAGA	GTCGAACATAC	CATATCAGTA	GACACGTCTA	AGAACCGAGTT	CTCCCTGAAG	180
CTGAACCTCTG	TGACTGCCGC	GGACACGGCC	GTGTATTACT	GTGGAGAGG	GACAGTAAC	240
ACGTACTACT	TTGACTACTG	GGGCCAGGGA	ACCCCTGGTCA	CCGTCCTCCTC	A	291

(2) 서열 번호 12에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 270 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 12:

ACCATCACTT	GCGGGCAAG	TCAGAGCATT	AGCAGCTATT	TAAATTGGTA	TCAGCAGAAA	60
CCAGGGAAAG	CCCGCTAACGCT	CTTGATCTAT	GCTGCAATCCA	GTTCGAAAG	TGGGGTCCCA	120
TCAAGTTCA	GTGGCACTGG	ATCTGGACA	GATTTCACTC	TCACCATAG	CAGTCTGCAA	180
CTGAAGATT	TTGCAACTTA	CTACTGTCAA	CAGGGTTACA	GAACCCCTCC	GGAGTGCAGT	240
TTGGCCAGG	GGACCAAGCT	GGAGATCAA				270

(2) 서열 번호 13에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 291 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 13:

GCTCTCGTG	GCTCCGTCA	CAGTGGTGT	TACTACTGGA	GCTGGATCGG	GCAGCCCCCA	60
GGGAAGGAC	TGGAGTGGAT	TGGACATCTC	TATTACAGTG	GGAACACCAA	CTACAACCCC	120
TCCCTCAAGA	GTGGAGTGTAC	CATATCATTA	GACACGTCCA	AGAACCCAGTT	CTCCCTGAAG	180
CTGAGCTCTG	TGACCGCTGC	GGACACGGCC	GTGTATTACT	GTGCGAGAGA	TTTTTGACT	240
GGTTCCCTCT	TTGACTACTG	GGGCCAGGG	ACCCCTGGTCA	CCGTCCTC	A	291

(2) 서열 번호 14에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 264 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 14:

ACCATCACTT	GCCAGGCGAG	TCAGGACATA	AGCAACTATT	AAAATTGGTA	TCAGCAGAAA	60
CCAGGGAAAG	CCCTTAAGCT	CCTGATCAAC	GATGCATCCG	ATTTGGAAAC	AGGGGTCCCA	120
TCAAGGATCA	GTGGAAGTGG	ATCTGGGACA	GATTTTACTT	TCACCATCAG	CAACCTGCAG	180
CCTGAGAGATA	TTGCAACATA	TTACTGTCAA	CAATATGATA	GTCTCCCGCT	CACTTTGGC	240
GGAGGGGACCA	AGGTGGAGAT	CAGA				264

(2) 서열 번호 15에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 288 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 15:

GTCTCTGGTG	GCTCCGTCTA	CACTGGTGAT	TACTACTGGA	GCTGGATCCG	GCAGCCCCC	60
GGGAAGGGAC	TGGAGTGGAT	TGGGTATATC	TATTACAGTG	GGAGCACCAA	TTACAATCCC	120
TCCCTCAAGA	CTCGAAGTCAC	CATATCAGTA	GACACGTCCA	AGAACCGAGT	CTCCCTGAAG	180
CTGAGCTCTG	TGACCGCTGC	GGACACGGCC	GTGTATTACT	GTGCGAGAGA	CTCCATACTG	240
GGAGCTACCA	ACTACTGGGG	CCACGGAAACC	CTGGTCACCG	TCTCCTCA		288

(2) 서열 번호 16에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 264 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 16:

ACCATCACTT	GCCAGGCAG	TGNGGACATT	AATAACTATT	TANATTGGTN	TCAGCAGAAA	60
CCAGGGAAAG	CCCTTAAAST	CTTGATCTCA	GATGCATCCA	ATTAGAAAC	AGGGCTCCCA	120
TGGAGTTCA	GTGGAAGTGG	ATCTGGGACA	GANTNTACTT	TCACCATCAG	CAGCTGCGAG	180
CTGAAAGATA	TTGCNACATA	TCACTGTCNA	CAGTATNATA	GTCTCCCGCT	CACTTTCGGC	240
GGAGGGACCA	AGGTAGAGAT	CAAA				264

(2) 서열 번호 17에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 288 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 17:

GTCTCTGGTG	GCCTCCGTCAG	CAGTGGTGAT	TACTACTGGA	CCTGGATCCG	GCAGTCCCCA	60
GGGAAGGGAC	TGGAGTGGAT	TGGACACATC	TATTACAGTG	GGAACACCAA	TTATAACCCC	120
TCCCTCAAGA	GTGCACTCAC	CATATCAATT	GACACGTCA	AGACTCAGTT	CTCCCTGAAG	180
CTGAGTTCTG	TGACCGCTGC	GGACACGGCC	ATTATTAAC	GTGTGGGAGA	TCGACTGACT	240
GGTCTTTTG	ATATCTGGGG	CCAAGGGACA	ATGGTCACCG	TCTCTTCA		288

(2) 서열 번호 18에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 264 염기쌍

(B) 서열의 타입 : 핵산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : cDNA

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 :

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 18:

ACCATCACTT	GCCAGGGAG	TCAGGACATC	AGCAACTATT	TAATTGGTA	TCAGCAGAAA	60
CCAGGGAAAG	CCCCCTAAACT	CCTGATCTAC	GATGCAATCCA	ATTGGAAAC	AGGGGTCCCA	120
TCAAGGGTTCA	GTGGAAGTGG	ATCTGGGACA	GATTTTACTT	TCACCCATCAG	CAGCCTGCGAG	180
CCTGAAGATA	TTGCAACATA	TTTCTGTCAA	CACTTTGATC	ATCTCCCGCT	CGCTTTCGGC	240
GGAGGGACCA	AGGTGGAGAT	CAAA				264

(2) 서열 번호 19에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 76 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 19:

```

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

```

(2) 서열 번호 20에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 76 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 20:

```

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

```

(2) 서열 번호 21에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 76 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웨티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 21:

```

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

```

(2) 서열 번호 22에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 76 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웨티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 22:

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

(2) 서열 번호 23에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 98 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 펩티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 암티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 23:

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

(2) 서열 번호 24에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 105 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 펩티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 24:

```

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

```

(2) 서열 번호 25에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 97 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 25:

```

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

```

(2) 서열 번호 26에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 105 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 암티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 26:

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

(2) 서열 번호 27에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 96 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 암티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 27:

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

(2) 서열 번호 28에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 105 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 펩티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 28:

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

(2) 서열 번호 29에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 97 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 펩티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 29:

```

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

```

(2) 서열 번호 30에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 105 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 30:

```

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

```

(2) 서열 번호 31에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

- (A) 길이 : 97 아미노산
 (B) 서열의 타입 : 아미노산
 (C) 쇄의 수 : 1본쇄
 (D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 펩티드

- (iii) 추정 서열 : 아니오
 (iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 31:

```

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

```

(2) 서열 번호 32에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

- (A) 길이 : 107 아미노산
 (B) 서열의 타입 : 아미노산
 (C) 쇄의 수 : 1본쇄
 (D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 펩티드

- (iii) 추정 서열 : 아니오
 (iv) 안티센스 : 아니오
 (v) 단편 타입 : 내부
 (vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 32:

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

(2) 서열 번호 33에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 97 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 33:

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

(2) 서열 번호 34에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 105 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 문자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 34:

```

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

```

(2) 서열 번호 35에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 96 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웹티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 35:

```

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

```

(2) 서열 번호 36에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 105 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웨티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 암티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 36:

```

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

```

(2) 서열 번호 37에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 95 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 웨티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 암티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 37:

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

(2) 서열 번호 38에 대한 정보 :

(i) 서열 특성 :

(A) 길이 : 105 아미노산

(B) 서열의 타입 : 아미노산

(C) 쇄의 수 : 1본쇄

(D) 토플로지 : 직쇄상

(ii) 분자의 타입 : 펩티드

(iii) 추정 서열 : 아니오

(iv) 안티센스 : 아니오

(v) 단편 타입 : 내부

(vi) 기원 :

(xi) 서열 번호 38:

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

(57) 청구의 범위

청구항 1.

(a) 도 30(서열 번호 17)에 기재된 바와 같은 cDNA에 의해 암호화된 중쇄 면역글로불린 분자; 및

(b) 도 32(서열 번호 18)에 기재된 바와 같은 cDNA에 의해 암호화된 카파 경쇄 면역글로불린 분자

를 포함하는, 인간 상피 성장 인자 수용체(EGF-r)에 대한 완전한 인간 모노클로날 항체.

청구항 2.

제1항에 있어서,

(c) 도 29(서열 번호 37)에 기재된 바와 같은 중쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열; 및

(d) 도 31(서열 번호 38)에 기재된 바와 같은 카파 경쇄 면역글로불린 분자의 아미노산 서열
을 포함하는, 항체.

청구항 3.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체는 인간 IgG2 항체인 항체.

청구항 4.

삭제

청구항 5.

삭제

청구항 6.

삭제

청구항 7.

삭제

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

삭제

청구항 14.

삭제

청구항 15.

삭제

청구항 16.

삭제

청구항 17.

삭제

청구항 18.

삭제

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.

제1항 또는 제2항의 항체를 포함하는, 고형 종양 치료용 약학 조성물.

청구항 47.

제3항의 항체를 포함하는, 고형 종양 치료용 약학 조성물.

청구항 48.

(a) 도 30(서열 번호 17)에 기재된 바와 같은 cDNA; 및

(b) 도 32(서열 번호 18)에 기재된 바와 같은 cDNA

를 포함하는, 하이브리도마 세포주.

청구항 49.

제48항에 있어서, 제1항 또는 제2항의 항체를 분비하는 것인 하이브리도마 세포주.

청구항 50.

제48항에 있어서, 제3항의 항체를 분비하는 것인 하이브리도마 세포주.

도면

도면1

VSGGSINSGDYYWSWIRROHPGKGLDCIGYIYSGSTYYNPSLKSSRVTISVDTSKNQFLKLTSYTAADTAVYYCARSTVVNPGWFDPWGQTLTVSS (서열 23)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면2

GTCCTGGTG GCTCCATCAA CAGGGTGAT TACTACTGGA GCTGGATCCG CCAGCACCCA GGGAAAGGGCC TGGACTGCAAT TGGTACATC TATTACAGTG GGAGCACCTA CTACAACCCG
 TCCCTCAAGA GTCGAGITAC CATACTAGTA GACACGCTTA AGAACAGTTT CTTCCTGAAG CTGACCTCTG TGACTGCCGC GGACACGCCG GTGTATTACT GTGCCAGAGATC TACCGTGTA
 AATCCGGGGT GGTTGACCC CTGGGGCCAR GGAACCCCTGG TCACCGTCTC CTCA (서열 3)

도면3

TITCASQDINNYLNWFQOKPGKAKPVLIHDASNLETGGPSRFSGSGTDFTFTISGLOPEDIATYYCQYESLPLTFGGTKVEIKRTVAAPSVFPPPSDEQ (서열 24)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면4

ACCATCACTT GCGAGCGAG TCAAGGACATT AACAACTATT TAAATTGGGT TCAAGGAGAA CCAGGGAAAG CCCCT AAGGTCCTGA TCCACGATGC ATCCAAATTG GAAACAGGG
 GCGCATCAAG GTTCAGTGGA AGTGGATCTG GGACA GATTTTACTT TCAACCATAG CGGCGCTGAG CCTGAAGACA TTGCAACATA TTATGTCAA CAGTATGAA GTCCTC CCACTCACTT
 TCGGGGGAGG GACCAAGGTG GAGATCAA (서열 4)

도면5

VSGGSINSGDYYWSWIRROHPGKGLEWIGSIYSGNIFYNPSLKSSRVTISLDTSKNQFSLKSSVTAADTAVCYCARNIVTGAFDIVGQCTMVTVSS (서열 25)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면6

GTCCTGGTG GCTCCATCAA CAGGGTGAT TACTACTGGA GCTGGATCCG CCAGCACCCA GGGAAAGGGCC TGGAGTGGAT TGGGTCCATC TATTACAGTG GGAGCACCTA CTACAACCCG
 TCCCTCAAGA GTCGAGITAC CATACTAGTA GACACGCTTA AGAACAGTTT CTTCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACTGCCGC GGACACGCCG GTGTATTACT GTGCCAGAGATC TACCGTGTA
 ACGGGTGCTT TTGATATCTG GGGCCAAGGG ACAATGGTCA CCGTCTCTTC A (서열 5)

도면7

TI TCOASQDI T YLNWYQQKPGKAPKLLI N DAS LETGVPL RFSGSGSGTDFTFI SSLOPEDI ATYYCQYD H LPLTFGGGTKVAI KRTVAAPSVF FPPSDEQ (서열 26)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면8

ACCATCACTT GTCAGGGAGG TCAGGACATT ACCATTATT TAAATGGTA TCAACAGAAA CCAGGGAAAG CCCCT AAGCTCTGA TCAACGACGC ATCCAGTTG GAAACAGGGG
 TCCCTTAAGA GTTCAGTGA AGTGGATCTG GGACA GATTTCATT TCAACATCG CAGCCTGAG CCTGAACATA TTACTGTCAA CAGTATGATC ATCTC CGGCTACTT
 TCGGGCGCGG GACCAAGGTG GCGATCAA (서열 6)

도면9

VSGGSI SSG D YYW T I RQHPGKGLEWI GYI YYSG N TYYNPSLKSRY S MsIdts E nqfslklsstvaadtavyyckpvtggedywgo6tlytvss (서열 27)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면10

GCTCTGGTG GCTCCATCAAG CAGTGGTGT TACTACTGGA CCTGGATCCG CCAGCACCCA GGGAAAGGGCC TGGAGTGGAT TGGGTACATC TATTACAGTG GAAACACCTA CTACAACCCG
 TCCCTCAAGA GTCCAGTTTC CATGTCATAA GACACGTCTG AGAACAGGT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACTGCGGC GGACACGGCC GTGTATTACT GTGCCAGAAA ACCAGTGACT
 GGGGGGGAGG ACTACTGGGG CCAGGGAAACC CTGGTCACCG TCTCCTCA (서열 7)

도면11

TI TCOASQDI S NYLNWYQQKPGKAPKLLI Y DASHL ETGVPSRFSGSGSGTDFTFI SSLOPEDI V G YY VQQE S L PCGFQGKLEI KRTVAAPSVF FPPSDEQ (서열 28)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면12

ACCATCACTT GTCAGGGAGG TCAGGACATT AGIAACTATT TAAATGGTA TCAACAGAAA CCCT AAGCTCTGA TCTACAGTC TTCCAATTG GAAACAGGGG TCCCATCAAG
 GTTCAGTGA GTGGATCTG GGACA GATTTCATT TCAACATCG CAGCCTGAG CCTGAAGATG TTGGAACATA TGTCTGCAA CAGTATGAGA GTCTC CGTGCGGTT TTGGCCAGGG
 GACCAAACTG GAGATCAA (서열 8)

도면13

VSGGSI N SG D F YWSI RQHPGKGLEWI GYI YYSG S TYYNPSLKSRY M sIdpsknofslkli S vtaadtavyycaT S LYGGMDWGO6TLYTVSS (서열 29)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면14

GCTCTGGTG GCTCCATCAA CAGTGGTGT TCTACTGGA CCTGGATCCG CCAACACCCA GGGAAAGGGCC TGGAGTGGAT TGGGTACATC TATTACAGTG GGACACCTA CTACAACCCG
 TCCCTCAAGA GTCCAGTTTC CATGTCATAA GACACGTCTG AGAACAGGT CTCCCTGAAG CTGAGCTCTG TGACTGCGGC GGACACGGCC GTTTTACT GTGCAGACNTC CCTTACTAT
 GGGGGGGGTA TGGACGTCTG GGGCCAAGGG ACCACGGTCA CCGTCTCCTCA A (서열 9)

도면15

TI TCOASQDI S N N NYQQKRG N APKLLI Y DASHL ETGVPSRFSGSGSGTDFTFI S N N LOPEDI ATYYCQH H LPLTFGGT G GTKVEXKR V AAPSVF FPPSDEQ (서열 30)
 CDR1 CDR2 CDR3

도면16

ACCATCACTT GCGAGGGAG TCAGGACATT AACAACTATT TGAATTGGTA TCAGCAGAGG CCNGGAAAGG CCCCT AAACCTCTGA TCTACGATGC ATCCAATTG GAAACAGGG
TCCCATCAAG GTTCAGTGGG AGTGGATCTG GGACA GATTTACTT TCACCATCA CACCTGAG CCTGAAGATA TTACGACATA TTATGCTAA CACTATGATC ATCTC CGTGAGCT
TCGGCCAAAGG GACCAAGGTG GAANTCAAA (서월 10)

도면17

VSQGSITNNgDYYWSWIROPPGKGLEWIGHLYYSGNTPSLKSRTTISVDTSKNDFSLKLNSYTAADTAVYYCARGTYVTTYFDYWGQTTVVSS (서월 31)
CDR1 CDR2 CDR3

도면18

GCTCTGGTG GCTCCATCAA CAATGGTAT TACTACTGG ACGTGGATCCG CCAGCACCCA GGGAGGGCC TGGAGTGGAT TGGGACACATC TATTACAGTG GGAGCACCTA CTACATCCG
TCCCTCAAGA GTCGAGTAC CATACTAGTA GACACGCTCA AGAACCGATT CTCCCTGAAG CTGAACTCTG TGACTGCCC GGACACGGCC GTGTATTACT GTGGAGAGG GACAGTAAC
ACGTACTACT TTGACTACTG GGGCCAGGGG ACCCTGGTCA CCGTCTCCTC A (서월 11)

도면19

TITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSSGSGSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCQGRTPPECSFGQGTKLEIKRTVAAPSVIFPPSDEQ (서월 32)
CDR1 CDR2 CDR3

도면20

ACCATCACTT GCGGGGAAAG TCAGAGCATT AGCAGCTATT TAAATTGGTA TCAGCAGAAA CCAGGGAAAG CCCCT AAGCTCTGA TCTATGCTGC ATCCAGTTG CAAAGTGGG
TCCCATCAAG GTTCAGTGGC AGTGGATCTG GGACA GATTTACTT TCACCATCA CAGCTGCAA CCTGAAGATA TTGCAACTTA CTACTGTCAA CAGGGTACA GAACC CCTCCGGAGT
GCACTTTGG CCAGGGGACC AAGCTGGAGA TCAAA (서월 12)

도면21

VSQGSVSSgDYYWSWIROPPGKGLEWIGHLYYSNTYNPSLKSRTISLDTSKNDFSLKLSSYTAADTAVYYCARGDFTGSFDYWGQTLVVSS (서월 33)
CDR1 CDR2 CDR3

도면22

GCTCTGGTG GCTCCGTAG CAGTGGTAT TACTACTGG ACGTGGATCCG GCAAGCCCCA GGGAGGGAC TGGAGTGGAT TGGACATCTC TATTACAGTG GGAACACCAA CTACACCC
TCCCTCAAGA GTCGAGTAC CATACTATTAA GACACGCTCA AGAACCGATT CTCCCTGAAG CTGAACTCTG TGACTGCCC GGACACGGCC GTGTATTACT GTGGAGAGA TTTTTGACT
GGTTCTCTCT TTGACTACTG GGGCCAGGGG ACCCTGGTCA CCGTCTCCTC A (서월 13)

도면23

TITCRASQDISNYLNWYQKPGKAPKLLINDADLETGVPSISGSGSGTDFIFTISNLOPEDIATYYCQYDSLPLTFGGGTKVEIRRTVAAPSVIFPPSDEQ (서월 34)
CDR1 CDR2 CDR3

도면24

ACCATCACTT GCGAGGGAG TCAGGACATT AACAACTATT TAAATTGGTA TCAGCAGAGG CCNGGAAAG CCCCT AAGCTCTGA TCAACGGATGC ATCCGATTG GAAACAGGG
TCCCATCAAG GTTCAGTGGG AGTGGATCTG GGACA GATTTACTT TCACCATCA CACCTGAG CCTGAAGATA TTACGACATA TTATGCTAA CAATATGATA GTCTC CGGTCACTT
TCGGCGGAGG GACCAAGGTG GAGATCAGA (서월 14)

도면25

VSGGSVYSGDYYWSWIROPPGKLEWIYIYYSGSTNINPNSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSSTVAAUTAVYYCARDSLGLATNYWQGTLTVSS (서열 35)

CDR1

CDR2

CDR3

도면26

GTCCTGGTG GCTCCGCTCA CAGTGGTGT TACTACTGGA CCTGGATCCG GCAGCCCCC GGGAGGGAC TGAGTGGAT TGGGTATATC TATTACAGTG GGAGCACCAA TTACATCCC
TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC CATACTAGTA GACACGTCA AGAACCGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCG TGACCGCTGC GGACACGCCG GTGTTACTCT GTCCGAGAGA CTCCATCTG
GGAGCTACCA ACTACTGGGG CCAGGGAAAC CTGGTCACCG TCTCCTCA (서열 15)

도면27

T1TCQASDIXISNYLXWYQOKPGKAPKXLISDASNLETGVPSPRFSGSGSGTXXT1SSLOPEDIATYHcXbyXSPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ (서열 36)

CDR1

CDR2

CDR3

도면28

ACCATCACTT GCCAGGGAG TCGGGACATT AATAACTATT TAAATGGGT TCAGCAGAAAG CCAGGAAAG CCCCT AAACCTGTA TCTCCGATGC ATCCAATTAA GAAACAGGG
TCCCATCGAG GTTCAGTGA AGTGGATCTG GGACA GANTNTACTT TCACCATAG CAGCCTCGAG CCTGAAGATA TIGCNACATA TCACTGTCAA CAGTATNATA GTCIC CCCGTCACCT
TCGGCGGAGG GACCAAGGTA GAGATCAA (서열 16)

도면29

VSGGSVSSGDTYYTWIRQSPGKLEWIGHIYYSGNINNPNPLKSRLTISIDTSKTFDSLKLSSVAAUTAIIYCYVRDRYIGAFDIWQGTMVSS (서열 37)

CDR1

CDR2

CDR3

도면30

GTCCTGGTG GCTCCGCTCA CAGTGGTGT TACTACTGGA CCTGGATCCG GCAGCCCCC GGGAGGGAC TGAGTGGAT TGGACACATC TATTACAGTG GGACACCAA TTATAACCC
TCCCTCAAGA GTCGAGTCAC CATACTAACT GACACGTCA AGACTCGTT CTCCCTGAAG CTGAGCTCG TGACCGCTGC GGACACGCC ATTATTACT GTGTGGAGA TCGAGTACT
GGTGTCTTTCG ATATCTGGGG CCAAGGGACAATGGTCACCG TCTCTCA (서열 17)

도면31

T1TCQASDIXISNYLWYQOKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGSGTDFTT1SSLOPEDIATYFCDHFIDHPLAFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ (서열 38)

CDR1

CDR2

CDR3

도면32

ACCATCACTT GCCAGGGAG TCAAGGACATC AGCAACTT TAAATGGGT TCAGCAGAAAG CCAGGAAAG CCCCT AAACCTGTA TCTACGAIGC ATCCAATTAA GAAACAGGG
TCCCATCAAG GTTCAGTGA AGTGGATCTG GGACA GATTAACTT TCACCATAG CAGCCTCGAG CCTGAAGATA TIGCAACATA TIGCIGCAA CACTTGATC ATCIC CCCGTCACCT
TCGGCGGAGG GACCAAGGTA GAGATCAA (서열 18)

도면33

EGFR 특이적 하이브리드에 유래되는 인간 종세의 아미노산 서열 및 구조

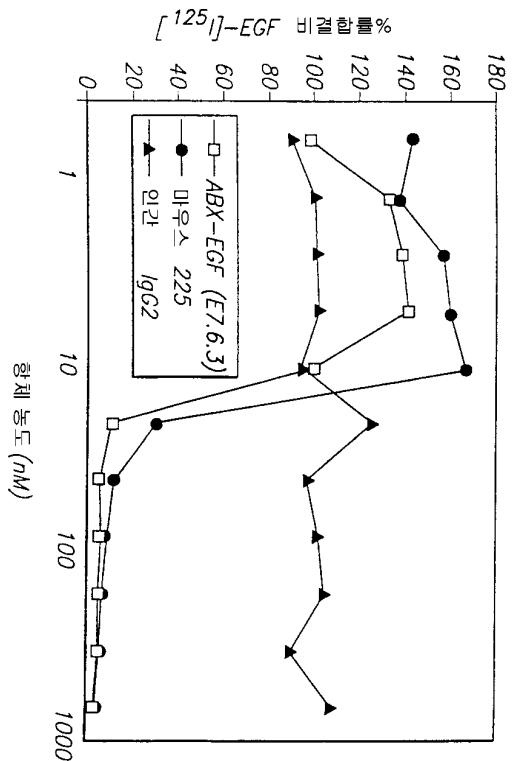
	CDR1	CDR2	CDR3
인간 γ2 4-31	VSGGSISSESYWSMIRROHPGKGLEMI SSEGGYVWSMIRROHPGKGLEMI	YVSGSTYVPSLKSEVIIISVDTISKOFSLKLSSVTAADTAVYCAR YVSGSTYVPSLKSEVIIISVDTISKOFSLKLSSVTAADTAVYCAR	ASIKKGRPSVFPPLACCSSEISI ASIKKGRPSVFPPLACCSSEISI
E1.1	---N---D---	---DC---	---F---I--- SIVWNPG MFDP WGGTIVYSS
E2.4	---N---D---	---S---N---F--- S L	---C--- NIVITG AFBI WGGTIVYSS
E2.5	---D---I---	---N--- ---SM---I---E--- ---L---	---E--- KPVIGG EDY WGGTIVYSS
E6.2	---N---DF---	---N--- ---W---I---P--- ---I---	---I--- ISLYGG GMDY WGGTIVYSS
E6.4	---N---D---	---I--- ---T--- ---N---	---GIVTYY YDY WGGTIVYSS
CDR1			
4-61	VSGGSISSESYWSMIRROHPGKGLEMI YVSGSTYVPSLKSEVIIISVDTISKOFSLKLSSVTAADTAVYCAR	YVSGSTYVPSLKSEVIIISVDTISKOFSLKLSSVTAADTAVYCAR YVSGSTYVPSLKSEVIIISVDTISKOFSLKLSSVTAADTAVYCAR	CDR3
E2.11	---D---	---I--- ---N--- ---L---	---DFLIGSF FDY WGGTIVYSS
E6.3	---Y---D---	---	---DSILGA TNY WGGTIVYSS
E7.6.3	---D---I---	---I--- ---N--- ---L---I---I--- ---I---V	---DRVIGA FDI WGGTIVYSS

도면34

EGFR 특이적 하이브리도마에서 유래되는 인간 카페羞의 아미노산 서열 및 구조

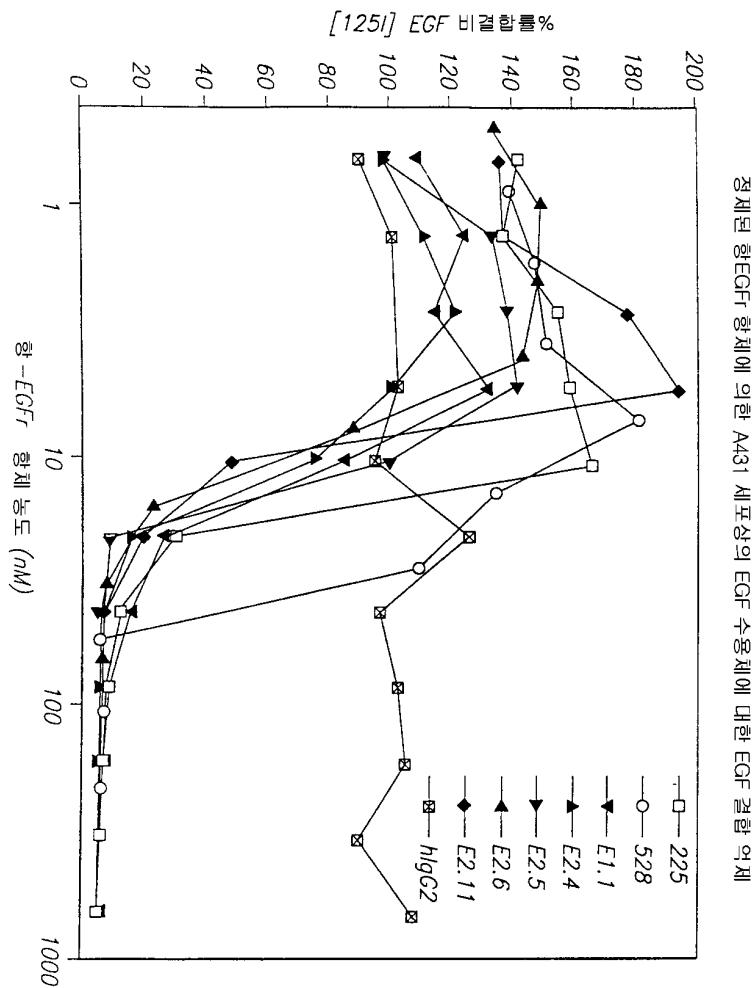
	V _κ 분절			J _κ 분절
	CDR1	CDR2	CDR3	
V _κ (018) 인간 CK	TIITQASQDI SYNL NYQQKPKAKPLI YMASNL TwpSRF SGSGSGTDFITISSLQPEDIATYQDQY DNL P			RIVAAAPSWF FPPSDEQ
EG.1.1K	-----N-----f-----V-H-----G-----G-----			LTGGGKVEIK -----
EG.2.4K	-----Tl-----N-----S-----L-----			LTGGGKVALK -----
EG.2.5K	-----			CGGGGKLEIK -----
EG.2.11K	-----N-----D-----I-----N-----			LTGGGKVEIR -----
E6.2.K	-----N-----R-N-----N-----			WTGGGKVEK -----
E6.3.K	-----X-N-----X-----S-----X-----H-X-----X-S-----			LTGGGKVEIK -----
E6.4.K*	-----R-----S-----S-----A-----S-----S-----			CGGGKLEIK -----
*012 Gene				CGGGKLEIK -----
E7.6.JK				LAAGGGKVEIK -----

도면35

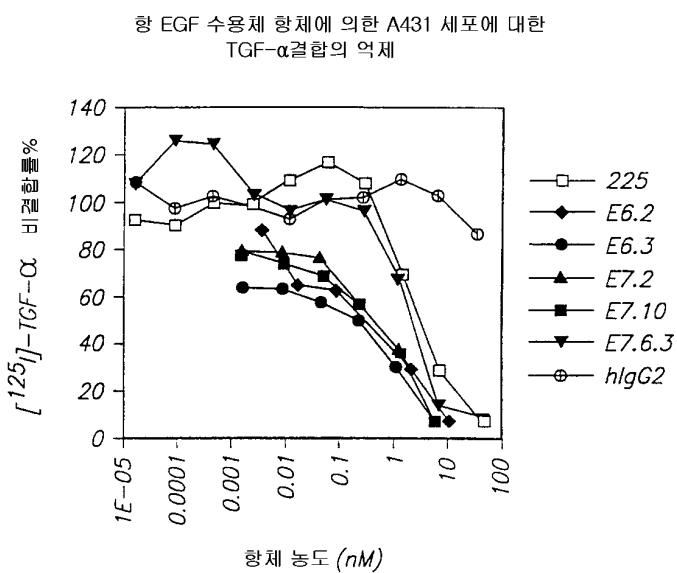


ABX-EGF: 인간 유표피암 A431 세포에 대한 EGF 결합의 차단

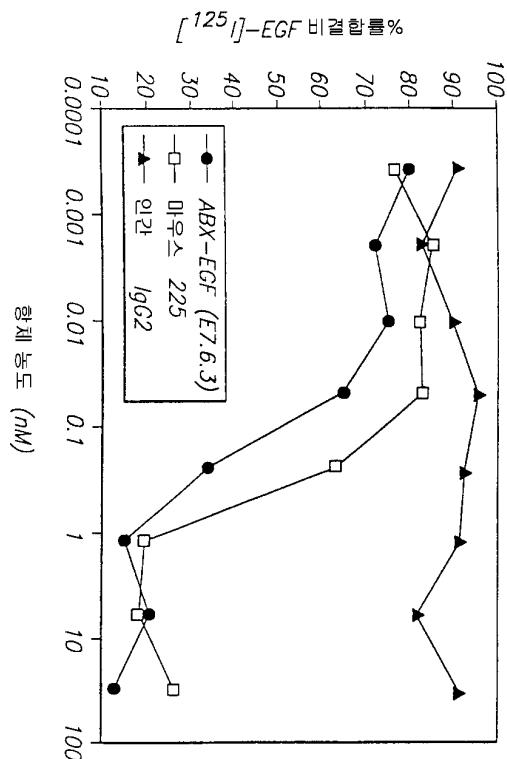
도면36



도면37

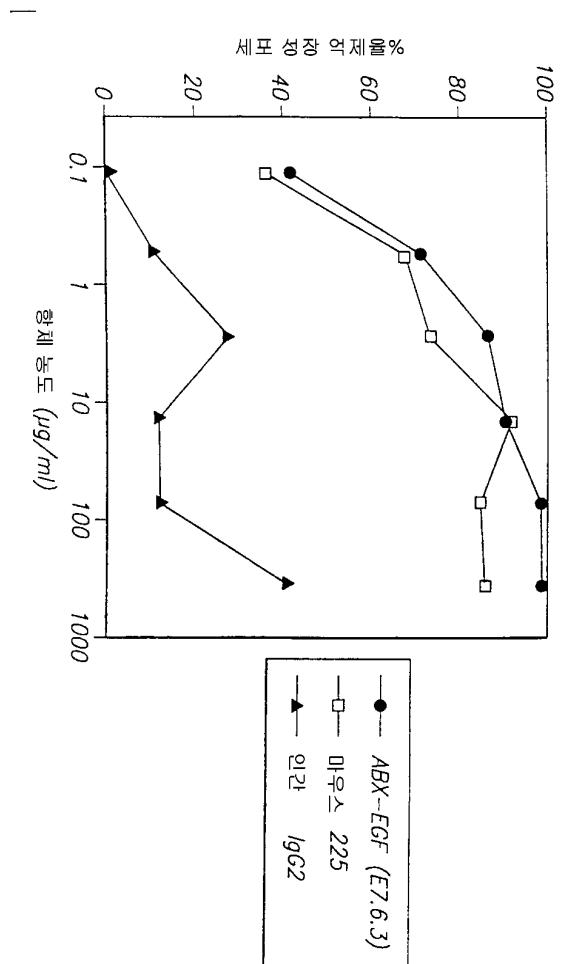


도면38

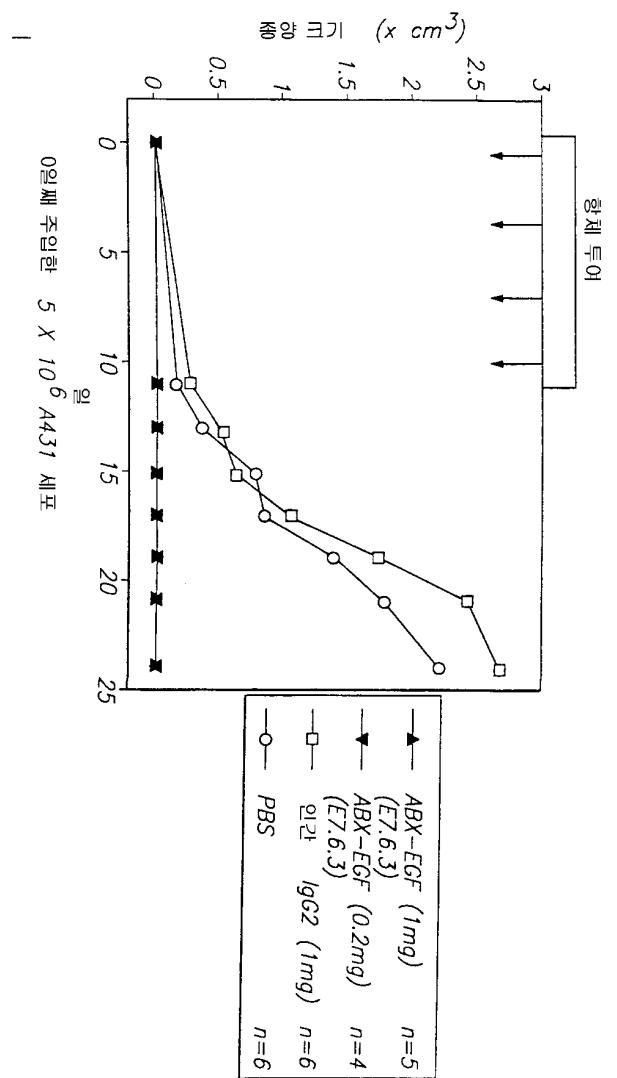


ABX-EGF: 인간 결장 선암 SW948 세포에 대한 EGF 결합의 차단

도면39



도면40



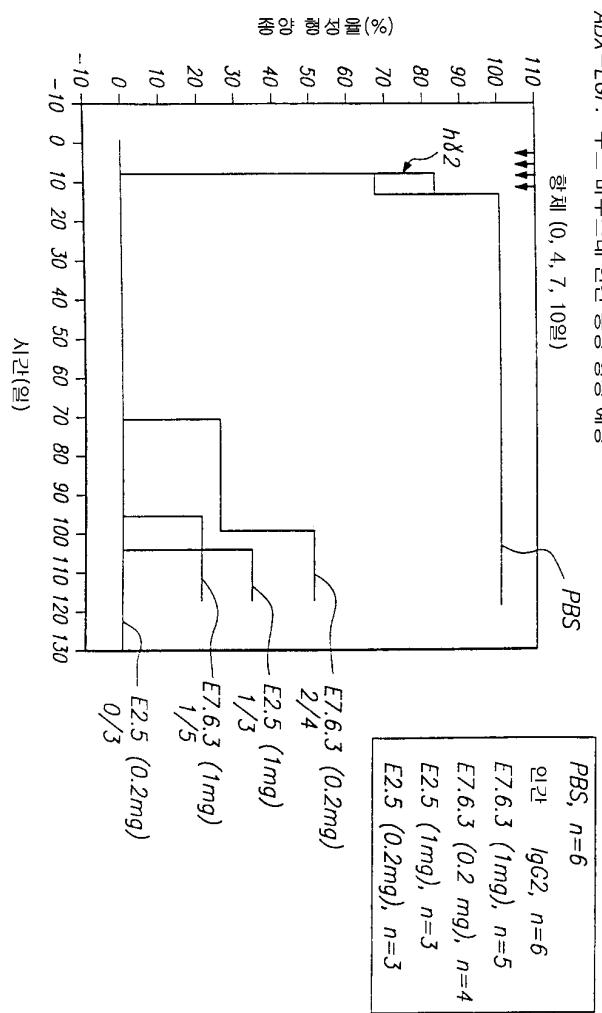
도면41

ABX-EGF에 의한 누드 마우스내 인간 유표피암 혼성의 억제

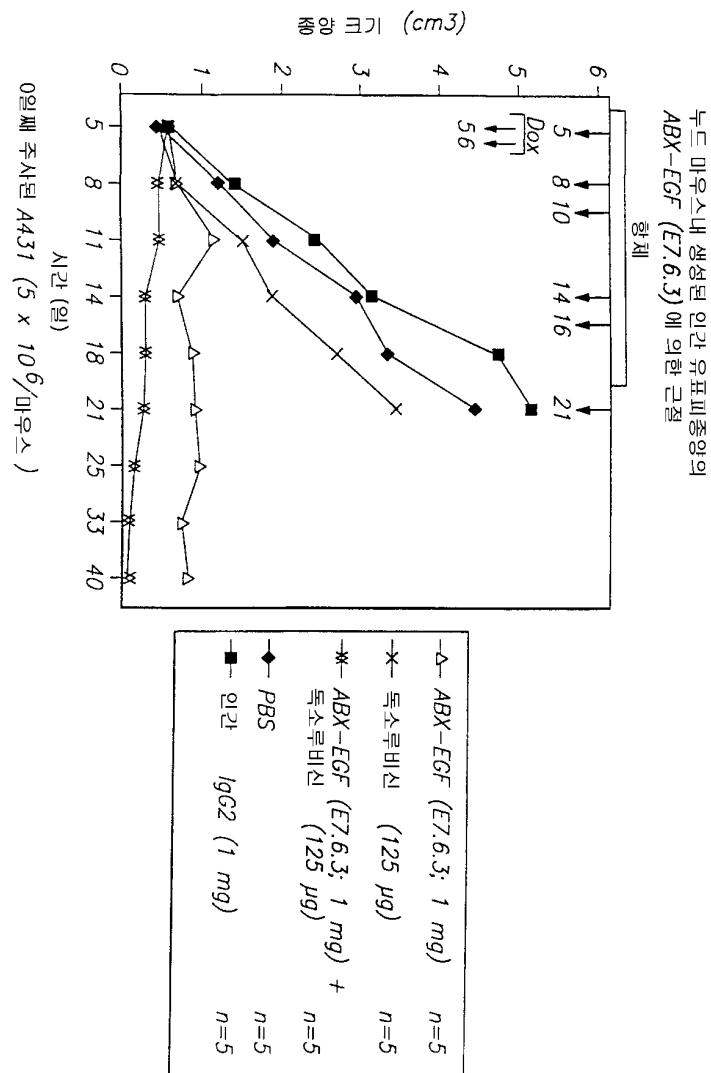
치료	투여량 (mg)	중앙 혼성 b (발생 빈도)	중앙 크기 c (cm ³)
PBS		6/6	1.376
인간 IgG2 ^a	1	6/6	1.727
E7.6.3	1	0/5	0
E2.5	0.2	0/4	0
E1.1	1	0/3	0
E1.1	0.2	0/3	0
E1.1	1	0/3	0

^a 대조용 인간 글수증 IgG2
^b 중앙 접종후 19일째 측정한 빈도
^c 중앙 접종후 19일째 측정한 중앙 크기

도면42



도면43



도면44

