(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0048015
(43) 공개일자 2022년04월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 31/4745* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/18* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2863 (2013.01)
A61K 31/4745 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7008659
(22) 출원일자(국제) 2020년08월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년03월15일
(86) 국제출원번호 PCT/NL2020/050517
(87) 국제공개번호 WO 2021/034194
국제공개일자 2021년02월25일
(30) 우선권주장
19192327.5 2019년08월19일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
메뤼스 엔.페.
네덜란드 3584 씨엠 위트레흐트 에일르랜 62
(72) 발명자
스로스비, 마크
네덜란드 3584 씨엠 위트레흐트 에일르랜 62
와서만, 에르네스토 이삭
네덜란드 3584 씨엠 위트레흐트 에일르랜 62
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 **LGR5 및 EGFR에 결합하는 항체와 토포아이소머라제 I 억제제의 병용을 이용한 암의 치료**

(57) 요 약

본 발명은 암의 치료에 사용하기 위한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체를 기술하며, 여기서 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 토포아이소머라제 I 억제제와 함께 투여된다.

(52) CPC특허분류
A61K 39/3955 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/18 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

암의 치료에 사용하기 위한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체로서, 상기 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 토포아이소머라제 I 억제제와 함께 투여되는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 암은 결직장암, 폐암, 위장관암 또는 난소암인, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 암은 결직장암인, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체와 상기 토포아이소머라제 I 억제제는 대상체에게 동시에 투여되는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 상기 토포아이소머라제 I 억제제보다 먼저 대상체에게 투여되는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EGFR에 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 최대 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1개, 및 바람직하게는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함하는 아미노산 변형을 갖는, 아미노산 서열을 포함하고; 상기 LGR5에 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5816의 아미노산 서열; 또는 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5816의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 최대 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1개, 및 바람직하게는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함하는 아미노산 변형을 갖는, 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 LGR5에 결합하는 가변 도메인은 도 1에 도시된 인간 LGR5 서열의 아미노산 잔기 21-118 내에 위치한 에피토프에 결합하는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 8

제7항에 있어서, 인간 LGR5의 위치 43, 44, 46, 67, 90 및 91에 있는 아미노산 잔기는 LGR5로의 LGR5 결합 가변 도메인의 결합에 관여하는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 LGR5 결합 가변 도메인은 43A, 44A, 46A, 67A, 90A 및 91A로부터 선택된 아

미노산 잔기 변이들 중 하나 이상을 포함하는 LGR5 단백질에 덜 결합하는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EGFR에 결합하는 가변 도메인은 도 2에 도시된 인간 EGFR 서열의 아미노산 잔기 420-480 내에 위치한 에피토프에 결합하는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 11

제10항에 있어서, 인간 EGFR의 위치 I462, G465, K489, I491, N493 및 C499에 있는 아미노산 잔기는 EGFR로의 EGFR 결합 가변 도메인의 결합에 관여하는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서, 상기 EGFR 결합 가변 도메인은 I462A, G465A, K489A, I491A, N493A 및 C499A로부터 선택된 아미노산 잔기 치환들 중 하나 이상을 포함하는 EGFR 단백질에 덜 결합하는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 토포아이소머라제 I 억제제는 캄토테신 또는 이의 유도체인, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 토포아이소머라제 I 억제제는 이리노테칸 또는 토포테칸인, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 ADCC 향상되는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 아푸코실화(afucosylation)된, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체, 및/또는 유사체.

청구항 17

EGFR 및 LGR5를 발현하는 세포의 증식을 허용하는 시스템에서 상기 세포의 증식을 억제하는 방법으로서, 상기 시스템에 토포아이소머라제 I 억제제와 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체를 제공하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 18

토포아이소머라제 I 억제제와 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체를 이를 필요로 하는 대상체에게 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서의 암의 치료 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 암은 결직장암, 폐암, 위장관암 또는 난소암인, 암의 치료 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 암은 결직장암인, 암의 치료 방법.

청구항 21

EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체; 및 토포아이소머라제 I 억제제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체; 및 토포아이소머라제 I 억제제는 단일 제형으로 제공되는, 약제학적 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체; 및 토포아이소머라제 I 억제제는 별개의 제형으로 제공되는, 약제학적 조성물.

청구항 24

EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체; 토포아이소머라제 I 억제제 및 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 치료에서의 상기 항체 및 상기 토포아이소머라제 I 억제제의 사용 설명서를 포함하는, 키트.

청구항 25

대상체에서 위장관암의 치료에 사용하기 위한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체로서, 상기 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여되는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 26

대상체에서 암의 치료를 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체로서, 상기 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여되는, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 27

제26항에 있어서, 결직장암, 폐암, 위장관암 또는 난소암의 치료를 위한 것인, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 28

제27항에 있어서, 결직장암의 치료를 위한 것인, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체.

청구항 29

대상체에서 위장관암의 치료에서 동시, 개별적 또는 순차적 사용을 위한 병용 제제로서 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체와 토포아이소머라제 I 억제제를 포함하는, 제품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 암의 치료에 있어서 수단 및 방법에 관한 것이다. 본 발명은 특히 LGR5 및 EGFR에 결합하는 항체와 토포아이소머라제 억제제의 병용을 이용하여 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 그러한 방법에 사용하기 위한 병용물 및 위장관암의 치료를 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 병용물에 관한

것이다.

배 경 기 술

[0002] 결직장암(CRC)은 세계에서 세 번째로 흔한 암이다. 일부 새로운 치료법이 CRC에서 발전해 왔지만, 다수가 임상 시험에서 실패하였고 전이성 CRC는 여전히 대부분 치료가 불가능하다. 병원에서 진행된 CRC에 대한 현재의 표준 치료법은 암 세포에서 필수 기능을 차단하고 분열 중인 세포를 사멸시키는 화학요법 계획을 포함한다.

[0003] 축적되고 있는 증거는 치료-유도 관해 후 암 성장 및 재성장이 화학요법 치료를 회피한 암 줄기 세포의 집단에 의해 유발됨을 시사한다. 이론에 구속됨이 없이, 이러한 줄기 세포의 유지는 WNT 신호전달 경로에 의해 조절되는 것으로 생각된다고 여겨진다.

[0004] 이론에 구속됨이 없이, 향상된 암 세포 증식 및 아폽토시스 회피를 담당하는 것으로 생각되는 CRC에서의 제2 발암 경로는 EGFR(표피 성장 인자 수용체) 경로라고 여겨진다. 몇몇 항-EGFR 약물은 전이성 CRC(mCRC)의 표적화된 요법에 대해 특정 수준의 효능을 나타냈다. 그러나, CRC의 불균일성으로 인해, 다운스트림 KRAS 유전자에서의 발암 돌연변이는 항-EGFR 요법에 대한 내성을 부여하고(모든 mCRC 환자의 약 40%), 야생형 KRAS를 갖는 환자의 절반은 항-EGFR 요법에 대한 선천적 내성을 갖고, 암이 항-EGFR 치료에 민감한 환자의 대부분은 나중에 내성 암을 나타낸다.

[0005] Biclonics® 항체 프로그램에서, Merus는 WNT 신호전달 경로에서 줄기 세포 마커인 LGR5(류신-풍부 반복 함유 G 단백질-결합된 수용체) 및 EGFR를 표적화하는 다중특이성 항체를 개발하였다. 환자-유래 CRC 오가노이드 및 마우스 PDX 모델을 각각 사용하여 시험관내 및 생체내에서 그러한 다중특이성 항체의 효능을 평가하였다. EGFR 및 LGR5를 표적화하는 다중특이성 항체는 종양 성장을 억제하는 것으로 나타났다. 그러한 억제성 항체의 역가는 암으로부터의 세포에 의한 LGR5 RNA 발현의 수준과 상관관계가 있는 것으로 나타났다.

[0006] 본 발명은 토포아이소머라제 I 억제제와 병용된 EGFR 및 LGR5를 표적화하는 다중특이성 항체의 투여를 포함하는 병용 요법이 다중특이성 항체 또는 토포아이소머라제 항체의 효과와 개별적으로 비교할 때 놀랍게도 효과적임을 보여준다. 그러한 병용 요법은 CRC 환자에서 치료-유도 관해 후 종양의 전이 및/또는 재성장을 억제하고, 더 긴 관해를 달성할 수 있다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 암의 치료에 사용하기 위한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체를 제공하며, 여기서 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 토포아이소머라제 I 억제제와 함께 투여된다. 암은 바람직하게는 결직장암, 폐암, 위장관암 또는 난소암이며, 바람직하게는 결직장암이다. 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체 및 토포아이소머라제 I 억제제는 바람직하게는 대상체에게 동시에 투여된다.

[0008] 일 태양에서, 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 토포아이소머라제 I 억제제보다 먼저 대상체에게 투여된다.

[0009] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인은 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 최대 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1개, 및 바람직하게는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함하는 아미노산 변형을 갖는, 아미노산 서열을 포함할 수 있다. LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인은 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5816의 아미노산 서열; 또는 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5816의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 최대 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1개, 및 바람직하게는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함하는 아미노산 변형을 갖는, 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 항체는 바람직하게는 상기 가변 도메인 둘 다를 포함한다.

[0010] LGR5에 결합하는 가변 도메인은 바람직하게는 도 1에 도시된 인간 LGR5 서열의 아미노산 잔기 21-118 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 일 실시 형태에서, 인간 LGR5의 위치 43, 44, 46, 67, 90 및 91에 있는 아미노산 잔기는 LGR5로의 제공된 LGR5 결합 가변 도메인의 결합에 관여한다. LGR5 결합 가변 도메인은 바람직하게는 43A, 44A, 46A, 67A, 90A 및 91A로부터 선택된 아미노산 잔기 변이들 중 하나 이상을 포함하는 LGR5 단백질에 덜 결합한다.

[0011] EGFR에 결합하는 가변 도메인은 바람직하게는 도 2에 도시된 인간 EGFR 서열의 아미노산 잔기 420-480 내에 위

치한 에피토프에 결합한다. 일 실시 형태에서, 인간 EGFR의 위치 I462, G465, K489, I491, N493 및 C499에 있는 아미노산 잔기는 EGFR로의 제공된 EGFR 결합 가변 도메인의 결합에 관여한다. EGFR 결합 가변 도메인은 바람직하게는 I462A, G465A, K489A, I491A, N493A 및 C499A로부터 선택된 아미노산 잔기 치환들 중 하나 이상을 포함하는 EGFR 단백질에 덜 결합한다.

[0012] 본 명세서에 기재된 바와 같은 제공된 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 바람직하게는 상기 본 명세서에 기재된 바와 같은 에피토프 결합 특징을 갖는 LGR5 결합 가변 도메인 및 상기 본 명세서에 기재된 바와 같은 에피토프 결합 특징을 갖는 EGFR 결합 가변 도메인을 포함한다.

[0013] 일 실시 형태에서, 토포아이소머라제 I 억제제는 캄토테신 또는 이의 유도체이다. 다른 바람직한 실시 형태에서, 토포아이소머라제 I 억제제는 이리노테칸 또는 토포테칸이다.

[0014] 항체는 바람직하게는 ADCC 유도성 항체이다. 일 실시 형태에서, 항체는 ADCC 향상 항체이다. 일 실시 형태에서, 항체는 아푸코실화(afucosylation)된다.

[0015] 본 발명은 또한 EGFR 및 LGR5를 발현하는 세포의 증식을 허용하는 시스템에서 세포의 증식을 억제하는 방법을 제공하며, 방법은 시스템에 토포아이소머라제 I 억제제와 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체를 제공하는 단계를 포함한다.

[0016] 또한, 토포아이소머라제 I 억제제와 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체를 이를 필요로 하는 대상체에게 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서의 암의 치료 방법이 제공된다.

[0017] 암은 바람직하게는 결직장암, 폐암, 위장관암 또는 난소암이다. 일 바람직한 실시 형태에서, 암은 결직장암이다.

[0018] 본 발명은 또한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체; 및 토포아이소머라제 I 억제제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체와 토포아이소머라제 I 억제제는 단일 제형으로 제공될 수 있다. 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체와 토포아이소머라제 I 억제제는 또한 별개의 제형으로 제공될 수 있다. 별개의 제형으로 제공되는 경우, 두 약제는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0019] 또한, EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체; 토포아이소머라제 I 억제제 및 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료에서의 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제의 사용 설명서를 포함하는 키트가 제공된다.

[0020] 또한, 대상체에서 위장관암의 치료에 사용하기 위한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체가 제공되며, 여기서 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여된다.

[0021] 일 태양에서, 본 발명은 대상체에서 암의 치료를 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체가 제공되며, 여기서 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여된다. 치료는 바람직하게는 결직장암, 폐암, 위장관암 또는 난소암, 바람직하게는 결직장암에 대한 것이다.

[0022] 또한, 본 명세서에는 대상체에서 위장관암의 치료에서 동시, 개별적 또는 순차적 사용을 위한 병용 제제로서 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체와 토포아이소머라제 I 억제제를 포함하는 제품이 제공된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 본 설명이 더 용이하게 이해될 수 있도록 하기 위하여, 소정의 용어가 먼저 정의된다. 추가의 정의가 상세한 설명 전체에 걸쳐 기재되어 있다. 달리 언급되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지며, 면역학, 단백질 화학, 생화학, 재조합 DNA 기법 및 약리학의 통상적인 방법이 사용된다.

[0024] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the")은 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않으면, 복수의 지시 대상을 포함한다. 용어 "포함하는"뿐만 아니라 "포함하다", "포함한다", 및 "포함된"과 같은 다른 형태의 사용은 제한적이지 않다.

[0025] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 항원 상의 에피토프에 결합하는 하나 이상의 도메인을 함유하는, 단백질의 면역글로불린 부류에 속하는 단백질성 분자를 의미하는데, 여기서 그러한 도메인은 항체의 가변 영역이거나 그로부터 유래되거나 그와 서열 상동성을 공유한다. 항체는 전형적으로 기본 구조 단위들로 구성되며, 이들 각각은 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 갖는다. 치료적 용도를 위한 항체는 바람직하게는 가능한 한 치료하고자 하는 대상체의 천연 항체와 근접한다(예를 들어, 인간 대상체의 경우 인간 항체). 본 발명에 따른 항체는 임의의 특정 포맷 또는 그의 생성 방법으로 제한되지 않는다.

[0026] "이중특이성 항체"는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체로서, 여기서 항체의 하나의 도메인은 제1 항원에 결합하고, 한편 항체의 제2 도메인은 제2 항원에 결합하며, 상기 제1 항원과 제2 항원은 동일하지 않다. 용어 "이중특이성 항체"는 또한 하나의 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역(VH/VL) 조합이 항원 상의 제1 에피토프에 결합하고, 제2 VH/VL 조합이 제2 에피토프에 결합하는 항체를 포함한다. 이 용어는 VH가 제1 항원을 특이적으로 인식할 수 있고, 면역글로불린 가변 영역 내에서 VH와 쌍을 이룬 VL이 제2 항원을 특이적으로 인식할 수 있는 항체를 추가로 포함한다. 생성된 VH/VL 쌍은 항원 1 또는 항원 2에 결합할 것이다. 그러한 이른바 "투-인-원(two-in-one) 항체"는, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO 2008/027236호, WO 2010/108127호 및 문헌[Schaefer et al (Cancer Cell 20, 472-486, October 2011)]에 기재되어 있다. 본 발명에 따른 이중특이성 항체는 임의의 특정 이중특이적 포맷 또는 그의 생성 방법으로 제한되지 않는다.

[0027] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 '공통 경쇄'는 이중특이성 항체 내의 2개의 경쇄(또는 이의 VL 부분)를 지칭한다. 2개의 경쇄(또는 이의 VL 부분)는, 동일할 수 있거나, 또는 전장(full length) 항체의 결합 특이성에 영향을 주지 않으면서 일부 아미노산 서열 차이를 가질 수 있다. 용어 '재배열된'이 추가되거나 추가되지 않은 용어 '공통 경쇄', '공통 VL', '단일 경쇄', '단일 VL'은 모두 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용된다. "공통"은 또한 동일하지 않은 아미노산 서열을 갖는 경쇄의 기능적 등가물을 지칭한다. 상기 경쇄의 많은 변이체가 존재하는데, 이러한 변이체에는 기능성 결합 영역의 형성에 영향을 주지 않는 돌연변이(결실, 치환, 삽입 및/또는 부가)가 존재한다. 본 발명의 경쇄는 또한, 0 내지 10개, 바람직하게는 0 내지 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환, 부가 또는 이들의 조합을 갖는, 본 명세서에서 상기에 지정된 바와 같은 경쇄일 수 있다. 예를 들어 본 명세서에 사용되는 바와 같은 공통 경쇄의 정의의 범위 내에 있는 것으로서, 예를 들어 보존적 아미노산 변화, 중쇄와 쌍을 이룰 때 결합 특이성에 기여하지 않거나 단지 부분적으로 기여하는 영역 내에서의 아미노산의 변화 등을 도입 및 시험함으로써, 동일하지 않지만 여전히 기능적으로 등가인 경쇄를 제조하거나 찾아내는 것을 들 수 있다. 본 발명에 따른 용어 '전장 IgG' 또는 '전장 항체'는 본질적으로 완전한 IgG를 포함하는 것으로 정의되지만, 이것은 반드시 온전한 IgG의 모든 기능을 갖는 것은 아니다. 오해를 피하기 위하여, 전장 IgG는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 함유한다. 각각의 사슬은 불변(C) 및 가변(V) 영역을 함유하며, 이들은 CH1, CH2, CH3, VH, 및 CL, VL로 지정된 도메인들로 분해될 수 있다. IgG 항체는 Fab 부분 내에 함유된 가변 영역 도메인을 통해 항원에 결합하고, 결합 후에는 불변 도메인을 통해, 대개 Fc 부분을 통해 면역 시스템의 분자 및 세포와 상호작용할 수 있다. 본 발명에 따른 전장 항체는 원하는 특성을 제공하는 돌연변이가 존재할 수 있는 IgG 분자를 포함한다. 전장 IgG는 임의의 이들 영역의 실질적인 부분의 결실을 가져서는 안 된다. 그러나, 생성되는 IgG 분자의 결합 특성을 본질적으로 변경시키지 않고서, 한 개 또는 수 개의 아미노산 잔기가 결실된 IgG 분자는 용어 "전장 IgG" 내에 포함된다. 예를 들어, 그러한 IgG 분자는, 바람직하게는 비-CDR 영역 내에 1 내지 10개의 아미노산 잔기의 결실을 가질 수 있으며, 이때 결실된 아미노산은 IgG의 항원 결합 특이성에 필수적이지 않다.

[0028] 본 명세서에서 핵산 또는 아미노산 서열에 대해 언급될 때 "퍼센트(%) 동일성"은 최적의 비교 목적을 위하여 선택된 서열과 후보 서열을 정렬시킨 후, 선택된 서열 내의 잔기와 동일한 후보 서열 내의 잔기의 백분율로서 정의된다. 핵산 서열들을 비교하는 서열 동일성 퍼센트는 디폴트 설정을 사용하는 Vector NTI Advance® 11.5.2 소프트웨어의 AlignX 응용 프로그램을 사용하여 결정되고, 이는 변형된 ClustalW 알고리즘(문헌[Thompson, J.D., Higgins, D.G., and Gibson T.J., (1994) Nuc. Acid Res. 22(22): 4673-4680]), swgapdnamt 스코어 매트릭스, 15의 갭 개방 패널티 및 6.66의 갭 연장 패널티를 사용한다. 아미노산 서열들은 디폴트 설정을 사용하는 Vector NTI Advance® 11.5.2의 AlignX 응용 프로그램으로 정렬되며, 이는 변형된 ClustalW 알고리즘(문헌[Thompson, J.D., Higgins, D.G., and Gibson T.J., (1994) Nuc. Acid Res. 22(22): 4673-4680]),

blosum62mt2 스코어 매트릭스, 10의 갭 개방 패널티 및 0.1의 갭 연장 패널티를 사용한다.

[0029] 항체는 전형적으로 항원의 에피토프를 인식하고, 그러한 에피토프는 다른 화합물에 마찬가지로 존재할 수 있기 때문에, 항원, 예를 들어 EGFR 또는 LGR5를 "특이적으로 인식하는" 본 발명에 따른 항체는, 다른 화합물이 동일한 종류의 에피토프를 함유한다면, 그러한 다른 화합물을 마찬가지로 인식할 수 있다. 따라서, 항원 및 항체 상호작용에 관하여 용어 "특이적으로 인식한다"는 동일한 종류의 에피토프를 함유하는 다른 화합물에 대한 항체의 결합을 배제하지 않는다.

[0030] 용어 "에피토프" 또는 "항원 결정기"는 면역글로불린 또는 항체가 특이적으로 결합하는 항원 상의 부위를 지칭한다. 에피토프는 연속 아미노산 또는 단백질의 3차 접힘에 의해 병치된 불연속 아미노산 둘 모두로부터 형성될 수 있다(이른바 선형 및 입체구조 에피토프). 연속 선형 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 대한 노출 시에 보유되는 반면, 3차 접힘 입체구조에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 의한 처리 시에 상실된다. 에피토프는 전형적으로 특유의 공간 입체구조 내에 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 아미노산을 포함할 수 있다. 에피토프의 공간 입체형태를 결정하는 방법은 당업자에게 알려져 있으며, 당업계의 기법, 예를 들어 에피토프의 성질에 따라 x-선 결정학, HDX-MS 및 2차원 핵자기 공명, 펩스캔(Pepscan), 및 알라닌 스캔을 포함한다(예를 들어, 문헌[Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조).

[0031] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체"와 "환자"는 상호교환 가능하게 사용되며, 포유동물, 예컨대 인간, 마우스, 래트, 햄스터, 기니 피그, 토끼, 고양이, 개, 원숭이, 소, 말, 돼지 등(예를 들어, 환자, 예컨대 암을 가진 인간 환자)을 지칭한다.

[0032] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료하는", 및 "치료"는 질병과 관련된 증상, 합병증, 질환 또는 생화학적 징후의 진행, 발생, 중증화, 또는 재발의 역전, 경감, 개선, 억제, 또는 둔화 또는 예방 목적을 갖는 대상체에서 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 상기 대상체에 대한 활성제 또는 활성제 병용물의 투여를 지칭한다.

[0033] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "유효한 치료" 또는 "양성 치료적 반응"은 유익한 효과, 예를 들어, 질병 또는 장애, 예를 들어 암의 적어도 하나의 증상의 개선을 가져오는 치료를 지칭한다. 유익한 효과는 기저선을 능가하는 개선의 형태로 획득될 수 있으며, 이에는 본 방법에 따른 요법의 개시 전에 이루어진 측정 또는 관찰을 능가하는 개선이 포함된다. 예를 들어, 유익한 효과는, 질병의 임상 또는 진단 증상 또는 암의 마커의 감소 또는 제거에 의해 입증되는 바와 같이, 임의의 임상 단계에서 대상체에서 암의 진행을 둔화, 안정화, 중지 또는 역전시키는 형태를 취할 수 있다. 유효한 치료는, 예를 들어 종양 크기를 감소시키고/시키거나, 순환 종양 세포의 존재를 감소시키고/시키거나, 종양의 전이를 감소 또는 예방하고/하거나, 종양 성장을 둔화 또는 정지시키고/시키거나, 종양 재발 또는 재연을 예방 또는 지연시킬 수 있다.

[0034] 용어 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 원하는 생물학적, 치료적, 및/또는 예방적 결과를 제공하는 작용제 또는 작용제 병용물의 양을 지칭한다. 그 결과는 질병의 징후, 증상, 또는 원인 중 하나 이상의 감소, 개선, 고식, 완화, 지연, 및/또는 경감, 또는 생물학적 시스템의 임의의 다른 원하는 변경일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 유효량은 종양 발생을 지연시키기에 충분한 양이다. 일부 실시 형태에서, 유효량은 종양 재발을 예방 또는 지연시키기에 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 약물 또는 조성물의 유효량은: (i) 암 세포 수를 감소시킬 수 있고/있거나; (ii) 종양 크기를 감소시킬 수 있고/있거나; (iii) 말초 기관으로의 암 세포 침윤을 어느 정도 억제시키고, 지연시키고, 느려지게 하며, 중단시킬 수 있고/있거나; (iv) 종양 전이를 억제할 수 있고/있거나; (v) 종양 성장을 억제할 수 있고/있거나; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 예방 또는 지연시킬 수 있고/있거나; (vii) 암과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화시킬 수 있다. 일례에서, "유효량"은, 암의 감소(예를 들어, 암 세포 수의 감소)를 달성하거나; 암 진행을 둔화시키거나, 암의 재성장 또는 재발을 방지하기 위한, 병용된 EGFR/LGR5 항체와 토포아이소머라제 I 억제제의 양이며, 여기서 암은 위장관암, 바람직하게는 결직장암이다.

[0035] 본 발명은 또한 EGFR을 발현하고 LGR5를 발현하는 세포의 성장을 허용하는 시스템에서 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공하며, 방법은 시스템에 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제를 제공하는 단계를 포함한다. 시스템은 바람직하게는 배양 시스템이다. 본 방법은 바람직하게는 상기 세포를 상기 시스템에서 배양하는 단계를 포함한다. 억제는 바람직하게는, 본 발명의 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제의 존재를 제외하고는 유사한 조건 하에서 발생하는 세포 수 또는 종양 부피/크기와 비교할 때, 세포 수, 종양 부피 또는 종양 크기의 적어도 10% 감소이다. 억제는 바람직하게는 세포 수, 종양 부피 또는 종양 크기의

적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 감소 및/또는 증가된 무진행 생존율이다. 억제는 또한, 본 발명의 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제의 존재를 제외하고는 유사한 조건 하에서 발생하는 루멘 수와 비교할 때, 종양 악성도 또는 이형성(dysplasia)과 관련된 다른 파라미터, 예컨대 오가노이드당 루멘 수의 적어도 10% 감소일 수 있다. 억제는 바람직하게는 오가노이드당 루멘 수의 적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%의 감소 및/또는 증가된 무진행 생존율이다.

[0036] 불확실함을 피하기 위하여, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 세포의 성장에 대한 언급은 세포 수의 변화를 지칭한다. 성장의 억제는 본 발명의 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제의 존재를 제외하고는 유사한 조건 하에서 얻어졌을 세포 수의 감소를 지칭한다. 성장의 증가는 세포수의 증가를 지칭하며, 그것은 그렇지 않았으면 달리 획득되었을 것이다. 세포의 성장은 전형적으로 세포의 증식을 지칭한다. 감소는 본 발명의 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제가 없다면 동일한 조건 하에서 동일한 세포의 성장/증식과 비교된다.

[0037] 본 발명은 또한 위장관암을 갖거나 상기 암에 걸릴 위험이 있는 개체를 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 본 발명의 항체를 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 개체는 바람직하게는 암을 갖는 개체이다. 암은 바람직하게는 위장관암이다. 일 바람직한 실시 형태에서, 암은 결직장암이다.

[0038] 본 발명은 또한 암, 바람직하게는 위장관암을 갖거나 상기 암에 걸릴 위험이 있는 개체에서 발생하는 전이 또는 종양 재발을 예방하는 방법을 제공하며, 방법은 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체와 토포아이소머라제 I 억제제를 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 개체는 바람직하게는 암을 갖는 개체이거나, 종양 재발의 경우, 개선 또는 반응 기간 후 방사선학적 재발 진단을 받았거나 암 재발의 징후 및 증상을 갖는 개체이다. 암은 바람직하게는 위장관암이다. 일 바람직한 실시 형태에서, 암은 결직장암이다.

[0039] 전이의 예방은, 바람직한 실시 형태에서, 위장관암에서 비-위장관암으로의 전이, 예컨대 폐 또는 간 조직에서의 전이의 예방이다.

[0040] 병용 요법의 유효량이 EGFR/LGR5 항체와 토포아이소머라제 I 억제제의 병용을 지칭하는 "유효한 계획"으로 본 명세서에 기재된 방법에 따라 투여되며, 이때 투여 순서, 투여량 및 투여 빈도는 치료를 달성하기에 적절한 것이다.

[0041] 상기 언급된 바와 같이, CRC와 같은 암 유형은 PIK3CA(포스파티딜이노시톨-4,5-비스포스페이트 3-키나제 촉매 서브유닛 알파) 또는 KRAS(Kirsten RAt Sarcoma)를 인코딩하는 유전자에 존재하는 것과 같은 발암 돌연변이의 존재와 관련될 수 있다. PIK3CA 및 KRAS 둘 모두에서의 돌연변이는 결직장암과 같은 암 유형에 광범위하게 관련된다. 전이성 CRC에서 KRAS 및 PIK3C 돌연변이의 유병률은 각각 다양한 인종 집단에 대해 20 내지 50% 및 최대 14.3%인 한편, PIK3CA C420R 돌연변이는 유방 암종, 결직장 선암종, 식도 암종, 뇌 저등급 신경교종, 폐 편평세포 암종, 자궁체 신생물, 전립선 선암종, 위 선암종 및 난소 신생물을 비롯한 적어도 9개의 상이한 암 유형에서 검출되었다(문헌[Prevalence of KRAS, BRAF, PI3K and EGFR mutations among Asian patients with metastatic colorectal cancer, Phua et al., Oncology Letters, 10:2519-2526 2014]; 문헌[the AACR Project GENIE Consortium. AACR Project GENIE: powering precision medicine through an international consortium. Cancer Discovery. 2017;7(8):818-831. Dataset Version 4]; https://www.cancer.gov/research/key-initiatives/ras/ras-central/blog/2017/pik3ca.pdf). 2019년 7월까지, UK Sanger Institute에 의해 관리되는 COSMIC(Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer)은 돌연변이 PIK3C C420R을 보유하는 18개의 상이한 조직 유형을 특징으로 하였다(https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic, mutation ID COSM757). PIK3CA C420R의 돌연변이의 경우, 시스테인은 단백질의 아미노산 잔기 위치 420에서 아르기닌으로 대체되었고, KRAS G12D의 경우, 위치 12의 글리신 잔기(G)는 KRAS의 아스파르트산(D)으로 돌연변이되었다.

[0042] 본 발명의 하나의 이점은 LGR5 및 EGFR에 결합하는 항체와 토포아이소머라제 I 억제제의 병용 처리를 받은 KRAS 및/또는 PIK3CA 돌연변이를 갖는 대상체가 투여 전반에 걸쳐 체중의 유의한 감소를 나타내지 않는다는 것이다. 특히, KRAS G12D 및/또는 PIK3CA C420R 돌연변이를 갖는 대상체는 통계적으로 유의한 체중 감소를 나타내지 않았다.

[0043] 따라서, 바람직한 실시 형태에서, 본 발명은 KRAS를 코딩하는 유전자에 돌연변이, 바람직하게는 G12D를 가져오는 돌연변이를 갖고/갖거나 PIK3CA를 코딩하는 유전자에 바람직하게는 C420R을 가져오는 돌연변이를 갖는 대상체에서의 암의 치료 방법에 관한 것이다.

[0044] 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료에 사용하기 위한 방법 또는 제품으로 치료되는 암은 바람직하게는 유방 암종, 결직장 선암종, 식도 암종, 뇌 신경종, 바람직하게는 저등급 뇌 신경교종, 폐 편평세포 암종, 자궁체 신생물, 전립선 선암종, 위 선암종 또는 난소 신생물이다. 암은 바람직하게는 결직장암, 폐암, 위장관암 또는 난소암이며, 바람직하게는 결직장암이다. 암은 바람직하게는 KRAS를 인코딩하는 유전자, PIK3CA를 인코딩하는 유전자 또는 이들의 조합에 돌연변이를 갖는다. KRAS 돌연변이는 바람직하게는 G12D 아미노산 치환을 가져오는 돌연변이이다. PIK3CA 돌연변이는 바람직하게는 C420R 아미노산 치환을 가져오는 돌연변이이다.

[0045] 본 발명의 추가의 이점은 LGR5 및 EGFR에 결합하는 항체와 토포아이소머라제 I 억제제의 병용 처리의 독성의 명백한 징후가 KRAS 및/또는 PIK3CA 돌연변이를 갖는 대상체, 특히 KRAS G12D 및/또는 PIK3CA C420R 돌연변이를 갖는 대상체에서 기록되지 않았다는 것이다.

[0046] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "상승작용", "치료적 상승작용", 및 "상승적 효과"는, 치료제들의 병용물(예를 들어, 토포아이소머라제 I 억제제와 병용된 EGFR/LGR5 항체)을 이용한 환자의 치료가 단독으로 사용될 때 병용물의 각각의 개별 구성성분에 의해 달성되는 결과보다 치료적으로 우수한 결과를 나타내는 현상을 지칭한다(예를 들어, 문헌[T. H. Corbett et al., 1982, Cancer Treatment Reports, 66, 1187] 참조). 이와 관련하여, 치료적으로 우수한 결과는 하기 중 하나 이상을 포함한다: (a) 병용물에서와 동일한 용량의 각각의 작용제 단독의 개별적 효과의 어느 하나 또는 둘 모두보다 큰 치료적 반응의 증가; (b) 치료적 효능의 감소 없이 병용물 내의 하나 이상의 작용제의 용량의 감소; (c) 병용물에서와 동일한 용량의 각각의 작용제의 단일요법과 동일하거나 그보다 큰 치료적 혜택을 받는 동안 부작용 발생률의 감소, (d) 각각의 작용제의 단일요법보다 더 큰 치료적 혜택을 받는 동안 용량-제한 독성의 감소; (e) 약물 저항성 유도의 지연 또는 최소화. 이종이식편 모델에서, 최대 내약 용량(maximum tolerated dose)으로 사용되는 병용물 - 여기서, 각각의 구성성분은 그의 개별 최대 내약 용량을 대체로 초과하지 않는 용량으로 존재할 것임 - 은 병용물의 투여에 의해 달성되는 종양 성장의 감소가 최상의 구성성분이 단독으로 투여될 때의 그러한 구성성분의 종양 성장의 감소 값보다 더 클 때 치료적 상승작용을 나타낸다. 약물 병용의 상승작용은, 예를 들어, 슈-텔러레이(Chou-Talalay)의 병용 지수(CI) 정리에 따라 결정될 수 있다(문헌[Chou et al., Adv. Enzyme Regul. 1984; 22:27-55; Chou, Cancer Res. 2010;70(2):440-446]).

[0047] "재연" 또는 "재발" 또는 "재출현"은 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되며, 개선 또는 반응의 기간 후 암 재발의 방사선학적 진단, 또는 암 재발의 징후 및 증상을 지칭한다.

[0048] 토포아이소머라제 억제제는 토포아이소머라제(토포아이소머라제 I 및 II)의 작용을 차단하는 화합물이다. 토포아이소머라제는 정상 세포 주기 동안 DNA 가닥의 포스포디에스테르 골격의 파괴 및 재결합을 촉매함으로써 DNA 구조의 변화를 제어하는 효소의 유형이다.

[0049] 인간 토포아이소머라제는 암 화학요법 치료를 위한 표적이 되었다. 이론에 구속됨이 없이, 토포아이소머라제 억제제는 세포에서 게놈의 안정성에 영향을 미치는 세포의 게놈에서의 단일 및 이중 가닥 파손을 생성하는 것으로 생각된다. 그러한 파손의 도입은 아폽토시스 및 세포 사멸을 가져올 수 있다.

[0050] 본 발명에서, 인간 토포아이소머라제 억제제는 바람직하게는 인간 토포아이소머라제 I의 억제제이다. 그러한 토포아이소머라제 억제제의 비제한적인 예는 캄토테신(CPT)이다. CPT는 오랫동안 항암 특성을 갖는 것으로 알려져 있다. CPT는 비교적 낮은 용해도를 갖는다. 더 양호한 활성을 갖는 CPT의 유도체가 발견되었다. CPT 유도체/유사체가 승인되었으며, 현재 암 화학요법에서 사용되고 있다. 인간에서 적합한 토포아이소머라제 I 억제제의 예는 캄토테신, 토포테칸, 라멜라린(lamellarin) D 및 이리노테칸이다. 일 실시 형태에서, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "토포아이소머라제 I 억제제"는 토포테칸, 이리노테칸, 기마테칸, 캄토테신 및 이의 유사체인 9-니트로캄토테신 및 거대분자 캄토테신 접합체 PNU-166148(WO 99/17804의 화합물 A1)을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다.

[0051] 캄토테신의 반합성 유도체인 이리노테칸(CPT-11)은 결직장암, 폐암, 위암 및 난소암을 비롯한 다양한 고형 종양에 대해 활성인 토포아이소머라제-I 억제제이다. 이리노테칸은 활성 대사물질 SN-38을 생성하기 위해 간 카르복실에스테라제에 의해 가수분해되는 전구약물이다. SN-38은 글루쿠로니드화(glucuronidation)에 의해 제거되며, 이는 간 UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라제 계열 1, 구성원 A1 클러스터(UGTA1) 효소에 좌우된다. 유전자형 UGT1A1*28은 감소된 SN-38 글루쿠로니드화와 관련된 것으로 밝혀졌다. 북아메리카인의 대략 10%는 2개 카피의 UGT1A1*28 대립유전자(동형접합성, UGT1A1 *28/*28)를 보유하며, 이리노테칸 요법 후 호중구감소증이 발병할 가능성이 높다(Dean L. Irinotecan Therapy and UGT1A1 Genotype. 2015 [Updated 2018 Apr 4]. In: Pratt V, McLeod H, Rubinstein W, et al., editors. Medical Genetics Summaries [Internet]. Bethesda (MD):

National Center for Biotechnology Information (US); 2012; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK294473/로부터 입수 가능함). 대상체는 하나 이상의 UGT1A1*28 대립유전자의 존재에 대해 스크리닝될 수 있다. 바람직하게는, 이리노테칸을 투여받는 대상체는 하나 이상의 UGT1A1*28 대립유전자를 보유하지 않고, 더 바람직하게는 상기 대상체는 대립유전자 UGT1A1*28에 대해 동형접합성이 아니다.

[0052] 이리노테칸 및 다른 인간 토포아이소머라제 억제제는 병원에서 꽤 오랫동안 사용되어 왔고, 적절한 투여량 정보는 당업자에게 이용 가능하다. 예를 들어, 이리노테칸은 매주, 격주로, 3주마다 70 내지 350 mg/m^2 로 투여될 수 있다. 다른 계획은 3주마다 제1일 및 제8일에 120 내지 150 mg/m^2을 제공한다. 또 다른 스케줄은 4주 동안 이어서 2주 간격으로 125 mg/m^2을 포함한다. 3주마다 제1일 내지 제5일에 50 mg/m^2 및 제1주, 제2주, 제4주 및 제5주의 제1일 내지 제5일에 20 mg/m^2. 본 명세서에서 표현된 투여는 지시된 시점당 대상체의 체표면적(m^2)당 양(mg)을 지칭한다.

[0053] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 표피 성장 인자(EGF) 수용체의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5에 결합하는 가변 도메인을 포함한다. EGFR은 바람직하게는 인간 EGFR이다. LGR5는 바람직하게는 인간 LGR5이다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 인간 표피 성장 인자(EGF) 수용체의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 인간 LGR5에 결합하는 가변 도메인을 포함한다.

[0054] 표피 성장 인자 (EGF) 수용체 (EGFR, ErbB1, 또는 HER1)는 Her- 또는 cErbB-1, -2, -3 및 -4로 불리는 4가지 수용체 티로신 키나제 (RTK)의 패밀리의 구성원이다. EGFR은 다양한 동의어로 알려져 있으며, 그 중 가장 일반적인 것은 EGFR이다. EGFR은 4개의 하위-도메인으로 구성된 세포외 도메인(ECD)을 갖는데, 이들 중 2개는 리간드 결합에 관여하고, 이들 중 2개는 동종-이량체화 및 이종-이량체화에 관여한다. EGFR은 다양한 리간드로부터의 세포외 신호들을 통합하여 다양한 세포내 반응을 생성한다. EGFR에 의해 활성화되는 주요 신호 전달 경로는 Ras-미토겐-활성화 단백질 키나제(MAPK) 유사분열촉진 신호전달 캐스케이드로 구성된다. 이러한 경로의 활성화는 티로신 인산화 EGFR에 대한 Grb2의 동원에 의해 개시된다. 이는 Grb2-결합된 Ras-구아닌 뉴클레오티드 교환 인자 SOS (Son of Sevenless)를 통한 Ras의 활성화로 이어진다. 게다가, PI3-키나제-Akt 신호 전달 경로가 또한 EGFR에 의해 활성화되지만, 이러한 활성화는 ErbB-3 (HER3)의 동시발현이 존재하는 경우에 훨씬 더 강하다. EGFR은 몇몇 인간 상피 악성종양, 특히 유방암, 방광암, 비소세포 폐암, 폐암, 결장암, 난소암, 두경부암 및 뇌암에 관여한다. 유전자에서의 활성화 돌연변이가 발견되었을 뿐만 아니라 수용체 및 그의 리간드의 과발현이 발견되었는데, 이는 자가분비 활성화 루프를 발생시킨다. 따라서, 이 RTK는 암 요법에 대한 표적으로서 광범위하게 사용되어 왔다. RTK를 표적화하는 소분자 억제제 및 세포외 리간드-결합 도메인에 대해 유도된 단일클론 항체 (mAb) 둘 모두가 개발되어 왔고 지금까지 몇몇 임상 성공이 밝혀졌을지라도, 이는 대개 선택된 환자군에 대해서 그러하다. 인간 EGFR 단백질 및 그것을 인코딩하는 유전자에 대한 데이터베이스 수탁 번호는 GenBank NM_005228.3이다. 이러한 수탁 번호는 표적으로서의 EGFR 단백질의 확인을 위한 추가의 방법을 제공하기 위하여 주로 주어지고, 항체에 의해 결합된 EGFR 단백질의 실제의 서열은, 예를 들어 인코딩 유전자 내의 돌연변이, 예컨대 일부 암에서 발생되는 것들 등 때문에 변동될 수 있다. 단어 암 및 종양은 본 명세서에서 사용되고, 전형적으로 둘 모두는 구체적으로 언급되지 않는 한 암을 지칭한다.

[0055] 본 명세서에서 EGFR을 언급하는 경우, 이러한 언급은 달리 언급되지 않는 한 인간 EGFR을 지칭한다. EGFR에 결합하는 가변 도메인 항원-결합 부위는 EGFR 및 그의 다양한 변이체, 예컨대 일부 EGFR 양성 종양 상에서 발현되는 것들에 결합한다.

[0056] 용어 "LGR"은 류신-풍부 반복-함유 G-단백질 결합된 수용체로서 알려진 단백질의 패밀리를 지칭한다. 패밀리의 몇몇 구성원이 WNT 신호전달 경로에 관여하는 것으로 알려져 있으며, LGR4; LGR5 및 LGR6이 주목할 만하다.

[0057] LGR5는 류신-풍부 반복 함유 G 단백질-결합된 수용체 5이다. 유전자 또는 단백질에 대한 대체명은 류신-풍부 반복 함유 G 단백질-결합된 수용체 5; 류신-풍부 반복-함유 G 단백질-결합된 수용체 5; G-단백질 결합된 수용체 HG38; G-단백질 결합된 수용체 49; G-단백질 결합된 수용체 67; GPR67; GPR49; 고아(Orphan) G 단백질-결합된 수용체 HG38; G 단백질-결합된 수용체 49; GPR49; HG38 및 FEX이다. LGR5와 결합하는 본 발명의 단백질 또는 항체는 인간 LGR5와 결합한다. 본 발명의 LGR5 결합 단백질 또는 항체는, 인간과 다른 포유류 오르토로그(ortholog) 사이의 서열 및 3차 구조 유사성에 기인하여, 그러한 오르토로그와 또한 결합할 수 있지만, 반드시 그러한 것은 아니다. 인간 LGR5 단백질 및 그것을 인코딩하는 유전자에 대한 데이터베이스 수탁 번호는

(NC_000012.12; NT_029419.13; NC_018923.2; NP_001264155.1; NP_001264156.1; NP_003658.1)이다. 이러한 수탁 번호는 표적으로서의 LGR5의 확인을 위한 추가의 방법을 제공하기 위하여 주로 주어지고, 결합된 LGR5 단백질의 실제의 서열은, 예를 들어 인코딩 유전자 내의 돌연변이, 예컨대 일부 암에서 발생되는 것들 등 때문에 변동될 수 있다. LGR5 항원 결합 부위는 LGR5 및 그의 다양한 변이체, 예컨대 일부 LGR5 양성 종양 세포에 의해 발현되는 것들에 결합한다.

[0058] 본 발명의 맥락에서, 세포가 LGR5를 코딩하는 검출 가능한 RNA를 포함하는 경우 세포는 LGR5를 발현하는 것으로 언급된다. 발현은 종종 세포를 LGR5에 결합하는 항체와 함께 인큐베이션함으로써 또한 검출될 수 있다. 그러나, 일부 세포는 그러한 LGR5 항체 시험에 대해 단백질을 충분히 높게 발현하지 않는다. 그러한 경우, mRNA 또는 다른 형태의 핵산 서열 검출이 바람직하다.

[0059] 본 명세서에서 단백질/유전자의 수탁 번호 또는 대체명이 주어지는 경우, 이들은 표적으로서 언급된 단백질의 확인을 위한 추가의 방법을 제공하기 위하여 주로 주어지고, 본 발명의 항체에 의해 결합된 표적 단백질의 실제의 서열은, 예를 들어 인코딩 유전자 내의 돌연변이 및/또는 선택적 스플라이싱(alternative splicing), 예컨대 일부 암에서 발생되는 것들 등 때문에 변동될 수 있다. 표적 단백질은 에피토프가 단백질에 존재하고 에피토프가 항체에 접근 가능한 한 항체에 의해 결합된다.

[0060] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 바람직하게는 EGFR로의 EGFR에 대한 리간드의 결합을 방해한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이 용어 "결합을 방해하는"은 EGFR로의 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체의 결합이 EGF 수용체에 결합하기 위해 리간드와 경쟁함을 의미한다. 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 리간드 결합을 감소시키거나, 리간드가 EGF 수용체에 이미 결합되어 있을 때 이를 대체하거나, 예를 들어 입체 장애를 통해, 리간드가 EGF 수용체에 결합할 수 있음을 적어도 부분적으로 방지할 수 있다.

[0061] 본 발명의 EGFR 항체는 바람직하게는 각각 BxPC3 세포(ATCC CRL-1687) 또는 BxPC3-luc2 세포(Perkin Elmer 125058)의 리간드-유도 성장 또는 A431 세포(ATCC CRL-1555)의 리간드-유도 세포 사멸로서 측정되는 EGFR 리간드-유도 신호전달을 억제한다. 언급된 EGFR 항체는 당업계에 알려진 검정에서 측정되는 바와 같이 중성 물질 또는 음성 대조군의 존재 하에서의 리간드 유도 효과와 비교하여 리간드 유도 신호전달을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 바람직하게는 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 더 바람직하게는 70%, 80%, 85%, 그리고 가장 바람직하게는 90%, 95%, 99%, 또는 100% 감소시킬 수 있다. EGFR은 다수의 리간드에 결합하고, 언급된 BxPC3 세포 또는 BxPC3-luc2 세포의 성장을 자극할 수 있다. EGFR 리간드의 존재 하에서, BxPC3 또는 BxPC3-luc2 세포의 성장이 자극된다. BxPC3 세포의 EGFR 리간드-유도 성장은 리간드의 부재 및 존재 하에서 세포의 성장을 비교함으로써 측정될 수 있다. BxPC3 또는 BxPC3-luc2 세포의 EGFR 리간드-유도 성장을 측정하기에 바람직한 EGFR 리간드는 EGF이다. 리간드-유도 성장은 바람직하게는 포화량의 리간드를 사용하여 측정된다. 바람직한 실시 형태에서, EGF는 배양 배지 ml당 100 ng의 양으로 사용된다. EGF는 바람직하게는 R&D systems의 EGF인 카탈로그 번호 396-HB 및 236-EG이다(또한 본 명세서에 참고로 포함된 WO 2017/069628을 참조함).

[0062] 본 발명의 EGFR 항체는 바람직하게는 BxPC3 세포(ATCC CRL-1687) 또는 BxPC3-luc2 세포(Perkin Elmer 125058)의 EGFR 리간드 유도 성장을 억제한다. 언급된 EGFR 항체는 당업계에 알려진 검정에서 측정되는 바와 같이 중성 물질 또는 음성 대조군에 의해 유도된 리간드 유도 성장과 비교하여 리간드 유도 성장을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 바람직하게는 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 더 바람직하게는 70%, 80%, 85%, 그리고 가장 바람직하게는 90%, 95%, 99%, 또는 100% 감소시킬 수 있다. EGFR은 다수의 리간드에 결합하고, 언급된 BxPC3 세포 또는 BxPC3-luc2 세포의 성장을 자극할 수 있다. 리간드의 존재 하에서, BxPC3 또는 BxPC3-luc2 세포의 성장이 자극된다. BxPC3 세포의 EGFR 리간드-유도 성장은 리간드의 부재 및 존재 하에서 세포의 성장을 비교함으로써 측정될 수 있다. BxPC3 또는 BxPC3-luc2 세포의 EGFR 리간드-유도 성장을 측정하기에 바람직한 EGFR 리간드는 EGF이다. 리간드-유도 성장은 바람직하게는 포화량의 리간드를 사용하여 측정된다. 바람직한 실시 형태에서, EGF는 배양 배지 ml당 100 ng의 양으로 사용된다. EGF는 바람직하게는 R&D systems의 EGF인 카탈로그 번호 396-HB 및 236-EG이다(또한 본 명세서에 참고로 포함된 WO 2017/069628을 참조함).

[0063] 본 발명의 항체가 다중특이적 포맷으로 신호전달을 억제하거나 성장을 억제하는지 여부는 바람직하게는 항체의 단일특이적 1가 또는 단일특이적 2가 버전을 사용하여 상기 본 명세서에 기재된 바와 같은 방법에 의해 결정된다. 그러한 항체는 바람직하게는 신호전달이 결정되어야 하는 수용체에 대한 결합 부위를 갖는다. 단일특이적 1가 항체는 파상풍 톡소이드 특이성과 같은 무관한 결합 특이성을 갖는 가변 도메인을 가질 수 있다. 바람직한 항체는 항원 결합 가변 도메인들이 EGF-수용체 패밀리 구성원에 결합하는 가변 도메인들로 이루어진 2가의 단일

특이성 항체이다.

[0064] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 기능적 부분, 유도체 및/또는 유사체는 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함한다.

[0065] LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인은 바람직하게는, 아미노산 잔기 D43; G44, M46, F67, R90, 및 F91이 에피토프로의 항체의 결합에 관여하는 도 1의 서열의 아미노산 잔기 21-118 내에 위치한 에피토프에 결합한다.

[0066] LGR5 가변 도메인은 바람직하게는, D43A; G44A, M46A, F67A, R90A 및 F91A의 LGR5에서의 아미노산 치환들 중 하나 이상이 LGR5로의 가변 도메인의 결합을 감소시키는 가변 도메인이다.

[0067] LGR5의 세포외 부분 상의 에피토프는 바람직하게는 도 1의 서열의 아미노산 잔기 21-118 내에 위치한다. 이는 바람직하게는, LGR5로의 LGR5 가변 도메인의 결합이 LGR5에서의 다음 아미노산 잔기 치환 D43A; G44A, M46A, F67A, R90A, 및 F91A 중 하나 이상에 의해 감소하는 에피토프이다.

[0068] 본 발명은 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 갖는 항체를 추가로 제공하며, 여기서 LGR5 가변 도메인은 도 1의 서열의 아미노산 잔기 21-118 내에 위치한 LGR5 상의 에피토프에 결합한다.

[0069] LGR5 상의 에피토프는 바람직하게는 입체구조(conformational) 에피토프이다. 에피토프는 바람직하게는 도 1의 서열의 아미노산 잔기 40-95 내에 위치한다. LGR5로의 항체의 결합은 바람직하게는 다음 아미노산 잔기 치환 D43A; G44A, M46A, F67A, R90A, 및 F91A 중 하나 이상에 의해 감소한다.

[0070] 이론에 구속됨이 없이, 도 1에 도시된 바와 같은 LGR5의 M46, F67, R90, 및 F91은 상기 본 명세서에 나타낸 바와 같은 가변 도메인에 대한 접촉 잔기, 즉, LGR5 에피토프에 결합하는 가변 도메인의 항원-결합 부위인 것으로 여겨진다. 아미노산 잔기 치환 D43A 및 G44A는 항체의 결합을 감소시키는데, 이는 이들이 또한 접촉 잔기라는 사실에 기인할 수 있지만, 이러한 아미노산 잔기 치환은, 다른 접촉 잔기들(즉, 위치 46, 67, 90 또는 91에 있는 것들) 중 하나 이상을 갖는 LGR5의 일부의 입체구조의 (약간의) 변형을 유도하는 것이 또한 가능하고, 그러한 입체구조 변화는 항체 결합이 감소되도록 한다. 에피토프는 언급된 아미노산 치환을 특징으로 한다. 항체가 동일한 에피토프와 결합하는지의 여부는 다양한 방법으로 결정될 수 있다. 실시예에 바람직한 방법이 기재되어 있다. 방법은 CHO 세포를 이용한다. CHO 세포는 세포 막 상에서, 또는 알라닌 치환 돌연변이체, 바람직하게는 치환 M46A, F67A, R90A, 또는 F91A 중 하나 이상을 포함하는 돌연변이체 상에서 LGR5를 발현한다. 시험 항체를 CHO 세포와 접촉시키고, 세포로의 항체의 결합을 비교한다. 시험 항체는, 그것이 LGR5에 결합하고 M46A, F67A, R90A, 또는 F91A 치환을 갖는 LGR5에 더 적은 정도로 결합한다면, 에피토프에 결합한다. 각각 하나의 알라닌 잔기 치환을 포함하는 돌연변이체들의 패널을 사용하여 결합을 비교하는 것이 바람직하다. 그러한 결합 연구는 당업계에 잘 알려져 있다. 종종 패널은 모든 아미노산 잔기를 본질적으로 포함하는 단일 알라닌 치환 돌연변이체들을 포함한다. LGR5의 경우, 패널은 단백질의 세포외 부분 및 세포가 사용될 때는 물론 세포 막과의 결합을 허용하는 부분을 커버하기만 하면 된다. 특정 돌연변이체의 발현이 손상될 수 있지만, 이것은 상이한 영역(들)에 결합하는 하나 이상의 LGR5 항체에 의해 용이하게 검출된다. 발현이 또한 이들 대조 항체에 대해 감소되는 경우, 막 상의 단백질의 수준 또는 접힘은 이러한 특정 돌연변이체에 대해 손상된다. 패널로의 시험 항체의 결합 특성은 시험 항체가 M46A, F67A, R90A, 또는 F91A 치환을 갖는 돌연변이체로의 감소된 결합을 나타내는지의 여부 그리고 이에 따라 시험 항체가 본 발명의 항체인지의 여부를 용이하게 확인시켜 준다. M46A, F67A, R90A, 또는 F91A 치환을 갖는 돌연변이체로의 감소된 결합은 또한 도 1의 서열의 아미노산 잔기 21-118 내에 위치하는 에피토프를 확인시켜 준다. 바람직한 실시 형태에서, 패널은 D43A 치환 돌연변이; G44A 치환 돌연변이체 또는 둘 모두를 포함한다. MF5816의 VH의 VH 서열을 갖는 항체는 이들 치환 돌연변이체에 대해 감소된 결합을 나타낸다.

[0071] 임의의 이론에 구속됨이 없이, 도 2에 도시된 바와 같은 아미노산 잔기 I462; G465; K489; I491; N493; 및 C499는 상기 본 명세서에 나타낸 바와 같은 가변 도메인을 포함하는 항체에 의한 에피토프의 결합에 관여하는 것으로 여겨진다. 결합에 관여하는 것은 바람직하게는 I462A; G465A; K489A; I491A; N493A; 및 C499A로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기 치환을 갖는 EGFR로의 가변 도메인의 감소된 결합을 관찰함으로써 결정된다.

[0072] 일 태양에서, 인간 EGFR의 세포외 부분 상의 에피토프에 결합하는 가변 도메인은 도 2에 도시된 서열의 아미노산 잔기 420-480 내에 위치한 에피토프에 결합하는 가변 도메인이다. 바람직하게는 EGFR로의 가변 도메인의 결합은 EGFR에서의 다음 아미노산 잔기 치환 I462A; G465A; K489A; I491A; N493A; 및 C499A 중 하나 이상에 의해

감소한다. 인간 EGFR로의 항체의 결합은 바람직하게는 수용체로의 EGF의 결합을 방해한다. EGFR 상의 에피토프는 바람직하게는 입체구조 에피토프이다. 일 태양에서, 에피토프는 도 2에 도시된 서열의 아미노산 잔기 420-480, 바람직하게는 도 2에 도시된 서열의 430-480 내에 위치하고; 바람직하게는 도 2에 도시된 서열의 438-469 내에 위치한다.

[0073] 이론에 의해 구속됨이 없이, 에피토프의 접촉 잔기, 즉, 가변 도메인이 인간 EGFR과 접촉하는 곳은 I462; K489; I491; 및 N493일 가능성이 있는 것으로 여겨진다. 아미노산 잔기 G465 및 C499는 EGFR에 대한 항체의 결합에 간접적으로 관여할 가능성이 높은데, 아마도 알라닌으로의 치환에 의한 돌연변이가 에피토프의 (약간의) 입체구조 변경을 유도하여 에피토프에 대해 감소된 결합을 가져오기 때문일 것이다.

[0074] 인간 EGFR에 결합하는 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3755의 VH의 CDR3 서열 또는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3755의 VH의 CDR3 서열과 최대 3개, 바람직하게는 최대 2개, 바람직하게는 최대 1개의 아미노산이 상이한 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 갖는 가변 도메인이다.

[0075] 인간 EGFR에 결합하는 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3755의 VH의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열; 또는 최대 3개, 바람직하게는 최대 2개, 바람직하게는 최대 1개의 아미노산 치환을 갖는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3755의 VH의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 갖는 가변 도메인이다.

[0076] 인간 EGFR에 결합하는 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3755의 VH 쇄의 서열; 또는 MF3755의 VH 쇄에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는 도 8에 도시된 MF3755의 VH 쇄의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 갖는 가변 도메인이다.

[0077] 일 실시 형태에서, 본 발명은 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체를 제공하며,

[0078] 상기 가변 도메인의 중쇄 가변 영역은 도 8에 도시된 바와 같은 MF3370; MF3755; MF4280 또는 MF4289로 이루어진 군으로부터 선택된 EGFR 특이적 중쇄 가변 영역의 CDR3 서열을 적어도 포함하거나; 상기 가변 도메인의 중쇄 가변 영역은 도 8에 도시된 바와 같은 MF3370; MF3755; MF4280 또는 MF4289로 이루어진 군으로부터 선택된 VH의 CDR3 서열과 최대 3개, 바람직하게는 최대 2개, 바람직하게는 최대 1개의 아미노산이 상이한 중쇄 CDR3 서열을 포함한다. 상기 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3370; MF3755; MF4280 또는 MF4289의 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0079] 상기 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3370; MF3755; MF4280 또는 MF4289로 이루어진 군으로부터 선택된 EGFR 특이적 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3370; MF3755; MF4280 또는 MF4289로 이루어진 군으로부터 선택된 EGFR 특이적 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열과 최대 3개, 바람직하게는 최대 2개, 바람직하게는 최대 1개의 아미노산이 상이한 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 상기 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF3370; MF3755; MF4280 또는 MF4289의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 바람직한 중쇄 가변 영역은 MF3755이다. 다른 바람직한 중쇄 가변 영역은 MF4280이다.

[0080] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체로서, EGFR 결합 가변 도메인은 본 명세서에 나타낸 바와 같은 CDR3, CDR1, CDR2, 및 CDR3 및/또는 VH 서열을 갖는, 항체는 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF5790; MF5803; MF5805; MF5808; MF5809; MF5814; MF5816; MF5817; 또는 MF5818로 이루어진 군으로부터 선택된 LGR5 특이적 중쇄 가변 영역의 CDR3 서열 또는 도 8에 도시된 바와 같은 MF5790; MF5803; MF5805; MF5808; MF5809; MF5814; MF5816; MF5817; 또는 MF5818로 이루어진 군으로부터 선택된 VH의 CDR3와 최대 3개, 바람직하게는 최대 2개, 바람직하게는 최대 1개의 아미노산이 상이한 중쇄 CDR3 서열을 적어도 포함하는 LGR5에 결합하는 가변 도메인을 갖는다. 상기 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF5790; MF5803; MF 5805; MF5808; MF5809; MF5814; MF5816; MF5817; 또는 MF5818의 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0081] LGR5 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF5790; MF5803; MF5805; MF5808; MF5809; MF5814; MF5816; MF5817; 또는 MF5818로 이루어진 군으로부터 선택된 LGR5 특이적 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, 또는 도 8에 도시된 바와 같은 MF5790; MF5803; MF5805; MF5808; MF5809; MF5814; MF5816; MF5817; 또는 MF5818로 이루어진 군으로부터 선택된 LGR5 특이적 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열과 최대

3개, 바람직하게는 최대 2개, 바람직하게는 최대 1개의 아미노산이 상이한 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 상기 가변 도메인은 바람직하게는 도 8에 도시된 바와 같은 MF5790; MF5803; MF5805; MF5808; MF5809; MF5814; MF5816; MF5817; 또는 MF5818의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 적어도 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 바람직한 중쇄 가변 영역은 MF5790; MF5803; MF5814; MF5816; MF5817; 또는 MF5818이다. 특히 바람직한 중쇄 가변 영역은 MF5790; MF5814; MF5816; 및 MF5818; 바람직하게는 MF5814, MF5818 및 MF5816이며, 중쇄 가변 영역 MF5816이 특히 바람직하다. 다른 바람직한 중쇄 가변 영역은 MF5818이다.

[0082] 중쇄 가변 영역 MF3755 또는 이의 하나 이상의 CDR을 갖는 하나 이상의 가변 도메인을 포함하는 항체가 EGFR 리간드 반응성 암 또는 세포의 성장을 억제하는 데 사용될 때 더 우수한 효능을 갖는 것으로 밝혀졌다. 이중특이성 또는 다중특이성 항체의 맥락에서, 중쇄 가변 영역 MF3755 또는 이의 하나 이상의 CDR을 갖는 가변 도메인을 포함하는 항체의 아암은 중쇄 가변 영역 MF5818 또는 이의 하나 이상의 CDR을 갖는 가변 도메인을 포함하는 아암과 잘 조합된다.

[0083] EGFR 또는 LGR5에 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는 도 8에 도시된 서열에 대해 하나 이상의 아미노산 치환을 가질 수 있다. VH 쇄는 바람직하게는 도 8의 VH 쇄 서열에 대해 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는 도 8의 EGFR 또는 LGR5 VH의 아미노산 서열을 갖는다.

[0084] CDR 서열은 도면의 CDR 서열에 대해 하나 이상의 아미노산 잔기 치환을 가질 수 있다. 그러한 하나 이상의 치환은 예를 들어 최적화 목적으로, 바람직하게는 항체의 결합 강도 또는 안정성을 개선하기 위해 이루어진다. 최적화는 예를 들어 돌연변이유발 절차에 의해 수행되며, 이때 생성된 항체의 안정성 및/또는 결합 친화도가 바람직하게 시험된 후, 개선된 EGFR 특이적 CDR 서열 또는 LGR5 특이적 CDR 서열이 바람직하게 선택된다. 당업자는 본 발명에 따른 적어도 하나의 변경된 CDR 서열을 포함하는 항체 변이체를 잘 생성할 수 있다. 예를 들어, 보존적 아미노산 치환이 적용될 수 있다. 보존적 아미노산 치환의 예에는 하나의 소수성 잔기, 예컨대 아이소류신, 발린, 류신 또는 메티오닌으로의 다른 소수성 잔기의 치환, 및 하나의 극성 잔기로의 다른 극성 잔기의 치환, 예컨대 아르기닌으로의 라이신의 치환, 글루탐산으로의 아스파르트산의 치환, 또는 글루타민으로의 아스파라긴의 치환이 포함된다.

[0085] 바람직하게는, 본 명세서에 명시된 바와 같은 VH 또는 VL에서의 언급된 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환은 바람직하게는 보존적 아미노산 치환이다. 본 명세서에 명시된 바와 같은 VH 또는 VL에서의 아미노산 삽입, 결실 및 치환은 바람직하게는 CDR3 영역에 존재하지 않는다. 언급된 아미노산 삽입, 결실 및 치환은 바람직하게는 또한 CDR1 및 CDR2 영역에 존재하지 않는다. 언급된 아미노산 삽입, 결실 및 치환은 바람직하게는 또한 FR4 영역에 존재하지 않는다.

[0086] 언급된 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환은 바람직하게는 보존적 아미노산 치환이고, 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합은 바람직하게는 VH 쇄의 CDR3 영역 내에서 행해지지 않으며, 바람직하게는 VH 쇄의 CDR1, CDR2 또는 CDR3 영역 내에서 행해지지 않으며, 바람직하게는 FR4 영역 내에서 행해지지 않는다.

[0087] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체는 바람직하게는

[0088] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는

[0089] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함하고;

[0090] LGR5와 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는

[0091] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5790의 아미노산 서열; 또는

[0092] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5790의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함한다.

[0093] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체는 바람직하게는

[0094] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는

[0095] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함하고;

[0096] LGR5와 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는

[0097] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5803의 아미노산 서열; 또는

[0098] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5803의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함한다.

[0099] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체는 바람직하게는

[0100] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는

[0101] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함하고;

[0102] LGR5와 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는

[0103] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5814의 아미노산 서열; 또는

[0104] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5814의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함한다.

[0105] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체는 바람직하게는

[0106] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는

[0107] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함하고;

[0108] LGR5와 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는

[0109] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5816의 아미노산 서열; 또는

[0110] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5816의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함한다.

[0111] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체는 바람직하게는

[0112] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는

[0113] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함하고;

[0114] LGR5와 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는

[0115] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5817의 아미노산 서열; 또는

[0116] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5817의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함한다.

[0117] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체는 바람직하게는

[0118] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열; 또는

[0119] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF3755의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함하고;

[0120] LGR5와 결합하는 가변 도메인의 VH 쇄는

[0121] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5818의 아미노산 서열; 또는

[0122] - 도 8에 도시된 바와 같은 VH 쇄 MF5818의 아미노산 서열로서, 상기 VH에 대하여 최대 15개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개, 그리고 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 갖는, 아미노산 서열을 포함한다.

[0123] EGFR 또는 LGR5 결합을 보유하는 개시된 아미노산 서열의 추가적인 변이체는, 예를 들어, 재배열된 인간 IGKV1-39/IGKJ1 VL 영역을 함유하는 파지 디스플레이 라이브러리(문헌[De Kruif et al. Biotechnol Bioeng. 2010 (106)741-50]), 및 이전에 기술된 바와 같은(예를 들어, WO 2017/069628) 본 명세서에 개시된 EGFR 또는 LGR5 VH 영역의 아미노산 서열 내로의 아미노산 치환을 포함하는 VH 영역의 집합으로부터 얻어질 수 있다. EGFR 또는 LGR5에 결합하는 Fab 영역을 인코딩하는 파지가 선택되고, 유세포측정에 의해 분석되고, 서열분석되어 항원 결합을 보유하는 아미노산 치환, 삽입, 결실 또는 부가를 갖는 변이체를 확인할 수 있다.

[0124] EGFR/LGR5 항체의 VH/VL EGFR 및 LGR5 가변 도메인의 경쇄 가변 영역은 동일하거나 상이할 수 있다.

[0125] 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL EGFR 가변 도메인의 VL 영역은 VH/VL LGR5 가변 영역의 VL 영역과 유사하다. 소정 실시 형태에서, 제1 및 제2 VH/VL 가변 도메인에서 VL 영역은 동일하다.

[0126] 소정 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 경쇄 가변 영역은 공통 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 공통 경쇄 가변 영역은 생식세포계열(germline) IgVκ1-39 가변 영역 V-세그먼트를 포함한다. 소정 실시 형태에서, VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 경쇄 가변 영역은 카파 경쇄 V-세그먼트 IgVκ1-39*01을 포함한다. IgVκ1-39는 면역글로불린 가변 카파 1-39 유전자에 대한 축약어이다. 이 유전자는 면역글로불린 카파 가변 1-39; IGKV139; IGKV1-39로도 알려져 있다. 유전자의 외부 Id는 HGNC: 5740; Entrez Gene: 28930; Ensembl: ENSG00000242371이다. 적절한 V-영역에 대한 아미노산 서열은 도 9에 제공되어 있다. V-영역은 5개의 J-영역들 중 하나와 조합될 수 있다. 바람직한 J-영역은 jk1 및 jk5이고, 결합된 서열은 IGKV1-39/jk1 및 IGKV1-39/jk5로 표시되고; 대안적인 명칭은 IgVκ1-39*01/IGJκ1*01 또는 IgVκ1-39*01/IGJκ5*01(IMGT 데이터베이스 월드와이드 웹 imgt.org에 따른 명명법)이다. 소정 실시 형태에서, VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 경쇄 가변 영역은 카파 경쇄 IgVκ1-39*01/IGJκ1*01 또는 IgVκ1-39*01/IGJκ1*05(도 9에 기재됨)를 포함한다.

[0127] 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 경쇄 가변 영역은 아미노산 서열 QSISSY(도 9에 기재됨)를 포함하는 LCDR1, 아미노산 서열 AAS(도 9에 기재됨)를 포함하는 LCDR2, 및 아미노산 서열 QQSYSTP(도 9에 기재됨)를 포함하는 LCDR3(즉, IMGT에 따른 IGKV1-39의 CDR들)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 경쇄 가변 영역은 아미노산 서열 QSISSY(도 9에 기재됨)를 포함하는 LCDR1, 아미노산 서열 AASLQS(도 9에 기재됨)를 포함하는 LCDR2, 및 아미노산 서열 QQSYSTP(도 9에 기재됨)를 포함하는 LCDR3을 포함한다.

[0128] 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두는 도 9에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 97%, 더 바람직하게는 적어도 98%, 더 바람직하게는 적어도 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두는 도 9에 제시된 아미노산 서열과 적어도 90%, 바람직하게는 적어도 95%, 더 바람직하게는 적어도 97%, 더 바람직하게는 적어도 98%, 더 바람직하

게는 적어도 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0129] 예를 들어, 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 가변 경쇄는 도 9의 서열에 대하여 0 내지 10개, 바람직하게는 0 내지 5개의 아미노산 삽입, 결실, 치환, 부가 또는 이들의 조합을 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 경쇄 가변 영역은 지시된 아미노산 서열에 대하여 0 내지 9개, 0 내지 8개, 0 내지 7개, 0 내지 6개, 0 내지 5개, 0 내지 4개, 바람직하게는 0 내지 3개, 바람직하게는 0 내지 2개, 바람직하게는 0개 또는 1개, 그리고 바람직하게는 0개의 아미노산 삽입, 결실, 치환, 부가, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0130] 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 경쇄 가변 영역은 도 9에 도시된 바와 같은 서열의 아미노산 서열을 포함한다. 소정 실시 형태에서, EGFR/LGR5 항체의 VH/VL 가변 도메인들 모두는 동일한 VL 영역을 포함한다. 일 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 VH/VL 가변 도메인들 모두의 VL은 도 9에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 VH/VL 가변 도메인들 모두의 VL은 도 9에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0131] 본 명세서에 기재된 바와 같은 EGFR/LGR5 항체는 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나는 EGFR에 결합하고 다른 하나는 LGR5에 결합하는 2개의 가변 도메인을 갖는 이중특이성 항체이다.

[0132] 본 명세서에 개시된 방법에 사용하기 위한 EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 다수의 포맷으로 제공될 수 있다. 이중특이성 항체의 많은 다양한 포맷이 당업계에 알려져 있으며, 본 명세서에 각각 참고로 포함된 문헌[Kontermann (Drug Discov Today, 2015 Jul;20(7):838-47; MAbs, 2012 Mar-Apr;4(2):182-97)] 및 문헌[Spiess et al., (Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. Mol. Immunol. (2015) http: //dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2015.01.003)]에서 검토되었다. 예를 들어, 2개의 VH/VL 조합을 갖는 고전적인 항체가 아닌 이중특이성 항체 포맷은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 가변 도메인을 적어도 갖는다. 이러한 가변 도메인은 제2 결합 활성을 제공하는 단일쇄 Fv-단편, 모노바디(monobody), VH 및 Fab-단편에 연결될 수 있다.

[0133] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 방법에 사용되는 EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 대체로 인간 IgG 서브클래스(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)를 갖는다. 소정 실시 형태에서, 항체는 인간 IgG1 하위클래스의 것이다. 유리한 반감기 때문에 그리고 낮은 면역원성의 이유로 전장 IgG 항체가 바람직하다. 따라서, 소정 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 전장 IgG 분자이다. 일 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 전장 IgG1 분자이다.

[0134] 따라서, 소정 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 결정화 가능한 단편(Fc)을 포함한다. EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 Fc는 바람직하게는 인간 불변 영역으로 구성된다. EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 불변 영역 또는 Fc는 자연 발생적 인간 항체의 불변 영역과의 1개 이상, 바람직하게는 최대 10개, 바람직하게는 최대 5개의 아미노산 차이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 소정 실시 형태에서, 이중특이성 항체의 각각의 Fab-아암은 이중특이성 항체의 형성을 촉진하고/촉진하거나 안정성을 촉진하고/촉진하거나, 본 명세서에 기재된 다른 특징을 촉진하는 변형을 포함하는 Fc-영역을 추가로 포함할 수 있다.

[0135] 이중특이성 항체는 전형적으로 항체를 인코딩하는 핵산(들)을 발현하는 세포에 의해 생성된다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 이중특이성 EGFR/LGR5 항체는 이중특이성 EGFR/LGR5 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 및 불변 영역을 인코딩하는 하나 이상의 핵산을 포함하는 세포를 제공함으로써 생성된다. 세포는 바람직하게는 동물 세포, 더 바람직하게는 포유동물 세포, 더 바람직하게는 영장류 세포, 가장 바람직하게는 인간 세포이다. 적합한 세포는 EGFR/LGR5 이중특이성 항체를 포함할 수 있고, 바람직하게는 이를 생성할 수 있는 임의의 세포이다.

[0136] 항체 생성에 적합한 세포는 당업계에 알려져 있으며, 하이브리도마 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, NS0 세포, 또는 PER-C6 세포를 포함한다. 다양한 기관 및 회사는 항체의 대규모 생성을 위하여, 예를 들어 임상 사용을 위하여 세포주를 개발해 왔다. 그러한 세포주의 비제한적인 예는 CHO 세포, NS0 세포 또는 PER.C6 세포이다. 특정 바람직한 실시 형태에서, 상기 세포는 인간 세포이다. 바람직하게는, 아데노바이러스 E1 영역 또는 그의 기능적 등가물에 의해 형질전환된 세포이다. 그러한 세포주의 바람직한 예는 PER.C6 세포주 또는 그의 등가물이다. 특정 바람직한 실시 형태에서, 상기 세포는 CHO 세포 또는 그의 변이체이다. 바람직하게는, 항체의 발현을 위하여 글루타민 신테타제(GS) 벡터 시스템을 사용하는 변이체이다. 일 바람직한 실시 형태에서, 세포는 CHO 세포이다.

[0137] 일부 실시 형태에서, 세포는 EGFR/LGR5 이중특이성 항체를 구성하는 상이한 경쇄 및 중쇄를 발현한다. 소정 실시 형태에서, 세포는 2개의 상이한 중쇄 및 적어도 1개의 경쇄를 발현한다. 일 바람직한 실시 형태에서, 세포는 상이한 항체 종(상이한 중쇄 및 경쇄의 조합)의 수를 감소시키기 위해 본 명세서에 기재된 바와 같은 "공통 경쇄"를 발현한다. 예를 들어, 각각의 VH 영역은, 재배열된 인간 IGKV1 39/IGKJ1(huVκ1 39) 경쇄와 함께, 이중특이성 IgG의 생성을 위해 당업계에 알려진 방법(WO 2013/157954; 본 명세서에 참고로 포함됨)을 사용하여 발현 벡터 내로 클로닝된다. huVκ1 39는 하나 초과의 중쇄와 쌍을 형성함으로써 다양한 특이성을 갖는 항체를 생성하는 것으로 이미 밝혀졌으며, 이는 이중특이성 분자의 생성을 용이하게 한다(문헌[De Kruif et al. J. Mol. Biol. 2009(387) 548 58]; WO2009/157771).

[0138] 공통 경쇄 및 동일한 양의 2개의 중쇄를 발현하는 항체 생성 세포는 전형적으로 50% 이중특이성 항체 및 25%의 각각의 단일특이성 항체(즉, 동일한 중쇄-경쇄 조합을 가짐)를 생성한다. 각각의 단일특이성 항체들의 생성에 비하여 이중특이성 항체의 생성을 유리하게 하는 몇 가지 방법이 공개되어 있다. 이는 전형적으로 중쇄의 불변 영역을 변형시켜, 이들이 동종이량체화에 비하여 이종이량체화(즉, 다른 중쇄/경쇄 조합의 중쇄와의 이량체화)를 유리하게 함으로써 달성된다. 일 바람직한 실시 형태에서, 본 발명의 이중특이성 항체는 양립가능한 이종이량체화 도메인들을 갖는 2개의 상이한 면역글로불린 중쇄를 포함한다. 다양한 양립가능한 이종이량체화 도메인들이 당업계에 기재되어 있다. 양립가능한 이종이량체화 도메인들은 바람직하게는 양립가능한 면역글로불린 중쇄 CH3 이종이량체화 도메인들이다. 당업계에는 그러한 중쇄 이종이량체화가 달성될 수 있는 다양한 방법이 기술되어 있다.

[0139] EGFR/LGR5 이중특이성 항체를 생성하는 하나의 바람직한 방법이 US 9,248,181 및 US 9,358,286에 개시되어 있다. 구체적으로는, 본질적으로 이중특이성 전장 IgG 분자만을 생성하기에 바람직한 돌연변이는 제1 CH3 도메인 내의 아미노산 치환 L351K 및 T366K(EU 넘버링)('KK-변이체' 중쇄) 및 제2 도메인 내의 아미노산 치환 L351D 및 L368E('DE 변이체' 중쇄)이거나, 그 반대이다. 앞서 기재된 바와 같이, DE-변이체와 KK-변이체는 우선적으로 이종이량체(이른바 'DEKK' 이중특이성 분자)를 형성하도록 쌍을 형성한다. DE-변이 중쇄의 동종이량체화(DEDE 동종이량체) 또는 KK-변이 중쇄의 동종이량체화(KKKK 동종이량체)는 동일한 중쇄들 사이의 CH3-CH3 계면에서의 하전된 잔기들 사이의 강한 반발력으로 인해 거의 발생되지 않는다.

[0140] 따라서, 일 실시 형태에서, EGFR에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 중쇄/경쇄 조합은 중쇄의 DE 변이체를 포함한다. 이러한 실시 형태에서, LGR5에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 중쇄/경쇄 조합은 중쇄의 KK 변이체를 포함한다.

[0141] 후보 EGFR/LGR5 IgG 이중특이성 항체는 임의의 적합한 검정을 사용하여 결합에 대해 시험될 수 있다. 예를 들어, CHO 세포 상의 막-발현된 EGFR 또는 LGR5로의 결합은 (WO2017/069628에 이미 기재된 바와 같은 FACS 절차에 따라) 유세포측정에 의해 평가될 수 있다. 일 실시 형태에서, CHO 세포 상의 LGR5로의 후보 EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 결합은 당업계에 알려진 표준 절차에 따라 수행되는 유세포측정에 의해 입증된다. CHO 세포로의 결합은 EGFR 및/또는 LGR5에 대한 발현 카세트로 형질감염되지 않은 CHO 세포와 비교된다. EGFR로의 후보 이중특이성 IgG1의 결합은 EGFR 발현 작제물로 형질감염된 CHO 세포를 사용하여 결정되고; LGR5 단일특이성 항체 및 EGFR 단일특이성 항체뿐만 아니라 무관한 IgG1 아이소타입 대조 mAb이 대조군(예를 들어, LGR5 및 다른 항원, 예컨대 파상풍 독소(TT)에 결합하는 항체)으로서 검정에 포함된다.

[0142] 후보 EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 LGR5 및 EGFR Fab의 이들의 표적에 대한 친화도는 BIAcore T100을 사용하여 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기술에 의해 측정될 수 있다. 간략하게 말하면, 항-인간 IgG 마우스 단일클론 항체(Becton and Dickinson, 카탈로그 번호 555784)를 유리 아민 화학(NHS/EDC)을 사용하여 CM5 센서 칩의 표면에 결합시킨다. 이어서, bsAb를 센서 표면 상에 포획한다. 후속하여, 재조합 정제 항원인 인간 EGFR(Sino Biological Inc, cat. Nr. 11896-H07H) 및 인간 LGR5 단백질을 온-레이트(on-rate) 및 오프-레이트(off-rate)를 측정하기 위한 농도 범위에서 센서 표면 위로 전개(running)시킨다. 매 사이클 후마다, 센서 표면을 HCl의 펄스에 의해 재생하고, bsAb를 다시 포획한다. 획득된 센서그램으로부터, 인간 LGR5 및 EGFR로의 결합에 대한 온-레이트 및 오프-레이트 및 친화도 값을, US 2016/0368988에서 CD3에 대해 이미 기술된 바와 같이, BIAevaluation 소프트웨어를 이용하여 결정한다.

[0143] 본 발명의 항체는 전형적으로 이중특이성 전장 항체이며, 바람직하게는 인간 IgG 하위부류의 것이다. 본 발명의 항체는 바람직하게는 인간 IgG1 하위부류의 것이다. 본 발명의 그러한 항체는 우수한 ADCC 특성 - 이것은 필요하다면 당업계에 알려진 기법에 의해 향상될 수 있음 - 을 갖고, 인간에 대한 생체내(*in vivo*) 투여 시에 유리한 반감기를 갖고, 클론 세포에서의 동시발현 시에 동종이량체에 비하여 이종이량체를 우선적으로 형성하는

변형된 중쇄를 제공할 수 있는 CH3 조작 기술이 존재한다.

[0144] 항체 자체가 낮은 ADCC 활성을 가질 때 항체의 ADCC 활성은 항체의 불변 영역을 약간 변형시킴으로써 개선될 수 있다. 항체의 ADCC 활성을 개선하기 위한 다른 방법은 글리코실화 경로를 효소적으로 방해하여 감소된 푸코스를 가져옴으로써 행해진다. ADCC를 유도함에 있어서의 항체 또는 이펙터 세포의 효능을 결정하기 위한 몇몇 시험관내 방법이 존재한다. 이들 중에는 크롬-51 [Cr51] 방출 검정, 유로퓸 [Eu] 방출 검정, 및 황-35 [S35] 방출 검정이 있다. 통상, 소정의 표면-노출된 항원을 발현하는 표지된 표적 세포주를 그러한 항원에 특이적인 항체와 함께 인큐베이션한다. 세척 후에, Fc 수용체 CD16을 발현하는 이펙터 세포를 항체-표지된 표적 세포와 동시-인큐베이션한다. 후속으로, 섬광 계수기 또는 분광광도법에 의해 세포내 표지의 방출에 의해 표적 세포 용해를 측정한다.

[0145] 본 발명의 이중특이성 항체는 일 실시 형태에서 ADCC 향상될 수 있다. 본 발명의 이중특이성 항체는 일 실시 형태에서 아푸코실화될 수 있다. 본 발명의 이중특이성 항체는 바람직하게는, 정상 CHO 세포에서 생성된 동일한 항체와 대비하여, Fc 영역 내의 N-연결된 탄수화물 구조의 감소된 양의 푸코실화를 포함한다.

[0146] EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인과 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 포함하는 항체는 하나 이상의 추가 표적에 결합할 수 있는 하나 이상의 추가적인 가변 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 추가 표적은 바람직하게는 세포외 부분을 포함하는 막 단백질이다. 2개 초과의 가변 도메인을 갖는 항체는 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 추가적인 가변 도메인을 항체의 불변 부분에 부착할 수 있다. 3개 이상의 가변 도메인을 갖는 항체는 바람직하게는 본 명세서에 참고로 포함된 PCT/NL 2019/050199에 기재된 바와 같은 다가 다량체 항체이다.

[0147] 일 실시 형태에서, 항체는 2개의 가변 도메인을 포함하는 이중특이성 항체이며, 여기서 하나의 가변 도메인은 EGFR의 세포외 부분에 결합하고 다른 가변 도메인은 LGR5의 세포외 부분에 결합한다. 가변 도메인은 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 가변 도메인이다.

[0148] 오해를 피하기 위하여, 본 명세서에 사용되는 바와 같이 세포의 성장에 대한 언급은 세포수의 변화를 지칭한다. 성장의 억제는 세포수의 감소를 지칭하며, 그것은 그렇지 않았으면 달리 획득되었을 것이다. 성장의 증가는 세포수의 증가를 지칭하며, 그것은 그렇지 않았으면 달리 획득되었을 것이다. 세포의 성장은 전형적으로 세포의 증식을 지칭한다.

[0149] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 막 단백질은 세포 막 단백질, 예컨대 세포를 외부 세계와 분리하는 막인 세포의 외막에 있는 단백질이다. 막 단백질은 세포외 부분을 갖는다. 막 단백질은, 세포가 세포의 세포 막 내에 있는 막관통 영역을 함유한다면 적어도 세포 상에 존재한다.

[0150] 또한, EGFR/LGR5 이중특이성 항체, 토포아이소머라제 I 억제제 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용되는"이란, 동물, 특히 인간에서의 사용에 대해 정부 규제 기관에 의해 승인되거나, 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인식된 약전에 열거된 것을 의미하며, 생리학적으로 적합한 임의의 그리고 모든 용매, 염, 분산 매질, 코팅, 항세균제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 용어 "담체"는 화합물과 함께 투여되는 희석제, 애쥬번트(adjuvant), 부형제, 또는 비히클을 지칭한다. 그러한 약제학적 담체는 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예컨대 땅콩유, 대두유, 광유, 참깨유, 글리세롤 폴리에틸렌 글리콜 리시놀레에이트 등을 포함하는, 물 및 오일과 같은 멸균 액체일 수 있다. 물 또는 식염수 용액, 및 덱스트로스 및 글리세롤 수용액이, 특히 주사용 용액을 위한 담체로서 사용될 수 있다. 비경구 투여를 위한 액체 조성물은 주사 또는 연속 주입에 의한 투여를 위해 제형화될 수 있다. 주사 또는 주입에 의한 투여 경로는 방광내, 종양내, 정맥내, 복막내, 근육내, 수강내 및 피하를 포함한다. 투여 경로(예를 들어, 정맥내, 피하, 관절내 등)에 따라, 활성 화합물은, 화합물을 불활성화시킬 수 있는 산 및 다른 천연 조건의 작용으로부터 화합물을 보호하기 위해 소정의 물질로 코팅될 수 있다.

[0151] 인간 환자에게 투여하기에 적합한 약제학적 조성물은 전형적으로 비경구 투여를 위해, 예를 들어 액체 담체 중에 제형화되거나, 또는 정맥내 투여를 위해 액체 용액 또는 현탁액으로 재구성하기에 적합하다. 조성물은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위하여 투여 단위 형태로 제형화될 수 있다.

[0152] 또한, 사용 직전에 경구 또는 비경구 투여를 위한 액체 제제로의 전환을 위해 의도된 고체 제제가 포함된다. 그러한 액체 형태는 용액, 현탁액 및 에멀젼을 포함한다.

[0153] 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법은 환자의 암, 특히 위장관암의 치료에 특히 유용하다. 따라서, 조성물 및

방법은 다양한 악성종양의 치료에 사용될 수 있다.

[0154] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 병용 투여(공동투여)는 동일하거나 상이한 투여 형태의 EGFR/LGR5 이중특이성 항체와 토포아이소머라제 I 억제제의 동시 투여, 개별적 투여 또는 순차적 투여를 포함한다. 따라서, 일부 구현예에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 사용될 수 있으며, 여기서 EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 대상체에서 암의 치료에 사용될 수 있으며, 여기서 EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0155] 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 대상체에서 암의 치료를 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 것일 수 있으며, 여기서 EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 대상체에서 암을 치료하기 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 것일 수 있으며, 여기서 EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 토포아이소머라제 I 억제제와 동시에, 개별적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. EGFR/LGR5 이중특이성 항체와 토포아이소머라제 I 억제제를 포함하는 제품은 대상체에서 암을 치료하는 데 있어서 동시, 개별적 또는 순차적 사용을 위한 병용 제제일 수 있다.

[0156] EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제는 적합한 투여량, 경로(예를 들어, 정맥내, 복강내, 근육내, 경막내 또는 피하)에 따라 투여될 수 있다.

[0157] EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제는 또한 임의의 적합한 스케줄에 따라 투여될 수 있다. 예를 들어, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제는 단일 제형으로 동시에 투여될 수 있다. 대안적으로, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제는 개별적 투여를 위해 제형화될 수 있으며, 여기서 이들은 동시에 또는 순차적으로 투여된다.

[0158] 예를 들어, 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체가 먼저 투여된 후, 토포아이소머라제 I 억제제가 투여될 수 있거나, 그 반대일 수 있다. 상기 치료 및 사용 방법에서 투여 계획은 최적의 원하는 반응(예를 들어, 치료적 반응)을 제공하도록 조정된다.

[0159] 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 수회 분할 용량이 시간 경과에 따라 투여될 수 있거나, 또는 치료적 상황의 위급 상황에 의해 지시되는 바와 같이 용량이 비례해서 감소 또는 증가될 수 있다. 일 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 토포아이소머라제 I 억제제의 투여 전에 투여되며, 예를 들어 EGFR/LGR5 이중특이성 항체가 먼저 환자에게 투여되고, 이후에 토포아이소머라제 I 억제제가 투여된다. 일 실시 형태에서, 토포아이소머라제 I 억제제는 EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 투여 전에 투여되며, 예를 들어 토포아이소머라제 I 억제제가 먼저 환자에게 투여되고, 이후에(예를 들어, 1분 이상, 수시간 또는 수일 후에) EGFR/LGR5 이중특이성 항체가 투여된다. 그러한 동시 또는 순차적 투여는 EGFR/LGR5 이중특이성 항체와 토포아이소머라제 I 억제제 둘 모두가 치료받은 환자에 동시에 존재하게 한다. EGFR/LGR5 이중특이성 항체와 토포아이소머라제 I 억제제 둘 모두의 동시 존재는 EGFR/LGR5 이중특이성 항체 유도된 암 치료 및 EGFR/LGR5 신호전달의 EGFR/LGR5 이중특이성 항체 매개된 억제를 지원할 것이다.

[0160] 다른 실시 형태에서, 토포아이소머라제 I 억제제와 EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 동시에 투여된다.

[0161] 일 실시 형태에서, 대상체에게 단회 용량의 토포아이소머라제 I 억제제와 단회 용량의 EGFR/LGR5 이중특이성 항체가 투여된다. 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제는 치료 과정에 걸쳐 반복적으로 투여될 것이다. 예를 들어, 소정 실시 형태에서, 다회(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 초과) 용량의 토포아이소머라제 I 억제제와 다회(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 초과) 용량의 EGFR/LGR5 이중특이성 항체가 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여된다.

[0162] 일부 실시 형태에서, 토포아이소머라제 I 억제제와 EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 투여는 매주, 격주로 또는 매월 행해질 수 있으며, 이러한 계획에서 이들은 동일한 날에(예를 들어, 동시에), 또는 차례로(예를 들어, 서로 1분 이상, 수시간 또는 수일 전후에) 투여될 수 있다. 개별적으로 투여될 때, EGFR/LGR5 이중특이성 항체와 토포아이소머라제 I 억제제는 동일한 투여(즉, 투약) 프로토콜에 따라 투여될 수 있지만, 반드시 그런 것은 아니다. 예를 들어, 1회 치료 사이클은 EGFR/LGR5 이중특이성 항체를 1회 또는 다회 투여하는 것을 포함할 수 있는 한편, 토포아이소머라제 I 억제제의 치료적 유효 용량은 EGFR/LGR5 이중특이성 항체보다 더 많거나 더 적은 빈도로 투여될 수 있다. 소정 실시 형태에서, 토포아이소머라제 I 억제제와 EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 각각의 용량의 투여는 동일한 날에 행해질 수 있거나, 대안적으로 토포아이소머라제 I 억제제가 EGFR/LGR5 항체의 투여

1일 이상 전후에 투여될 수 있다.

[0163] 일부 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제의 용량은 시간 경과에 따라 변동된다. 예를 들어, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제는 초기에는 높은 용량으로 투여될 수 있고 시간 경과에 따라 낮추어질 수 있다. 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제는 초기에는 낮은 용량으로 투여되고 시간 경과에 따라 증가된다.

[0164] 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제의 양은 각각의 용량에 대해 일정하다. 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및/또는 토포아이소머라제 I 억제제의 양은 각각의 용량마다 변동된다. 예를 들어, 각각의 유지(또는 후속) 용량은 처음 투여된 로딩(loading) 용량보다 많거나 그와 동일할 수 있다. 다른 실시 형태에서, 각각의 유지 용량은 로딩 용량보다 적거나 동일할 수 있다. 임상의는 치료되는 환자의 상태에 의해 허용되는 바와 같은 바람직한 투여량을 이용할 수 있다. 용량은 질환 단계 등을 비롯한 다수의 인자에 좌우될 수 있다. 그러한 인자들 중 하나 이상의 존재에 기초하여 투여되어야 하는 특정 용량은 당업자의 지식에 속한다. 일반적으로, 치료는 화합물의 최적 용량보다 더 적은 소량의 투여량으로 개시된다. 이후에, 투여량은 상황 하에서의 최적 효과에 도달할 때까지 소량씩 증가된다. 편의상, 총 일일 투여량은 필요하다면 하루 동안 수회 분량으로 분할되고 투여될 수 있다. 간헐적 요법(예를 들어, 3주 중 1주 또는 4주 중 3주)이 또한 사용될 수 있다.

[0165] 소정 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 체중 kg당 0.1, 0.3, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체는 체중 kg당 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 mg의 용량으로 투여된다.

[0166] 본 명세서에 기재된 치료 방법은 전형적으로 환자의 치료를 담당하는 임상의가 치료 방법이 효과적이라고, 즉, 환자가 치료에 반응한다고 여기는 동안 계속된다. 치료 방법이 효과적임을 나타내는 비제한적인 파라미터는 하기 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 종양 세포의 감소; 종양 세포 증식의 억제; 종양 세포 제거; 무진행 생존율; (적용 가능한 경우) 적합한 종양 마커에 의한 적절한 반응.

[0167] EGFR/LGR5 이중특이성 항체의 투여 빈도와 관련하여, 당업자는 적절한 빈도를 결정할 수 있을 것이다. 예를 들어, 임상의는 EGFR/LGR5 이중특이성 항체를 비교적 드문 빈도로(예를 들어, 2주마다 1회) 투여하고, 환자가 견뎌냄에 따라 용량들 사이의 기간을 점진적으로 단축하기로 결정할 수 있다. 토포아이소머라제 I 억제제의 투여 빈도와 관련하여, 이러한 작용제에 대한 빈도는 유사한 방식으로 결정될 수 있다. 청구된 방법에 따른 요법 과정과 관련된 예시적인 시간 길이는 하기를 포함한다: 약 1주; 2주; 약 3주; 약 4주; 약 5주; 약 6주; 약 7주; 약 8주; 약 9주; 약 10주; 약 11주; 약 12주; 약 13주, 약 14주; 약 15주; 약 16주; 약 17주; 약 18주; 약 19주; 약 20주; 약 21주; 약 22주; 약 23주; 약 24주; 약 7개월; 약 8개월; 약 9개월; 약 10개월; 약 11개월; 약 12개월; 약 13개월; 약 14개월; 약 15개월; 약 16개월; 약 17개월; 약 18개월; 약 19개월; 약 20개월; 약 21개월; 약 22개월; 약 23개월; 약 24개월; 약 30개월; 약 3년; 약 4년; 약 5년; 영구(예를 들어, 지속성 유지 요법). 전술한 지속기간은 1회 또는 다회의 치료 라운드/사이클과 관련될 수 있다.

[0168] 본 명세서에 제공되는 치료 방법의 효능은 임의의 적합한 수단을 사용하여 평가될 수 있다. 일 실시 형태에서, 병용 치료의 임상 효능은 객관적 반응 기준으로서 암 세포수 감소를 이용하여 분석된다. 본 명세서에 개시된 방법에 따라 치료되는 환자, 예를 들어 인간은 바람직하게는 암의 적어도 하나의 징후의 개선을 경험한다. 일부 실시 형태에서, 하기 중 하나 이상이 일어날 수 있다: 암 세포의 수가 감소될 수 있음; 암 재발이 예방 또는 지연됨; 암과 관련된 증상들 중 하나 이상이 어느 정도 완화될 수 있음. 또한, T 세포 매개된 표적 세포 용해를 결정하기 위한 시험관내 검정.

[0169] 다른 실시 형태에서, 치료 방법은 EGFR/LGR5 이중특이성 항체 또는 토포아이소머라제 I 억제제(예를 들어, 이리노테칸) 단독에 의해 달성되는 것보다 우수한 비교 가능한 임상 이득률(CBR = CR(완전 반응), PR(부분 반응) 또는 6개월 이상의 SD(안정한 질환))을 가져온다.

[0170] 일부 실시 형태에서, 종양 세포는 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료 후에 더 이상 검출가능하지 않다. 일부 실시형태에서, 대상체는 부분 또는 완전 관해 상태이다. 소정 실시 형태에서, 대상체는 증가된 전체 생존율, 중위 생존율, 및/또는 무진행 생존율을 갖는다.

[0171] 본 발명의 병용물(예를 들어, 토포아이소머라제 I 억제제와 병용된 EGFR/LGR5 이중특이성 항체)은 또한 치료 중인 암에 대한 특정 유용성을 위해 선택된 다른 잘 알려진 치료제와 함께 사용될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 병용물은 적절한 경우 알려진 약제학적으로 허용되는 작용제(들)와 함께 순차적으로 사용될 수 있다.

[0172] 화학요법제의 안전하고 효과적인 투여를 위한 방법은 당업자에게 알려져 있다. 게다가, 이들의 투여는 표준 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, 많은 화학요법제의 투여는 문헌[Physicians' Desk Reference (PDR), e.g., 1996 edition (Medical Economics Company, Montvale, N.J. 07645-1742, USA)]에 기재되어 있으며; 이의 개시 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0173] 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법의 투여는 치료되는 질병 및 그 질병에 대한 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법제의 알려진 효과에 따라 달라질 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 또한, 숙련된 임상의의 지식에 따라, 치료적 프로토콜(예를 들어, 투여량 및 투여 횟수)은 환자에 대한 투여된 치료제의 관찰된 효과를 고려하여, 그리고 투여된 치료제에 대한 질병의 관찰된 반응을 고려하여 달라질 수 있다.

[0174] 전술된 방법에 사용하기에 적합한 치료적 유효량으로 EGFR/LGR5 이중특이성 항체와 토포아이소머라제 I 억제제, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 함유하는 약제학적 조성물을 포함하는 키트 또는 제품이 본 명세서에 또한 제공된다. 일부 실시 형태에서, 키트 또는 제품은, 선택적으로, 실무인(예를 들어, 의사, 간호사, 또는 환자)이 그 안에 들어 있는 조성물을 암을 가진 환자에게 투여할 수 있도록, 예를 들어 투여 스케줄을 포함하는 사용설명서를 또한 포함할 수 있다.

[0175] 일부 실시 형태에서, 키트 또는 제품은 상기에 제공된 방법에 따라 단회 투여를 위한 EGFR/LGR5 이중특이성 항체와 토포아이소머라제 I 억제제의 유효량을 각각 함유하는 단회-투여 약제학적 조성물의 다수의 패키지를 포함한다. 약제학적 조성물(들)을 투여하는 데 필요한 기기 또는 장치가 또한 키트 또는 제품 내에 포함될 수 있다. 예를 들어, 키트 또는 제품은 동일한 용기에, 또는 별개의 구별되는 조성물로서 투여되도록 별개의 용기에 EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제의 단위 투여량을 함유하는 1개 이상의 사전충전된 주사기를 제공할 수 있다.

[0176] 소정 실시 형태에서, EGFR/LGR5 이중특이성 항체 및 토포아이소머라제 I 억제제 중 하나 또는 둘 모두는 첨부되는 사용설명서에 따른 재구성 및 후속 투여에 적합한 고체 형태로 제공된다.

[0177] 본 명세서에 기재된 항체의 기능적 부분은 본 명세서에 기재된 바와 같은 EGFR의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인 및 LGR5의 세포외 부분에 결합하는 가변 도메인을 적어도 포함한다. 따라서, 이는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체의 항원 결합 부분을 포함하고, 전형적으로 항체의 가변 도메인을 함유한다. 기능적 부분의 가변 도메인은 단일 사슬 Fv-단편 또는 소위 단일 도메인 항체 단편일 수 있다. 단일-도메인 항체 단편(sdAb)은 단일 단량체 가변 항체 영역을 갖는 항체 단편이다. 전 항체(whole antibody)와 마찬가지로, 그것은 특이적 항원에 선택적으로 결합할 수 있다. 분자량이 단지 12 내지 15 kDa인 단일-도메인 항체 단편은 2개의 단백질 중쇄 및 2개의 경쇄로 구성된 공통 항체 (150 내지 160 kDa)보다 훨씬 더 작고, 심지어는 Fab 단편 (약 50 kDa, 하나는 경쇄이고 절반은 중쇄임) 및 단일쇄 가변 단편 (약 25 kDa, 2개의 가변 도메인, 하나는 경쇄로부터 유래되고 하나는 중쇄로부터 유래됨)보다 더 작다. 단일-도메인 항체 그 자체는 정상 항체(전형적으로 90 내지 100 kDa임)보다 그다지 작지 않다. 단일-도메인 항체 단편은 대부분 카멜리드(camelid)에서 발견되는 중쇄 항체로부터 조작되며; 이는 VHH 단편(Nanobodies®)으로 일컬어진다. 일부 어류는 또한 중쇄로만 이루어진 항체(IgNAR, '면역글로불린 새로운 항원 수용체')를 가지며, 그로부터 VNAR 단편이라 불리는 단일-도메인 항체 단편이 얻어질 수 있다. 대안적인 접근법은 인간 또는 마우스 유래 공통 면역글로불린 G(IgG)로부터의 이량체 가변 도메인을 단량체로 분할하는 것이다. 단일-도메인 항체에 대한 대부분의 연구는 현재 중쇄 가변 도메인에 기반하고 있지만, 경쇄로부터 유래된 나노바디가 또한 표적 에피토프에 특이적으로 결합하는 것으로 밝혀졌다. 항체 부분의 그러한 가변 도메인의 비제한적인 예는 VHH, 인간 도메인 항체(dAb) 및 유니바디(unibody)이다. 바람직한 항체 부분 또는 유도체는 항체 또는 이의 등가물의 적어도 2개의 가변 도메인을 갖는다. 그러한 가변 도메인 또는 이의 등가물의 비제한적인 예는 F(ab)-단편 및 단일쇄 Fv 단편이다. 이중특이성 항체의 기능적 부분은 이중특이성 항체의 항원 결합 부분, 또는 결합 부분의 유도체 및/또는 유사체를 포함한다. 본 명세서에서 상기에 언급된 바와 같이, 항체의 결합 부분은 가변 도메인 내에 포함된다.

[0178] 또 다른 추가의 실시 형태에서, 조성물 또는 병용물 또는 키트 또는 제품은 하나 이상의 추가의 활성제를 포함한다.

[0179] 본 명세서에 기재된, Genbank 엔트리, 특허 및 공개된 특허 출원 및 웹사이트를 포함한 모든 문헌 및 참고문헌은 각각 마치 본 명세서에 전체적으로 또는 부분적으로 기재된 것처럼 그와 동일한 정도로 명시적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0180] 명료성 및 간결한 설명을 위해, 특징들은 본 명세서에 동일하거나 개별적인 실시 형태의 일부로서 기재되지만,

본 발명의 범주는 개시된 특징들 중 전부 또는 일부의 조합을 갖는 실시 형태를 포함할 수 있음이 이해될 것이다.

[0181] 이제 본 발명을 하기 실시예를 참조하여 설명하며, 이들 실시예는 단지 예시적이며, 본 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 본 발명이 상세히 그리고 그의 구체적인 실시 형태를 참조하여 설명되어 있지만, 본 발명의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않고서 거기에 다양한 변화 및 변형이 이루어질 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다.

[0182] 도면의 간단한 설명

[0183] 도 1 인간 LGR5 서열.

[0184] 도 2 인간 EGFR 서열.

[0185] 도 3 CRC의 M005 동소적(orthotopic) PDX 모델에서 종양 부피에 대한 처리의 영향. 도 3a 처리 기간 동안 주사 빈도, 투약 및 주사 부위; 도 3b 시간 경과에 따른 종양 부피의 배수 변화; 및 도 3c 제6주에서의 마우스당 배수 변화를 나타내는 도트 플롯(dot plot).

[0186] 도 4a 마우스 모델 M005에서 처리 해제(treatment release) 전 및 후의 종양 부피. 처리를 9주 후에 중단하고, 동일한 마우스에서 종양 부피를 추가로 3주 동안 모니터링하였음. 각 그룹 아래의 숫자는 모든 마우스가 제12주에 포함되지 않은 이유를 나타냄; 도 4b 시간 경과에 따른 각각의 그룹에서의 체중(모델 M005).

[0187] 도 5a 육안으로 검출되거나 H&E 염색에 의해 평가된 바와 같은 희생 시 전이가 일어난 마우스의 수; 도 5b 제12주에서의 잔류 질환.

[0188] 도 6a 마우스 모델 M001: 처리 기간 동안 주입 빈도, 투약 및 주사 부위; 도 6b 시간 경과에 따른 평균 종양 부피의 변화; 도 6c 제6주에서의 마우스당 종양 부피를 나타내는 도트 플롯.

[0189] 도 7a 시간 경과에 따른 각각의 그룹의 체중(모델 M001), 병용 처리는 독성이 아니었음; 도 7b 이중특이성 MF5816xMF3755 단독 또는 이중특이성 MF5816xMF3755 + 이리노테칸을 이용한 처리는 전이를 차단하였음. 전이를 육안으로 그리고 H&E로 염색함으로써 조직에서 평가하였음.

[0190] 도 8a 인간 카파 경쇄 IgVκ1 39*01/IGJκ1*01의 가변 영역과 같은 공통 경쇄 가변 영역과 함께 LGR5 또는 EGFR에 결합하는 가변 도메인을 형성하는 MF5816xMF3755의 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열. CDR 및 프레임워크 영역은 도 8b에 나타나 있음. DNA 서열은 도 8c에 나타나 있음. 토포아이소머라제 I 억제제와 병용된 이중특이성 항체의 생성에 적합한, EGFR 및 LGR5에 결합하는 추가적인 중쇄 가변 영역이 이 도면에 추가로 개시됨.

[0191] 도 9a 공통 경쇄 아미노산 서열. 도 9b 공통 경쇄 가변 영역 DNA 서열 및 번역(IGKV1-39/jk1). 도 9c 공통 경쇄 불변 영역 DNA 서열 및 번역. 도 9d IGKV1-39/jk5 공통 경쇄 가변 영역 번역. 도 9e V-영역 IGKV1-39A; 도 9f 공통 경쇄의 CDR1, CDR2 및 CDR3.

[0192] 도 10. 이중특이성 분자의 생성을 위한 IgG 중쇄. 도 10a CH1 영역. 도 10b 힌지 영역. 도 10c CH2 영역. 도 10d 변이 L351K 및 T366K(KK)를 함유하는 CH3 도메인. 도 10e 변이 L351D 및 L368E(DE)를 함유하는 CH3 도메인.

[0193] 실시예

[0194] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "MFXXXX"(여기서, X는 독립적으로 숫자 0 내지 9임)는 가변 도메인을 포함하는 Fab를 지칭하며, 여기서 VH는 도 8에 도시된 4자리로 확인되는 아미노산 서열을 갖는다. 달리 지시되지 않는 한, 가변 도메인의 경쇄 가변 영역은 전형적으로 도 9b의 서열을 갖는다. 실시예에서 경쇄는 도 9a에 도시된 바와 같은 서열을 갖는다. "MFXXXX VH"는 4자리로 확인되는 VH의 아미노산 서열을 지칭한다. MF는 경쇄의 불변 영역, 및 경쇄의 불변 영역과 통상적으로 상호작용하는 중쇄의 불변 영역을 추가로 포함한다. VH/중쇄의 가변 영역은 상이하고, 전형적으로 CH3 영역도 상이하며, 중쇄들 중 하나는 그의 CH3 도메인의 KK 돌연변이를 갖고, 다른 하나는 그의 CH3 도메인의 상보적인 DE 돌연변이를 갖는다(참고로 PCT/NL2013/050294(WO2013/157954로 공개됨)와 도 10d 및 도 10e를 참조함). 실시예에서 이중특이성 항체는 KK/DE CH3 이종이량체화 도메인을 갖는 Fc 꼬리, 도 10에 나타낸 바와 같은 CH2 도메인 및 CH1 도메인, 도 9a에 나타낸 바와 같은 공통 경쇄 및 MF 번호에 의해 명시된 바와 같은 VH를 갖는다. 예를 들어, MF3755 xMF5816로 표시된 이중특이성 항체는 상기 일반 서열 및 MF3755의 서열을 갖는 VH를 갖는 가변 도메인과 MF5816의 서열을 갖는 VH를 갖는 가변 도메인을 갖는다.

[0195] 실시예 1

[0196] 세포주:

[0197] Freestyle 293F 세포 (카탈로그 번호 p/n51-0029)를 Invitrogen으로부터 입수하고, 293 FreeStyle 배지 중에 일상적으로 유지하였다. HEK293T (ATCC-CRL-11268) 및 CHO-K1 (DSMZ ACC110) 세포주를 ATCC로부터 구매하고, L-글루타민 (Gibco) 및 FBS (Lonza)가 보충된 DMEM/F12 (Gibco) 중에 일상적으로 유지하였다.

[0198] 다양한 중쇄 가변 영역(VH)의 아미노산 및 핵산 서열을 도 8에 나타낸다. 도 9a에 도시된 바와 같은 다른 LGR5 및 EGFR 조합들 중에서, 중쇄 가변 영역 MF3755 및 MF5816 및 공통 경쇄를 포함하고 아푸코실화로부터 향상된 ADCC를 위한 변형을 포함하는, 이중특이성 항체 EGFR/LGR5인 MF3755xMF5814는 WO 2017/069628(138 페이지)에서 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0199] 이중특이성 항체들의 생성

[0200] 이중특이성 항체의 효율적인 이종이량체화 및 형성을 보장하기 위하여 독점적인 CH3 조작 기술을 사용하여, 서로 다른 VH 도메인을 갖는 IgG를 인코딩하는 2개의 플라스미드의 일시적 공동-형질감염에 의해 이중특이성 항체를 생성하였다. 공통 경쇄가 또한 동일한 플라스미드 상에서 또는 다른 플라스미드 상에서, 동일한 세포에서 공트랜스펙션된다. 본 발명자들의 출원(예를 들어, 본 명세서에 참고로 포함된 WO2013/157954 및 WO2013/157953)에서, 본 발명자들은 단일 세포로부터 이중특이성 항체를 생성하기 위한 방법 및 수단을 개시하였으며, 그에 의해 단일특이성 항체의 형성에 비하여 이중특이성 항체의 형성을 유리하게 하는 수단이 제공된다. 이들 방법은 또한 본 발명에서 유리하게 사용될 수 있다. 구체적으로, 본질적으로 이중특이성 전장 IgG 분자만을 생성하기에 바람직한 돌연변이는 제1 CH3 도메인 내의 위치 351 및 366에서의 아미노산 치환, 예를 들어 L351K 및 T366K(넘버링은 EU 넘버링에 따름)('KK-변이체' 중쇄) 및 제2 CH3 도메인 내의 위치 351 및 368에서의 아미노산 치환, 예를 들어 L351D 및 L368E('DE-변이체' 중쇄)이거나, 그 반대이다(도 10d 및 도 10e 참조). 언급된 출원에서, 음 하전된 DE-변이체 중쇄와 양 하전된 KK-변이체 중쇄는 우선적으로 쌍을 이루어서 이종이량체(소위 'DEKK' 이중특이성 분자)를 형성한다는 것이 이미 입증되었다. DE-변이체 중쇄의 동종이량체화 (DE-DE 동종이량체) 또는 KK-변이체 중쇄의 동종이량체화 (KK-KK 동종이량체)는 동일한 중쇄들 사이의 CH3-CH3 계면에서의 하전된 잔기들 사이의 강한 반발력으로 인해 거의 발생되지 않는다.

[0201] 상기 기재된 LGR5에 결합하는 가변 도메인의 VH 유전자를 양 하전된 CH3 도메인을 인코딩하는 벡터에 클로닝하였다. WO 2015/130172(본 명세서에 참고로 포함됨)에 개시된 것과 같은 EGFR에 결합하는 가변 도메인의 VH 유전자를 음 하전된 CH3 도메인을 인코딩하는 벡터에 클로닝하였다. 현탁 성장-적응된 293F Freestyle 세포를 밀도가 3.0 x 10e6개 세포/ml가 될 때까지 진탕기 받침대(shaker plateau) 상의 T125 플라스크 내에서 배양하였다. 세포를 24-딥 웰 플레이트의 각각의 웰 내에서 0.3 내지 0.5 x 10e6개 생존가능 세포/ml의 밀도로 시딩하였다. 세포를 상이한 항체를 인코딩하는 2개의 플라스미드의 혼합물로 일시적으로 트랜스펙션시키고, 독점적인 벡터 시스템 내로 클로닝하였다. 형질감염 후 7일째에, 세포 상층액을 수집하고, 0.22 μM 필터 (Sartorius)를 통해 여과하였다. 항체의 정제 시까지 멸균 상층액을 4℃에서 저장하였다.

[0202] IgG 정제

[0203] 여과를 이용하여 필터 플레이트에서 멸균 조건 하에서 정제를 수행하였다. 먼저, 배지의 pH를 pH 8.0으로 조정하고, 이어서 IgG-함유 상층액을 600 rpm에서의 진탕 플랫폼 상에서 25℃에서 2시간 동안 단백질 A 세파로스 (Sepharose) CL-4B 비드(50% v/v) (Pierce)와 함께 인큐베이션하였다. 다음으로, 비드를 여과에 의해 수거하였다. 비드를 PBS pH 7.4로 2회 세척하였다. 이후, 결합된 IgG를 0.1M 시트레이트 완충액을 사용하여 pH 3.0에서 용출시키고, 용출액을 Tris pH 8.0을 사용하여 즉시 중화시켰다. 멀티스크린 Ultracel 10 멀티플레이트 (Millipore)를 사용한 원심분리에 의해 완충액 교환을 수행하였다. 샘플을 마지막으로 pH 7.4 PBS 중에 수집하였다. IgG 농도를 옥텟(Octet)을 사용하여 측정하였다. 단백질 샘플을 4℃에서 보관하였다.

[0204] 옥텟을 사용한 IgG 정량화

[0205] 정제된 IgG의 양을 결정하기 위하여, 표준물로서 총 인간 IgG (Sigma Aldrich, 카탈로그 번호 I4506)를 사용하여 단백질-A 바이오센서 (Forte-Bio, 공급자의 권장사항에 따름)를 사용하여 옥텟 분석에 의해 항체의 농도를 결정하였다.

[0206] 생착을 위한 마우스 및 세포의 준비

[0207] 튜머로이드를 7일 동안 성장시킨 후, 주사를 위하여 단세포 현탁액으로 해체하였다. 모든 마우스 연구의 경우,

6 내지 8주령된 암컷 NOD.CB17/AlhnRj-Prkdcscid/Rj 마우스 (Janvier Labs)를 사용하였다.

[0208] 배양 조건 및 단일 세포를 생성하는 방법.

[0209] 결직장암 샘플로부터 유래된 오가노이드를 고급 DMEM/F12 (Invitrogen)로 구성된 배지를 사용하여, 37℃ 및 5% CO_2에서, 100% 기저막 추출물 (BME, Amsbio) 중에서 배양하였는데, 이때 상기 배지에는 2 mM 글루타맥스 (Invitrogen), 10 mM HEPES (Invitrogen), 1x B27 (레틴산 무함유) (Invitrogen), 50 ng/mL EGF (Peprotech), 0.1 ㎍/mL 노긴 (Peprotech), Rock-억제제 Y-27632 (Sigma-Aldrich), 10 nM PGE2 (Sigma-Aldrich), 3 μm SB202190 (Sigma-Aldrich), 10 nM 가스트린 (Tocris), 1 ㎍/ml R-SPO1 (자체 제조), 10 mM 니코티노미드 (Nicotinomide) (Sigma-Aldrich), 1.25 mM N-아세틸-시스테인 (Sigma-Aldrich), 0.5 μM A83-01 (Tocris)이 보충되었다. 분석 전날에, 오가노이드를 단세포로 해체시켰다. 이를 위하여, 먼저 배양 배지를 제거함으로써 오가노이드를 BME로부터 유리시키고, 세포 회수 용액 (BD Biosciences) 중에 BME를 재현탁하고, 얼음 상에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 후속으로, 오가노이드를 원심분리하였다 (모든 원심분리 단계는 200 g로 4℃에서 5분 동안 수행되었다). 펠렛을 1 mL의 50% 트립신/EDTA 용액(TE); 50% PBS에 재현탁하고, 위아래로 피펫팅하고, 단일 세포 현탁액이 달성될 때까지 정기적으로 시각적으로 평가하였다. TE를 10 mL의 PBS 중에 희석시키고 원심분리하였다. 세포를 10 mL의 PBS 중에 2회 세척한 후, BME 중에 재현탁하고, 미리 가온된 플레이트(37℃) 상에 50 μL 액적으로 분취하였다. BME 액적을 15분 동안 굳어지게 그대로 둔 후, 액적당 500 μL의 배지를 첨가하였다. 12시간 후에, 세포 회수 용액을 사용하여 세포를 BME로부터 단리하였다. 얼음 상에서 1시간 후에, 세포를 원심분리하고, 0.5% BSA 및 0.5 mM EDTA를 함유하는 10 mL의 PBS (염색 완충액)로 1회 세척하였다. 이어서, 펠릿을 염색 완충액 중에 재현탁하고 계수하였다.

[0210] VHIO의 스템 셀 앤 캔서 그룹(Stem Cell and Cancer Group)은 외과적으로 절제된 원발성 종양(결장 및 직장) 및 간 전이로부터 유래된 일단의 CRC PDX 모델을 개발하였다. PDX 모델은 임상적으로 그리고 분자적으로 주석이 달려 있고, mCRC의 임상 역학을 충실히 나타낸다. 이러한 모델은 면역결핍 마우스의 맹장 벽에 피하 또는 동소적으로 주사될 수 있다. 동소적 모델은 림프절, 간, 폐 및 암종증에서 국소 및 원거리 전이를 생성하여, CRC 환자의 진행성 질환을 재현한다.

[0211] 본 발명의 항-LGR5/EGFR 이중특이성 항체의 효능을 평가하기 위해 핵심 분자 특성을 갖는 한 세트의 PDX 모델을 선택하였다(표 1 참조). 몇몇 돌연변이체 및 야생형 모델을 초기 PDX 세트에서 선택하였다. 개발된 EGFR/LGR5 항체에 대한 반응을 또한 결정할 수 있는 EGFR 또는 LGR5의 상대적인 발현과 같은 다른 결정인자를 이러한 PDX 모델에서 측정하였다(표 1).

[0212] 3개의 진행된 CRC 환자의 간 전이로부터 유래된 PDX 모델(표 1)을 선택하였다. 2개의 모델은 KRAS 돌연변이체(각각 M005 및 M001의 경우 G13D 및 G12D)이며, 여기서 M005는 또한 APC 및 PIK3CA 112_112del 돌연변이체이다.

[0213] 모델 M005: 120 마리의 NOD-SCID 마우스에게 M005 PDX 모델로부터 유래된 종양 세포 1×10^6의 동소적 맹장 벽 주입을 제공하였고, 여기서 모델은 본질적으로 문헌[Puig et al., A Personalized Preclinical Model to Evaluate the Metastatic Potential of Patient-Derived Colon Cancer Initiating Cells, Clin Cancer Res; 19(24), 6787-6801 (2013)]에 기술된 바와 같이 생성되었으며, 이 문헌은 그 전체가 본 출원에 포함된다. 이러한 인간 종양 세포는 CRC 간 전이로부터 유래되었고, *KRAS* 유전자(*KRAS G13D*) 및 *PIK3CA* 유전자(*PIK3CA 112_112del*)의 돌연변이를 함유한다. 돌연변이 PIK3C C420R을 보유하는 18개의 상이한 조직 유형을 특징으로 하는 UK Sanger Institute를 참조한다(https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic, mutation ID COSM757). 주입 후 15일째부터, 매주 CT 이미지화를 사용하여 마우스를 모니터링하고 맹장에서 원발성 종양을 검출하였다. 동물의 적어도 80%가 맹장에서 성장하는 원발성 종양을 갖게 된 후에 처리를 개시하였다. 하기 18 마리의 마우스를 배제하였다: 수술 후 죽은 마우스(#5), 원발성 종양이 없는 마우스(#7), 너무 작거나 너무 큰 종양을 갖는 마우스(각각 #2 및 #1), 저체중 마우스(#2), 질병의 일반적인 징후가 있는 마우스(#1).

[0214] 남아 있는 102 마리의 마우스를 도 3a에 따라 처리하고 마이크로CT로 매주 이미지화하였다. 전이성 병변의 빈도 및 크기를 또한 간 및 폐의 조직학적 평가(헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색)에 의해 결정하였다. 복막 암종증을 부검 시 육안으로 검출하였고, 이후 조직학에 의해 확인하였다.

[0215] 모델 M001: M001 PDX 모델을 본질적으로 문헌[Puig et al., A Personalized Preclinical Model to Evaluate the Metastatic Potential of Patient-Derived Colon Cancer Initiating Cells, Clin Cancer Res; 19(24), 6787-6801 (2013)]에 기술된 바와 같이 생성하였으며, 이 문헌은 그 전체가 본 출원에 포함된다. 돌연변이

PIK3C C420R을 보유하는 18개의 상이한 조직 유형을 특징으로 하는 UK Sanger Institute를 참조한다(https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic, mutation ID COSM757). 제2 동소적 모델에서, 주입된 인간 종양 세포는 원래 돌연변이를 갖는 CRC 간 전이로부터 유래되었다: *KRAS G12D* 및 *PIK3CA-C420R*. 종양 세포의 주입을 상기와 같이 유사하게 수행하였다. 하기 18 마리의 마우스를 배제하였다: 수술 후 죽은 마우스(#11), 원발성 종양이 없는 마우스(#2), 너무 큰 종양을 갖는 마우스(#2), 저체중 마우스(#1), 및 질병의 일반적인 징후가 있는 마우스(#2). 투약 및 처리 계획은 도 6a를 따랐다.

[0216] 제6주에, 비히클 또는 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5만으로 처리된 모든 마우스를 희생시켰고; 이리노테칸 또는 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 + 이리노테칸으로 처리된 마우스의 대략 절반을 또한 희생시켰다.

[0217] **결과:**

[0218] **분석 모델 M005**

[0219] MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 단독으로 처리된 마우스에서의 평균 종양 부피는 비히클이 제공된 마우스보다 작았지만, 이리노테칸 단독으로 처리된 마우스만큼 작지는 않았다. 놀랍게도, MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 + 이리노테칸 병용 처리를 받은 마우스는 모든 다른 마우스 그룹과 비교하여 더 작은 종양 부피를 가졌다(도 3b, 도 3c). 흥미롭게도, 처리 해제 후, MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5는 종양 부피의 배수 변화에서 보이는 바와 같이 이리노테칸의 종양 성장-차단 효과를 연장시켰다(도 4a).

[0220] 모든 마우스로부터의 원발성 종양을 희생 시 수거하고, 전이성 병변의 빈도 및 크기에 대해 분석하였다. 도 5a는 희생 시 전이성 병변을 갖는 것으로 밝혀진 마우스의 수를 나타내며, 이는 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 또는 이리노테칸으로 단독 또는 병용 처리된 마우스가 미처리된 마우스보다 적은 전이를 가졌음을 입증한다.

[0221] 처리 해제(9주)되고 3주 무처리 기간 후에 희생시킨 마우스에서 조직을 또한 분석하였다. 작은 종양은 괴사성 세포 또는 단지 적은 수의 종양 세포를 함유하는 것으로 밝혀진 반면, 대부분의 큰 종양은 풍부한 종양 세포를 가졌다(도 5b). 이 분석은 종양 부피와 맹장 중량이 처리 해제 후 3주째에 처리된 마우스에서 양의 상관관계가 있음을 보여주었다(Pearson 상관 계수의 경우$P < 0.0001$).

[0222] **분석 모델 M001:**

[0223] MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 단독으로 처리된 마우스에서의 평균 종양 부피는 이리노테칸 단독으로 처리된 마우스와 매우 유사하였다. 그러나, MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 + 이리노테칸 병용 처리를 받은 마우스는 다른 어떠한 마우스 그룹보다 낮은 종양 부피를 가졌다(도 6b, 도 6c). MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 + 이리노테칸의 병용물이 투여된 마우스에서는 독성이 관찰되지 않았다(도 7a).

[0224] 희생 시 전이성 병변을 결정하기 위한 조직학적 분석은 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 EGFR/LGR5 또는 이리노테칸으로 단독 또는 병용 처리된 마우스가 미처리된 마우스보다 적은 전이를 가졌음을 입증하였다(도 7b).

[0225] 2개의 동소적 모델(M005 및 M001)을, MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5 및 화학요법 약물인 이리노테칸을 단독 및 병용하여 종양 성장 및 전이 가능성을 억제하는 이들의 가능성에 대해 테스트하였다. M005에서, MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5 및 이리노테칸 단독은 원발성 종양 성장을 지연시킬 수 있었지만, 둘의 병용은 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5와 이리노테칸이 우수한 반응을 촉진함을 입증했다. 처리 해제 후, 병용 처리는 5 마리의 생존 마우스 중 5 마리에서 원발성 종양을 완전히 제거하였다. 이리노테칸 단일요법의 경우, 이는 14 마리의 마우스 중 단지 1 마리의 경우였다. 다시, 이는 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5가 화학요법에 의해 유도된 완전한 종양 퇴행을 강화함을 나타낸다. 전이 가능성의 관점에서, MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5는 이리노테칸과 마찬가지로 원거리 전이의 형성을 차단하였다. 병용된 이리노테칸 + MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5로 처리된 마우스에서는 전이가 관찰되지 않았다.

[0226] 모델 M005로부터의 결과를 모델 M001 모델에서 확인하였다. gMF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5 및 이리노테칸 단독은 M001에서 원발성 종양 성장을 지연시키는 데 동일하게 효과적이었지만, 함께

투여될 때, 병용 처리는 단독으로 제공된 작용제보다 더 효과적인 것으로 나타났다.

[0227] 도 6c에 제시된 데이터의 제6주에서의 종양 부피에 대한 통계학적 분석(ANCOVA)은 처리가 이리노테칸과 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 간을 제외한 모든 그룹 간의 종양 부피를 유의하게 감소시켰음을 나타냈다. (비히클 대 MF3755 및 MF5816, $p< 0.0001$; 비히클 대 이리노테칸, $p <0.0001$; 비히클 대 이리노테칸 + MF3755 및 MF5816, $p<0.0001$; MF3755 및 MF5816 대 이리노테칸, $p<0.6429$; MF3755 및 MF5816 대 이리노테칸 + MF3755 및 MF5816, $p<0.0001$; 이리노테칸 + MF3755 및 MF5816 대 이리노테칸, $p<0.0001$.)

[0228] M001에서, 병용 처리는 이리노테칸 단독보다 더 독성이지 않았다. 전이 가능성의 관점에서, EGFR/LGR5, MF3755 및 MF5816은 이리노테칸과 마찬가지로 원거리 전이의 형성을 차단하였다. 병용된 이리노테칸 + MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5로 처리된 마우스에서는 전이가 관찰되지 않았다.

[0229] 결론적으로, 2개의 동소적 CRC 종양 모델을 사용하여, MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5와 이리노테칸의 병용 처리는 이들 약물이 단독으로 투여되는 경우에 비해 더 큰 정도로 종양 퇴행을 가져오는 것으로 밝혀졌다. 또한, 전이는 MF3755 및 MF5816을 포함하는 이중특이성 항체 EGFR/LGR5 및 이리노테칸 단독 또는 병용 처리에서 차단되는 것으로 밝혀졌다.

[0230]

PDX ID	LGR5	EGFR	핵 β-카테닌	*APC*	RSPO 융합	*RNF43*	*ZNRF3*	*KRAS*	*PIK3CA*	*TP53*	MSI
M005	1398.06	348.29	10868	MUT	WT	WT	WT	MUT G13D	MUT	WT	MSS
T108	4331.36	NA	NA	WT	MUT	WT	WT	WT	WT	MUT	NA
M001	5757.52	483.81	2501	WT	WT	WT	WT	MUT G12D	MUT	MUT	NA

[0231] [표 1] CRC 환자의 간 전이로부터 유래한 PDX 모델의 특징. LGR5, EGFR 및 핵 β-카테닌은 면역형광 정량화에 의해 결정되었음. Wnt 신호전달(APC, RSPO, RNF43, ZNRF3) 및 발암성(KRAS, PIK3CA, TP53) 단백질의 돌연변이 상태는 게놈 분석에 의해 결정되었음. WNT 억제제에 대한 PDX 모델(피하 성장됨)의 감수성은 음영진 셀로 표시됨. PDX 모델 T108은 추가 실험에서 사용되지 않았음.

도면

도면1

```
                                          40          50          60
MDTSR LGVLL SLPVL LQLAT GGSSP RSGVL LRGCP THCHC EPDGR MLLRV DCSDL GLSEL
                                 90         100         110         120
PSNLS VFTSY LDLSM NNISQ LLPNP LPSLR FLEEL RLAGN ALTYI PKGAF TGLYS LKVLM
                                                                    180
LQNNQ LRHVP TEALQ NLRSL QSLRL DANHI SYVPP SCFSG LHSLR HLWLD DNALT EIPVQ
                                                                    240
AFRSL SALQA MTLAL NKIHH IPDYA FGNLS SLVVL HLHNN RIHSL GKKCF DGLHS LETLD
                                                                    300
LNYNN LDEFP TAIRT LSNLK ELGFH SNNIR SIPEK AFVGN PSLIT IHFYD NPIQF VGRSA
                                                                    360
FQHLP ELRTL TLNGA SQITE FPDLT GTANL ESLTL TGAQI SSLPQ TVCNQ LPNLQ VLDLS
                                                                    420
YNLLE DLPSF SVCQK LQKID LRHNE IYEIK VDTFQ QLLSL RSLNL AWNKI AIIHP NAFST
                                                                    480
LPSLI KLDLS SNLLS SFPIT GLHGL THLKL TGNHA LQSLI SSENF PELKV IEMPY AYQCC
                                                                    540
AFGVC ENAYK ISNQW NKGDN SSMDD LHKKD AGMFQ AQDER DLEDF LLDFE EDLKA LHSVQ
                                                                    600
CSPSP GPFKP CEHLL DGWLI RIGVW TIAVL ALTCN ALVTS TVFRS PLYIS PIKLL IGVIA
                                                                    660
AVNML TGVSS AVLAG VDAFT FGSFA RHGAW WENGV GCHVI GFLSI FASES SVFLL TLAAL
                                                                    720
ERGFS VKYSA KFETK APFSS LKVII LLCAL LALTM AAVPL LGGSK YGASP LCLPL PFGEP
                                                                    780
STMGY MVALI LLNSL CFLMM TIAYT KLYCN LDKGD LENIW DCSMV KHIAL LLFTN CILNC
                                                                    840
PVAFL SFSSL INLTF ISPEV IKFIL LVVVP LPACL NPLLY ILFNP HFKED LVSLR KQTYV
                                                                    900
WTRSK HPSLM SINSD DVEKQ SCDST QALVT FTSSS ITYDL PPSSV PSPAY PVTES CHLSS

VAFVP CL
```

도면2

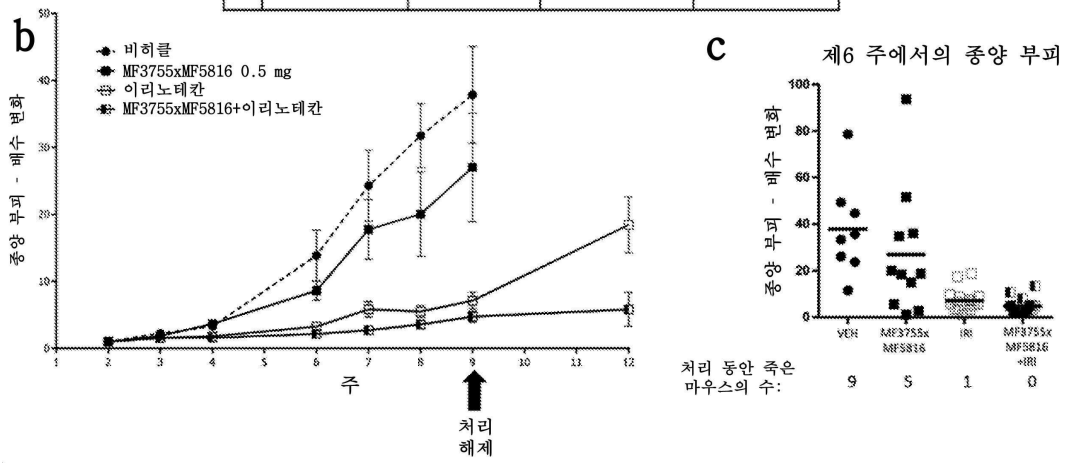
```
                                    30          40          50
MRPSG TAGAA LLALL AALCP ASRAL EEKKV CQGTS NKLTQ LGTFE DHFLS
                                                           100
LQRMF NNCEV VLGNL EITYV QRNYD LSFLK TIQEV AGYVL IALNT VERIP
LENLQ IIRGN MYYEN SYALA VLSNY DANKT GLKEL PMRNL QEILH GAVRF
                                                           200
SNNPA LCNVE SIQWR DIVSS DFLSN MSMDF QNHLG SCQKC DPSCP NGSCW
GAGEE NCQKL TKIIC AQQCS GRCRG KSPSD CCHNQ CAAGC TGPRE SDCLV
                                                           300
CRKFR DEATC KDTCP PLMLY NPTTY QMDVN PEGKY SFGAT CVKKC PRNYV
VTDHG SCVRA CGADS YEMEE DGVRK CKKCE GPCRK VCNGI GIGEF KDSLS
                                                           400
INATN IKHFK NCTSI SGDLH ILPVA FRGDS FTHTP PLDPQ ELDIL KTVKE
ITGFL LIQAW PENRT DLHAF ENLEI IRGRT KQHGQ FSLAV VSLNI TSLGL
                                                           500
RSLKE ISDGD VIISG NKNLC YANTI NWKKL FGTSG QKTKI ISNRG ENSCK
ATGQV CHALC SPEGC WGPEP RDCVS CRNVS RGREC VDKCN LLEGE PREFV
                                                           600
ENSEC IQCHP ECLPQ AMNIT CTGRG PDNCI QCAHY IDGPH CVKTC PAGVM
GENNT LVWKY ADAGH VCHLC HPNCT YGCTG PGLEG CPTNG PKIPS IATGM
                                                           700
VGALL LLLVV ALGIG LFMRR RHIVR KRTLR RLLQE RELVE PLTPS GEAPN
QALLR ILKET EFKKI KVLGS GAFGT VYKGL WIPEG EKVKI PVAIK ELREA
                                                           800
TSPKA NKEIL DEAYV MASVD NPHVC RLLGI CLTST VQLIT QLMPF GCLLD
YVREH KDNIG SQYLL NWCVQ IAKGM NYLED RRLVH RDLAA RNVLV KTPQH
                                                           900
VKITD FGLAK LLGAE EKEYH AEGGK VPIKW MALES ILHRI YTHQS DVWSY
GVTVW ELMTF GSKPY DGIPA SEISS ILEKG ERLPQ PPICT IDVYM IMVKC
                                                          1000
WMIDA DSRPK FRELI IEFSK MARDP QRYLV IQGDE RMHLP SPTDS NFYRA
LMDEE DMDDV VDADE YLIPQ QGFFS SPSTS RTPLL SSLSA TSNNS TVACI
                                                          1100
DRNGL QSCPI KEDSF LQRYS SDPTG ALTED SIDDT FLPVP EYINQ SVPKR
PAGSV QNPVY HNQPL NPAPS RDPHY QDPHS TAVGN PEYLN TVQPT CVNST
                                                          1200
FDSPA HWAQK GSHQI SLDNP DYQQD FFPKE AKPNG IFKGS TAENA EYLRV

APQSS EFIGA
```

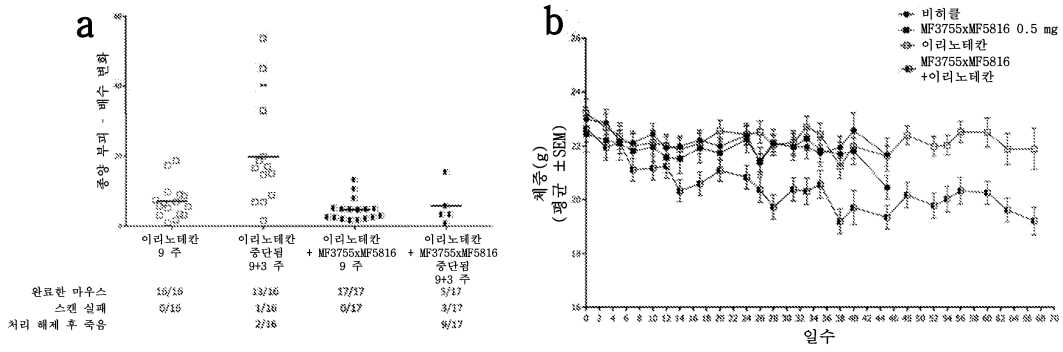
도면3

a

투여 군		비히클	MF3755xMF5816	이리노테칸
	1, 비히클	100 μl p.o.; PBS; 주 1회		
	2, MF3755xMF5816		100 μl i.p; 0.5 mg/ 마우스; 주 1회	
	3, 이리노테칸			50 μl i.p; 50 mg/kg 주 1회
	4, MF3755xMF5816+ 이리노테칸		100 μl i.p; 0.5 mg/ 마우스; 주 1회	50 μl i.p; 50 mg/kg 주 1회

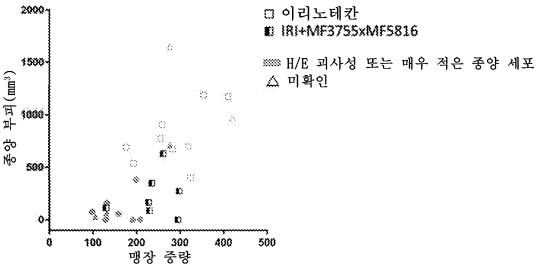


도면4



도면5

처리	총 마우스	전이가 발생한 마우스		
		암종증	폐	간
비히클	14	3	3	0
이리노테칸	13	0	1	0
MF3755xMF5816	14	1	0	0
MF3755xMF5816 + 이리노테칸	15	0	0	0

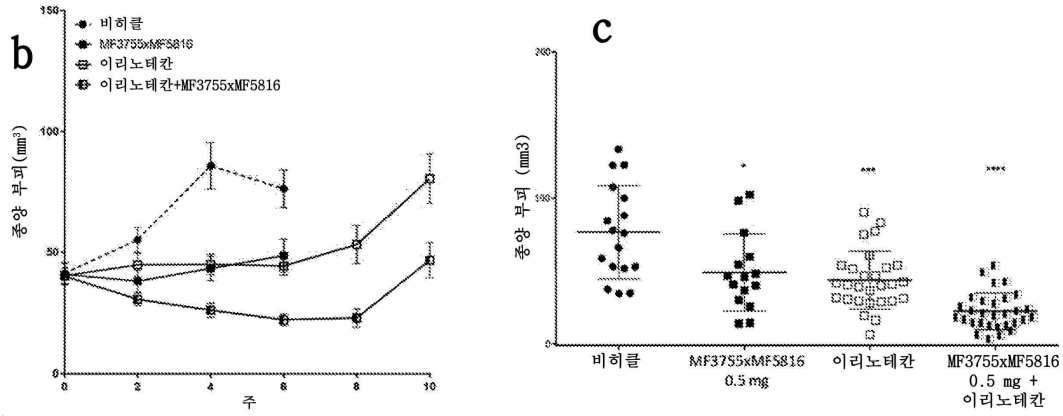


a b

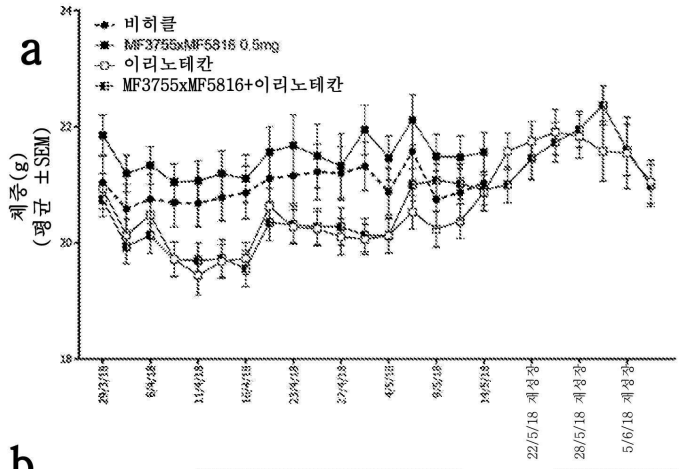
도면6

a

화합물	비히클	부피 & 경로	투여량 mg/kg	스케줄
비히클(18 마리의 마우스)	PBS	100 μl i.p.	-	주 1회
MF3755xMF5816(18 마리의 마우스)	PBS	100 μl i.p.	0.5 mg/ms	주 1회
이리노테칸(33 마리의 마우스)	사용 준비됨	50 μl i.p.	50 mg/kg	주 1회
MF3755xMF5816 + 이리노테칸 (33 마리의 마우스)	상기와 같음	상기와 같음	상기와 같음	주 1회



도면7



b

처리	총 마우스	처리 중 전이가 발생한 마우스 암종증	폐	간	총 마우스	처리 해제 전이가 발생한 마우스 암종증	폐	간
비히클	18	10	2	3	0	x	x	x
MF3755xMF5816	18	3	0	0	0	x	x	x
이리노테칸	15	0	0	0	13	2	0	0
MF3755xMF5816 + 이리노테칸	17	0	0	0	15	1	0	0

도면8a

1337	TT	IGVH1-08	EVQLVETGAEVKKPGASVKVSCKASDYIFIKYDINWVRQAPGQGLEWMGRMSANTGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSINTAYMELSSLISGDTAVYFCARSSLFKTEITAPYYHFALDVWGQGTIVTVSS	
3370	EGFR	IGVH1-18	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAKDRHWHWLDAFDVWGQGTLVTVSS	
3755	EGFR	IGVH7-4-1	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYDFTNYAMNWVRQAPGHGLEWMGWINANTGDPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDSAVYYCTRERFLEWLHPDYWGQGTLVTVSS	
4280	EGFR	IGVH1-24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEYGKTIFAQNFQGRVTMTEDTSADTAYMELSSLRSEDTAVYYCATEGYYETTIYYYNLFDSWGQGTLVTVSS	
4289	EGFR	IGVH7-4-1	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYAMTWVRQAPGQGLEWMGWITTNTGDPTYAPGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARVTHWIRGFEFWGQGTLVTVSS	

5790	LGR5	IGVH4-39	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSFSSSSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSFYYSGNTYYNPSLKSRVTISEDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQTYSSSWDGVLAYFDYWGQGTLVTVSS
5803	LGR5	IGVH4-59	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSNGSISTYYWSWIRQPPGKGLEWIGYVYYTGRTKYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCARGGIVVVPAARDYYYYMDVWGKGTTVTVSS
5805	LGR5	IGVH5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKIACKGSGFSFTSHWIGWVRQKPGKGLEWMGVIYPGDSDTRISPSFQGQVTVSADKSINTAYLQWNSLKASDTAIYYCARPNSGSPRYFEFWGRGTLVTVSS
5808	LGR5	IGVH4-39	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSFYYSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQEYYYGSGSPSYYFDYWGQGTLVTVSS
5809	LGR5	IGVH5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGDSFISHWIAWVRQMPGKGLEWMGIVYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSITTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHEWLLGPFDYWGQGTLVTVSS
5814	LGR5	IGVH1-69	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTSTNDAISWVRQAPGQGLEWMGWINTDTGDPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAFLQINSLRAEDTAVYYCARGDCDSTSCYRYSYGYEDYDWGQGTLVTVSS
5816	LGR5	IGVH7-4-1	EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYTMNWVRQAPGQGLEWMGWINTDTGDPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAFLQINSLKAEDTAVYYCARGDCDSTSCYRYSYGYEDYDWGQGTLVTVSS
5817	LGR5	IGVH1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGGTFRSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTRNYAQILQGRVTITADLSTSTAYMELNSLRSEDTAIYYCARGSDEGDWFDPWGQGTLVTVSS
5818	LGR5	IGVH1-69	EVQLVQSGTEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGSIIPILGTTDHAQKFQDRVTITADKSSNTTYMELSSLRSDDTAVYYCARSYIAARLDYFDSWGQGTLVTVSS

도면8b

1337	TT	IGVH1-08	EVQLVETGAEVKKPGASVKVSCKASDYIFT	KYDIN	WVRQAPGQGLEWMG	WMSANTGNTGYAQKFQG	RVTMTRDTSINTAYMELSSLTSGDTAVYFCAR	SSLFKTETAPYYHFALDV	WGQGTTVTVSS
3370	EGFR	IGVH1-18	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYGIS	WVRQAPGQGLEWMG	WISAYNGNTNYAQKLQG	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAK	DRHWHWWLDAFDY	WGQGTLVTVSS
3755	EGFR	IGVH7-4-1	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYDFT	NYAMN	WVRQAPGHGLEWMG	WINANTGDPTYAQGFTG	RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDSAVYYCTR	ERFLEWLHFDY	WGQGTLVTVSS
4280	EGFR	IGVH1-24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLT	ELSMH	WVRQAPGKGLEWMG	GFDPEYGKTIFFAQNFQG	RVTMTEDTSADTAYMELSSLRSEDTAVYYCAT	EGIYEITTYIYYNLFDS	WGQGTLVTVSS
4289	EGFR	IGVH7-4-1	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKTSGYTFT	DYAMT	WVRQAPGQGLEWMG	WITTNTGDPTYAPGFTG	RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCAR	VYHWIRGFEF	WGQGTLVTVSS
5790	LGR5	IGVH4-39	QVQLQESGPGLVKPSETLSLICTVSGGSFS	SSSSYWG	WIRQPPGKGLEWIG	SFYYSGNTYYNPSLKS	RVTISEDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	QTYSSSWDGYLYFDY	WGQGTLVTVSS
5803	LGR5	IGVH4-59	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSNGSIS	TYYWS	WIRQPPGKGLEWIG	VVYYTGRTKYNPSLKS	RVTISVDTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCAR	GGIVVVPAARDYYYYMDV	WGKGTTVTVSS
5805	LGR5	IGVH5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKIACKGSGFSFT	SHWIG	WVRQMPGKGLEWMG	VIYPGDSDTRYSPSFQG	QVTVSADKSINTAYLQWNSLKASDTAIYYCAR	PNSGSPRYFEF	WGRGTLVTVSS
5808	LGR5	IGVH4-39	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS	SSSYYWG	WIRQPPGKGLEWIG	SFYYSGNTYYNPSLKS	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	QEYYYGSGSPSYYFDY	WGQGTLVTVSS
5809	LGR5	IGVH5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGDSFI	SHWIA	WVRQMPGKGLEWMG	IVYPGDSDTRYSPSFQG	QVTISADKSITTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR	HEWELLGPFDY	WGQGTLVTVSS
5814	LGR5	IGVH1-69	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTSI	NDAIS	WVRQIPGQGLEWMG	SIIPILDITDHAQKFQG	RVIITADKSTNTAYMELNSLRSDDTAVYYCAR	EHIAARQDYFDY	WGQGTLVTVSS
5816	LGR5	IGVH7-4-1	EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYTMN	WVRQAPGQGLEWMG	WINTDTGDPTYAQGFTG	RFVFSLDTSVSTAFLQINSLKAEDTAVYYCAR	GDCDSTSCYRYSYGYEDY	WGQGTLVTVSS
5817	LGR5	IGVH1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGGTFR	SYAIS	WVRQAPGQGLEWMG	GIIPIFDTRNTAQILQG	RVIITADLSTSTAYMELNSLRSEDTAIYYCAR	GSDEGDWFDP	WGQGTLVTVSS
5818	LGR5	IGVH1-69	EVQLVQSGTEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS	NYAIS	WVRQAPGQGLEWMG	SIIPILGITDHAQKFQD	RVIITADKSSNTTYMELSSLRSDDTAVYYCAR	EYIAARLDYFDS	WGQGTLVTVSS

도면8c

MF1337:
gaggtgcagctggtggagactgggctgaggtgaagaagccgggggcctcagtgaaggtcctcctgcaagg
cttctgactacatcttcaccaaaatatgacatcaactgggtgcgccaggccccctggacaagggcttgaatg
gatgggatggatgagcgctaacactggaaacacgggctatgcacagaagttccagggcagagtcaccatg
accagggacacgtccataaaacacagcctacatggagctgagcagcctgacatctggtgacacggccgttt
atttctgtgcgaggagtagtcttttcaagacagagacggcgccctactatcacttcgctctggacgtctg
gggccaagggaccacggtcaccgtctccagt

MF3370:
caggttcagctggtgcagtctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtcctcctgcaagg
cttctggttacacctttaccagctatggtatcagctgggtgcgacaggccccctggacaagggcttgagtg
gatgggatggatcagcgcttacaatggtaacacaaactatgcacagaagctccagggcagagtcaccatg
accacagacacatccacgagcacagcctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggctgtgt
attactgtgcaaaagatcgtcattggcattggtggctggacgccttgattattggggccaaggtaccct
ggtcaccgtctccagt

MF3755:
caggtgcagctggtgcagtctgggtctgagttgaagaagcctggggcctcagtgaagatttcctgcaagg
cttctggatacgacttcactaactatgctatgaattgggtgcgacaggccctggacacgggcttgagtg
gatgggatggatcaacgccaacactgggacccaacgtatgcccagggcttcacaggacggtttgtcttc
tcctggacacctctgtcagcacggcatatctgcagatcagcagttaaaggctgaggactctgccgtgt
attactgtacgagagagcgatttttggagtggttacactttgactactggggccagggaaccctggtcac
cgtctccagt

MF4280:
caggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtcctcctgcaagg
tttccggatacacctcactgaattatccatgcactgggtgcgacaggctcctggtaaagggcttgaatg
gatgggaggctttgatcctgagtatggtaaaacattcttcgcacagaacttccagggcagagtcaccatg
accgaggacacatctgcagacacagcctacatggagctaagcagcctgagatctgaggacacggccgtgt
attactgtgcaacagaggggtattatgagactactacttattactacaaccttttgactcctggggcca
gggaaccctggtcaccgtctccagt

MF4289:
caggtgcagctggtgcaatctgggtctgaattgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgcaaga
cttctggatacaccttcactgactatgctatgacttgggtgcgacaggccccctggacaagggcttgaatg
gatgggatggatcaccaccaacaactggggacccaacgtatgccccgggcttcacaggacggtttgtcttc
tccttggacacctctgtcagcacggcatatctgcagatcagcagcctaaaggccgaggacactgccgtat
attactgtgcgagagtgtatcattggatacggggatttgagttttggggccaggggaaccctggtcaccgt
ctccagt

MF5790:
caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcactg
tctctggtggctccttcagcagtagtagttcctactggggctggatccgccagccccagggaaggggct
ggagtggattgggagtttctattatagtgggaacacctactacaacccgtccctcaagagtcgagtcacc
atatccgaagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcagacacggctg
tgtattactgtgcgagacagacgtatagcagcagctgggacggggtcctgtactactttgactactgggg
ccagggaaccctggtcaccgtctccagt

MF5803:
caggtgcagctgcaggagtcggggccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcactg
tctctaatggctccatcagtacttactactggagctggatccggcagccccagggaaggggctggagtg
gattggatatgtctattacactgggcgcaccaagtacaaccctccctcaagagtcgagtcaccatatca
gtagacagtccaagaacagttctccctgaacctgagttctgtgaccgctgcggacacggccgtgtatt
actgtgcgagaggggggtattgtagtagtcccagctgcgcgggactattactactacatggacgtctgggg
caaagggaccacggtcaccgtctccagt

MF5805:
gaggtgcaactggtgcagtctggagcagaggtgaaaaagccccggggagtctctgaagatcgcctgtaagg
gttctggattcagttttaccagccactggatcggctgggtgcgcccagaagccccgggagaggcctggagtg
gatggggatcatctatcctggtgactctgatacccgatacagccccgtcttccaaggccaggtcaccgtc
tcagccgacaagtccatcaataccgcctacctgcagtggaacagcctgaaggcctcggacaccgccatat
attactgtgcgagaccgaacagtgggagtccccggtacttcgagttctggggccgtggcaccctggtcac
cgtctccagt

MF5808:
caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcactg
tctctggtggctccatcagcagtagtagttactactggggctggatccgccagccccagggaaggggct
ggagtggattgggagtttctattatagtgggaacacctactacaacccgtccctcaagagtcgagtcacc
atatccgtagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgccgcagacacggctg
tgtattactgtgcgagacaggagtattactatggttcggggagtccttcgtactactttgactactgggg
ccagggaaccctggtcaccgtctccagt

MF5809:
gaggtgcagctggtgcagtctggagcagaggtgaaaaagccccggggagtctctgaagatctcctgtaagg
gttctggagacagtttttatcagccactggatcgcctgggtgcgccagatgcccgggaaaggcctggagtg
gatggggatcgtctatcctggtgactctgataccagatacagcccgtccttccaaggccaggtcaccatc
tcagccgacaagtccatcaccaccgcctacttgcagtggagcagcctgaaggcctcggacaccgccatgt
attactgtgcgagacacgagtgggaactacttggccctttgactactggggccagggaaccctggtcac
cgtctccagt

MF5814:
gaggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcggtgaaggtcctcctgcaagg
cttctggaggcacctccactaacgatgctatcagttgggtgcgacagaccctggacaagggcttgagtg
gatgggaagtatcatcctatccttgatacaacagaccacgcacagaagttccagggcagagtcacgatt
accgcggacaaatccacgaaacacagcctacatggagctgaacagcctgagatctgatgacacggccgtgt
attactgtgcgagagagcatatagcagctcgtcaggactacttttgactattggggccaggggaaccctggt
caccgtctccagt

MF5816:

gaggtgcagctggtgcagtctgggtctaaattgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgcaagg
cttctggatacaccttcactagctatactatgaattgggtgcgacaggccccctggacaagggcttgagtg
gatgggatggatcaacaccgacactgggaccccaacgtatgcccaggcttcacaggacggtttgtcttc
tccttggacacctctgtcagcacggcatttctacagatcaacagcctaaaggctgaggacactgccgtat
attactgtgcgagaggagattgtgatagtaccagctgctatagatacagttatggttacgaggactactg
gggccagggaaccctggtcaccgtctccagt

MF5817:
caggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcggtgaaggtctcctgcaagg
tttctggaggcacctcaggagctatgctatcagctgggtgcgacaggccctggacaagggcttgagtg
gatgggagggatcatccctatctttgatacaagaaactacgcacagatttcttcagggcagagtcacgatt
accgcggacttatccacgagcacagcctacatggagctgaacagtctgagatctgaggacacggccattt
attactgtgcgagagggagcgacgaggggactggttcgacccctggggccaaggaaccctggtcaccgt
ctcccagt

MF5818:
gaggtgcagctggtgcagtctgggactgaggtgaggaagcctgggtcctcggtgaaggtcctcctgcaagg
cttctggaggcaccttcagcaactatgctatcagctgggtgcgacaggccctggacaggggcttgagtg
gatgggaagtatcatcccctatccttggaacaacagaccacgcacagaagttccaggacagagtcacgatt
accgcggacaaatcctcgaacacaacctacatggagctgagcagcctgagatctgatgacacggccgtat
attactgtgcgagagagtatatagcagctcgtctggactactttgactcttggggccaggggaaccctggt
caccgtctccagt

도면9

a)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIK
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST
YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

b)

```
gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcacc
 D  I  Q  M  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D  R  V  T
atcacttgccgggcaagtcagagcattagcagctacttaaattggtatcagcagaaacca
 I  T  C  R  A  S  Q  S  I  S  S  Y  L  N  W  Y  Q  Q  K  P
gggaaagcccctaagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatca
 G  K  A  P  K  L  L  I  Y  A  A  S  S  L  Q  S  G  V  P  S
aggttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacct
 R  F  S  G  S  G  S  G  T  D  F  T  L  T  I  S  S  L  Q  P
gaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacccctccaacgttcggccaa
 E  D  F  A  T  Y  Y  C  Q  Q  S  Y  S  T  P  P  T  F  G  Q
gggaccaaggtggagatcaaa
 G  T  K  V  E  I  K
```

c)

```
cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatct
R  T  V  A  A  P  S  V  F  I  F  P  P  S  D  E  Q  L  K  S
ggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacag
G  T  A  S  V  V  C  L  L  N  N  F  Y  P  R  E  A  K  V  Q
tggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggac
W  K  V  D  N  A  L  Q  S  G  N  S  Q  E  S  V  T  E  Q  D
agcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgag
S  K  D  S  T  Y  S  L  S  S  T  L  T  L  S  K  A  D  Y  E
aaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaag
K  H  K  V  Y  A  C  E  V  T  H  Q  G  L  S  S  P  V  T  K
agcttcaacaggggagagtgttag
S  F  N  R  G  E  C  -
```

d)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIK

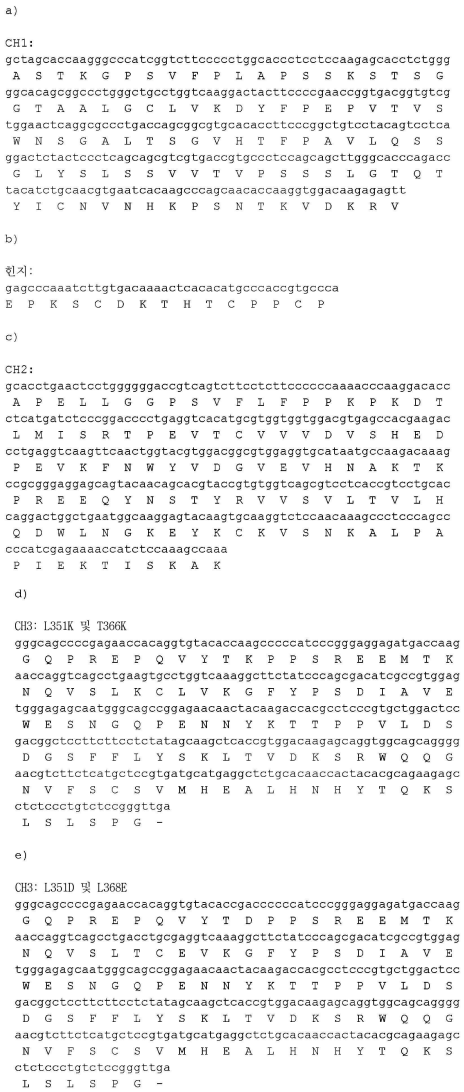
e)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP

f)

CDR1 - QSISSY,
CDR2 - AAS
CDR3 - QQSYSTPPT
IMGT에 따름

도면10



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Merus N.V.

<120> Treatment of cancer with a combination of an antibody that binds LGR5 and EGFR and a topoisomerase I inhibitor

<130> P123301PC00

<140> PCT/NL2020/050517

<141> 2020-08-19

<150> EP 19192327.5

<151> 2019-08-19

<160> 133

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 907

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Asp Thr Ser Arg Leu Gly Val Leu Leu Ser Leu Pro Val Leu Leu
1 5 10 15

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

Gly Cys Pro Thr His Cys His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met Leu Leu
35 40 45

Arg Val Asp Cys Ser Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu
50 55 60

Ser Val Phe Thr Ser Tyr Leu Asp Leu Ser Met Asn Asn Ile Ser Gln
65 70 75 80

Leu Leu Pro Asn Pro Leu Pro Ser Leu Arg Phe Leu Glu Glu Leu Arg
85 90 95

Leu Ala Gly Asn Ala Leu Thr Tyr Ile Pro Lys Gly Ala Phe Thr Gly
100 105 110

Leu Tyr Ser Leu Lys Val Leu Met Leu Gln Asn Asn Gln Leu Arg His
115 120 125

Val Pro Thr Glu Ala Leu Gln Asn Leu Arg Ser Leu Gln Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Asp Ala Asn His Ile Ser Tyr Val Pro Pro Ser Cys Phe Ser Gly
145 150 155 160

Leu His Ser Leu Arg His Leu Trp Leu Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu
165 170 175

Ile Pro Val Gln Ala Phe Arg Ser Leu Ser Ala Leu Gln Ala Met Thr
180 185 190

Leu Ala Leu Asn Lys Ile His His Ile Pro Asp Tyr Ala Phe Gly Asn

195 200 205

Leu Ser Ser Leu Val Val Leu His Leu His Asn Asn Arg Ile His Ser
210 215 220
Leu Gly Lys Lys Cys Phe Asp Gly Leu His Ser Leu Glu Thr Leu Asp
225 230 235 240
Leu Asn Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala Ile Arg Thr Leu
245 250 255
Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile
260 265 270

Pro Glu Lys Ala Phe Val Gly Asn Pro Ser Leu Ile Thr Ile His Phe
275 280 285
Tyr Asp Asn Pro Ile Gln Phe Val Gly Arg Ser Ala Phe Gln His Leu
290 295 300
Pro Glu Leu Arg Thr Leu Thr Leu Asn Gly Ala Ser Gln Ile Thr Glu
305 310 315 320
Phe Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ala Asn Leu Glu Ser Leu Thr Leu Thr
325 330 335

Gly Ala Gln Ile Ser Ser Leu Pro Gln Thr Val Cys Asn Gln Leu Pro
340 345 350
Asn Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Glu Asp Leu Pro
355 360 365
Ser Phe Ser Val Cys Gln Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His Asn
370 375 380
Glu Ile Tyr Glu Ile Lys Val Asp Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Leu
385 390 395 400

Arg Ser Leu Asn Leu Ala Trp Asn Lys Ile Ala Ile Ile His Pro Asn
405 410 415
Ala Phe Ser Thr Leu Pro Ser Leu Ile Lys Leu Asp Leu Ser Ser Asn
420 425 430
Leu Leu Ser Ser Phe Pro Ile Thr Gly Leu His Gly Leu Thr His Leu
435 440 445

Lys Leu Thr Gly Asn His Ala Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Glu Asn
450 455 460

Phe Pro Glu Leu Lys Val Ile Glu Met Pro Tyr Ala Tyr Gln Cys Cys
465 470 475 480
Ala Phe Gly Val Cys Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn
485 490 495
Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met Asp Asp Leu His Lys Lys Asp Ala Gly
500 505 510
Met Phe Gln Ala Gln Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp Phe Leu Leu Asp
515 520 525

Phe Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu His Ser Val Gln Cys Ser Pro Ser
530 535 540
Pro Gly Pro Phe Lys Pro Cys Glu His Leu Leu Asp Gly Trp Leu Ile
545 550 555 560
Arg Ile Gly Val Trp Thr Ile Ala Val Leu Ala Leu Thr Cys Asn Ala
565 570 575
Leu Val Thr Ser Thr Val Phe Arg Ser Pro Leu Tyr Ile Ser Pro Ile
580 585 590

Lys Leu Leu Ile Gly Val Ile Ala Ala Val Asn Met Leu Thr Gly Val
595 600 605
Ser Ser Ala Val Leu Ala Gly Val Asp Ala Phe Thr Phe Gly Ser Phe
610 615 620
Ala Arg His Gly Ala Trp Trp Glu Asn Gly Val Gly Cys His Val Ile
625 630 635 640
Gly Phe Leu Ser Ile Phe Ala Ser Glu Ser Ser Val Phe Leu Leu Thr
645 650 655

Leu Ala Ala Leu Glu Arg Gly Phe Ser Val Lys Tyr Ser Ala Lys Phe
660 665 670
Glu Thr Lys Ala Pro Phe Ser Ser Leu Lys Val Ile Ile Leu Leu Cys
675 680 685
Ala Leu Leu Ala Leu Thr Met Ala Ala Val Pro Leu Leu Gly Gly Ser

690 695 700

Lys Tyr Gly Ala Ser Pro Leu Cys Leu Pro Leu Pro Phe Gly Glu Pro
705 710 715 720

Ser Thr Met Gly Tyr Met Val Ala Leu Ile Leu Leu Asn Ser Leu Cys
725 730 735

Phe Leu Met Met Thr Ile Ala Tyr Thr Lys Leu Tyr Cys Asn Leu Asp
740 745 750

Lys Gly Asp Leu Glu Asn Ile Trp Asp Cys Ser Met Val Lys His Ile
755 760 765

Ala Leu Leu Leu Phe Thr Asn Cys Ile Leu Asn Cys Pro Val Ala Phe
770 775 780

Leu Ser Phe Ser Ser Leu Ile Asn Leu Thr Phe Ile Ser Pro Glu Val
785 790 795 800

Ile Lys Phe Ile Leu Leu Val Val Val Pro Leu Pro Ala Cys Leu Asn
805 810 815

Pro Leu Leu Tyr Ile Leu Phe Asn Pro His Phe Lys Glu Asp Leu Val
820 825 830

Ser Leu Arg Lys Gln Thr Tyr Val Trp Thr Arg Ser Lys His Pro Ser
835 840 845

Leu Met Ser Ile Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser
850 855 860

Thr Gln Ala Leu Val Thr Phe Thr Ser Ser Ser Ile Thr Tyr Asp Leu
865 870 875 880

Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro Ala Tyr Pro Val Thr Glu Ser Cys
885 890 895

His Leu Ser Ser Val Ala Phe Val Pro Cys Leu
900 905

<210> 2

<211> 1210

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80
Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95
Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110
Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140
His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160
Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175
Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

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

245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270
Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285
Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300
Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335
Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350
Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365
Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400
Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415
Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430
His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460
Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480
Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
515 520 525
Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540
Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560
Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590
Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605
Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620
Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
625 630 635 640

Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu
645 650 655
Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
660 665 670
Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
675 680 685
Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu
690 695 700

Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser
705 710 715 720
Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu
725 730 735
Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser

740 745 750

Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser

755 760 765

Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser

770 775 780

Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp

785 790 795 800

Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn

805 810 815

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

820 825 830

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

835 840 845

Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala

850 855 860

Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp

865 870 875 880

Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp

885 890 895

Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser

900 905 910

Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu

915 920 925

Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr

930 935 940

Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys

945 950 955 960

Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln

965 970 975

Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro

980 985 990

Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp
995 1000 1005

Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe
1010 1015 1020

Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu
1025 1030 1035

Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn
1040 1045 1050

Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg
1055 1060 1065

Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp
1070 1075 1080

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro
1085 1090 1095

Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln
1100 1105 1110

Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro
1115 1120 1125

His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln
1130 1135 1140

Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
1175 1180 1185

Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
1205 1210

<210> 3

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF 1337 FW1

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF1337 CDR1

<400> 4

Lys Tyr Asp Ile Asn

1 5

<210> 5

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF1337 FW2

<400> 5

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

1 5 10

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF1337 CDR2

<400> 6

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

1 5 10 15

Gly

<210

> 7

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF1337 FW3

<400> 7

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 8

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF1337 CDR3

<400> 8

Ser Ser Leu Phe Lys Thr Glu Thr Ala Pro Tyr Tyr His Phe Ala Leu

1 5 10 15

Asp Val

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF1337 FW4

<400> 9

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 10

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3370 FW1

<400> 10

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3370 CDR1

<400> 11

Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3370 CDR2

<400> 12

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 13

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3370 FW3

<400> 13

Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys

20 25 30

<210> 14

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3370 CDR3

<400> 14

Asp Arg His Trp His Trp Trp Leu Asp Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FW4 of MF3370, MF3755, MF4280, MF4289, MF5790, MF5808, MF5809, MF5814, MF5816, MF5817 and MF5818

<400> 15

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 16

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3755 FW1

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3755 CDR1

<400> 17

Asn Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 18

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3755 FW2

<400> 18

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

1 5 10

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3755 CDR2

<400> 19

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

1 5 10 15

Gly

<210> 20

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3755 FW3

<400> 20

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3755 CDR3

<400> 21

Glu Arg Phe Leu Glu Trp Leu His Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4280 FW1

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4280 CDR1

<400> 23

Glu Leu Ser Met His

1 5

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4280 FW2

<400> 24

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

1 5 10

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4280 CDR2

<400> 25

Gly Phe Asp Pro Glu Tyr Gly Lys Thr Phe Phe Ala Gln Asn Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 26

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4280 FW3

<400> 26

Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ala Asp Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr
20 25 30

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4280 CDR3

<400> 27

Glu Gly Tyr Tyr Glu Thr Thr Thr Tyr Tyr Tyr Asn Leu Phe Asp Ser
1 5 10 15

<210> 28

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4289 FW1

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 29

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4289 CDR1

<400> 29

Asp Tyr Ala Met Thr

1 5

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4289 CDR2

<400> 30

Trp Ile Thr Thr Asn Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Pro Gly Phe Thr

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4289 FW3

<400> 31

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4289 CDR3

<400> 32

Val Tyr His Trp Ile Arg Gly Phe Glu Phe

1 5 10

<210> 33

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5790 FW1

<400> 33

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser

20 25 30

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5790 CDR1

<400> 34

Ser Ser Ser Ser Tyr Trp Gly

1 5

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5790 FW2

<400> 35

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

1 5 10

<210> 36

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5790 CDR2

<400> 36

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

1 5 10 15

<210> 37

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5790 FW3

<400> 37

Arg Val Thr Ile Ser Glu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 38

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5790 CDR3

<400> 38

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

1 5 10 15

<210> 39

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5803 FW1

<400> 39

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asn Gly Ser Ile Ser

20 25 30

<210> 40

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5803 CDR1

<400> 40

Thr Tyr Tyr Trp Ser

1 5

<210> 41

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5803 CDR2

<400> 41

Tyr Val Tyr Tyr Thr Gly Arg Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 42

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5803 FW3

<400> 42

Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 43

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5803 CDR3

<400> 43

Gly Gly Ile Val Val Val Pro Ala Ala Arg Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Met
1 5 10 15

Asp Val

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5803 FW4

<400> 44

Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 45

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805 FW1

<400> 45

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

Ser Leu Lys Ile Ala Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Thr
20 25 30

<210> 46

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805 CDR1

<400> 46

Ser His Trp Ile Gly
1 5

<210> 47

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805 FW2

<400> 47

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

1 5 10

<210> 48

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805 CDR2

<400> 48

Val Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 49

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805 FW3

<400> 49

Gln Val Thr Val Ala Asp Lys Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Trp

1 5 10 15

Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805 CDR3

<400> 50

Pro Asn Ser Gly Ser Pro Arg Tyr Phe Glu Phe

1 5 10

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805 FW4

<400> 51

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Val Ser Ser

1 5 10

<210> 52

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5808 FW1

<400> 52

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser

20 25 30

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5808 CDR1

<400> 53

Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5

<210> 54

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5808 FW3

<400> 54

Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5808 CDR3

<400> 55

Gln Glu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 56

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5809 FW1

<400> 56

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Asp Ser Phe Ile

20 25 30

<210> 57

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5809 CDR1

<400> 57

Ser His Trp Ile Ala

1 5

<210> 58

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5809 FW2

<400> 58

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

1 5 10

<210> 59

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5809 CDR2

<400> 59

Ile Val Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 60

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5809 FW3

<400> 60

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

1 5 10 15

Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5809 CDR3

<400> 61

His Glu Trp Glu Leu Leu Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 62

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5814 FW1

<400> 62

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Ser Thr

20 25 30

<210> 63

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5814 CDR1

<400> 63

Asn Asp Ala Ile Ser

1 5

<210> 64

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5814 FW2

<400> 64

Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 65

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5814 CDR2

<400> 65

Ser Ile Ile Pro Ile Leu Asp Thr Thr Asp His Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 66

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5814 FW3

<400> 66

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

Leu Asn Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 67

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5814 CDR3

<400> 67

Glu His Ile Ala Ala Arg Gln Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 68

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5816 FW1

<400> 68

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30

<210> 69

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5816 CDR1

<400> 69

Ser Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 70

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5816 FW2

<400> 70

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

1 5 10

<210> 71

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5816 CDR2

<400> 71

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

1 5 10 15

Gly

<210> 72

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5816 FW3

<400> 72

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Phe Leu Gln

1 5 10 15

Ile Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 73

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5816 CDR3

<400> 73

Gly Asp Cys Asp Ser Thr Ser Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Gly Tyr Glu

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 74

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5817 FW1

<400> 74

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 75

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5817 CDR1

<400> 75

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 76

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5817 CDR2

<400> 76

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Arg Asn Tyr Ala Gln Ile Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 77

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5817 FW3

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5817 CDR3

<400> 78

Gly Ser Asp Glu Gly Asp Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 79

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5818 FW1

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 80

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5818 CDR1

<400> 80

Asn Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 81

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5818 CDR2

<400> 81

Ser Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Thr Asp His Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 82

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5818 FW3

<400> 82

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Thr Tyr Met Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 83

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5818 CDR3

<400> 83

Glu Tyr Ile Ala Ala Arg Leu Asp Tyr Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 84

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF1337

<220><221> CDS

<222> (1)..(381)

<400> 84

gag gtg cag ctg gtg gag act ggg gct gag gtg aag aag ccg ggg gcc 48

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

1 5 10 15

tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gac tac atc ttc acc aaa tat 96

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

20 25 30

gac atc aac tgg gtg cgc cag gcc cct gga caa ggg ctt gaa tgg atg 144

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

35 40 45

gga tgg atg agc gct aac act gga aac acg ggc tat gca cag aag ttc 192

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

50 55 60

cag ggc aga gtc acc atg acc agg gac acg tcc ata aac aca gcc tac 240

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

atg gag ctg agc agc ctg aca tct ggt gac acg gcc gtt tat ttc tgt 288

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

85 90 95

gcg agg agt agt ctt ttc aag aca gag acg gcg ccc tac tat cac ttc 336

Ala Arg Ser Ser Leu Phe Lys Thr Glu Thr Ala Pro Tyr Tyr His Phe

100 105 110

gct ctg gac gtc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc agt 381

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

115 120 125

<210> 85

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Ser Leu Phe Lys Thr Glu Thr Ala Pro Tyr Tyr His Phe

100 105 110

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

115 120 125

<210> 86

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF3370

<220><221> CDS

<222> (1)..(366)

<400> 86

cag gtt cag ctg gtg cag tct gga gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct ggt tac acc ttt acc agc tat 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

ggt atc agc tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

gga tgg atc agc gct tac aat ggt aac aca aac tat gca cag aag ctc 192
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

cag ggc aga gtc acc atg acc aca gac aca tcc acg agc aca gcc tac 240
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

atg gag ctg agg agc ctg aga tct gac gac acg gct gtg tat tac tgt 288
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gca aaa gat cgt cat tgg cat tgg tgg ctg gac gcc ttt gat tat tgg 336
Ala Lys Asp Arg His Trp His Trp Trp Leu Asp Ala Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

ggc caa ggt acc ctg gtc acc gtc tcc agt 366
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 87

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 87

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

1 5 10 15

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

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

<210> 88
<211> 360
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MF3755
<220><221> CDS
<222> (1)..(360)
<400> 88
cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg tct gag ttg aag aag cct ggg gcc 48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
tca gtg aag att tcc tgc aag gct tct gga tac gac ttc act aac tat 96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
gct atg aat tgg gtg cga cag gcc cct gga cac ggg ctt gag tgg atg 144
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

gga tgg atc aac gcc aac act ggg gac cca acg tat gcc cag ggc ttc 192
Gly Trp Ile Asn Ala Asn Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
50 55 60

aca gga cgg ttt gtc ttc tcc ttg gac acc tct gtc agc acg gca tat 240
Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

ctg cag atc agc agt tta aag gct gag gac tct gcc gtg tat tac tgt 288
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

acg aga gag cga ttt ttg gag tgg tta cac ttt gac tac tgg ggc cag 336
Thr Arg Glu Arg Phe Leu Glu Trp Leu His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 360

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 89
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 89

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

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

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Glu Arg Phe Leu Glu Trp Leu His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 90
<211> 375
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MF4280
<220><221> CDS
<222> (1)..(375)
<400> 90

cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

tca gtg aag gtc tcc tgc aag gtt tcc gga tac acc ctc act gaa tta 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30
tcc atg cac tgg gtg cga cag gct cct ggt aaa ggg ctt gaa tgg atg 144
Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
gga ggc ttt gat cct gag tat ggt aaa aca ttc ttc gca cag aac ttc 192

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Tyr Gly Lys Thr Phe Phe Ala Gln Asn Phe
50 55 60
cag ggc aga gtc acc atg acc gag gac aca tct gca gac aca gcc tac 240
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ala Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
atg gag cta agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

gca aca gag ggg tat tat gag act act act tat tac tac aac ctt ttt 336

Ala Thr Glu Gly Tyr Tyr Glu Thr Thr Thr Tyr Tyr Tyr Asn Leu Phe

100 105 110

gac tcc tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 375

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

115 120 125

<210> 91

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 91

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Ala Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Glu Gly Tyr Tyr Glu Thr Thr Thr Tyr Tyr Tyr Asn Leu Phe

100 105 110

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

115 120 125

<210> 92

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF4289

<220><221> CDS

<222> (1)..(357)

<400> 92

cag gtg cag ctg gtg caa tct ggg tct gaa ttg aag aag cct ggg gcc 48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

tca gtg aag gtt tcc tgc aag act tct gga tac acc ttc act gac tat 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

gct atg act tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gaa tgg atg 144
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

gga tgg atc acc acc aac act ggg gac cca acg tat gcc ccg ggc ttc 192
Gly Trp Ile Thr Thr Asn Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Pro Gly Phe
50 55 60

aca gga cgg ttt gtc ttc tcc ttg gac acc tct gtc agc acg gca tat 240
Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

ctg cag atc agc agc cta aag gcc gag gac act gcc gta tat tac tgt 288
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gcg aga gtg tat cat tgg ata cgg gga ttt gag ttt tgg ggc cag gga 336
Ala Arg Val Tyr His Trp Ile Arg Gly Phe Glu Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

acc ctg gtc acc gtc tcc agt 357
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Thr Thr Asn Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Pro Gly Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Val Tyr His Trp Ile Arg Gly Phe Glu Phe Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 94

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5790

<220><221> CDS

<222> (1)..(378)

<400> 94

cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag 48

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

1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc ttc agc agt agt 96

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser Ser

20 25 30

agt tcc tac tgg ggc tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag 144

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

35 40 45

tgg att ggg agt ttc tat tat agt ggg aac acc tac tac aac ccg tcc 192

Trp Ile Gly Ser Phe Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

ctc aag agt cga gtc acc ata tcc gaa gac acg tcc aag aac cag ttc 240

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Glu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

tcc ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gct gtg tat tac 288

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

85 90 95

tgt gcg aga cag acg tat agc agc agc tgg gac ggg gtc ctg tac tac 336

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

100 105 110

ttt gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 378

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

115 120 125

<210> 95

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 95

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Phe Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Glu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

<210> 96

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5803

<220><221> CDS

<222> (1)..(378)

<400> 96

cag gtg cag ctg cag gag tcg ggg cca gga ctg gtg aag cct tcg gag 48

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

1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct aat ggc tcc atc agt act tac 96

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asn Gly Ser Ile Ser Thr Tyr

20 25 30

tac tgg agc tgg atc cgg cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att 144

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

35 40 45

gga tat gtc tat tac act ggg cgc acc aag tac aac ccc tcc ctc aag 192

Gly Tyr Val Tyr Tyr Thr Gly Arg Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

agt cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg 240

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

aac ctg agt tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt gcg 288
Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

aga ggg ggt att gta gta gtc cca gct gcg cgg gac tat tac tac tac 336
Arg Gly Gly Ile Val Val Val Pro Ala Ala Arg Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

atg gac gtc tgg ggc aaa ggg acc acg gtc acc gtc tcc agt 378
Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 97
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 97

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asn Gly Ser Ile Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Arg Gly Gly Ile Val Val Val Pro Ala Ala Arg Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 98

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5805

<220><221> CDS

<222> (1)..(360)

<400> 98

gag gtg caa ctg gtg cag tct gga gca gag gtg aaa aag ccc ggg gag 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

tct ctg aag atc gcc tgt aag ggt tct gga ttc agt ttt acc agc cac 96
Ser Leu Lys Ile Ala Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Thr Ser His

20 25 30

tgg atc ggc tgg gtg cgc cag aag ccc ggg aga ggc ctg gag tgg atg 144
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Lys Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

ggg gtc atc tat cct ggt gac tct gat acc aga tac agc ccg tcc ttc 192
Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

caa ggc cag gtc acc gtc tca gcc gac aag tcc atc aat acc gcc tac 240
Gln Gly Gln Val Thr Val Ser Ala Asp Lys Ser Ile Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

ctg cag tgg aac agc ctg aag gcc tcg gac acc gcc ata tat tac tgt 288
Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

gcg aga ccg aac agt ggg agt ccc cgg tac ttc gag ttc tgg ggc cgt 336
Ala Arg Pro Asn Ser Gly Ser Pro Arg Tyr Phe Glu Phe Trp Gly Arg

100 105 110

ggc acc ctg gtc acc gtc tcc agt 360

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 99

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 99

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

Ser Leu Lys Ile Ala Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Thr Ser His
20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Val Ser Ala Asp Lys Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Asn Ser Gly Ser Pro Arg Tyr Phe Glu Phe Trp Gly Arg

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 100

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5808

<220><221> CDS

<222> (1)..(378)

<400> 100

cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gag 48

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

1 5 10 15

acc ctg tcc ctc acc tgc act gtc tct ggt ggc tcc atc agc agt agt 96

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

agt tac tac tgg ggc tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag 144

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

35 40 45

tgg att ggg agt ttc tat tat agt ggg aac acc tac tac aac ccg tcc 192

Trp Ile Gly Ser Phe Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

ctc aag agt cga gtc acc ata tcc gta gac acg tcc aag aac cag ttc 240

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

tcc ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gct gtg tat tac 288

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

85 90 95

tgt gcg aga cag gag tat tac tat ggt tcg ggg agt cct tcg tac tac 336

Cys Ala Arg Gln Glu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Ser Tyr Tyr

100 105 110

ttt gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 378

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

115 120 125

<210> 101

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 101

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Phe Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Gln Glu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Ser Tyr Tyr

100 105 110

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

115 120 125

<210> 102

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5809

<220><221> CDS

<222> (1)..(360)

<400> 102

gag gtg cag ctg gtg cag tct gga gca gag gtg aaa aag ccc ggg gag 48

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

1 5 10 15

tct ctg aag atc tcc tgt aag ggt tct gga gac agt ttt atc agc cac 96

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Asp Ser Phe Ile Ser His

20 25 30

tgg atc gcc tgg gtg cgc cag atg ccc ggg aaa ggc ctg gag tgg atg 144

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

35 40 45

ggg atc gtc tat cct ggt gac tct gat acc aga tac agc ccg tcc ttc 192
Gly Ile Val Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

caa ggc cag gtc acc atc tca gcc gac aag tcc atc acc acc gcc tac 240
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
ttg cag tgg agc agc ctg aag gcc tcg gac acc gcc atg tat tac tgt 288
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
gcg aga cac gag tgg gaa cta ctt ggc ccc ttt gac tac tgg ggc cag 336
Ala Arg His Glu Trp Glu Leu Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 360
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 103
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 103

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

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

<210> 104
<211> 363
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> MF5814
<220><221> CDS
<222>
(1)..(363)
<400> 104

gag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg tcc 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga ggc acc tcc act aac gat 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Ser Thr Asn Asp
20 25 30
gct atc agt tgg gtg cga cag acc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
gga agt atc atc cct atc ctt gat aca aca gac cac gca cag aag ttc 192
Gly Ser Ile Ile Pro Ile Leu Asp Thr Thr Asp His Ala Gln Lys Phe
50 55 60
cag ggc aga gtc acg att acc gcg gac aaa tcc acg aac aca gcc tac 240
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80
atg gag ctg aac agc ctg aga tct gat gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gcg aga gag cat ata gca gct cgt cag gac tac ttt gac tat tgg ggc 336
Ala Arg Glu His Ile Ala Ala Arg Gln Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 363
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 105
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 105
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Ser Thr Asn Asp
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ser Ile Ile Pro Ile Leu Asp Thr Thr Asp His Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu His Ile Ala Ala Arg Gln Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 106
<211> 381
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5816

<220><221> CDS

<222> (1)..(381)

<400> 106

gag gtg cag ctg gtg cag tct ggg tct aaa ttg aag aag cct ggg gcc 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Lys Leu Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

tca gtg aag gtt tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc act agc tat 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

act atg aat tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

gga tgg atc aac acc gac act ggg gac cca acg tat gcc cag ggc ttc 192
Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
50 55 60

aca gga cgg ttt gtc ttc tcc ttg gac acc tct gtc agc acg gca ttt 240
Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

cta cag atc aac agc cta aag gct gag gac act gcc gta tat tac tgt 288
Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gcg aga gga gat tgt gat agt acc agc tgc tat aga tac agt tat ggt 336
Ala Arg Gly Asp Cys Asp Ser Thr Ser Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Gly
100 105 110

tac gag gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 381
Tyr Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 107

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 107

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Cys Asp Ser Thr Ser Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Gly
100 105 110

Tyr Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 108

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5817

<220><221> CDS

<222> (1)..(357)

<400> 108

cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg tcc 48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gtt tct gga ggc acc ttc agg agc tat 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Gly Thr Phe Arg Ser Tyr

20 25 30

gct atc agc tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144

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

35 40 45

gga ggg atc atc cct atc ttt gat aca aga aac tac gca cag att ctt 192

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Arg Asn Tyr Ala Gln Ile Leu

50 55 60

cag ggc aga gtc acg att acc gcg gac tta tcc acg agc aca gcc tac 240

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

65 70 75 80

atg gag ctg aac agt ctg aga tct gag gac acg gcc att tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg aga ggg agc gac gag ggg gac tgg ttc gac ccc tgg ggc caa gga 336

Ala Arg Gly Ser Asp Glu Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly

100 105 110

acc ctg gtc acc gtc tcc agt 357

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 109

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Arg Asn Tyr Ala Gln Ile Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Leu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Ser Asp Glu Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 110

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MF5818

<220><221> CDS

<222> (1)..(363)

<400> 110

gag gtg cag ctg gtg cag tct ggg act gag gtg agg aag cct ggg tcc 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Arg Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga ggc acc ttc agc aac tat 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

gct atc agc tgg gtg cga cag gcc cct gga cag ggg ctt gag tgg atg 144
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

gga agt atc atc cct atc ctt gga aca aca gac cac gca cag aag ttc 192
Gly Ser Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Thr Asp His Ala Gln Lys Phe
50 55 60

cag gac aga gtc acg att acc gcg gac aaa tcc tcg aac aca acc tac 240
Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Thr Tyr

65 70 75 80

atg gag ctg agc agc ctg aga tct gat gac acg gcc gta tat tac tgt 288

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

85 90 95

gcg aga gag tat ata gca gct cgt ctg gac tac ttt gac tct tgg ggc 336

Ala Arg Glu Tyr Ile Ala Ala Arg Leu Asp Tyr Phe Asp Ser Trp Gly

100 105 110

cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc agt 363

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 111

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 111

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ser Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Thr Asp His Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Tyr Ile Ala Ala Arg Leu Asp Tyr Phe Asp Ser Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 112

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> common light chain variable domain IGKV1-39/jk1

<220><221> CDS

<222> (1)..(321)

<400> 112

gac atc cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga 48

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

1 5 10 15

gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag agc att agc agc tac 96

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

20 25 30

tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc 144

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

35 40 45

tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc 192

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

50 55 60

agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc agt ctg caa cct 240

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

65 70 75 80

gaa gat ttt gca act tac tac tgt caa cag agt tac agt acc cct cca 288

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

85 90 95

acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag atc aaa 321

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 113

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 113

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

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

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

35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 114

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> common light chain constant domain

<220><221> CDS

<222> (1)..(324)

<400> 114

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 115
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 115

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

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 116
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Common light chain variable domain IGKV-1 39/jk5
<400> 116
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

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

<210> 117
<211> 95
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> common light chain V-region IGKV1-39A
<400> 117
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 118

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> common light chain CDR1

<400> 118

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 119

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> common light chain CDR2

<400> 119

Ala Ala Ser

1

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> common light chain CDR3

<400> 120

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 121

<211> 294

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(294)

<400> 121

gct agc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48

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

1 5 10 15

agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96

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

20 25 30

ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144

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

35 40 45

ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192

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

50 55 60

ctc agc agc gtc gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

aga gtt 294

Arg Val

<210> 122

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

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

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

<210> 123
<211> 45
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220><221> CDS
<222> (1)..(45)
<400> 123
gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca 45
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15
<210> 124
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 124
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 125

<211> 330

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(330)

<400> 125

gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa 48

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

1 5 10 15

ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg 96

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

20 25 30

gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac 144

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag 192

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac 240

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa 288

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa 330

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

100 105 110

<210> 126

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

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

100 105 110

<210> 127

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG CH3 L351K T366K

<220><221> CDS

<222> (1)..(321)

<400> 127

ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc aag ccc cca tcc cgg gag 48

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

1 5 10 15

gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg aag tgc ctg gtc aaa ggc ttc 96

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

20 25 30

tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag 144

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc 192
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

ttc ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg 240
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac 288
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt tga 321
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 128
<211> 106
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct
<400> 128
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 129

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG CH3 L351D L368E

<220><221> CDS

<222> (1)..(321)

<400> 129

ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc gac ccc cca tcc cgg gag 48

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Asp Pro Pro Ser Arg Glu

1 5 10 15

gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc gag gtc aaa ggc ttc 96

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

20 25 30

tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag 144

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc 192

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

50 55 60

ttc ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg 240

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

65 70 75 80

aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac 288

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

85 90 95

acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt tga 321

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 130

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 130

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Asp Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 131

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR3

<400> 131

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
1 5

<210

> 132

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR2

<400> 132

Ala Ala Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 133

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> common light chain amino acid sequence

<400> 133

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210