



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년06월28일  
(11) 등록번호 10-1993921  
(24) 등록일자 2019년06월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/18 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)  
C12P 21/08 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2013-7017660  
(22) 출원일자(국제) 2011년12월06일  
심사청구일자 2016년12월01일  
(85) 번역문제출일자 2013년07월05일  
(65) 공개번호 10-2013-0135884  
(43) 공개일자 2013년12월11일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/063612  
(87) 국제공개번호 WO 2012/078688  
국제공개일자 2012년06월14일  
(30) 우선권주장  
61/420,291 2010년12월06일 미국(US)  
61/446,990 2011년02월25일 미국(US)  
(56) 선행기술조사문헌  
KR1020050102627 A\*  
WO2004067564 A2\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
시에틀 지네틱스, 인크.  
미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브  
에스.이. 21823  
(72) 발명자  
스미스, 마리아 레이아  
미국 98021 워싱턴 보텔 30번 드라이브 에스.이.  
21823  
수쓰만, 장고  
미국 98021 워싱턴 보텔 30번 드라이브 에스.이.  
21823  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 39 항

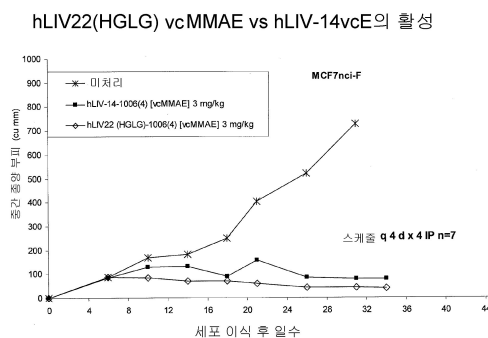
심사관 : 손영희

(54) 발명의 명칭 LIV-1에 대한 인간화 항체 및 이의 암을 치료하기 위한 용도

(57) 요약

본 발명은 LIV-1에 특이적으로 결합하는 인간화 항체를 제공한다. 항체는 다양한 암의 치료 및 진단 뿐만 아니라 LIV-1을 검출하는데 유용하다.

대표도



(72) 발명자

**아서, 윌리엄**

미국 98021 워싱턴 보텔 30번 드라이브 에스.이.  
21823

**네스테로바, 알비나**

미국 98021 워싱턴 보텔 30번 드라이브 에스.이.  
21823

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

SEQ ID NO:53에 지정된 아미노산 서열을 갖는 성숙 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:60에 지정된 아미노산 서열을 갖는 성숙 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간화 항체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 성숙 중쇄 가변 영역이 중쇄 불변 영역에 융합되고, 성숙 경쇄 가변 영역이 경쇄 불변 영역에 융합된 인간화 항체.

#### 청구항 3

제2항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 자연 인간 불변 영역에 비해 Fc감마 수용체에 대해 감소된 결합을 갖는 자연 인간 불변 영역의 돌연변이 형태인 인간화 항체.

#### 청구항 4

제2항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 IgG1 아이소형(isotype)의 중쇄 불변 영역인 인간화 항체.

#### 청구항 5

제2항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 SEQ ID NO:44를 포함하는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 불변 영역이 SEQ ID NO:42를 포함하는 아미노산 서열을 갖는 인간화 항체.

#### 청구항 6

제2항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 SEQ ID NO:46(S239C)을 포함하는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 불변 영역이 SEQ ID NO:42를 포함하는 아미노산 서열을 갖는 인간화 항체.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 항체가 세포독성제 또는 세포증식억제제에 컨쥬게이션된 인간화 항체.

#### 청구항 8

제1항에 있어서,  $0.5$  내지  $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 의 인간 또는 시노물구스 원숭이 LIV-1에 대한 결합 상수를 갖는 인간화 항체.

#### 청구항 9

제7항에 있어서, 인간화 항체가 링커를 통해 세포독성제 또는 세포증식억제제에 컨쥬게이션된 인간화 항체.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 링커가 분해가능한 펩티딜 링커인 인간화 항체.

#### 청구항 11

제10항에 있어서, 분해가능한 펩티딜 링커가 식  $\text{---A}_a\text{---W}_w\text{---Y}_y\text{---}$  을 갖는 인간화 항체:

여기서,

-A-는 스트레처(stretcher) 단위이고;

a는 0 또는 1이고;

각각의 -W-는 독립적으로 아미노산 단위이고;

w는 독립적으로 0 내지 12 범위의 정수이고;

-Y-는 스페이서 단위이고;

y는 0, 1 또는 2임.

#### 청구항 12

제11항에 있어서, 링커가 인간화 항체의 부분 환원 또는 전체 환원에 의해 수득된 인간화 항체의 설파이드릴(sulphydryl) 잔기에 부착되는 인간화 항체.

#### 청구항 13

제7항에 있어서, 세포독성제 또는 세포증식억제제가 항류불린 작용제인 인간화 항체.

#### 청구항 14

제7항에 있어서, 세포독성제 또는 세포증식억제제가 아우리스타틴(auristatin)인 인간화 항체.

#### 청구항 15

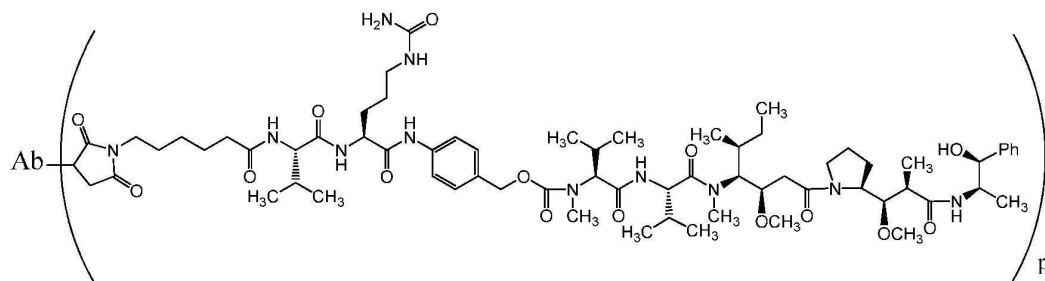
제14항에 있어서, 아우리스타틴이 모노메틸 아우리스타틴 F(MMAF)인 인간화 항체.

#### 청구항 16

제14항에 있어서, 아우리스타틴이 모노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)인 인간화 항체.

#### 청구항 17

제9항에 있어서, 링커가 하기의 구조를 갖는 항체 약물 컨쥬게이트를 형성하는 MMAE에 부착된 인간화 항체:



여기서, P는 1 내지 8의 수이고, Ab는 인간화 항체임.

#### 청구항 18

제17항에 있어서, 항체 약물 컨쥬게이트 집단에서 P의 평균값이 4인 인간화 항체.

#### 청구항 19

제1항에 정의된 성숙 중쇄 가변 영역 및 성숙 경쇄 가변 영역 중 하나 이상을 엔코딩하는 핵산.

#### 청구항 20

제19항의 핵산을 포함하는 벡터.

#### 청구항 21

제20항에 있어서, 발현 벡터인 벡터.

#### 청구항 22

제19항의 핵산을 포함하는 숙주 세포.

#### 청구항 23

제22항에 있어서, 차이니스 햄스터 난소(CHO) 세포인 숙주 세포.

#### 청구항 24

제22항의 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 항 LIV-1 항체를 제조하는 방법.

#### 청구항 25

제24항에 있어서, 숙주 세포에 의해 제조된 항-LIV-1 항체를 분리하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

#### 청구항 26

제22항의 숙주 세포를 배양하는 단계; 숙주 세포로부터 제조된 항-LIV-1 항체를 분리하는 단계; 및 항-LIV-1 항체를 세포독성제 또는 세포증식억제제에 컨쥬게이션하는 단계를 포함하는 항 LIV-1 항체-약물 컨쥬게이트를 제조하는 방법.

#### 청구항 27

제26항에 있어서, 항-LIV-1 항체가 링커를 통해 세포독성제 또는 세포증식억제제에 컨쥬게이션되는 방법.

#### 청구항 28

제27항에 있어서, 링커가 분해가능한 펩티딜 링커인 방법.

#### 청구항 29

제28항에 있어서, 분해가능한 펩티딜 링커가 식  $\text{---A}_a\text{---W}_w\text{---Y}_y\text{---}$  을 갖는 방법:

여기서,

-A-는 스트레처 단위이고;

a는 0 또는 1이고;

각각의 -W-는 독립적으로 아미노산 단위이고;

w는 독립적으로 0 내지 12 범위의 정수이고;

-Y-는 스페이서 단위이고;

y는 0, 1 또는 2임.

#### 청구항 30

제29항에 있어서, 링커가 항-LIV-1 항체의 부분 환원 또는 전체 환원에 의해 수득된 항-LIV-1 항체의 설파이드 링 잔기에 부착되는 방법.

#### 청구항 31

제26항에 있어서, 세포독성제 또는 세포증식억제제가 항튜불린 작용제인 방법.

#### 청구항 32

제26항에 있어서, 세포독성제 또는 세포증식억제제가 아우리스타틴인 방법.

#### 청구항 33

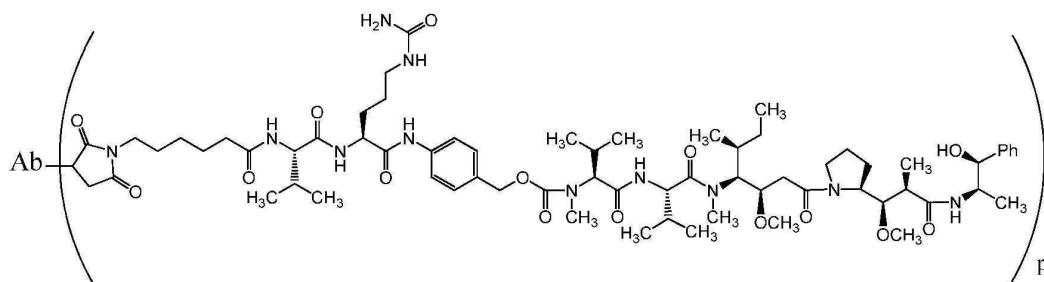
제32항에 있어서, 아우리스타틴이 MMAF인 방법.

#### 청구항 34

제32항에 있어서, 아우리스타틴이 MMAE인 방법.

#### 청구항 35

제27항에 있어서, 링커가 하기의 구조를 갖는 항체 약물 컨쥬게이트를 형성하는 MMAE에 부착된 방법:



여기서, P는 1 내지 8의 수이고, Ab는 항-LIV-1 항체임.

#### 청구항 36

제35항에 있어서, 항체 약물 컨쥬게이트 집단에서 P의 평균값이 4인 방법.

#### 청구항 37

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 인간화 항체를 포함하는, 암을 갖거나 암의 위험이 있는 환자를 치료하기 위한 약학 조성물.

#### 청구항 38

제37항에 있어서, 암이 유방암, 전립선암, 자궁경부암 또는 흑색종인 약학 조성물.

#### 청구항 39

제38항에 있어서, 유방암이 삼중 음성 유방암(triple negative breast cancer)인 약학 조성물.

#### 청구항 40

삭제

#### 청구항 41

삭제

#### 청구항 42

삭제

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련 출원의 전후 참조

[0002] 본 출원은 정규출원이며, 모든 목적상 각각의 전체내용이 참조로서 포함되는 2010년 12월 6일에 출원된 61/420,291호 및 2011년 2월 25일에 출원된 61/446,990호를 우선권으로 주장한다.

### 배경 기술

[0003] 배경

[0004] LIV-1은 아연 전달체 단백질의 LZT(LIV-1-ZIP 아연 전달체) 서브패밀리의 일원이다(Taylor et al., Biochim. Biophys. Acta 1611:16-30 (2003)). LIV-1 단백질의 컴퓨터 분석은 아연 메탈로프로테아제(zinc metalloprotease)의 촉매적 아연-결합 부위 모티프에 대한 컨센서스 서열에 적합되는 잠재적 메탈로프로테아제

모티프를 나타낸다. LIV-1 mRNA는 주로 유방, 전립선, 뇌하수체 및 뇌 조직에서 발현된다.

[0005] LIV-1 단백질은 또한 특정 암성 질환, 예를 들어, 유방암 및 전립선암과 관련되어 있다. LIV-1의 검출은 에스트로겐 수용체-양성 유방암과 연관된다(McClelland et al., Br. J. Cancer 77:1653-1656 (1998), and the metastatic spread of these cancers to the regional lymph nodes. Manning et al., Eur. J. Cancer 30A:675-678 (1994)).

## 발명의 내용

[0006] 청구된 발명의 개요

[0007] 본 발명은 SEQ ID NO:53과 적어도 90% 동일하고, 단, 위치 H27이 L에 의해 점유되고, 위치 H29가 I에 의해 점유되고, 위치 H30이 E에 의해 점유되고, 위치 H94가 V에 의해 점유된 아미노산 서열을 갖는 성숙 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:60과 적어도 90% 동일하고, 단, 위치 L36이 Y에 의해 점유되고, 위치 L46이 P에 의해 점유된 성숙 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간화 항체를 제공한다. 임의로, 인간화 항체는 SEQ ID NO:53의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:60의 3개의 CDR을 포함한다. 상기 CDR들은 도 16에 제시되어 있다. 임의로, 위치 H76은 N에 의해 점유된다. 임의로, 인간화 항체는 SEQ ID NO:53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 성숙 중쇄 가변 영역 및 SEQ ID NO:60과 적어도 95% 동일한 성숙 경쇄 가변 영역을 포함한다. 임의로, 성숙 중쇄 가변 영역은 중쇄 불변 영역에 융합되고, 성숙 경쇄 불변 영역은 경쇄 불변 영역에 융합된다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 자연 인간 불변 영역에 비해 Fc감마 수용체에 대한 감소된 결합을 갖는 자연 인간 불변 영역의 돌연변이 형태이다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 IgG1 아이소형(isotype)의 중쇄 불변 영역이다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:44를 포함하는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:42를 포함하는 아미노산 서열을 갖는다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:46(S239C)을 포함하는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:42를 포함하는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 상기 인간화 항체에서, SEQ ID NO:52 및 60 각각으로부터의 성숙 중쇄 가변 영역 및 성숙 경쇄 가변 영역의 CDR 내에서의 임의의 차이는 위치 H60-H65에 존재한다. 일부 상기 인간화 항체에서, 성숙 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:52 또는 53에 지정된 아미노산 서열을 갖고, 성숙 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:59 또는 60에 지정된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 상기 인간화 항체에서, 성숙 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:53에 지정된 아미노산 서열을 갖고, 성숙 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:60에 지정된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 상기 인간화 항체는 세포독성제 또는 세포증식억제제에 컨쥬게이션된다. 일부 상기 인간화 항체는  $0.5$  내지  $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 의 인간 또는 시노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey) LIV-1에 대한 결합 상수를 갖는다.

[0008] 본 발명은 또한 SEQ ID NO:52의 3개의 케이뱃(Kabat) CDR을 포함하고, 위치 H27이 L에 의해 점유되고, 위치 H29가 I에 의해 점유되고, 위치 H30이 E에 의해 점유되고, 위치 H76이 N에 의해 점유되고, 위치 H94가 V에 의해 점유된 성숙 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:60의 3개의 케이뱃 CDR을 포함하고, 단, 위치 L36이 Y에 의해 점유되고, 위치 L46이 P에 의해 점유된 성숙 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간화 항체를 제공한다. 본 발명은 또한 상기 정의된 인간화 항체 중 임의의 인간화 항체의 성숙 중쇄 가변 영역 및/또는 성숙 경쇄 가변 영역을 엔코딩하는 핵산을 제공한다.

[0009] 본 발명은 유효 요법량의 상기 정의된 인간화 항체 중 임의의 인간화 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암을 갖거나 암의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 암은, 예를 들어, 유방암, 자궁경부암, 흑색종, 또는 전립선암일 수 있다.

[0010] 본 발명은 상기 정의된 바와 같은 인간화 항체를 포함하는 약학적 조성물을 추가로 제공한다.

[0011] 본 발명은 흑색종 암 세포의 성장을 억제하기에 충분한 양의 LIV-1 특이적 항체 또는 LIV-1 항체 약물 컨쥬게이트를 피검체에 투여함으로써 LIV-1 단백질을 발현하는 흑색종에 걸린 피검체를 치료하는 방법을 추가로 제공한다.

[0012] 본 발명은 자궁경부암 세포의 성장을 억제하기에 충분한 양의 LIV-1 특이적 항체 또는 LIV-1 항체 약물 컨쥬게이트를 피검체에 투여함으로써 LIV-1 단백질을 발현하는 자궁경부암에 걸린 피검체를 치료하는 방법을 추가로 제공한다.

[0013] 본 발명은 HB(SEQ ID NO:10)와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 성숙 중쇄 가변 영역 및 LB(SEQ ID NO:15)와 적어도 90% 동일한 성숙 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간화 항체를 추가로 제공한다. 임의로, 항체는 HB와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 성숙 중쇄 가변 영역 및 LB와 적어도 95% 동일한 성숙 경쇄 가변

영역을 포함한다. 임의로, 임의의 상기 항체에서, 위치 H29, H30 및 H76은 I, E 및 N에 의해 점유되고, L36은 Y에 의해 점유된다. 임의로, 성숙 중쇄 가변 영역 및 SEQ ID NO:10의 가변 영역 프레임워크에서의 임의의 차이는 F에 의해 점유된 H27, N에 의해 점유된 H28, I에 의해 점유된 H48, K에 의해 점유된 H66, A에 의해 점유된 H67, A에 의해 점유된 H71, N에 의해 점유된 H76, N에 의해 점유된 H93, V에 의해 점유된 H94, L에 의해 점유된 L37, K에 의해 점유된 L39, K에 의해 점유된 L45, 및 L에 의해 점유된 L46으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 임의로, 성숙 중쇄 가변 영역의 3개의 CDR은 SEQ ID NO:10의 CDR들이고, 성숙 경쇄 가변 영역의 3개의 CDR은 SEQ ID NO:15의 CDR들이다. CDR은 도 1에 제시되어 있다. 임의로, 성숙 중쇄 가변 영역은 중쇄 불변 영역에 융합되고, 성숙 경쇄 불변 영역은 경쇄 불변 영역에 융합된다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 자연 인간 불변 영역에 비해 Fc감마 수용체에 대해 감소된 결합을 갖는 자연 인간 불변 영역의 돌연변이 형태이다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 IgG1 아이소형의 중쇄 불변 영역이다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:6을 포함하는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:4를 포함하는 아미노산 서열을 갖는다. 임의로, 중쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:8(S239C)을 포함하는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 불변 영역은 SEQ ID NO:4를 포함하는 아미노산 서열을 갖는다. 임의로, SEQ ID NO:10 및 15 각각으로부터의 성숙 중쇄 가변 영역 및 성숙 경쇄 가변 영역의 CDR 내에서의 임의의 차이는 위치 H60-H65에 존재한다. 임의로, 성숙 중쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:10을 포함하는 아미노산 서열을 갖고, 성숙 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO:15를 포함하는 아미노산 서열을 갖는다. 임의로, 항체는 세포독성제 또는 세포증식억제제에 컨쥬게이션된다. 바람직한 인간화 항체는 항체 BR2-14a보다 LIV-1에 대한 더 큰 친화성을 갖는다. 또 다른 구체예에서, 인간화 항체는  $0.5$  내지  $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 의 인간 또는 시노물구스 원숭이 LIV-1에 대한 결합 상수를 갖는다.

- [0014] 본 발명은 SEQ ID NO:10의 3개의 CDR을 포함하고, 위치 H29, H30 및 H76이 I, E 및 N에 의해 각각 점유된 성숙 중쇄 가변 영역, 및 SEQ ID NO:15의 3개의 CDR을 포함하고, 위치 L36이 Y에 의해 점유된 성숙 경쇄 가변 영역을 포함하는 인간화 항체를 추가로 제공한다.
- [0015] 본 발명은 상기 기재된 인간화 항체 중 임의의 인간화 항체의 성숙 중쇄 가변 영역 및/또는 성숙 경쇄 가변 영역을 엔코딩하는 핵산을 추가로 제공한다.
- [0016] 본 발명은 유효 요법량의 상기 기재된 바와 같은 인간화 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암을 갖거나 암의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 임의로, 암은 유방암, 자궁경부암, 흑색종, 또는 전립선암이다.
- [0017] 본 발명은 상기 기재된 바와 같은 인간화 항체를 포함하는 약학적 조성물을 추가로 제공한다.
- [0018] 본 발명은 유효 요법량의 LIV-1에 특이적으로 결합하는 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 삼중 음성 유방암(triple negative breast cancer)을 갖거나 삼중 음성 유방암의 위험이 있는 환자를 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 임의로, 상기 방법에서, 항체는 세포독성제 또는 세포증식억제제에 컨쥬게이션된다.
- [0019] **도면의 간단한 설명**
- [0020] **도 1**은 인간화 LIV-1 중쇄(상부 2개 패널) 및 경쇄(하부 2개 패널) 가변 영역을 갖는 모(parental) 뮤린 mAb(BR2-14a로 언급됨)의 아미노산 서열의 정렬을 제시한다.
- [0021] **도 2**는 인간화 LIV-1 mAb 및 모 뮤린 항체(BR2-14a로 언급됨)에 대한 결합 곡선을 제시한다.
- [0022] **도 3**은 인간화 LIV-1 mAb 및 모 뮤린 항체(BR2-14a로 언급됨)의 경쟁 결합 연구의 결과를 제시한다. 각각의 변이체 뒤의 괄호 내의 번호는 역돌연변이의 수를 나타낸다.
- [0023] **도 4**는 MCF7 세포에서의 포화 결합 연구의 결과를 제시한다. BR2-14a-AF는 AF-표지된 모 뮤린 항체를 나타낸다. hLIV-14는 LIV-1에 특이적으로 결합하는 인간화 항체인 AF-표지된 HBLB 항체를 나타낸다.
- [0024] **도 5**는 재조합 LIV-1 단백질을 발현하는 CHO 세포에서의 경쟁 결합 연구의 결과를 제시한다. BR2-14a는 모 뮤린 항체를 나타낸다. hLIV-14 HBLB WT는 HBLB 항체를 나타낸다. hLIV-14 HBLB S239C는 중쇄의 각각의 위치에서 세린으로부터 시스테인으로의 치환을 갖는 HBLB 항체를 나타낸다.
- [0025] **도 6**은 호르몬 처리 후 유방암 환자 샘플에서 IHC에 의한 LIV-1 단백질 발현의 분석을 제시한다.
- [0026] **도 7**은 호르몬-난치성 전이성 전립선암 환자 샘플에서 IHC에 의한 LIV-1 단백질 발현의 분석을 제시한다.
- [0027] **도 8**은 삼중 음성 유방암 환자 샘플에서 IHC에 의한 LIV-1 단백질 발현의 분석을 제시한다.



- [0028] 도 9는 hLIV-14 항체 약물 컨쥬게이트, 즉, vcMMAE(1006) 또는 mcMMAF(1269)에 컨쥬게이션된 HBLB mAb, 뿐만 아니라 대조군 류린(mIgG) 및 인간(hIgG) 항체의 컨쥬게이트에서의 세포독성 검정의 결과를 제시한다. hLIV-14-SEA-1006은 vcMMAE(1006)에 컨쥬게이션된 HBLB mAb의 푸코실화되지 않은 형태를 나타낸다.
- [0029] 도 10은 인간 NK 세포(공여체 1; V/V)를 이용한 MCF7 세포에서의 시험관내 ADCC 검정의 결과를 제시한다. hLIV-14 WT는 HBLB mAb를 나타낸다. hLIV-14 SEA는 HBLB mAb의 푸코실화되지 않은 형태를 나타낸다. hLIV-14 mcMMAF는 mcMMAF에 컨쥬게이션된 HBLB mAb의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14 vcMMAE는 vcMMAE에 컨쥬게이션된 HBLB mAb의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14 SEA vcMMAE는 HBLB mAb-vcMMAE 항체 약물 컨쥬게이트의 푸코실화되지 않은 형태를 나타낸다.
- [0030] 도 11은 인간 NK 세포(공여체 2)를 이용한 MCF7 세포에서의 시험관내 ADCC 검정의 결과를 제시한다. hLIV-14 WT는 HBLB mAb를 나타낸다. hLIV-14 SEA는 HBLB mAb의 푸코실화되지 않은 형태를 나타낸다. cLIV-14 SEA는 키메라 모 류린 항체의 푸코실화되지 않은 형태를 나타낸다. hLIV-14 mcF(4)는 항체 당 평균 4개의 mcMMAF 약물 링커 분자를 갖는 HBLB mAb의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14 vcE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 HBLB mAb의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14 vcE(4) SEA는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 HBLB mAb-vcMMAE 항체 약물 컨쥬게이트의 푸코실화되지 않은 형태를 나타낸다. hIgG는 대조군 인간 IgG를 나타낸다. H00-mcF(4)는 항체 당 평균 4개의 mcMMAF 약물 링커 분자를 갖는 비결합 항체의 대조군 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. H00-vcE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 비결합 항체의 대조군 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다.
- [0031] 도 12는 누드 마우스에서의 MCF7 유방암 세포주의 이종이식 연구의 결과를 제시한다. cLIV-14-mcMMAF(4)는 항체 당 평균 4개의 mcMMAF 약물 링커 분자를 갖는 모 류린 항체의 키메라 형태의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. cLIV-14-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 모 류린 항체의 키메라 형태의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. H00-mcMMAF(4)는 항체 당 평균 4개의 mcMMAF 약물 링커 분자를 갖는 비결합 대조군 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. H00-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 비결합 대조군 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. 용량 및 투여 시간이 도면 상에 표시된다.
- [0032] 도 13은 수컷 누드 마우스에서의 PC3 전립선암 세포주의 이종이식 연구의 결과를 제시한다. cLIV-14-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 모 류린 항체의 키메라 형태의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hBU12-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 항-CD19 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. 용량 및 투여 시간이 도면 상에 표시된다.
- [0033] 도 14는 누드 마우스에서의 MCF7 유방암 세포주의 이종이식 연구의 결과를 제시한다. hLIV-14-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 HBLB 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14d-vcMMAE(2)는 각각의 중쇄의 S239C 위치에 각각 컨쥬게이션된 항체 당 평균 2개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 HBLB 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. H00-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 비결합 대조군 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. 용량 및 투여 시간이 도면 상에 표시된다.
- [0034] 도 15는 수컷 누드 마우스에서의 PC3 전립선암 세포주의 이종이식 연구의 결과를 제시한다. hLIV-14-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 HBLB 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14-mcMMAF(4)는 항체 당 평균 4개의 mcMMAF 약물 링커 분자를 갖는 HBLB 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14d-vcMMAE(2)는 각각의 중쇄의 S239C 위치에 각각 컨쥬게이션된 항체 당 평균 2개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 HBLB 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. hLIV-14d-mcMMAF(2)는 각각의 중쇄의 S239C 위치에 각각 컨쥬게이션된 항체 당 평균 2개의 mcMMAF 약물 링커 분자를 갖는 HBLB 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. H00-vcMMAE(4)는 항체 당 평균 4개의 vcMMAE 약물 링커 분자를 갖는 비결합 대조군 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. H00-mcMMAF(4)는 항체 당 평균 4개의 mcMMAF 약물 링커 분자를 갖는 비결합 대조군 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 나타낸다. 용량 및 투여 시간이 도면 상에 표시된다.
- [0035] 도 16A 및 16B는 인간화 중쇄(도 16A) 및 경쇄(도 16B) 성숙 가변 영역과 마우스 BR2-22a의 중쇄 및 경쇄 성숙 가변 영역의 정렬을 제시한다.
- [0036] 도 17은 류린 모노클로날 항 LIV-1 항체 BR2-22a로부터 유래된 인간화 중쇄 HA-HF 및 인간화 경쇄 LA-LF의 다양한 퍼뮤테이션(permutation)의 경쟁 결합 검정을 제시한다. 각각의 경쇄 또는 중쇄의 류린 역돌연변이의 전체 수가 괄호 내에 제시된다. HELF만 충분한 결합의 보유를 나타내었다.
- [0037] 도 18은 항원 결합에 대한 개별적 역돌연변이의 기여를 시험하기 위한 HE 및 LF 사슬의 체계적 변화를

제시한다. 잠재적 체세포 초돌연변이(hypermuation) 부위가 팔호 내에 있다. 마우스 잔기에는 밑줄이 있다. 나머지 잔기는 인간 점라인(germline) 잔기이다.

[0038] 도 19는 도면의 상부에서 LF 변이체의 경쟁 결합을 제시한다. 시험된 역돌연변이는 도면의 하부에 제시된다. 마우스 잔기에는 밑줄이 있다. 나머지 잔기는 인간 점라인 잔기이다.

[0039] 도 20은 도면의 상부에서 HE 변이체의 경쟁 결합을 제시한다. 시험된 역돌연변이는 도면의 하부에 제시된다. 마우스 잔기에는 밑줄이 있다. 나머지 잔기는 인간 점라인 잔기이다.

[0040] 도 21은 HE, HF, HG 및 LF 및 LG의 다양한 퍼뮤테이션의 경쟁 결합을 제시한다.

[0041] 도 22는 CHO 세포로부터 발현된 인간 및 시노물구스 LIV-1에 대한 인간화 LIV14 항체 및 인간화 LIV22 항체의 포화 결합을 제시한다.

[0042] 도 23은 처리 144시간 후의 MCF-7 세포에서의 인간화 LIV22-vcMMAE의 세포독성 활성을 제시한다. h00-1006은 대조군 약물-컨쥬게이션된 항체이다.

[0043] 도 24는 처리 144시간 후의 MCF-7 세포에서의 hLIV22-mcMMAF의 세포독성 활성을 제시한다. h00-1269는 대조군 약물-컨쥬게이션된 항체이다.

[0044] 도 25는 누드 암컷 마우스의 PC3(DSMZ) 전립선암종 모델에서의 hLIV22 항체의 활성을 제시한다. 투여일은 X-축상의 삼각형으로 표시된다.

[0045] 도 26은 누드 마우스의 MCF7(NCI) 유방암종 종양에서의 hLIV22 항체의 활성을 제시한다.

[0046] 도 27은 도 26과 동일한 모델에서의 hLIV22 및 hLIV14의 활성을 비교한다.

[0047] 도 28은 흑색종 암 환자 샘플에서의 IHC에 의한 LIV-1 단백질 발현의 분석을 제시한다.

[0048] 정의

[0049] 모노클로날 항체는 통상적으로 분리된 형태로 제공된다. 이는 항체가 통상적으로 이의 생성 또는 정제로부터 발생하는 간섭 단백질 및 다른 오염물질로부터 적어도 50% w/w 순수하지만, 모노클로날 항체가 이의 사용을 돕기 위한 과량의 약학적으로 허용되는 담체(들) 또는 다른 비히클과 조합될 가능성을 배제하지는 않는 것을 의미한다. 때때로, 모노클로날 항체는 생성 또는 정제로부터의 간섭 단백질 및 오염물질로부터 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95 또는 99% w/w 순수하다.

[0050] 모노클로날 항체의 이의 표적 항원에 대한 특이적 결합은 적어도  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$ , 또는  $10^{10} \text{ M}^{-1}$ 의 친화성을 의미한다. 특이적 결합은 크기에 있어서 검출가능하게 더 높고, 적어도 하나의 관련되지 않은 표적에 대해 발생하는 비-특이적 결합과 구별가능하다. 특이적 결합은 특정 작용기 또는 특정 공간적 적합부(예를 들어, 자물쇠 및 열쇠 유형) 사이의 결합의 형성의 결과일 수 있는 반면, 비특이적 결합은 보통 반데르발스힘의 결과이다. 그러나, 특이적 결합은 모노클로날 항체가 하나 및 단지 하나의 표적에 결합하는 것을 반드시 의미하지는 않는다.

[0051] 기본 항체 구조 단위는 서브유닛의 테트라머이다. 각각의 테트라머는 폴리펩티드 사슬의 2개의 동일한 쌍을 포함하며, 각각의 쌍은 하나의 "경쇄"(약 25 kDa) 및 하나의 "중쇄"(약 50-70 kDa)를 갖는다. 각각의 사슬의 아미노-말단 부분은 주로 항원 인지를 담당하는 약 100 내지 110개 또는 그 초과 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 이러한 가변 영역은 처음에는 분해가능한 신호 펩티드에 연결되어 발현된다. 신호 펩티드가 없는 가변 영역은 때때로 성숙 가변 영역으로 언급된다. 따라서, 예를 들어, 경쇄 성숙 가변 영역은 경쇄 신호 펩티드가 없는 경쇄 가변 영역을 의미한다. 각각의 사슬의 카르복시-말단 부분은 효과기 기능을 주로 담당하는 불변 영역을 규정한다.

[0052] 경쇄는 카파 또는 람다로 분류된다. 중쇄는 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론으로 분류되고, 항체의 아이소형은 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE로 각각 규정된다. 경쇄 및 중쇄 내에서, 가변 및 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결되고, 중쇄는 또한 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 포함한다(일반적으로, 모든 목적상 전체내용이 참조로 포함되는, *Fundamental Immunology* (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y., 1989, Ch. 7 참조)).

[0053] 각각의 경쇄/중쇄 쌍의 성숙 가변 영역은 항체 결합 부위를 형성한다. 따라서, 온전한 항체는 2개의 결합 부위를 갖는다. 이기능성 또는 이특이성 항체를 제외하고는, 2개의 결합 부위는 동일하다. 사슬은 상보성 결정 영

역 또는 CDR로도 언급되는 3개의 과가변 영역에 의해 연결된 비교적 보존된 프레임워크 영역(FR)의 동일한 일반적인 구조를 모두 나타낸다. 각각의 쌍의 2개의 사슬로부터의 CDR은 프레임워크 영역에 의해 정렬되어 특이적 에피토프에 대한 결합을 가능케 한다. N-말단으로부터 C-말단 방향으로, 경쇄 및 중쇄 둘 모두는 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 각각의 도메인에 대한 아미노산의 지정은 케이벳(Kabat)(*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991), 또는 초티아 및 레스크(Chothia & Lesk)(*J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); Chothia et al., *Nature* 342:878-883 (1989))의 정의에 따른다. 케이벳은 또한 다양한 중쇄 사이 또는 다양한 경쇄 사이의 상응하는 잔기가 동일 번호로 지정되는 널리 사용되는 넘버링 규칙(케이벳 넘버링)을 제공한다.

[0054] 용어 "항체"는 온전한 항체 및 이의 결합 단편을 포함한다. 통상적으로, 개별적 중쇄, 경쇄 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, F(ab)c, 디아바디(diabody), Dab, 나노바디(nanobody), 및 Fv를 포함하는 항체 단편은 이들이 유래된 온전한 항체와 표적에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁한다. 단편은 재조합 DNA 기술, 또는 온전한 면역글로불린의 효소적 또는 화학적 분리에 의해 생성될 수 있다. 용어 "항체"는 또한 디아바디(동종이합체 Fv 단편) 또는 미니바디(V<sub>L</sub>-V<sub>H</sub>-C<sub>H3</sub>), 이특이성 항체 등을 포함한다. 이특이성 또는 이기능성 항체는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공 하이브리드 항체이다(예를 들어, Songsivilai and Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.*, 79:315-321 (1990); Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148:1547-53 (1992) 참조). 용어 "항체"는 항체 단독(네이티브 항체) 또는 세포독성 또는 세포증식억제 약물에 컨쥬게이션된 항체를 포함한다.

[0055] 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는 항원 상의 부위를 나타낸다. 에피토프는 하나 이상의 단백질의 삼차 폴딩에 의해 병렬된 연속 아미노산 또는 불연속 아미노산으로부터 형성될 수 있다. 연속 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 통상적으로 변성 용매에 대한 노출시에 유지되는 반면, 삼차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 통상적으로 변성 용매를 이용한 처리시에 상실된다. 에피토프는 통상적으로 독특한 공간 형태의 적어도 3개, 더욱 일반적으로 적어도 5개 또는 8-10개의 아미노산을 포함한다. 에피토프의 공간 형태를 결정하는 방법은, 예를 들어, x-선 결정학 및 이차원 핵 자기 공명을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Epitope Mapping Protocols, in *Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996)]을 참조하라.

[0056] 동일 또는 중첩 에피토프를 인지하는 항체는 표적 항원에 대한 또 다른 항체의 결합과 경쟁하는 한 항체의 능력을 나타내는 간단한 면역검정으로 확인될 수 있다. 항체의 에피토프는 또한 접촉 잔기를 확인하기 위한 항체의 항원에 결합된 항체의 X-선 결정학에 의해 규정될 수 있다. 대안적으로, 2개의 항체는, 한 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 항원 내의 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우에 동일 에피토프를 갖는다. 2개의 항체는, 한 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 일부 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우 중첩 에피토프를 갖는다.

[0057] 항체 사이의 경쟁은 시험 중인 항체가 공통의 항원에 대한 참조 항체의 특이적 결합을 억제하는 검정에 의해 결정된다(예를 들어, Junghans et al., *Cancer Res.* 50:1495, 1990 참조). 과량의 시험 항체(예를 들어, 적어도 2x, 5x, 10x, 20x 또는 100x)가 경쟁 결합 검정으로 측정시 참조 항체의 결합을 적어도 50%, 바람직하게는 75%, 90% 또는 99% 억제하는 경우 시험 항체는 참조 항체와 경쟁한다. 경쟁 검정에 의해 확인된 항체(경쟁 항체)는 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체, 및 입체구조적 방해 발생시키기에 참조 항체에 의해 결합된 에피토프에 충분히 인접한 인접 에피토프에 결합하는 항체를 포함한다.

[0058] 용어 "환자"는 예방적 또는 치료적 치료를 받는 인간 및 다른 포유동물 피검체를 포함한다.

[0059] 아미노산 치환을 보존성 또는 비보존성으로 분류하기 위해, 아미노산은 다음과 같이 그룹화된다: 그룹 I(소수성 측쇄): met, ala, val, leu, ile; 그룹 II(중성 친수성 측쇄): cys, ser, thr; 그룹 III(산성 측쇄): asp, glu; 그룹 IV(염기성 측쇄): asn, gln, his, lys, arg; 그룹 V(사슬 배향에 영향을 미치는 잔기): gly, pro; 및 그룹 VI(방향족 측쇄): trp, tyr, phe. 보존성 치환은 동일 부류 내의 아미노산 사이의 치환을 포함한다. 비-보존성 치환은 상기 부류 중 하나의 일원을 또 다른 부류의 일원으로 교환하는 것으로 구성된다.

[0060] 서열 동일성의 백분율은 케이벳 넘버링 규칙에 의해 최대로 정렬된 항체 서열을 이용하여 결정된다. 정렬 후, 주체 항체 영역(예를 들어, 중쇄 또는 경쇄의 전체 성숙 가변 영역)이 참조 항체의 동일 영역과 비교되는 경우, 주체 및 참조 항체 영역 사이의 서열 동일성 백분율은, 겹은 계수하지 않고, 백분율로 전환시키기 위해 100이 곱해진, 2개의 영역의 정렬된 위치의 전체 수에 의해 나누어진 주체 및 참조 항체 영역 둘 모두의 동일 아미노산에 의해 점유된 위치의 수이다.

[0061] 하나 이상의 언급된 구성요소를 "포함하는" 조성물 또는 방법은 특별히 언급되지 않은 다른 구성요소를 포함할

수 있다. 예를 들어, 항체를 포함하는 조성물은 항체를 단독으로 함유할 수 있거나 다른 성분과 함께 함유할 수 있다.

[0062] 일정 범위의 값의 지정은 상기 범위 내 또는 상기 범위를 규정하는 모든 정수를 포함한다.

[0063] 항체 효과기 기능은 Ig의 Fc 도메인(들)에 의해 제공되는 기능을 나타낸다. 이러한 기능은, 예를 들어, 항체-의존성 세포 세포독성, 항체-의존성 세포 포식작용 또는 보체-의존성 세포독성일 수 있다. 이러한 기능은, 예를 들어, 포식 또는 용해 활성화와 함께 면역 세포 상의 Fc 수용체에 대한 Fc 효과기 도메인(들)의 결합, 또는 보체 시스템의 성분에 대한 Fc 효과기 도메인(들)의 결합에 의해 실행될 수 있다. 통상적으로, Fc-결합 세포 또는 보체 성분에 의해 매개되는 효과(들)은 LIV-1 표적화 세포의 억제 및/또는 고갈을 발생시킨다. 항체의 Fc 영역은 Fc 수용체(FcR)-발현 세포를 보충할 수 있고, 이들을 항체-코팅된 표적 세포와 병렬시킬 수 있다. Fc  $\gamma$  RIII(CD16), Fc  $\gamma$  RII(CD32) 및 Fc  $\gamma$  RIII(CD64)를 포함하는 IgG에 대한 표면 FcR을 발현하는 세포는 IgG-코팅된 세포의 파괴를 위한 효과기 세포로 작용할 수 있다. 상기 효과기 세포는 단핵구, 대식세포, 자연살(NK)세포, 호중구 및 호산구를 포함한다. IgG에 의한 Fc  $\gamma$  R의 연동은 항체-의존성 세포 세포독성(ADCC) 또는 항체-의존성 세포 포식작용(ADCP)을 활성화시킨다. ADCC는 막 포어(pore)-형성 단백질 및 프로테아제의 분비를 통해 CD16<sup>+</sup> 효과기 세포에 의해 매개되는 한편, 포식작용은 CD32<sup>+</sup> 및 CD64<sup>+</sup> 효과기 세포에 의해 매개된다(*Fundamental Immunology*, 4<sup>th</sup> ed., Paul ed., Lippincott-Raven, N.Y., 1997, Chapters 3, 17 and 30; Uchida *et al.*, 2004, *J. Exp. Med.* 199:1659-69; Akewanlop *et al.*, 2001, *Cancer Res.* 61:4061-65; Watanabe *et al.*, 1999, *Breast Cancer Res. Treat.* 53:199-207 참조). ADCC 및 ADCP에 더하여, 세포-결합된 항체의 Fc 영역은 또한 보체-의존성 세포독성(CDC)을 유도하는 보체 고전 경로를 활성화시킬 수 있다. 보체 시스템의 C1q는 항체가 항원과 복합체화되는 경우 항체의 Fc 영역에 결합한다. 세포-결합된 항체에 대한 C1q의 결합은 C4 및 C2의 단백질 분해 활성화를 포함하는 사건의 캐스케이드를 개시시켜 C3 전환효소를 발생시킬 수 있다. C3 전환효소에 의한 C3의 C3b로의 분해는 C5b, C6, C7, C8 및 C9를 포함하는 말단 보체 성분의 활성화를 가능케 한다. 집합적으로, 이들 단백질은 항체-코팅된 세포 상에서 막-공격 복합체 포어를 형성시킨다. 이들 포어는 세포막 온전성을 파괴하고, 표적 세포를 사멸시킨다(*Immunobiology*, 6<sup>th</sup> ed., Janeway *et al.*, Garland Science, N.Y., 2005, Chapter 2 참조).

[0064] 용어 "항체-의존성 세포 세포독성" 또는 ADCC는 항체-코팅된 표적 세포와 용해 활성을 갖는 면역 세포(효과기 세포로도 언급됨)의 상호작용에 좌우되는 세포 사멸을 유도하는 메커니즘이다. 이러한 효과기 세포는 자연살세포, 단핵구/대식세포 및 호중구를 포함한다. 효과기 세포는 이들의 항원-결합 부위를 통해 표적 세포에 결합된 Ig의 Fc 효과기 도메인(들)에 부착된다. 항체-코팅된 표적 세포의 사멸은 효과기 세포 활성의 결과로서 발생한다.

[0065] 용어 "항체-의존성 세포 포식작용" 또는 ADCP는 항체-코팅된 세포가 전체적 또는 부분적으로 Ig의 Fc 효과기 도메인(들)에 결합하는 포식 면역 세포(예를 들어, 대식세포, 호중구 및 수지상 세포)에 의해 내재화되는 과정을 나타낸다.

[0066] 용어 "보체-의존성 세포독성" 또는 CDC는 표적-결합된 항체의 Fc 효과기 도메인(들)이 표적 세포 막 내의 구멍의 형성을 궁극적으로 발생시키는 일련의 효소적 반응을 활성화시키는, 세포 사멸을 유도하는 메커니즘을 나타낸다. 통상적으로, 항원-항체 복합체, 예를 들어, 항체-코팅된 표적 세포 상의 항원-항체 복합체는 보체 성분 C1q에 결합하고 이를 활성화시키고, 차례로 보체 캐스케이드를 활성화시켜 표적 세포 사멸을 발생시킨다. 보체의 활성화는 또한 백혈구 상의 보체 수용체(예를 들어, CR3)에 결합함으로써 ADCC를 촉진하는 표적 세포 표면 상의 보체 성분의 침착을 발생시킬 수 있다.

[0067] "세포독성 효과"는 표적 세포의 고갈, 제거 및/또는 사멸을 나타낸다. "세포독성 작용제"는 세포에 대해 세포독성 효과를 갖는 작용제를 나타낸다. 세포독성제는 항체에 컨쥬게이션되거나, 항체와 함께 투여될 수 있다.

[0068] "세포증식억제 효과"는 세포 증식의 억제를 나타낸다. "세포증식억제제"는 세포에 대해 세포증식억제 효과를 가짐으로써 세포의 특정 서브셋의 성장 및/또는 확장을 억제하는 작용제를 나타낸다. 세포증식억제제는 항체에 컨쥬게이션될 수 있거나, 항체와 함께 투여될 수 있다.

[0069] 용어 "약학적으로 허용되는"은 연방 또는 주 정부의 관리 기관에 의해 승인되거나 승인가능하고, 동물, 더욱 특히 인간에서 사용하기 위한 미국 약전 또는 다른 일반적으로 승인된 약전에 나열된 것을 의미한다. 용어 "약학적으로 상용성인 성분"은 항-LIV-1 항체와 함께 약학적으로 허용되는 희석제, 애쥬번트, 부형제, 또는 비히클을



나타낸다.

[0070] 구 "약학적으로 허용되는 염"은 항-LIV-1 항체 또는 이의 컨쥬게이트 또는 항-LIV-1 항체와 함께 투여되는 작용제의 약학적으로 허용되는 유기 또는 무기 염을 나타낸다. 예시적 염은 설페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 니트레이트, 비설페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레에이트, 탄네이트, 판토테네이트, 비타르트레이트, 아스코베이트, 석시네이트, 말레에이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설포네이트, 에탄설포네이트, 벤젠설포네이트, p 톨루엔설포네이트, 및 파모에이트(즉, 1,1' 메틸렌 비스-(2 하이드록시 3 나프토에이트)) 염을 포함한다. 약학적으로 허용되는 염은 또 다른 분자, 예를 들어, 아세테이트 이온, 석시네이트 이온 또는 다른 반대이온의 포함을 수반할 수 있다. 반대이온은 모(parent) 화합물 상의 전하를 안정화시키는 임의의 유기 또는 무기 모이티티(moiety)일 수 있다. 또한, 약학적으로 허용되는 염은 이의 구조에서 하나 이상의 하전된 원자를 가질 수 있다. 다수의 하전된 원자가 약학적으로 허용되는 염의 일부인 예는 다수의 반대이온을 가질 수 있다. 그러므로, 약학적으로 허용되는 염은 하나 이상의 하전된 원자 및/또는 하나 이상의 반대이온을 가질 수 있다.

[0071] 문맥으로부터 달리 명백하지 않은 한, 용어 "약"은 언급된 값의 표준편차 내의 값을 포함한다.

## [0072] 상세한 설명

### [0073] I. 총론

[0074] 본 발명은 LIV-1에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체를 제공한다. 항체는 다양한 암의 치료 및 진단 뿐만 아니라 LIV-1을 검출하는데 유용하다.

### [0075] II. 표적 분자

[0076] 달리 표시하지 않는 한, LIV-1은 인간 LIV-1을 의미한다. 예시적 인간 서열은 지정된 Swiss Prot 등록번호 Q13433이다. Q13433은 본원에서 SEQ ID NO:83으로 포함된다. 3개의 변이체 아이소형 및 하나의 다형태가 공지되어 있다. 인간 LIV-1 단백질의 두번째 형태인 등록번호 AAA96258.2는 본원에 SEQ ID NO:84로 포함된다. 4개의 세포외 도메인은 Q13433의 잔기 29-325, 377-423, 679-686 및 746-755 각각에 의해 결합된다.

[0077] 문맥으로부터 달리 명백하지 않은 한, 참조 LIV-1은 적어도 단백질의 세포외 도메인, 보통 분해가능한 신호 펩티드(Q13433의 아미노산 1-28) 이외의 완전한 단백질을 의미한다.

### [0078] III. 본 발명의 항체

#### [0079] A. 결합 특이성 및 기능적 특성

[0080] 본 발명은 2개의 마우스 항체 BR2-14a 및 BR2-22a로부터 유래된 인간화 항체를 제공한다. 달리 특이적으로 표시하지 않는 한, 본 발명의 개시는 상기 항체 둘 모두에 관한 것이다. 2개의 마우스 항체는 성숙 중쇄 및 경쇄 가변 영역에서 서로 94% 및 91%의 서열 동일성을 나타낸다. 2개의 항체는 인간 LIV-1 상의 동일 또는 중첩 에피토프에 결합한다. 그러나, BR2-22a 항체는 도 22에 제시된 바와 같이 인간 LIV-1에 대해 약 10배 더 높은 친화성 및 시노물구스 원숭이 LIV-1에 대해 약 3배 더 높은 친화성을 갖는다.

[0081] 마우스 BR2-14a 항체의 인간화 형태의 친화성(즉,  $K_a$ )은 바람직하게는 인간 LIV-1에 대한 마우스 항체 BR2-14a의 친화성의 5배 또는 2배 내이다. 인간화 BR2-14a 항체는 이들이 유래된 마우스 항체와 같이 자연 형태 및/또는 CHO 세포로부터 재조합적으로 발현된 인간 LIV-1에 특이적으로 결합한다. 바람직한 인간화 BR2-14a 항체는 인간 LIV-1에 대한 BR2-14a의 친화성과 동일하거나 이보다 큰(즉, 측정시의 오차한계를 넘어 더 큰) 친화성(예를 들어, 1.1-5배, 1.1 내지 3배, 1.5 내지 3배, 1.7 내지 2.3배 또는 1.7-2.1배의 친화성 또는 BR2-14a의 친화성의 약 2배)을 갖는다. 바람직한 인간화 BR2-14a 항체는 인간 LIV-1에 대한 결합에 대해 동일 에피토프에 결합하고/하거나 BR2-14a와 경쟁한다. 바람직한 인간화 BR2-14a 항체는 또한 LIV-1의 시노물구스-동족체에 결합하고, 이에 따라 비인간 영양류에서의 전임상 시험을 가능케 한다.

[0082] 자연 발현되거나 CHO 세포로부터 발현된 인간 LIV-1에 대한 마우스 BR2-22a 항체의 인간화 형태의 친화성(즉,  $K_a$ )은 바람직하게는 마우스 항체 BR2-22의 친화성의 5배 또는 2배 내이다. 일부 인간화 BR2-22a 항체는 BR2-22a의 결합 상수와 본질적으로 동일한 결합 상수(즉, 실험 오차 내)를 갖는다. 일부 인간화 BR2-22a 항체는 BR2-22a 항체의 결합 상수인 0.5 내지 1 또는 0.5-1.5의 범위 내의 결합 상수를 갖는다. 바람직한 인간화 BR2-22a 항체는 CHO 세포로부터 발현된 인간 LIV-1에 대해  $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 보다 크거나, 0.5 내지  $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 의 범위 내

또는 약  $0.8 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$  (측정시 +/- 오차)의 결합 상수를 갖는다. 본 출원의 다른 곳에서도 같이 여기서, 친화성은 실시예의 방법에 따라 측정될 수 있다. 바람직한 인간화 BR2-22a 항체는 인간 LIV-1에 대한 결합에 대해 동일 에피토프에 결합하고/하거나 BR2-22a와 경쟁한다. 인간화 BR2-22a 항체는 LIV-1의 시노물구스-동족체 뿐만 아니라 인간 LIV-1에 결합한다. 바람직한 인간화 BR2-22a 항체는 CHO 세포로부터 모두 발현된 인간 및 시노물구스 원숭이 LIV-1에 본질적으로 동일한 결합 상수(실험 오차 내)로 결합하고, 이에 따라 비인간 영장류에서의 전임상 시험을 가능케 하고, 이러한 시험의 예측 정확도를 증가시킨다.

[0083] 바람직한 항체(인간화 BR2-14a 및 인간화 BR2-22a 둘 모두)는 동물 모델 또는 임상 시험에서 배양 중인 증식하는 암성 세포에 대해서 관찰되는 바와 같이 암(예를 들어, 세포의 성장, 전이 및/또는 유기체에 대한 치사성)을 억제한다. 동물 모델은 LIV-1-발현 인간 종양 세포주를 적절한 면역결핍 설치류 계통, 예를 들어, 무흉선 누드 마우스 또는 SCID 마우스에 이식함으로써 형성될 수 있다. 이들 종양 세포주는 피하 주사에 의한 고형 종양 또는 정맥내 주사에 의한 과종 종양으로서 면역결핍 설치류 숙주에서 확립될 수 있다. 숙주 내에서 확립된 후, 이들 종양 모델은 실시예에 기재된 바와 같이 항-LIV-1 항체 또는 이의 컨주게이션된 형태의 치료 효능을 평가하는데 적용될 수 있다.

#### [0084] B. 인간화 항체

[0085] 인간화 항체는 비-인간 "공여체" 항체로부터의 CDR이 인간 "수용체" 항체 서열에 이식된 유전학적으로 조작된 항체이다(예를 들어, Queen, US 5,530,101 and 5,585,089; Winter, US 5,225,539; Carter, US 6,407,213; Adair, US 5,859,205; and Foote, US 6,881,557 참조). 수용체 항체 서열은, 예를 들어, 성숙 인간 항체 서열, 상기 서열의 복합물, 인간 항체 서열의 컨센서스 서열, 또는 점라인 영역 서열일 수 있다. 중쇄에 대한 바람직한 수용체 서열은 점라인  $V_H$  엑손  $V_H1-2$ (문헌에서 또한 HV1-2로도 언급됨)(Shin *et al.*, 1991, *EMBO J.* 10:3641-3645)이고, 힌지 영역( $J_H$ )에 대한 바람직한 수용체 서열은 엑손  $J_H-6$ (Mattila *et al.*, 1995, *Eur. J. Immunol.* 25:2578-2582)이다. 경쇄에 대해 바람직한 수용체 서열은 엑손 VK2-30(문헌에서 또한 KV2-30으로도 언급됨)이고, 힌지 영역에 대해 바람직한 수용체 서열은 엑손  $J_K-4$ 이다(Hieter *et al.*, 1982, *J. Biol. Chem.* 257:1516-1522). 따라서, 인간화 항체는 전적으로 또는 실질적으로 공여체 항체로부터의 일부 또는 전부 CDR, 및 존재시 전적으로 또는 실질적으로 인간 항체 서열로부터의 가변 영역 프레임워크 서열 및 불변 영역을 갖는 항체이다. 유사하게, 인간화 중쇄는 전적으로 또는 실질적으로 공여체 항체 중쇄로부터의 적어도 1개, 2개 및 보통 3개 모두의 CDR, 및 존재시 실질적으로 인간 중쇄 가변 영역 프레임워크 및 불변 영역 서열로부터의 중쇄 가변 영역 프레임워크 서열 및 중쇄 불변 영역을 갖는다. 유사하게, 인간화 경쇄는 전적으로 또는 실질적으로 공여체 항체 경쇄로부터의 적어도 1개, 2개 및 보통 3개 모두의 CDR, 및 존재시 실질적으로 인간 경쇄 가변 영역 프레임워크 및 불변 영역 서열로부터의 경쇄 가변 영역 프레임워크 서열 및 경쇄 불변 영역을 갖는다. 나노바디 및 dAb와는 달리, 인간화 항체는 인간화 중쇄 및 인간화 경쇄를 포함한다. 인간화 항체의 CDR은 상응하는 잔기(케이벳에 의해 규정된 바와 같음)의 적어도 60%, 85%, 90%, 95% 또는 100%가 각각의 CDR 사이에서 동일한 경우에 실질적으로 비-인간 항체의 상응하는 CDR로부터 유래된다. 항체 사슬의 가변 영역 프레임워크 서열 또는 항체 사슬의 불변 영역은 케이벳에 의해 규정된 상응하는 잔기의 적어도 85%, 90%, 95% 또는 100%가 동일한 경우 실질적으로 인간 가변 영역 프레임워크 서열 또는 인간 불변 영역으로부터 각각 유래된다.

[0086] 인간화 항체는 종종 마우스 항체로부터의 6개 모두의 CDR(바람직하게는, 케이벳에 의해 규정된 바와 같음)을 포함하나, 이들은 또한 마우스 항체로부터의 6개 미만의 CDR(예를 들어, 적어도 3, 4 또는 5개의 CDR)로 이루어질 수 있다(예를 들어, Pascalis *et al.*, *J. Immunol.* 169:3076, 2002; Vajdos *et al.*, *Journal of Molecular Biology*, 320: 415-428, 2002; Iwahashi *et al.*, *Mol. Immunol.* 36:1079-1091, 1999; Tamura *et al.*, *Journal of Immunology*, 164:1432-1441, 2000).

[0087] 인간 가변 영역 프레임워크 잔기로부터의 특정 아미노산은 CDR 형태 및/또는 항원에 대한 결합에 대한 이들의 가능한 영향을 기초로 하여 치환에 대해 선택될 수 있다. 상기 가능한 영향의 연구는 모델링, 특정 위치의 아미노산의 특징의 시험, 또는 특정 아미노산의 치환 또는 돌연변이유발의 효과의 경험적 관찰에 의해 이루어진다.

[0088] 예를 들어, 아미노산이 무린 가변 영역 프레임워크 잔기와 선택된 인간 가변 영역 프레임워크 잔기 사이에서 상이한 경우, 인간 프레임워크 아미노산은, 아미노산이 (1) 항원에 직접 비공유적으로 결합하거나, (2) CDR 영역에 인접하여 있거나, (3) CDR 영역과 달리 상호작용(예를 들어, CDR 영역의 약 6Å 내에 존재함)하거나, (4) 중쇄와 경쇄 사이의 상호작용을 매개하는 것으로 합리적으로 예상되는 경우에 마우스 항체로부터의 동등한 프레임

워크 아미노산에 의해 치환될 수 있다.

[0089] 본 발명은 5개의 예시된 인간화 중쇄 성숙 가변 영역(HA-HE) 및 6개의 예시된 인간화 경쇄 성숙 가변 영역(LA-LF)을 포함하는 마우스 BR2-14a 항체의 인간화 형태를 제공한다. 가장 강한 결합(가장 낮은 EC50)을 갖는 상기 사슬의 퍼뮤테이션은 HBLB, HBLF, HCLB, HCLF, HDLB, HDLF, HELE 및 HELF이다. 이들 퍼뮤테이션 중, HBLB(hLIV14로도 공지됨)가 바람직한데, 이는 HBLB가 마우스 공여체 항체보다 약 2배 강한 가장 강한 결합을 갖고, 가장 적은 역돌연변이(4개)를 갖기 때문이다.

[0090] 본 발명은 인간화 중쇄 성숙 가변 영역이 SEQ ID NO:10과 적어도 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 나타내고, 인간화 경쇄 성숙 가변 영역이 SEQ ID NO:15와 적어도 90%, 95% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 HBLB 인간화 항체의 변이체를 제공한다. 바람직하게는, 상기 항체에서, HBLB 내의 역돌연변이의 일부 또는 전부가 유지된다. 즉, 중쇄 위치 H29, H30 및 H76의 적어도 1개, 2개 또는 바람직하게는 3개 모두는 I 및 E 및 N에 의해 각각 점유된다. 마찬가지로, 위치 L36은 바람직하게는 Y에 의해 점유된다. 상기 인간화 항체의 CDR 영역은 바람직하게는 HBLB의 CDR 영역과 실질적으로 동일하고, 이는 마우스 공여체 항체의 CDR 영역과 동일하다. CDR 영역은 임의의 통상적인 정의(예를 들어, 초티아)에 의해 규정될 수 있으나, 바람직하게는 케이벳에 의해 규정되는 바와 같다. 한 구체예에서, 인간화 항체는 SEQ ID NO:10의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:10의 가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 중쇄를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 인간화 항체는 SEQ ID NO:15의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:15의 가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 경쇄를 포함한다. 한 추가 구체예에서, 인간화 항체는 SEQ ID NO:10의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:10의 가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 중쇄, 및 SEQ ID NO:15의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:15의 가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0091] 인간화 항체가 예시된 HBLB 인간화 항체로부터 임의의 변화를 나타내는 한에 있어서, 상기 추가 변화에 대한 한 가능성은 가변 영역 프레임워크 내의 추가 역돌연변이이다. 다른 예시된 인간화 중쇄 또는 경쇄 성숙 가변 영역에서 역돌연변이된 위치 중 임의의 위치 또는 모든 위치는 또한 중쇄 내의 F에 의해 점유된 H27, N에 의해 점유된 H28, I에 의해 점유된 H48, K에 의해 점유된 H66, A에 의해 점유된 H67, A에 의해 점유된 H71, N에 의해 점유된 H76, N에 의해 점유된 H93 및 V에 의해 점유된 H94 중 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개 또는 9개 모두, 및 경쇄 내의 L에 의해 점유된 L37, K에 의해 점유된 L39, K에 의해 점유된 L45, 및 L에 의해 점유된 L46 중 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 모두로 이루어질 수 있다. 그러나, 상기 추가 역돌연변이는 바람직하지 않은데, 이는 이들이 일반적으로 친화성을 개선시키지 않고, 보다 많은 마우스 잔기를 도입시키는 것이 면역원성의 위험을 증가시킬 수 있기 때문이다.

[0092] 본 발명은 다양한 퍼뮤테이션 내에서 적절한 결합과 조합될 수 있는 3개의 예시된 인간화 중쇄 성숙 가변 영역(HE, HF 및 HG) 및 2개의 예시된 인간화 경쇄(LF 및 LG)를 포함하는 마우스 BR2-22a 항체의 인간화 형태를 제공한다(도 21 참조). 상기 퍼뮤테이션 중, HGLG(hLIV22로도 공지됨)가 바람직한데, 이는 HGLG가 결합 특성의 최적의 조합(본질적으로 실험 오차 내에서 마우스 BR2-22a 항체와 동일함) 및 가장 적은 역돌연변이(7개)를 갖기 때문이다.

[0093] 본 발명은 인간화 중쇄 성숙 가변 영역이 SEQ ID NO:53과 적어도 90%, 95%, 98% 또는 99%의 동일성을 나타내고, 인간화 경쇄 성숙 가변 영역이 SEQ ID NO:60과 적어도 90%, 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 HGLG 인간화 항체의 변이체를 제공한다. 바람직하게는, 상기 항체에서, HGLG 내의 역돌연변이의 일부 또는 전부가 유지된다. 즉, 중쇄 위치 H27, H29, H30, H76, 및 H94 중 적어도 1개, 2개, 3개, 4개 또는 바람직하게는 5개 모두는 L, I, E, N 및 V에 의해 점유된다(본 출원의 다른 곳에서와 같이, 여기서 성숙 가변 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내의 위치를 기재하기 위해 케이벳 넘버링이 사용된다). 상기 역돌연변이 중, H94는 결합 친화성의 보유에 대해 최대 기여하고, H76이 최소로 기여한다. 마찬가지로, 위치 L36 및 L46은 바람직하게는 Y 및 P에 의해 각각 점유된다. 상기 인간화 항체의 CDR 영역은 바람직하게는 HGLG의 CDR 영역과 실질적으로 동일하고, 이는 마우스 공여체 항체의 CDR 영역과 동일하다. CDR 영역은 임의의 통상적 규정(예를 들어, 초티아)에 의해 규정될 수 있으나, 바람직하게는 케이벳에 의해 규정된 바와 같다. 한 구체예에서, 인간화 항체는 SEQ ID NO:53의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:53의 가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 중쇄를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 인간화 항체는 SEQ ID NO:60의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:60의 가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 경쇄를 포함한다. 한 추가 구체예에서, 인간화 항체는 SEQ ID NO:53의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:53의 가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 중쇄, 및 SEQ ID NO:60의 3개의 CDR 및 SEQ ID NO:60의

가변 영역 프레임워크와 적어도 95%의 동일성을 갖는 가변 영역 프레임워크를 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0094] 인간화 BR2-22a 항체가 예시된 HGLG 인간화 항체로부터의 임의의 변화를 나타내는 한에 있어서, 상기 추가 변화에 대한 한 가능성은 가변 영역 프레임워크 내의 추가 역돌연변이이다. 다른 예시된 인간화 중쇄 또는 경쇄 성숙 가변 영역에서 역돌연변이된 위치 중 임의의 위치 또는 모든 위치는 또한 중쇄 내의 N에 의해 점유된 H28, I에 의해 점유된 H48, K에 의해 점유된 H66, A에 의해 점유된 H67, A에 의해 점유된 H71, T에 의해 점유된 H93 중 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개 모두, 및 L에 의해 점유된 L37 및 K에 의해 점유된 L45 중 1개 또는 2개로 이루어질 수 있다. 그러나, 이러한 추가 역돌연변이는 바람직하지 않은데, 이는 이들이 일반적으로 친화성을 개선시키지 않고, 보다 많은 마우스 잔기를 도입시키는 것이 면역원성의 위험을 증가시킬 수 있기 때문이다.

[0095] 또 다른 가능한 변화는 마우스 항체의 CDR 내의 특정 잔기를 인간 CDR 서열, 통상적으로 예시된 인간화 항체를 설계하는데 사용되는 인간 수용체 서열의 CDR로부터의 상응하는 잔기로 치환시키는 것이다. 일부 항체에서, CDR의 단지 일부, 즉, SDR로 언급되는 결합에 필요한 CDR 잔기의 서브셋이 인간화 항체에서의 결합을 유지시키는데 필요하다. 항원과 접촉하지 않고 SDR 내에 존재하지 않는 CDR 잔기는 초티아 과가변 루프 외부에 위치하는 케이벳 CDR의 영역으로부터의 이전의 연구(예를 들어, CDR H2 내의 잔기 H60-H65는 종종 필요하지 않음)(Chothia, J. Mol. Biol. 196:901, 1987)를 기초로 하거나, 분자 모델링 및/또는 경험에 의해, 또는 문헌[Gonzales et al., Mol. Immunol. 41: 863 (2004)]에 기재된 바와 같이 확인될 수 있다. 이러한 인간화 항체에서, 하나 이상의 공여체 CDR 잔기가 부재하거나, 전체 공여체 CDR이 생략된 위치에서, 상기 위치를 점유하는 아미노산은 수용체 항체 서열 내의 상응하는 위치(케이벳 넘버링에 의함)를 점유하는 아미노산일 수 있다. 포함시키려는 CDR 내의 공여체 아미노산에 대한 수용체의 상기 치환의 수는 경쟁 고려사항의 균형을 반영한다. 상기 치환은 인간화 항체 내의 마우스 아미노산의 수를 감소시키고, 결과적으로 잠재적 면역원성을 감소시키는 데 있어서 잠재적으로 유리하다. 그러나, 치환은 또한 친화성의 변화를 야기시킬 수 있고, 친화성의 유의한 감소는 바람직하게는 회피된다. 한 추가 변화에서, 인간화 BR2-22a 항체의 CDR 내의 하나 이상의 잔기(마우스 BR2-22a 항체의 CDR과 다른 점에서는 동일함)는 마우스 BR2-14a 항체로부터의 CDR로부터의 상응하는 잔기로 대체될 수 있다(또는, 그 반대로 마찬가지이다). CDR 내의 치환을 위한 위치 및 치환시키려는 아미노산은 또한 경험적으로 선택될 수 있다.

[0096] 바람직하지는 않지만, 다른 아미노산 치환은, 예를 들어, CDR과 접촉하지 않는 프레임워크 잔기, 또는 CDR 내의 일부 잠재적 CDR-접촉 잔기 아미노산에서도 이루어질 수 있다. 종종, 변이체 인간화 서열 내에서 이루어진 대체는 대체된 HBLB 아미노산(인간화 BR2-14a의 경우) 또는 HGLG 아미노산(인간화 BR2-22의 경우)과 관련하여 보존적이다. 바람직하게는, HBLB 또는 HGLG에 관한 대체(보존성이거나 그렇지 않은 간에)는 인간화 mAb의 결합 친화성 또는 효능, 즉, 인간 LIV-1에 결합하고 암세포의 성장을 억제하는 이의 능력에 대해 실질적 효과를 갖지 않는다.

[0097] 변이체는 통상적으로 적은 수(예를 들어, 경쇄 또는 중쇄 성숙 가변 영역 또는 둘 모두에서 1, 2, 3, 5 또는 10개 이하)의 대체, 결실 또는 삽입에 의해 HBLB(hLIV14) 또는 HGLG(hLIV22)의 중쇄 및 경쇄 성숙 가변 영역 서열과 상이하다.

#### [0098] C. 불변 영역의 선택

[0099] 인간화 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역은 인간 불변 영역의 적어도 일부에 연결될 수 있다. 불변 영역의 선택은 항체-의존성 세포-매개 세포독성, 항체 의존성 세포 포식작용 및/또는 보체 의존성 세포독성이 요망되는지의 여부에 부분적으로 좌우된다. 예를 들어, 인간 아이소형 IgG1 및 IgG3은 강한 보체-의존성 세포독성을 갖고, 인간 아이소형 IgG2는 보체-의존성 세포독성이 약하고, 인간 IgG4는 보체-의존성 세포독성이 결핍되어 있다. 인간 IgG1 및 IgG3은 또한 인간 IgG2 및 IgG4보다 강한 세포 매개 효과기 기능을 유도한다. 경쇄 불변 영역은 램다 또는 카파일 수 있다. 항체는 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 함유하는 테트라머, 개별적 중쇄, 경쇄, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 및 Fv, 또는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인이 스페이서를 통해 연결된 단쇄 항체로 발현될 수 있다.

[0100] 인간 불변 영역은 다양한 개체 사이에서 동종이형(allotypic) 변화 및 아이소동종이형(isoallotypic) 변화를 나타내며, 즉, 불변 영역은 하나 이상의 다형체 위치에서 다양한 개체에서 다양할 수 있다. 아이소동종이형은 아이소동종이형을 인지하는 혈청이 하나 이상의 다른 아이소형의 비-다형체 영역에 결합한다는 점에서 동종이형과 상이하다.

[0101] 경쇄 및/또는 중쇄의 아미노 또는 카르복시 말단의 한개 또는 여러개의 아미노산, 예를 들어, 중쇄의 C-말단 리신이 분자의 일부 또는 전부에서 손실되거나 유도될 수 있다. 보체-매개 세포독성 또는 ADCC와 같은 효과기 기



능을 감소시키거나 증가(예를 들어, Winter et al., US Patent No. 5,624,821; Tso et al., US Patent No. 5,834,597; and Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006 참조)시키거나, 인간에서 반감기를 연장(예를 들어, Hinton et al., J. Biol. Chem. 279:6213, 2004 참조)시키기 위해 불변 영역에서 치환이 이루어질 수 있다.

[0102] 예시적 치환은 아미노산 위치 234, 235, 237, 239, 267, 298, 299, 326, 330, 또는 332에 도입된 자연 아미노산의 시스테인 잔기로의 아미노산 치환, 바람직하게는 인간 IgG1 아이소형 내의 S239C 돌연변이를 포함한다(US 20100158909). 추가 시스테인 잔기의 존재는 사슬간 이황화결합 형성을 가능케 한다. 이러한 사슬간 이황화결합 형성은 입체구조적 방해물 야기시킴으로써 Fc 영역-Fc $\gamma$ R 결합 상호작용의 친화성을 감소시킬 수 있다. IgG 불변 영역의 Fc 영역 내에 도입되거나 이 부근에 도입된 시스테인 잔기(들)은 또한 치료제에 대한 컨쥬게이션(즉, 약물의 말레이미드 유도체와 같은 티올 특이적 시약을 이용한 세포독성 약물 커플링)을 위한 부위로 작용할 수 있다. 치료제의 존재는 입체구조적 방해물 야기시킴으로써 Fc 영역-Fc $\gamma$ R 결합 상호작용의 친화성을 추가로 감소시킨다. 위치 234, 235, 236 및/또는 237 중 임의의 위치에서의 다른 치환은 Fc $\gamma$  수용체, 특히 Fc $\gamma$ RI 수용체에 대한 친화성을 감소시킨다(예를 들어, US 6,624,821, US 5,624,821 참조).

[0103] 항체의 생체내 반감기는 또한 이의 효과기 기능에 영향을 미칠 수 있다. 항체의 반감기는 이의 치료 활성을 변형시키기 위해 증가되거나 감소될 수 있다. FcRn은  $\beta$ 2-마이크로글로불린과 비공유적으로 결합하는 MHC 클래스 I 항원과 구조적으로 유사한 수용체이다. FcRn은 IgG의 이화작용 및 이의 조직을 가로지르는 트랜스사이토시스(transcytosis)를 조절한다(Ghetie and Ward, 2000, *Annu. Rev. Immunol.* 18:739-766; Ghetie and Ward, 2002, *Immunol. Res.* 25:97-113). IgG-FcRn 상호작용은 pH 6.0(세포내 소포의 pH)에서 발생하나, pH 7.4(혈액의 pH)에서는 발생하지 않으며, 이러한 상호작용은 IgG가 순환으로 다시 재순환되는 것을 가능케 한다(Ghetie and Ward, 2000, *Ann. Rev. Immunol.* 18:739-766; Ghetie and Ward, 2002, *Immunol. Res.* 25:97-113). FcRn 결합과 관련된 인간 IgG1 상의 영역이 맵핑되었다(Shields et al., 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604). 인간 IgG1의 위치 Pro238, Thr256, Thr307, Gln311, Asp312, Glu380, Glu382, 또는 Asn434에서의 알려진 치환은 FcRn 결합을 향상시킨다(Shields et al., 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604). 상기 치환을 포함하는 IgG1 분자는 보다 긴 혈청 반감기를 갖는다. 결과로서, 이들 변형된 IgG1 분자는 이들의 효과기 기능을 수행할 수 있고, 그러므로 변형되지 않은 IgG1에 비해 장기간의 시간에 걸쳐 이들의 치료 효능을 발휘할 수 있다. FcRn에 대한 결합을 증가시키기 위한 다른 예시적 치환은 위치 250의 Gln 및/또는 위치 428의 Leu를 포함한다. 불변 영역 내의 모든 위치에 대해 EU 넘버링이 사용된다.

[0104] 보존된 Asn297에 공유적으로 부착된 올리고당류는 Fc $\gamma$ R에 결합하는 IgG의 Fc 영역의 능력과 관련된다(Lund et al., 1996, *J. Immunol.* 157:4963-69; Wright and Morrison, 1997, *Trends Biotechnol.* 15:26-31). IgG 상의 상기 당백당형(glycoform)의 조작은 IgG-매개 ADCC를 현저히 개선시킬 수 있다. 상기 당백당형으로의 이등분면 N-아세틸글루코사민 변형의 추가(Umana et al., 1999, *Nat. Biotechnol.* 17:176-180; Davies et al., 2001, *Biotech. Bioeng.* 74:288-94) 또는 상기 당백당형으로부터의 푸코스의 제거(Shields et al., 2002, *J. Biol. Chem.* 277:26733-40; Shinkawa et al., 2003, *J. Biol. Chem.* 278:6591-604; Niwa et al., 2004, *Cancer Res.* 64:2127-33)가 IgG Fc와 Fc $\gamma$ R 사이의 결합을 개선시킴으로써 Ig-매개 ADCC 활성을 향상시키는 IgG Fc 조작의 두 예이다.

[0105] 인간 IgG1 Fc 영역의 용매-노출된 아미노산의 체계적 치환이 변형된 Fc $\gamma$ R 결합 친화성을 갖는 IgG 변이체를 생성시켰다(Shields et al., 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604). 모 IgG1과 비교하는 경우, Thr256/Ser298, Ser298/Glu333, Ser298/Lys334, 또는 Ser298/Glu333/Lys334에서의 Ala으로의 치환을 포함하는 상기 변이체의 서브셋은 Fc $\gamma$ R에 대한 결합 친화성 및 ADCC 활성 둘 모두가 증가된 것을 나타낸다(Shields et al., 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604; Okazaki et al., 2004, *J. Mol. Biol.* 336:1239-49).

[0106] 항체의 보체 고정 활성(C1q 결합 및 CDC 활성 둘 모두)은 Lys326 및 Glu333에서의 치환에 의해 개선될 수 있다(Idusogie et al., 2001, *J. Immunol.* 166:2571-2575). 인간 IgG2 백본 상의 동일 치환은 C1q에 불충분하게 결합하고 보체 활성화 활성이 매우 불충분한 항체 아이소형을 C1q에 결합할 수 있고 CDC를 매개할 수 있는 항체 아이소형으로 전환시킬 수 있다(Idusogie et al., 2001, *J. Immunol.* 166:2571-75). 항체의 보체 고정 활성을 개선시키기 위해 여러 다른 방법이 또한 적용된다. 예를 들어, IgG의 카르복실-말단으로의 IgM의 18개 아미노산의 카르복실-말단 꼬리 단편의 이식은 이들의 CDC 활성을 크게 향상시킨다. 이는 보통 검출가능한 CDC 활성을 갖지 않는 IgG4를 이용해서도 관찰된다(Smith et al., 1995, *J. Immunol.* 154:2226-36). 또한, IgG1 중쇄의 카르복시-말단에 가깝게 위치된 Ser444를 Cys로 치환시키는 것은 모노머 IgG1에 비해 CDC 활성의 200배 증가를 갖는 IgG1의 꼬리-대-꼬리 이합체화를 유도하였다(Shopes et al., 1992, *J. Immunol.* 148:2918-22). 또한,

C1q에 대한 특이성을 갖는 이특이성 디아바디 작제물이 또한 CDC 활성을 부여한다(Kontermann *et al.*, 1997, *Nat. Biotech.* 15:629-31).

[0107] 보체 활성화는 중쇄의 아미노산 잔기 318, 320, 및 322 중 적어도 하나를 상이한 측쇄를 갖는 잔기, 예를 들어, Ala로 돌연변이화시킴으로써 감소될 수 있다. 상기 3개의 잔기 중 어느 하나 대신에 다른 알킬-치환된 비-이온성 잔기, 예를 들어, Gly, Ile, Leu, 또는 Val, 또는 상기 방향족 비-극성 잔기, 예를 들어, Phe, Tyr, Trp 및 Pro는 또한 C1q 결합을 감소시키거나 폐기시킨다. C1q 결합 활성을 감소시키거나 폐기시키기 위해 Ser, Thr, Cys, 및 Met가 잔기 320 및 322에서 사용될 수 있으나, 318에서는 사용될 수 없다. 극성 잔기에 의한 318(Glu) 잔기의 대체는 C1q 결합 활성을 변형시킬 수 있으나, 폐기시키지는 않는다. 잔기 297(Asn)을 Ala로 대체하는 것은 용해 활성화의 제거를 발생시키나, C1q에 대한 친화성은 단지 약간 감소(약 3배 더 약함)시킨다. 이러한 변경은 당화 부위 및 보체 활성화에 필요한 탄수화물의 존재를 파괴한다. 이러한 부위에서의 임의의 다른 치환이 또한 당화 부위를 파괴한다. 하기 돌연변이 및 이의 임의의 조합이 또한 C1q 결합을 감소시킨다: D270A, K322A, P329A, 및 P311S(WO 06/036291 참조).

[0108] 인간 불변 영역에 대한 언급은 임의의 자연 동종이형 또는 자연 동종이형 내의 다형태 위치를 점유하는 잔기의 임의의 퍼뮤테이션을 갖는 불변 영역을 포함한다. 또한, Fc감마 수용체 결합을 감소시키거나 FcRN에 대한 결합을 증가시키는 상기 표시된 것과 같은 1, 2, 5, 또는 10개 이하의 돌연변이가 자연 인간 불변 영역에 비해 존재할 수 있다.

#### [0109] D. 재조합 항체의 발현

[0110] 인간화 항체는 통상적으로 재조합 발현에 의해 생성된다. 재조합 폴리뉴클레오타이드 작제물은 통상적으로 자연-결합된 프로모터 영역 또는 이중성 프로모터 영역을 포함하는, 항체 사슬의 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 발현 조절 서열을 포함한다. 바람직하게는, 발현 조절 서열은 진핵생물 숙주 세포를 형질전환시키거나 트랜스펙션시킬 수 있는 벡터 내의 진핵생물 프로모터 시스템이다. 벡터가 적절한 숙주 내에 통합된 후, 숙주는 뉴클레오타이드 서열의 높은 수준의 발현, 및 교차 반응하는 항체의 수집 및 정제에 적합한 조건하에서 유지된다.

[0111] 포유동물 세포는 면역글로불린 또는 이의 단편을 엔코딩하는 뉴클레오타이드 세그먼트를 발현시키기에 바람직한 숙주이다. 문헌[Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH Publishers, NY, 1987)]을 참조하라. 온전한 이중성 단백질을 분비할 수 있는 다수의 적합한 숙주 세포주가 당 분야에서 개발되었으며, 이는 CHO 세포주(예를 들어, DG44), 다양한 COS 세포주, HeLa 세포, HEK293 세포, L 세포, 및 Sp2/0 및 NS0를 포함하는 비-항체-생성 골수종을 포함한다. 바람직하게는, 세포는 비인간 세포이다. 상기 세포에 대한 발현 벡터는 발현 조절 서열, 예를 들어, 복제 기점, 프로모터, 인핸서(Queen *et al.*, *Immunol. Rev.* 89:49 (1986)), 및 필요한 처리 정보 부위, 예를 들어, 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이스 부위, 아데닐중합체형성 부위, 및 전사 종료자 서열을 포함할 수 있다. 바람직한 발현 조절 서열은 내인성 유전자, 사이토메갈로바이러스, SV40, 아데노바이러스, 소 파필로마 바이러스 등으로부터 유래된 프로모터이다. 예를 들어, 문헌[Co *et al.*, *J. Immunol.* 148:1149 (1992)]을 참조하라.

[0112] 발현된 후, 항체는 HPLC 정제, 컬럼 크로마토그래피, 겔 전기영동 등을 포함하는 당 분야의 표준 절차에 따라 정제될 수 있다(일반적으로, Scopes, *Protein Purification* (Springer-Verlag, NY, 1982) 참조).

#### [0113] IV. 핵산

[0114] 본 발명은 상기 기재된 인간화 중쇄 및 경쇄 중 임의의 인간화 중쇄 및 경쇄를 엔코딩하는 핵산을 추가로 제공한다. 통상적으로, 핵산은 또한 성숙 중쇄 및 경쇄에 융합된 신호 펩티드를 엔코딩한다. 핵산 상의 코딩 서열은 코딩 서열의 발현을 보장하기 위한 조절 서열, 예를 들어, 프로모터, 인핸서, 리보솜 결합 부위, 전사 종료 신호 등에 작동가능하게 연결될 수 있다. 중쇄 및 경쇄를 엔코딩하는 핵산은 분리된 형태로 발생할 수 있거나, 하나 이상의 벡터로 클로닝될 수 있다. 핵산은, 예를 들어, 고형 상태 합성 또는 중첩 올리고뉴클레오타이드의 PCR에 의해 합성될 수 있다. 중쇄 및 경쇄를 엔코딩하는 핵산은, 예를 들어, 발현 벡터 내에서 하나의 연속적 핵산으로 연결될 수 있거나, 예를 들어, 이의 자신의 발현 벡터에 각각 클로닝되는 바와 같이 별개로 존재할 수 있다.

#### [0115] V. 항체 약물 컨쥬게이트

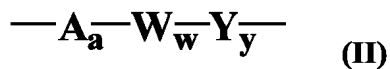
[0116] 항-LIV-1 항체는 세포독성 또는 세포증식억제 모이어티(이의 약학적으로 사용성인 염을 포함함)에 컨쥬게이션되어 항체 약물 컨쥬게이트(ADC)가 형성될 수 있다. 항체에 대한 컨쥬게이션에 특히 적합한 모이어티는 세포독성제(예를 들어, 화학요법제), 프로드러그 전환 효소, 방사성 동위원소 또는 화합물, 또는 독소(이들 모이어티는

집합적으로 치료제로 언급됨)이다. 예를 들어, 항-LIV-1 항체는 세포독성제, 예를 들어, 화학요법제, 또는 독소(예를 들어, 세포중식억제제 또는 세포과괴제, 예를 들어, 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 또는 디프테리아 독소)에 컨쥬게이션될 수 있다.

- [0117] 항-LIV-1 항체는 프로드러그 전환 효소에 컨쥬게이션될 수 있다. 프로드러그 전환 효소는 항체에 재조합적으로 융합될 수 있거나, 공지된 방법을 이용하여 항체에 화학적으로 컨쥬게이션될 수 있다. 예시적 프로드러그 전환 효소는 카르복시펩티다제 G2, 베타-글루쿠로니다제, 페니실린-V-아미다제, 페니실린-G-아미다제,  $\beta$ -락타마제,  $\beta$ -글루코시다제, 니트로환원효소 및 카르복시펩티다제 A이다.
- [0118] 단백질, 특히 항체에 치료제를 컨쥬게이션시키는 기술은 널리 공지되어 있다(예를 들어, Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy* (Reisfeld *et al.* eds., Alan R. Liss, Inc., 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery," in *Controlled Drug Delivery* (Robinson *et al.* eds., Marcel Dekker, Inc., 2nd ed. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications* (Pinchera *et al.* eds., 1985); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy* (Baldwin *et al.* eds., Academic Press, 1985); and Thorpe *et al.*, 1982, *Immunol. Rev.* 62:119-58 참조. 또한, 예를 들어, PCT publication WO 89/12624 참조).
- [0119] 치료제는 이러한 치료제가 항체를 분해(예를 들어, 가수분해, 항체 분해 또는 분해 작용제에 의한)시키지 않는 한 이의 활성을 감소시키는 방식으로 컨쥬게이션될 수 있다. 이러한 치료제는 LIV-1-발현 암세포의 세포내 환경에서 분해에 민감하지만, 세포외 환경에는 실질적으로 민감하지 않은 분해가능한 링커를 이용하여 항체에 부착되어, 컨쥬게이트는 LIV-1-발현 암세포에 의해 내재화되는 경우 항체로부터 분해(예를 들어, 엔도솜 내, 또는, 예를 들어, 리소솜 환경 또는 카베올라(caveolea) 환경 내에서의 pH 민감성 또는 프로테아제 민감성에 의한)된다.
- [0120] 통상적으로, ADC는 치료제와 항-LIV-1 항체 사이에 링커 영역을 포함한다. 상기 언급된 바와 같이, 통상적으로, 링커는 세포내 조건하에서 분해가능하며, 링커의 분해는 세포내 환경(예를 들어, 리소솜 또는 엔도솜 또는 카베올라 내)에서 항체로부터 치료제를 방출시킨다. 링커는, 예를 들어, 리소솜 또는 엔도솜 프로테아제를 포함하는 세포내 펩티다제 또는 프로테아제 효소에 의해 분해되는 펩티딜 링커일 수 있다. 통상적으로, 펩티딜 링커는 적어도 2개의 아미노산 길이 또는 적어도 3개의 아미노산 길이이다. 분해제는 카텝신 B 및 D 및 플라스민을 포함할 수 있다(예를 들어, Dubowchik and Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123 참조). 가장 통상적인 것은 LIV-1-발현 세포에 존재하는 효소에 의해 분해가능한 펩티딜 링커이다. 예를 들어, 암성 조직에서 고도로 발현되는 티올-의존성 프로테아제 카텝신-B에 의해 분해가능한 펩티딜 링커가 사용될 수 있다(예를 들어, Phe-Leu 또는 Gly-Phe-Leu-Gly 펩티드를 포함하는 링커). 다른 상기 링커는, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,214,345호에 기재되어 있다. 특정 구체예에서, 세포내 프로테아제에 의해 분해가능한 펩티딜 링커는 Val-Cit 링커 또는 Phe-Lys 디펩티드를 포함한다(예를 들어, Val-Cit 링커를 이용한 독소루비신(doxorubicin)의 합성을 기재하는 U.S. patent 6,214,345 참조). 치료제의 세포내 단백질분해적 방출을 이용하는 한 장점은 작용제가 컨쥬게이션되는 경우 통상적으로 약화되고, 컨쥬게이트의 혈청 안정성이 통상적으로 높다는 점이다.
- [0121] 분해가능한 링커는 pH-민감성, 즉, 특정 pH 값에서의 가수분해에 민감성일 수 있다. 통상적으로, pH-민감성 링커는 산성 조건하에서 가수분해가능하다. 예를 들어, 리소솜 내에서 가수분해가능한 산-불안정 링커(예를 들어, 하이드라존, 세미카르바존, 티오세미카르바존, 시스-아코니틴산 아마이드, 오르토에스테르, 아세탈, 케탈 등)가 사용될 수 있다(예를 들어, U.S. Patent Nos. 5,122,368; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik and Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123; Neville *et al.*, 1989, *Biol. Chem.* 264: 14653-14661 참조). 이러한 링커는 혈액에서의 pH 조건과 같은 중성 pH 조건하에서는 비교적 안정적이거나, 리소솜의 pH와 가까운 pH 5.5 또는 5.0 아래에서는 불안정하다. 특정 구체예에서, 가수분해가능한 링커는 티오에테르 링커이다(예를 들어, 아실하이드라존 결합을 통해 치료제에 부착된 티오에테르(예를 들어, U.S. Patent No. 5,622,929 참조)).
- [0122] 다른 링커는 환원 조건하에서 분해가능하다(예를 들어, 디설파이드 링커). 디설파이드 링커는 SATA(N-석신이미딜-S-아세틸티오아세테이트), SPDP(N-석신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트), SPDB(N-석신이미딜-3-(2-피리딜디티오)부티레이트) 및 SMPT(N-석신이미딜-옥시카르보닐-알파-메틸-알파-(2-피리딜-디티오)톨루엔), SPDB 및 SMPT를 이용하여 형성될 수 있는 것을 포함한다(예를 들어, Thorpe *et al.*, 1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931; Wawrzynczak *et al.*, In *Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of*

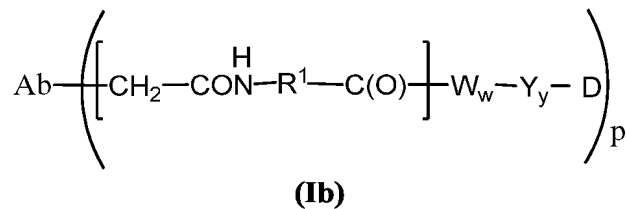
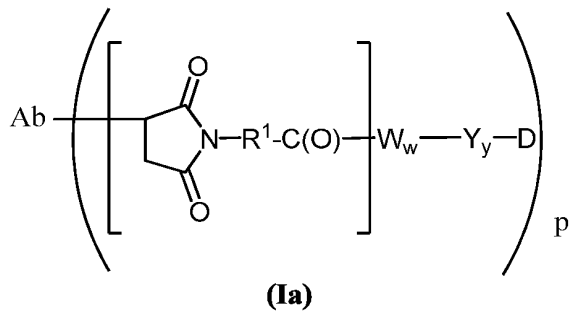
*Cancer* (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987 참조. 또한, U.S. Patent No. 4,880,935 참조).

- [0123] 링커는 또한 말로네이트 링커(Johnson *et al.*, 1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93), 말레이미도벤조일 링커(Lau *et al.*, 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1299-1304), 또는 3'-N-아미드 유사체(Lau *et al.*, 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1305-12)일 수 있다.
- [0124] 링커는 또한 분해가능하지 않은 링커, 예를 들어, 치료제(예를 들어, 약물)에 직접 부착되는 말레이미도-알킬렌- 또는 말레이미드-아릴 링커일 수 있다. 활성 약물-링커는 항체의 분해에 의해 방출된다.
- [0125] 통상적으로, 링커는 세포의 환경에서 실질적으로 민감하지 않고, 이는 ADC가 세포의 환경(예를 들어, 혈장 내)에 존재하는 경우 ADC의 샘플 내의 링커의 약 20% 이하, 통상적으로 약 15% 이하, 더욱 통상적으로 약 10% 이하, 더욱 더 통상적으로 약 5% 이하, 약 3% 이하, 또는 약 1% 이하가 분해되는 것을 의미한다. 링커가 세포의 환경에 실질적으로 민감하지 않은지의 여부는, 예를 들어, 소정의 기간(예를 들어, 2, 4, 8, 16, 또는 24시간) 동안 (a) ADC("ADC 샘플") 및 (b) 등물량의 컨쥬게이션되지 않은 항체 또는 치료제("대조군 샘플") 둘 모두를 독립적으로 혈장과 인큐베이션한 후, 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정시 ADC 샘플에 존재하는 컨쥬게이션되지 않은 항체 또는 치료제의 양과 대조군 샘플에 존재하는 컨쥬게이션되지 않은 항체 또는 치료제의 양을 비교함으로써 결정될 수 있다.
- [0126] 링커는 또한 세포 내재화를 촉진할 수 있다. 링커는 치료제에 컨쥬게이션되는 경우(즉, 본원에 기재된 바와 같은 ADC 또는 ADC 유도체의 링커-치료제 모이어티의 환경 내) 세포 내재화를 촉진할 수 있다. 대안적으로, 링커는 치료제 및 항-LIV-1 항체 둘 모두에 컨쥬게이션되는 경우(즉, 본원에 기재된 바와 같은 ADC의 환경 내) 세포 내재화를 촉진할 수 있다.
- [0127] 본 발명의 조성물과 함께 사용될 수 있는 다양한 링커가 WO 2004-010957호에 기재되어 있으며, 이는 하기 형태를 갖는다:



- [0128]
- [0129] 상기 식에서,
- [0130] -A-는 스트레처(stretcher) 단위이고;
- [0131] a는 0 또는 1이고;
- [0132] 각각의 -W-는 독립적으로 아미노산 단위이고;
- [0133] w는 독립적으로 0 내지 12 범위의 정수이고;
- [0134] -Y-는 스페이서 단위이고;
- [0135] y는 0, 1 또는 2이다.
- [0136] 대표적 스트레처 단위는 화학식 (Ia) 및 (Ib; 하기 참조)의 사각 괄호 내에 제시되며, 여기서 A-, -W-, -Y-, -D, w 및 y는 상기 정의된 바와 같고, R<sup>1</sup>은 -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌-, -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 카르보사이클로-, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬)-, -아릴렌-, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌-아릴렌-, -아릴렌-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌-, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 카르보사이클로)-, -(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 카르보사이클로)-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌-, -C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 헤테로사이클로-, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 헤테로사이클로)-, -(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 헤테로사이클로)-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬렌-, -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-, 및 -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-CH<sub>2</sub>-로부터 선택되고; r은 1-10 범위의 정수이다. Ab는 항체이다.





약물 부하(loading)는 항체 당 약물-링커 분자의 수인  $p$ 에 의해 표시된다. 문맥에 따라,  $p$ 는 평균 약물 부하로도 언급되는 항체 당 약물-링커 분자의 평균 수를 나타낼 수 있다.  $p$ 는 1 내지 20의 범위이고, 바람직하게는 1 내지 8이다. 일부 바람직한 구체예에서,  $p$ 가 평균 약물 부하를 나타내는 경우,  $p$ 는 약 2 내지 약 5의 범위이다. 일부 구체예에서,  $p$ 는 약 2, 약 3, 약 4, 또는 약 5이다. 제조물 내의 항체 당 약물의 평균 수는 통상적인 수단, 예를 들어, 질량분석법, ELISA 검정, 및 HPLC에 의해 특성규명될 수 있다. 존재시 아미노산 단위 (-W-)는 스페이서 단위가 존재하는 경우 스트레처 단위 (-A-)를 스페이서 단위 (-Y-)에 연결시키고, 스페이서 단위가 부재하는 경우 스트레처 단위를 세포독성제 또는 세포증식억제제(약물 단위; D)에 연결시킨다.

존재시, -W-는 바람직하게는 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드, 펜타펩티드, 헥사펩티드, 헵타펩티드, 옥타펩티드, 노나펩티드, 데카펩티드, 운데카펩티드 또는 도데카펩티드 단위이다.

스페이서 단위 (-Y-)는 존재시 아미노산 단위를 약물 단위에 연결시킨다. 스페이서 단위는 자가-희생(self-immolative) 및 비 자가-희생의 2개의 일반 유형이 존재한다. 비 자가-희생 스페이서 단위는 스페이서 단위의 일부 또는 전부가 항-LIV-1 항체-링커-약물 컨주게이트 또는 약물-링커 화합물로부터의 아미노산 단위의 효소적 분해 후에 약물 단위에 결합된 채로 남아있는 것이다. 비 자가-희생 스페이서 단위의 예는 (글리신-글리신) 스페이서 단위 및 글리신 스페이서 단위를 포함한다. 글리신-글리신 스페이서 단위 또는 글리신 스페이서 단위를 함유하는 항-LIV-1 항체-링커-약물 컨주게이트가 종양세포-관련 프로테아제, 암세포-관련 프로테아제 또는 림프구-관련 프로테아제를 통한 효소적 분해를 겪는 경우, 글리신-글리신-약물 모이어티 또는 글리신-약물 모이어티가 Ab-A<sub>w</sub>-W-로부터 분해된다. 약물을 유리시키기 위해, 독립적 가수분해 반응은 글리신-약물 단위 결합을 분해시키기 위해 표적 세포 내에서 발생해야 한다.

대안적으로, 자가-희생 스페이서 단위를 함유하는 항-LIV-1 항체 약물 컨주게이트는 별도의 가수분해 단계 없이 약물 (D)를 방출시킬 수 있다. 상기 구체예 중 일부 구체예에서, -Y-는 PAB 기의 질소 원자를 통해 -W-에 연결되고, 카르보네이트, 카르바메이트 또는 에테르 기를 통해 -D에 직접 연결되는 *p*-아미노벤질 알콜(PAB) 단위이다. 자가-희생 스페이서의 다른 예는 2-아미노이미다졸-5-메탄올 유도체(예를 들어, Hay *et al.*, 1999, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9:2237 참조) 및 오르토 또는 파라-아미노벤질아세탈과 같은 PAB 기와 전자적으로 동등한 방향족 화합물을 포함한다. 치환된 및 비치환된 4-아미노부티르산 아마이드(Rodrigues *et al.*, 1995, *Chemistry Biology* 2:223), 적절히 치환된 바이사이클로[2.2.1] 및 바이사이클로[2.2.2] 고리 시스템(Storm *et al.*, 1972, *J. Amer. Chem. Soc.* 94:5815) 및 2-아미노페닐프로피온산 아마이드(Amsberry *et al.*, 1990, *J. Org. Chem.* 55:5867)와 같은 아마이드결합 가수분해시 용이한 고리화를 겪는 스페이서가 사용될 수 있다. 글리신의 α-위치에서 치환된 아민-함유 약물의 제거(Kingsbury, *et al.*, 1984, *J. Med. Chem.* 27:1447)가 또한 항-LIV-1 항체-링커-약물 컨주게이트에 적용될 수 있는 자가-희생 스페이서 방법의 예이다. 대안적으로, 스페이서 단위는 추가 약물을 통합시키는데 사용될 수 있는 분지된 비스(하이드록시메틸)스티렌(BHMS) 단위이다.

항-LIV-1 항체에 컨주게이션시키는데 유용한 부류의 세포독성제는, 예를 들어, 항류블린 작용제, DNA 작은 홈결합 작용제, DNA 복제 억제제, 화학요법 민감제 등을 포함한다. 다른 예시적 부류의 세포독성제는 안트라사이

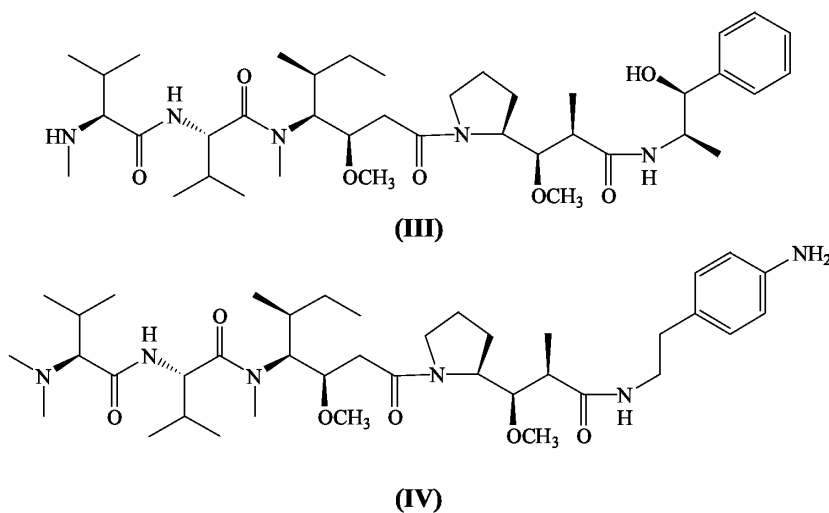
클린(anthracycline), 아우리스타틴(auristatin), 캄프토테신(camptothecin), 듀오카르마이신(duocarmycin), 에토포시드(etoposide), 마이탄시노이드(maytansinoid) 및 빈카 알칼로이드(vinca alkaloid)를 포함한다. 일부 예시적 세포독성제는 아우리스타틴(예를 들어, 아우리스타틴 E, AFP, MMAF, MMAE), DNA 작은 홈 결합제(예를 들어, 에네디인(enediynes) 및 렉시트로핀(lexitropsin)), 듀오카르마이신, 타산(taxane)(예를 들어, 파클리탁셀(paclitaxel) 및 도세탁셀(docetaxel)), 빈카 알칼로이드, 독소루비신, 모르폴리노-독소루비신, 및 시아노모르폴리노-독소루비신을 포함한다.

[0144] 세포독성제는 화학요법제, 예를 들어, 독소루비신, 파클리탁셀, 멜팔란(melphalan), 빈카 알칼로이드, 메토트렉세이트, 미토마이신 C 또는 에토포시드일 수 있다. 상기 작용제는 또한 CC-1065 유사체, 칼리케아마이신(calicheamicin), 마이탄신(maytansine), 도라스타틴 10(dolastatin 10)의 유사체, 리족신(rhizoxin), 또는 팔리톡신(palytoxin)일 수 있다.

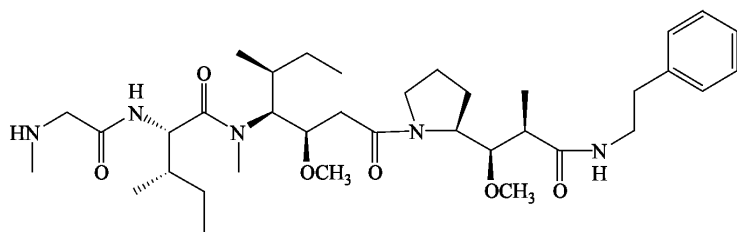
[0145] 세포독성제는 또한 아우리스타틴일 수 있다. 아우리스타틴은 아우리스타틴 E 유도체, 예를 들어, 아우리스타틴 E와 케토산 사이에 형성된 에스테르일 수 있다. 예를 들어, 아우리스타틴 E는 파라아세틸 벤조산 또는 벤조일 발레르산과 반응하여 AEB 및 AEVB가 각각 생성될 수 있다. 다른 통상적인 아우리스타틴은 AFP, MMAF, 및 MMAE를 포함한다. 다양한 아우리스타틴의 합성 및 구조는, 예를 들어, US 2005-0238649호 및 US2006-0074008호에 기재되어 있다.

[0146] 세포독성제는 DNA 작은 홈 결합제일 수 있다(예를 들어, U.S. Patent No. 6,130,237 참조). 예를 들어, 작은 홈 결합제는 CBI 화합물 또는 에네디인(예를 들어, 칼리케아마이신)일 수 있다.

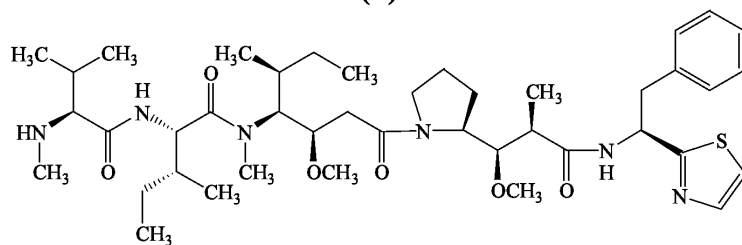
[0147] 세포독성제 또는 세포증식억제제는 항-튜불린 작용제일 수 있다. 항-튜불린 작용제의 예는 타산(예를 들어, Taxol®(파클리탁셀), Taxotere®(도세탁셀)), T67(툴라릭(Tularik)), 빈카 알칼로이드(예를 들어, 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 빈데신(vindesine), 및 비노렐빈(vinorelbine)), 및 아우리스타틴(예를 들어, 아우리스타틴 E, AFP, MMAF, MMAE, AEB, AEVB)을 포함한다. 예시적 아우리스타틴은 화학식 III-XIII로 하기 제시된다. 다른 적합한 항튜불린 작용제는, 예를 들어, 박카틴(baccatin) 유도체, 타산 유사체(예를 들어, 에포틸론(epothilone) A 및 B), 노코다졸(nocodazole), 콜히친(colchicine) 및 콜시미드(colcimid), 에스트라무스틴(estramustine), 크립토파이신(cryptophycin), 세마도틴(cemadotin), 마이탄시노이드, 콤브레타스타틴(combretastatin), 디스코더몰리드(discodermolide), 및 엘류테로빈(eleutherobin)을 포함한다.



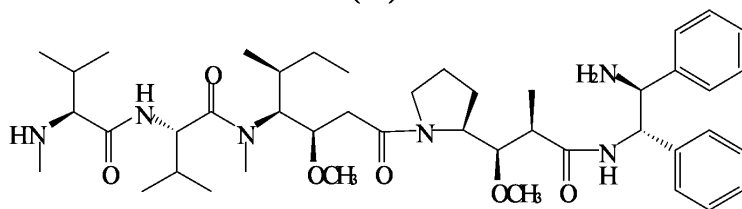
[0148]



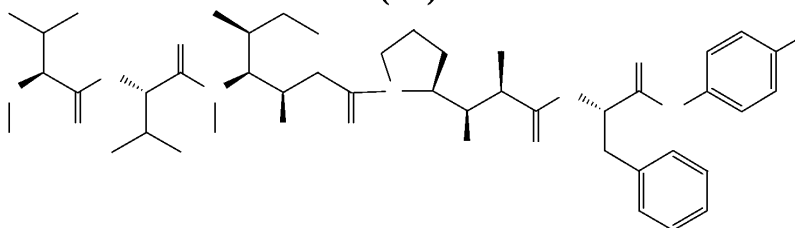
(V)



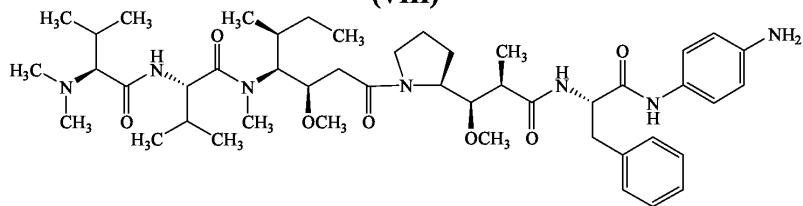
(VI)



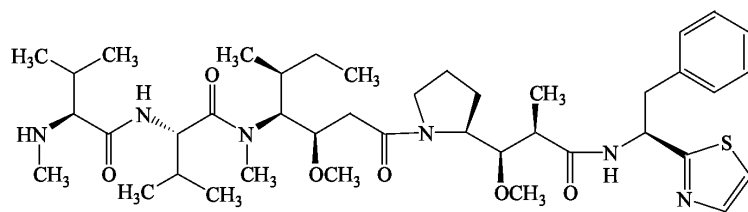
(VII)



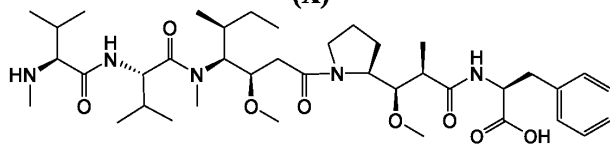
(VIII)



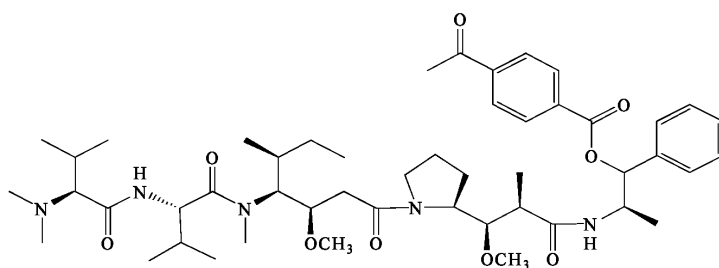
(IX)



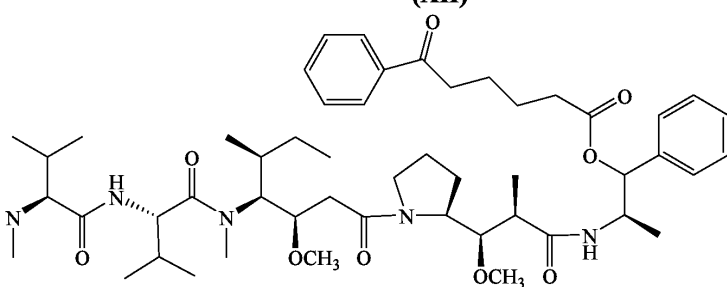
(X)



(XI)



(XII)



(XIII)

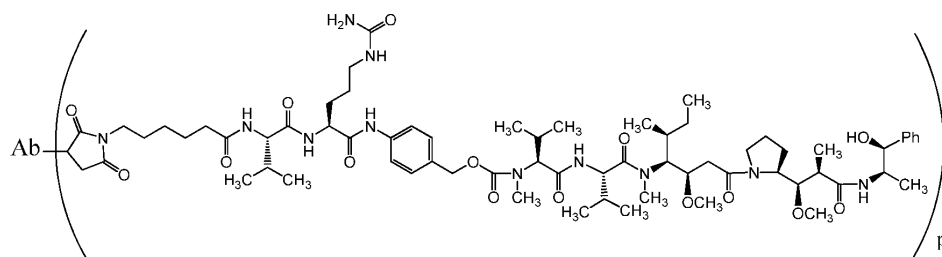
[0150]

[0151]

세포독성제는 항-튜블린 작용제의 또 다른 그룹인 마이탄시노이드일 수 있다. 예를 들어, 마이탄시노이드는 마이탄신 또는 약물 링커를 함유하는 마이탄신, 예를 들어, DM-1 또는 DM-4일 수 있다(ImmunoGen, Inc.; 또한, Chari *et al.*, 1992, *Cancer Res.* 52:127-131 참조).

[0152]

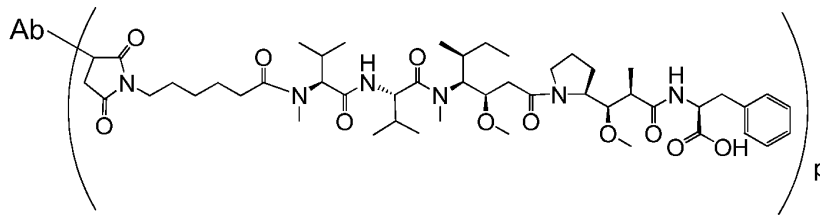
예시적 항체 약물 컨쥬게이트는 하기와 같은 vcMMAE 및 mcMMAF 항체 약물 컨쥬게이트 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하며, 여기서 p 및 Ab는 본원에 상기 기재된 바와 같다:



vcMMAE

[0153]





# mcMMAF

## VI. LIV-1에 대한 다른 항체

상기 논의된 BR2-14a 및 BR2-22a 항체의 인간화 형태 뿐만 아니라, LIV-1의 세포외 도메인에 결합하는 다른 항체가 본 발명의 방법의 일부, 특히, 삼중 음성 유방암의 치료에 사용될 수 있다. LIV-1에 대한 마우스 항체의 수집은 US20080175839호에 기재되어 있다. 이들 항체는 1.1F10, 1.7A4, BR2-10b, BR2-11a, BR2-13a, BR2-14a, BR2-15a, BR2-16a, BR2-17a, BR2-18a, BR2-19a, BR2-20a, BR2-21a, BR2-22a, BR2-23a, BR2-24a, 및 BR2-25a를 포함하며, 이 중 하이브리도마 ATCC 등록 번호 PTA-5706호에 의해 생성된 BR2-19a 또는 하이브리도마 ATCC 등록 번호 PTA-5707호에 의해 생성된 BR2-23a가 BR2-14a 및 BR2-22a에 더하여 바람직하다. 이들 항체의 인간화, 키메라 또는 덧댐(veneered) 형태는 하기 요약되는 통상적 방법에 의해 제조될 수 있다.

LIV-1에 대한 다른 항체는 LIV-1 또는 이의 하나 이상의 세포외 도메인을 이용한 면역화에 의해 새로이 제조될 수 있다. 면역원에 대한 다른 비-인간 모노클로날 항체, 예를 들어, 뮤린, 기니아 피그, 영장류, 토끼 또는 래트 모노클로날 항체의 생성은 문헌[Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*(CSHP NY, 1988)](모든 목적상 참조로서 포함됨)에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다. 이러한 면역원은 펩티드 합성 또는 재조합 발현에 의해 자연원으로부터 획득될 수 있다.

비-인간 항체의 인간화, 키메라 또는 덧댐 형태가 제조될 수 있다. 인간화 항체를 생성시키기 위한 일반 방법은 퀸(Queen)의 US 5,530,101호 및 5,585,089호; 윈터(Winter)의 US 5,225,539호; 카터(Carter)의 US 6,407,213호; 아데어(Adair)의 US 5,859,205호; 및 푸테(Foote)의 US 6,881,557호에 기재되어 있다. 키메라 항체는 비-인간 항체(예를 들어, 마우스)의 경쇄 및 중쇄의 성숙 가변 영역이 인간 경쇄 및 중쇄 불변 영역과 조합된 항체이다. 이러한 항체는 실질적으로 또는 전적으로 마우스 항체의 결합 특이성을 보유하며, 이는 인간 서열의 약 2/3이다. 덧댐 항체는 CDR의 일부 및 보통 전부 및 비-인간 항체의 비-인간 가변 영역 프레임워크 잔기의 일부를 보유하나, B-세포 또는 T-세포 에피토프에 기여할 수 있는 다른 가변 영역 프레임워크 잔기, 예를 들어, 노출된 잔기(Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489, 1991)를 인간 항체 서열의 상응하는 위치로부터의 잔기로 대체한 인간화 항체의 한 유형이다. 결과는 CDR이 전적으로 또는 실질적으로 비-인간 항체로부터 유래되고, 비-인간 항체의 가변 영역 프레임워크가 치환에 의해 더욱 인간-유사하게 제조된 항체이다.

LIV-1에 대한 인간 항체는 하기 기재되는 다양한 기술에 의해 제공될 수 있다. 인간 항체를 생성시키는 방법은 문헌[Oestberg et al., *Hybridoma* 2:361-367 (1983); Oestberg, U.S. Patent No. 4,634,664; 및 Engleman et al., US Patent 4,634,666]의 트리오마(trioma) 방법; 인간 면역글로불린 유전자를 포함하는 트랜스제닉 마우스의 사용(예를 들어, Lonberg et al., WO93/12227 (1993); US 5,877,397, US 5,874,299, US 5,814,318, US 5,789,650, US 5,770,429, US 5,661,016, US 5,633,425, US 5,625,126, US 5,569,825, US 5,545,806, *Nature* 148, 1547-1553 (1994), *Nature Biotechnology* 14, 826 (1996), Kucherlapati, WO 91/10741 (1991) 참조), 및 파지 디스플레이 방법(예를 들어, Dower et al., WO 91/17271 및 McCafferty et al., WO 92/01047, US 5,877,218, US 5,871,907, US 5,858,657, US 5,837,242, US 5,733,743 및 US 5,565,332 참조)을 포함한다.

예시적 항체로서 동일 또는 중첩 에피토프 특이성을 갖는 항체 중 임의의 항체, 예를 들어, BR2-14a 항체가 경쟁 결합 검정에 의하거나 달리 선택될 수 있다.

## VII. 치료 적용

단독이거나 LIV-1 항체 약물 컨쥬게이트로서의 본 발명의 인간화 항체는 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 상기 암은 단백질(예를 들어, 예시된 항체 중 하나를 이용한 면역검정에 의함) 또는 mRNA 수준으로 측정되는 LIV-1의 검출가능한 수준을 나타낸다. 일부 상기 암은 바람직하게는 동일 환자로부터의 동일 유형의 비암성 조직에 비해 LIV-1의 상승된 수준을 나타낸다. 치료에 적용가능한 암세포에서의 LIV-1의 예시적 수준은 세포 당 5000-150000개의 LIV-1 분자이나, 더 높거나 낮은 수준이 치료될 수 있다. 임의로, 암에서의 LIV-1의 수준은

치료를 수행하기 전에 측정된다.

[0163]

LIV-1 발현과 관련되고, 치료에 적용가능한 암의 예는 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁내막암, 자궁경부암, 간암, 위암, 신장암, 및 편평세포 암종(예를 들어, 방광암, 두부암, 경부암 및 폐암), 피부암, 예를 들어, 흑색종, 소세포폐암종 또는 폐 유암종을 포함한다. 치료는 상기 종류의 원발성 또는 전이성 종양을 갖는 환자에 적용될 수 있다. 치료는 또한 통상적인 치료(예를 들어, 호르몬, 타목시펜(tamoxifen), 허셉틴(herceptin))에 난치성이거나, 상기 치료에 대한 반응 후에 재발된 환자에 적용될 수 있다. 상기 방법은 또한 삼중 음성 유방암에 사용될 수 있다. 삼중 음성 유방암은 검출가능한 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체가 결핍되고, 상기 수용체 중 임의의 수용체, 예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같은 수용체에 대해 항체로 염색하는 경우 HER2/neu의 과발현이 결핍된 암에 대한 당 분야의 용어이다. 염색은 관련이 없는 대조군 항체 및 실험 오차 내의 대조군의 것과 동일하거나 유사한 염색의 백그라운드 수준으로부터 제시된 발현의 결핍과 비교하여 수행될 수 있다. 마찬가지로, 과발현의 결핍은 바람직하게는 동일 환자로부터 수득된 비암성 유방 조직의 실험 오차 내의 동일하거나 유사한 수준에서의 염색에 의해 제시된다. 대안적으로 또는 추가로, 삼중 음성 유방암은 상기 수용체와 상호작용하는 호르몬에 대한 반응성의 결핍, 공격성 특성 및 전이의 명백한 패턴을 특징으로 한다. hLIV14 항체는 LIV-1을 발현하는 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 한 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 유방암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 전립선암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 흑색종을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 난소암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 자궁내막암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 자궁경부암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 간암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 위암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 신장암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 편평세포 암종(예를 들어, 방광암, 두부암, 경부암 및 폐암)을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 유방암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 피부암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV14 항체는 LIV-1-발현 소세포폐암종 또는 폐 유암종을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. hLIV22 항체는 LIV-1을 발현하는 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 한 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 유방암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 전립선암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 흑색종을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 난소암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 자궁내막암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 자궁경부암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 간암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 위암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 신장암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 편평세포 암종(예를 들어, 방광암, 두부암, 경부암 및 폐암)을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 유방암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 피부암을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 또 다른 구체예에서, hLIV22 항체는 LIV-1-발현 소세포폐암종 또는 폐 유암종을 갖는 피검체를 치료하는데 사용된다. 본 출원은 LIV-1 단백질이 흑색종 세포의 표면에서 발현된다는 첫번째 개시를 제공한다. 따라서, LIV-1에 결합하는 항체는 LIV-1을 발현하는 흑색종에 걸린 환자를 치료하는데 사용될 수 있다. 이러한 항체는 본원에 개시된 항체, 예를 들어, hLIV14 및 hLIV22를 포함하나, 본원에 개시된 항체에 제한되지는 않는다.

[0164]

인간화 항체 단독 또는 이의 컨주게이트는 암의 발병을 지연시키고/시키거나, 중증도를 감소시키고/시키거나, 추가 악화를 억제하고/하거나, 적어도 하나의 증후 또는 증상을 개선시키는, 투여량을 의미하는 유효 요법량, 투여 경로 및 투여 빈도로 투여된다. 환자가 이미 암에 걸린 경우, 요법량은 치료적 유효 요법량으로 언급될 수 있다. 환자가 일반 집단에 비해 암의 위험이 상승되어 있으나, 아직 증상을 경험하지 않은 경우, 요법량은 예방적 유효 요법량으로 언급될 수 있다. 일부 예에서, 치료적 또는 예방적 효능은 과거 대조군에 비해 개별적 환자에서 관찰될 수 있거나, 동일 환자에서의 과거 경험에서 관찰될 수 있다. 다른 예에서, 치료적 또는 예방적 효능은 미처리된 환자의 대조 집단에 비해 처리된 환자의 집단에서 전임상 또는 임상 시험에서 입증될 수 있다.

- [0165] 모노클로날 항체에 대한 예시적 투여량은 0.1 mg/kg(환자의 체중의 kg) 내지 50 mg/kg, 더욱 통상적으로 1 mg/kg 내지 30 mg/kg, 1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 1 mg/kg 내지 15 mg/kg, 1 mg/kg 내지 12 mg/kg, 또는 1 mg/kg 내지 10 mg/kg 1, 또는 2 mg/kg 내지 30 mg/kg, 2 mg/kg 내지 20 mg/kg, 2 mg/kg 내지 15 mg/kg, 2 mg/kg 내지 12 mg/kg, 또는 2 mg/kg 내지 10 mg/kg, 또는 3 mg/kg 내지 30 mg/kg, 3 mg/kg 내지 20 mg/kg, 3 mg/kg 내지 15 mg/kg, 3 mg/kg 내지 12 mg/kg, 또는 3 mg/kg 내지 10 mg/kg이다. 모노클로날 항체 또는 이의 항체 약물 컨쥬게이트에 대한 예시적 투여량은 고정된 투여량으로서 1 mg/kg(피검체의 체중의 kg) 내지 7.5 mg/kg, 또는 2 mg/kg 내지 7.5 mg/kg 또는 3 mg/kg 내지 7.5 mg/kg, 또는 0.1-20, 또는 0.5-5 mg/kg(체중)(예를 들어, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 mg/kg) 또는 10-1500 또는 200-1500 mg이다. 일부 방법에서, 환자는 3주마다 1회 또는 그 초과로 투여되는 적어도 1.5 mg/kg, 적어도 2 mg/kg 또는 적어도 3 mg/kg의 용량으로 투여된다. 투여량은 다른 요인 중에서 투여 빈도, 존재시, 환자의 상태 및 처리 전 반응, 치료가 예방적 또는 치료적 인지의 여부 및 장애가 급성 또는 만성인지의 여부에 좌우된다.
- [0166] 투여는 비경구, 정맥내, 경구, 피하, 동맥내, 두개내, 수막강내, 복막내, 국소, 비내 또는 근내 투여일 수 있다. 투여는 또한 종양에 직접 국소화될 수 있다. 정맥내 또는 피하 투여에 의한 전신 순환으로의 투여가 바람직하다. 정맥내 투여는, 예를 들어, 30-90분과 같은 기간에 걸친 주입 또는 단일 볼루스 주사에 의해 이루어질 수 있다.
- [0167] 투여 빈도는 다른 요인 중에서 순환 내에서의 항체 또는 컨쥬게이트의 반감기, 환자의 상태 및 투여 경로에 좌우된다. 빈도는 환자의 상태 또는 치료되는 암의 진행에서의 변화에 반응하여 매일, 매주, 매월, 연4회, 또는 비정기적 간격일 수 있다. 정맥내 투여에 대한 예시적 빈도는 연속적 치료 과정에 걸쳐 매주 2회 내지 연4회 사이이나, 더 빈번하거나 덜 빈번한 투여가 또한 가능하다. 정맥내 투여에 대한 다른 예시적 빈도는 연속적 치료 과정에 걸쳐 매주 또는 4주 중 3회 사이이나, 더 빈번하거나 덜 빈번한 투여가 또한 가능하다. 피하 투여를 위해, 예시적 투여 빈도는 매일 내지 매월이나, 더 빈번하거나 덜 빈번한 투여가 또한 가능하다.
- [0168] 투여되는 투여량의 수는 암의 특성(예를 들어, 급성 또는 만성 증상을 나타내는지의 여부) 및 치료에 대한 장애의 반응에 좌우된다. 급성 장애 또는 만성 장애의 급성 악화에 대해, 1 내지 10회의 용량이 종종 충분하다. 때때로, 임의로 나누어진 형태의 단일 볼루스 용량이 급성 장애 또는 만성 장애의 급성 악화에 충분하다. 치료는 급성 장애 또는 급성 악화의 재발에 대해 반복될 수 있다. 만성 장애에 대해, 항체는 적어도 1, 5 또는 10년 동안, 또는 환자의 생애 동안 정기적 간격, 예를 들어, 매주, 격주, 매월, 연4회, 6개월 마다 투여될 수 있다.
- [0169] 비경구 투여를 위한 약학적 조성물은 바람직하게는 살균되어 있고, 실질적으로 등장성이고, GMP 조건하에서 제조된다. 약학적 조성물은 단위 투여 형태(즉, 단일 투여를 위한 투여량)로 제공될 수 있다. 약학적 조성물은 하나 이상의 생리학적으로 허용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 보조제를 이용하여 제형화될 수 있다. 제형은 선택된 투여 경로에 좌우된다. 주사를 위해, 항체는 수용액, 바람직하게는 생리학적 상용성 완충액, 예를 들어, 헝크액(Hank's solution), 링거액(Ringer's solution), 또는 생리학적 염수 또는 아세테이트 완충액(주사 부위에서의 불편함을 감소시키기 위함) 중에서 제형화될 수 있다. 용액은 제형화 작용제, 예를 들어, 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체는 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어, 멸균 발열원 비함유 물을 이용한 재구성을 위한 동결건조된 형태일 수 있다. 액체 제형 중의 항체의 농도는, 예를 들어, 1-100 mg/ml, 예를 들어, 10 mg/ml일 수 있다.
- [0170] 본 발명의 항체를 이용한 치료는 화학요법, 방사선, 줄기세포 치료, 수술, 치료되는 장애에 대해 효과적인 다른 치료와 조합될 수 있다. LIV-1에 대한 인간화 항체와 함께 투여될 수 있는 다른 작용제의 유용한 부류는, 예를 들어, 암성 세포에서 발현되는 다른 수용체에 대한 항체, 항류불린 작용제(예를 들어, 아우리스타틴), DNA 작은 홈 결합제, DNA 복제 억제제, 알킬화 작용제(예를 들어, 백금 복합체, 예를 들어, 시스-플라틴, 모노(백금), 비스(백금) 및 3-핵 백금 복합체 및 카르보플라틴), 안트라사이클린, 항생제, 항폴린산제, 항대사물질, 화학요법 민감제, 듀오카르마이신, 에토포시드, 플루오르화된 피리미딘, 이온운반체, 렉시트로핀(lexitropsin), 니트로소우레아, 플라티놀, 예비-형성 화합물(pre-forming compound), 퓨린 항대사물, 퓨로마이신, 방사선 민감제, 스테로이드, 타산, 국소이성화효소 억제제, 빈카 알칼로이드 등을 포함한다.
- [0171] 단독이거나 항체 약물 컨쥬게이트로서의 상기 기재된 다른 작용제 또는 요법제 중 임의의 작용제 또는 요법제와 임의로 조합된 인간화 항-LIV-1 항체를 이용한 치료는 항-LIV-1 항체 단독 또는 컨쥬게이트가 없는 동일 처리(예를 들어, 화학요법)에 비해 특히 재발성이거나 난치성인 경우 종양(예를 들어, 유방암, 전립선암, 흑색종)을 갖는 환자의 중간 무진행 생존(median progression-free survival) 또는 전체 생존 기간을 적어도 30% 또는

40%, 바람직하게는 50%, 60% 내지 70% 또는 심지어 100% 또는 이보다 더 길게 증가시킬 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 항-LIV-1 항체 단독 또는 컨주게이트를 포함하는 처리(예를 들어, 표준 화학요법)는 항-LIV-1 항체가 없는 동일 처리(예를 들어, 화학요법)에 비해 종양을 갖는 환자의 완전 반응을, 부분 반응을, 또는 객관적 반응을(완전 + 부분)를 적어도 30% 또는 40%, 바람직하게는 50%, 60% 내지 70% 또는 심지어 100% 증가시킬 수 있다.

[0172] 통상적으로, 임상 시험(예를 들어, II상, II/III상 또는 III상 시험)에서, 표준 요법을 단독(또는 위약을 더함)으로 받은 환자의 대조군에 비해 표준 요법에 더한 인간화 항-LIV-1 항체로 처리된 환자의 중간 무진행 생존률 및/또는 반응률에서의 상기 언급된 증가는, 예를 들어,  $p = 0.05$  또는  $0.01$  또는 심지어  $0.001$  수준에서 통계적으로 유의하다. 완전 반응률 및 부분 반응률은, 예를 들어, 미국 국립암연구소(National Cancer Institute) 및/또는 미국 식품의약국(Food and Drug Administration)에 나열되어 있거나 이에 의해 허용되는 바와 같은 암에 대한 임상 시험에서 통상적으로 사용되는 객관적 기준에 의해 결정된다.

[0173] VIII. 기타 적용

[0174] 항-LIV-1 인간화 항체는 임상 진단 또는 치료의 상황 또는 연구 시에 LIV-1을 검출하는데 사용될 수 있다. 암에서의 LIV-1의 발현은 암이 본 발명의 항체를 이용한 치료에 적용가능하다는 표시를 제공한다. 항체는 또한 LIV-1을 갖는 세포 및 다양한 자극에 대한 이들의 반응을 검출하는 실험실 연구를 위해 연구 시약으로 시판될 수 있다. 상기 용도에서, 모노클로날 항체는 형광 분자, 회전-표지된 분자(spin-labeled molecule), 효소 또는 방사성동위원소로 표지될 수 있고, LIV-1에 대한 검정을 수행하기 위한 모든 필요한 시약을 갖는 키트의 형태로 제공될 수 있다. 본원에 기재된 항체, BR2-14a, BR2-22a 및 이의 인간화 형태, 예를 들어, hLIV14 및 hLIV22는 LIV-1 단백질 발현을 검출하고, 암이 LIV-1 ADC를 이용한 치료에 적용가능한지의 여부를 결정하는데 사용될 수 있다. 예로서, BR2-14a, BR2-22a 및 이의 인간화 형태, 예를 들어, hLIV14 및 hLIV22는 유방암 세포, 흑색종 세포, 자궁경부암 세포, 또는 전립선암 세포에서의 LIV-1 발현을 검출하는데 사용될 수 있다. 항체는 또한, 예를 들어, 친화성 크로마토그래피에 의해 LIV-1을 정제하는데 사용될 수 있다.

[0175] IX. 시노물구스 원숭이 LIV-1

[0176] 본 발명은 SEQ ID NO:85의 대략 잔기 1-28을 점유하는 신호 펩티드가 있거나 없는 SEQ ID NO:85의 시노물구스 원숭이로부터의 LIV-1(CY LIV-1)에 대한 아미노산 서열, 뿐만 아니라 이러한 아미노산 서열을 엔코딩하는 핵산을 추가로 제공한다. 1, 2, 3, 4, 또는 5개 이하의 치환, 결실 또는 삽입에 의해 다양화된 변이체가 또한 포함되고, 단, CY 변이체는 자연 인간 LIV-1 서열을 포함하지 않는다. 인간 LIV-1과 유사하게, CY-LIV-1에 대한 언급은 적어도 단백질의 세포외 도메인, 보통 분해가능한 신호 펩티드(아미노산 1-28) 이외의 완전한 단백질을 의미한다. 본 발명은 인간 LIV-1에 특이적으로 결합(즉, 항체와 관계 없이 음성 대조군의 수준에서 인간 LIV-1에 결합)하거나 결합함이 없이 SEQ ID NO:85에 특이적으로 결합하는 항체를 추가로 제공한다. 본 발명은 인간 LIV-1에 비해 CY-LIV-1에 우선적으로 결합하거나 그 반대인 항체를 추가로 제공한다. 우선적 결합은 실험 오차를 넘어 더 높은, 바람직하게는 적어도 2배, 3배 또는 4배 더 높은 결합을 의미한다. 본 발명은 하기 기재되는 예시적 항체 중 임의의 항체와 동일한 실험 오차 내의 인간 및 CY LIV-1에 대한 결합 프로파일을 나타내는 항체를 추가로 제공한다. 본 발명은 CY LIV-1에 대한 항체의 결합을 분석하는 방법을 추가로 제공한다. 이러한 방법은 항체와 CY LIV-1을 접촉시키고, 항체가 CY LIV-1에 특이적으로 결합하는지의 여부를 결정하고, 임의로 결합 강도의 척도, 예를 들어, 결합 상수를 결정하는 것을 포함한다.

[0177] 상기 및 하기에 인용되는 모든 특허 출원, 웹사이트, 다른 간행물, 등록 번호 등은 각각의 개별적 항목이 참조로서 포함되는 것으로 명확하고 개별적으로 표시된 것과 동일한 정도로 모든 목적상 이들의 전체내용이 참조로서 포함된다. 다양한 순서의 버전이 다양한 시점의 등록 번호와 연관되는 경우, 상기 출원의 유효출원일의 등록 번호와 연관된 버전을 의미한다. 유효출원일은 실제 출원일의 이전 또는 적용가능한 경우 등록 번호를 언급하는 우선권 출원의 출원일을 의미한다. 마찬가지로, 다양한 버전의 간행물, 웹사이트 등이 다양한 시점에 공개되는 경우, 달리 표시하지 않는 한 출원의 유효 출원일에서 가장 최근에 공개된 버전을 의미한다. 본 발명의 임의의 특징, 단계, 구성요소, 구체예, 또는 양태는 달리 명확히 표시하지 않는 한 임의의 다른 특징, 단계, 구성요소, 구체예, 또는 양태와 조합하여 사용될 수 있다. 본 발명은 명료함 및 이해의 목적을 위해 예시 및 실시예에 의해 다소 상세히 기재되나, 특정 변화 및 변형이 첨부된 청구항의 범위 내에서 실시될 수 있음이 명백할 것이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**



- [0178] 실시예
- [0179] I. BR2-14a의 인간화
- [0180] 재료
- [0181] 하기 실시예에 기재되는 세포주를 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection, ATCC), 미국 국립 암연구소(National Cancer Institute, NCI) 또는 독일 생물자원센터(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany (DMSZ))에 의해 상술된 조건에 따라 배양 상태로 유지시켰다. 세포 배양 시약을 인비트로젠 코포레이션(Invitrogen Corp.)(Carlsbad, CA.) 또는 다른 공급자로부터 입수하였다.
- [0182] 방법:
- [0183] 포화 결합 검정
- [0184]  $1 \times 10^5$  개의 항원 발현 세포(인간 LIV-1을 발현하는 MCF7 세포(ATCC), 인간 LIV-1을 발현하는 트랜스펙션된 CHO 세포주 또는 시노몰구스 LIV-1을 발현하는 트랜스펙션된 CHO 세포주)를 96-웰 v-바닥 플레이트의 웰 당 분취하였다. AlexaFluor-647 표지된 뮤린 LIV-1 mAb, 예를 들어, BR2-14a를 0.66 pM 내지 690 nM 범위의 농도로 첨가하고, 30분 동안 얼음 상에서 인큐베이션하였다. 세포를 펠렛화시키고, PBS/BSA로 3회 세척하였다. 이후, 세포를 펠렛화시키고, 125  $\mu$ L의 PBS/BSA에 재현탁시켰다. 포화 형광 신호의 퍼센트를 이용하여 흐름세포측정법에 의해 형광을 분석하여, 결합된 퍼센트를 결정하고, 이후 겔보기 Kd를 계산하였다.
- [0185] 경쟁 결합 검정
- [0186] PBS/BSA 중  $1 \times 10^5$  개의 재조합 인간 LIV-1을 발현하는 CHO 세포를 얼음 상의 96-웰 v-바닥 플레이트의 각각의 웰에 분취하였다. 세포를 5 nM AlexaFluor-647(AF) 표지된 모 뮤린 LIV-1 mAb, 및 인간화 경쇄 LA-LF 및 인간화 중쇄 HA-HE의 조합물인 증가하는 농도(0.038 nM로부터 600 nM)의 표지되지 않은 인간화 LIV-1 mAb와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 펠렛화시키고, PBS/BSA로 3회 세척하였다. 세포를 펠렛화시키고, 125  $\mu$ L의 PBS/BSA에 재현탁시켰다. 포화 형광 신호의 퍼센트를 이용하여 흐름세포측정법에 의해 형광을 분석하여, 결합된 표지된 뮤린 LIV-1 mAb 퍼센트를 결정하고, 이후 데이터를 가변 기울기를 갖는 S자 형 용량-반응 곡선에 적합화시킴으로써 EC50을 외삽(extrapolation)하였다.
- [0187] PBS/BSA 중의  $1 \times 10^5$  개의 LIV-1을 발현하는 MCF7 세포를 얼음 상의 96-웰 v-바닥 플레이트의 각각의 웰에 분취하였다. 세포를 5 nM AlexaFluor-647 표지된 뮤린 LIV-1 mAb, 및 인간화 경쇄 LA-LF 및 인간화 중쇄 HA-HE의 조합물인 증가하는 농도(0.038 nM로부터 600 nM)의 표지되지 않은 인간화 LIV-1 mAb와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 펠렛화시키고, PBS로 3회 세척하였다. 세포를 펠렛화시키고, 125  $\mu$ L의 PBS/BSA에 재현탁시켰다. 형광을 포화 형광 신호의 퍼센트를 이용하여 흐름세포측정법에 의해 분석하여, 결합된 표지된 뮤린 LIV-1 mAb 퍼센트를 결정하고, 이후 데이터를 가변 기울기를 갖는 S자 형 용량-반응 곡선에 적합화시킴으로써 EC50을 외삽하였다.
- [0188] PBS 중  $1 \times 10^5$  개의 재조합 시노몰구스 LIV-1을 발현하는 CHO 세포를 얼음 상의 96-웰 v-바닥 플레이트의 각각의 웰에 분취하였다. 세포를 5 nM AlexaFluor-647 표지된 뮤린 LIV-1 mAb, 및 인간화 경쇄 LA-LF 및 인간화 중쇄 HA-HE의 조합물인 증가하는 농도(0.038 nM으로부터 600 nM)의 표지되지 않은 인간화 LIV-1 mAb와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 펠렛화시키고, PBS로 3회 세척하였다. 세포를 펠렛화시키고, 125  $\mu$ L의 PBS/BSA에 재현탁시켰다. 형광을 포화 형광 신호의 퍼센트를 이용하여 흐름세포측정법에 의해 분석하여, 결합된 표지된 뮤린 LIV-1 mAb 퍼센트를 결정하고, 이후 데이터를 가변 기울기를 갖는 S자 형 용량-반응 곡선에 적합화시킴으로써 EC50을 외삽하였다.
- [0189] 정량 흐름세포측정 분석
- [0190] 세포 표면 상의 LIV-1 카피수의 양을 제조업체(DAKO A/S, Glostrup, Denmark)에 의해 설명된 바와 같이 일차 항체로서 뮤린 LIV-1 mAb 및 DAKO QiFiKit 흐름세포측정 간접 검정을 이용하여 결정하고, Becton Dickinson FACS®can 흐름세포측정기를 이용하여 평가하였다.
- [0191] 세포독성 검정

- [0192] 종양 세포를 37℃에서 96-144시간 동안 LIV-1 항체 약물 컨쥬게이트와 함께 인큐베이션하였다. 비-결합(H00) ADC를 음성 대조군으로 사용하였다. 세포 생활력을 50  $\mu$ M의 최종 농도에서 레사주린(resazurin)(Sigma)으로 측정하였다. 세포를 37℃에서 4 내지 6시간 동안 인큐베이션하였다. 형광 신호를 Fusion HT 형광 플레이트 판독기(Perkin Elmer, Waltham, MA)에서 측정하였다. 결과를 비히클-처리된 세포(대조군 = 100%)에 비해 생활력에서 50% 감소를 발생시키는데 필요한 화합물의 농도인 IC<sub>50</sub>으로 보고하였다.
- [0193] **항체 약물 컨쥬게이트의 생성**
- [0194] LIV-1 항체의 항체 약물 컨쥬게이트를 US20050238649호에 기재된 바와 같이 제조하였다. 약물 링커 vcMMAE(1006으로도 언급됨) 및 mcMMAF(1269로 언급됨) 둘 모두는 US20050238649호에 기재되어 있다. IgG1 항체의 시스테인 돌연변이의 제조는 일반적으로 US20100158919호에 기재되어 있다. US20050238649호 및 US20100158919호는 모든 목적상 참조로서 본원에 포함된다.
- [0195] **푸코실화되지 않은 항-LIV-1 mAb의 생성**
- [0196] 인간화 IgG1 항-LIV-1 모노클로날 항체인 HBLB mAb(hLIV-14)를 생성하는 CHO DG44 세포주를 125 mL 진탕 플라스크에서 100 RPM으로 진탕시키면서 37℃ 및 5% CO<sub>2</sub>에서 30 mL의 CHO 배양 배지에서 mL 당 3.0 x 10<sup>5</sup>개의 세포로 배양하였다. 배지에 인슐린 유사 성장인자(IGF), 페니실린, 스트렙토마이신 및 65  $\mu$ M 2-플루오로푸코스 피아세테이트(SGD-2084)를 보충하였다(US20090317869 참조). 3일째에 배양물에 2% 부피의 공급 배지를 공급하였다. 4일째에, 배양물을 새로운 배양 배지로 1:4로 분할하였다. 5, 7, 9 및 10일째에 6% 부피의 생성물 공급 배지를 배양물에 공급하였다. 13일째에 배양물을 0.2  $\mu$ m 필터를 통해 통과시킴으로써 적응용 배지를 수거하였다. 적응용 배지를 1X 인산염 완충 염수(PBS), pH 7.4로 예비-평형화된 단백질 A 컬럼에 적용시킴으로써 항체 정제를 수행하였다.
- [0197] 20 컬럼 부피의 1X PBS로 컬럼을 세척한 후, 항체를 5 컬럼 부피의 Immunopure IgG 용리 완충액(Pierce Biotechnology, Rockford, IL)으로 용리시켰다. 10% 부피의 1M Tris pH 8.0을 용리된 분획에 첨가하였다. 샘플을 1x PBS로 밤새 투석시켰다.
- [0198] **항체-의존성 세포 세포독성(ADCC)**
- [0199] 표준 <sup>51</sup>Cr-방출 검정을 이용하여 ADCC 활성을 측정하였다. 간단히, MCF-7 표적 종양 세포를 100  $\mu$ Ci의 Na <sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>로 표지하고, 세척하고, 시험 항체와 예비-인큐베이션시키고, 효과기(자연살세포, NK) 세포를 첨가하였다. NK(CD16<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>) 세포를 면역자기 비드(EasySep, StemCell Technologies, Vancouver, BC, Canada)를 이용하여 정상 Fc  $\gamma$ RIIIA 158V/V 공여체(Lifeblood, Memphis, TN)로부터 수득된 비-부착성 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 제조하였다. 살아있는 NK 세포를 10:1의 효과기 대 표적 세포 비로 표적 세포에 첨가하였다. 인간 IgG1  $\kappa$ (Ancell, Bayport, MN)를 본 검정에서 음성 대조군으로 사용하였다. 4시간의 인큐베이션 후, 상층액을 수거하고, Luma 플레이트 상에서 밤새 건조시켰다. 용해된 MCF-7 세포로부터 방출된 감마 방사선을 이후 TopCount 마이크로플레이트 신틸레이션 및 발광 계수기(TopCount Microplate Scintillation and Luminescence Counter)(Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts)를 이용하여 검출하였다. ADCC 활성을 특이적 용해 %로 보고하였다.
- [0200] **생체내 활성 연구**
- [0201] 누드(nu/nu) 마우스(7-8마리의 동물/그룹)에 NCI로부터의 MCF-7(25% 매트릭셀 중 5x10<sup>6</sup>개의 세포), ATCC로부터의 PC3(25% 매트릭셀 중 2.5x 10<sup>6</sup>개의 세포), 및 DSMZ로부터의 PC3(25% 매트릭셀 중 5 x 10<sup>5</sup>개의 세포)의 배양액에서 성장된 종양 세포를 이식하였다. MCF-7 세포의 생체내 성장을 위해, 암컷 마우스에 또한 서방형 에스트로겐 펠렛(90일 방출)을 이식함으로써 에스트로겐 보충물을 투여하였다. 키메라 또는 인간화 LIV-1 ADC 또는 비결합 대조군 ADC(3 mg/kg)의 투여를, 종양이 100 mm<sup>3</sup>에 도달한 경우에 개시하였다(q4d x 4 복막내 주사). 캘리퍼스를 이용하여 종양 부피를 모니터링하였고, 종양 부피가 ~800 mm<sup>3</sup>에 도달한 경우에 동물을 안락사시켰다. 하나 이상의 동물이 안락사 될 때까지 각 그룹에 대해 중간 종양 부피 플롯을 지속시켰다. 모든 동물 절차를 국제실험동물관리평가인증협회(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)에 의해 인가된 시설 내에서 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인된

프로토콜 하에서 수행하였다.

[0202] **LIV-1 면역조직화학(IHC) 염색**

[0203] **방법**

[0204] 종양 마이크로어레이(TMA) 및 개별적 종양 샘플을 시판원으로부터 입수하였다. 정상 또는 종양의 포르말린 고정 및 파라핀 포매(formalin fixed and paraffin embedded, FFPE) 조직으로부터의 조직 마이크로어레이를 US Biomax Inc. 또는 Cybrdi로부터 구입하였다. 동결된 어레이를 BioChain으로부터 구입하였다. 단일 절편을 NDRI, Asterand, Tissue Solution 또는 CHTN으로부터 구입하였다. 전이성 호르몬 난치성 전립선암(상응하는 뼈 및 연조직 전이성 부위)의 25개의 파라핀-포매 샘플의 세트가 워싱턴 대학의 비노생식 암 학과(University of Washington, Genitourinary Cancer Department)의 R. 베셀라(R. Vessella) 박사에 의해 제공되었다. 모든 샘플을 Bond-Max™ 자동-염색기(Leica)에서 처리하였다.

[0205] **FFPE 조직의 IHC 염색:**

[0206] FFPE 슬라이드 또는 유리 슬라이드 상에 절편화된 TMA를 72℃에서 Bond™ 탈랍(Dewax) 용액(Leica, cat # AR9222)을 이용하여 탈파라핀화(de-paraffinization)시키고, 재수화시켰다. 95-100℃에서 20분 동안 EDTA 기반 Bond™ 에피토프 복구 용액 2(Leica, cat # AR9640)를 이용하여 항원 복구(antigen retrieval)를 수행하고, 일차 뮤린 LIV-1 mAb와 함께 인큐베이션(25℃에서 30-45분 동안 1-2 µg/ml)하였다. 아이소형-매치된 뮤린 IgG1(Sigma; cat # M5284)을 백그라운드 염색을 위한 음성 대조군으로 사용하였다. 자동화된 IHC 염색을 위해, 본 발명자는 정제 DAB(Refine DAB) 키트 또는 알칼리성 포스파타제 기반 검출 키트: Bond™ 폴리머 AP 레드 검출(Bond™ Polymer AP Red Detection) 키트(Leica, cat # DS9305)를 사용하였다. 슬라이드를 30분의 예비 단백질 차단(DAKO cat #X0909)과 함께 45분 동안 뮤린 LIV-1 mAb에 대한 1 µg/ml의 뮤린 모노클로날 일차 항체와 함께 인큐베이션하였다. 색소원 발달 후, 절편을 헤마톡실린(hematoxylin)으로 대조염색하고, 커버 슬립을 덮었다. 병리학자가 슬라이드를 평가하고 스코어를 매기고, 이미지를 Zeiss Axiovert 200M 현미경(Carl Zeiss, Inc., Thornwood, NY)을 이용하여 포착하였다.

[0207] **동결된 조직의 IHC:**

[0208] 5 µm 절편의 동결/OCT 샘플을 10분 동안 아세톤 고정시키고, 30분 동안 공기 건조시키고, 실온에서 1xMorphosave로 20분 동안 전처리하였다. 슬라이드를 Bond-Max™ 자동-염색기(Leica)에 로딩하고, 30분의 예비 단백질 차단(DAKO cat# X0909)과 함께 일차 항체로 45분 동안 염색시켰다. 마우스 IgG1(BD Pharmingen cat #550878)을 음성 대조군으로 사용하였다. 검출을 위해, 본 발명자는 DAB-기반 결합 폴리머 정제(DAB-based Bond Polymer Refine) 키트(Leica, cat # DS9800)를 사용하였다. 색소원 발달 후, 절편을 헤마톡실린으로 대조염색하고, 커버 슬립을 덮었다. 병리학자가 슬라이드를 평가하고 스코어를 매겼다.

[0209] **결과**

[0210] **1. 마우스 항체의 결합**

[0211] 뮤린 LIV-1 모노클로날 항체 BR2-14a 항체(US2004141983)에 대한 K<sub>D</sub>를 인간 유방암 세포주에서 내인성 단백질 또는 CHO 세포주에서 재조합 단백질로 발현된 인간 LIV-1에 대해 결정하였다. 뮤린 LIV-1 항체 BR2-14a에 대한 K<sub>D</sub>를 또한 CHO 세포주에서 재조합 단백질로 발현된 시노물구스 LIV-1에 대해 결정하였다. MCF7은 인간 유방암 세포주이다. 293F는 인간 배아 신장 세포주이다. 표 1은 항체가 인간(hLIV-1)으로부터 유래되거나 시노물구스 원숭이(cyLIV-1)로부터 유래되건 간에 재조합 LIV-1보다 인간 세포주로부터 발현된 비-재조합 LIV-1에 대해 약 5배 더 낮은 해리 상수를 갖는 것을 나타낸다.

[0212] 표 1

세포주	항원	Kd (nM)
MCF-7 (ATCC)	hLIV-1	2.4
293F (hLIV-1)	hLIV-1	2.7
CHO (hLIV-1)	hLIV-1	12.5
CHO (cyLIV-1)	cLIV-1	14.0

[0213]

## [0214] 2. 인간화 항체의 설계 및 시험

[0215] 본 실시예에서의 인간화를 위한 시작 지점 및 공여체 항체는 ATCC 등록 번호 PTA-5705A를 갖는 하이브리도마에 의해 생성되고, US2004141983호에 기재된 마우스 항체 BR2-14a이다. 적합한 인간 수용체 서열은 중쇄에 대해 VH1-02 및 JH5 및 경쇄에 대해 VK2-30 및 Jk4에 의해 제공되는 유전체 서열이다. 인간 수용체 서열은 가변 영역 프레임워크 내에서 공여체 서열에 대해 68 및 85 백분율의 동일성을 나타낸다. 인간 수용체 서열의 경쇄 CDR은 공여체 서열의 CDR과 동일한 정준 유형의 CDR이다. 대조적으로, 인간 수용체 서열의 중쇄 CDR은 이들의 정준 유형에서 상이하다(점라인은 뮤린 공여체에 대해 1-3 대 1-2였다).

[0216] 공여체 서열의 정렬에서, 인간 수용체 서열이 공여체 서열과 상이하고, 직접적인 항원 접촉의 결과로서 항체 결합에 영향을 미쳐, CDR의 형태에 영향을 미치거나 중쇄와 경쇄 사이의 패키징에 영향을 미치는, 중쇄 내의 11개의 위치(H27, H28, H29, H30, H48, H66, H67, H71, H76, H93 및 H94) 및 경쇄 내의 5개의 위치(L36, L37, L45, L46 및 L39)를 확인하였다. 상기 위치 중 다양한 퍼뮤테이션에 역돌연변이를 통합시켜 5개의 인간화된 중쇄 및 6개의 인간화된 경쇄를 제조하였다(도 1(서열 정렬) 및 표 2).

[0217] 표 2: 역돌연변이

V <sub>H</sub> 변이체	VH 엑손 수용체 서열	공여체 프레임워크 잔기
hV <sub>H</sub> A	VH1-02	없음
hV <sub>H</sub> B	VH1-02	H29, H30, H76
hV <sub>H</sub> C	VH1-02	H66, H67, H71
hV <sub>H</sub> D	VH1-02	H27, H93, H94
hV <sub>H</sub> E	VH1-02	H27, H28, H29, H30, H48, H76, H66, H67, H71, H93, H94

V <sub>L</sub> 변이체	VL 엑손 수용체 서열	공여체 프레임워크 잔기
hV <sub>K</sub> A	VK2-30	없음
hV <sub>K</sub> B	VK2-30	L36
hV <sub>K</sub> C	VK2-30	L37
hV <sub>K</sub> D	VK2-30	L45
hV <sub>K</sub> E	VK2-30	L46
hV <sub>K</sub> F	VK2-30	L36, L37, L39, L45, L46

[0218]

[0219] 이후, 인간화 중쇄 및 경쇄의 상기 사슬의 모든 퍼뮤테이션(30개의 가능성)을 나타내는 인간화 항체를 발현시켰다. CHO 세포로부터 발현된 재조합 인간 LIV-1에 대한 결합 곡선이 도 2에 제시되어 있다. EC50은 하기 표 3에 요약되어 있다.



[0220] 표 3: CHO 세포에서 발현된 인간 LIV-1에 대한, BR2-14a로부터 유래된 인간화 LIV-1 mAb 항체에 대한 EC<sub>50</sub>

Ab	EC <sub>50</sub> (μg/mL)
HALA	DNB
HALB	37.8
HALC	25.5
HALD	4.9
HALE	DNB
HALF	8.8
HBLA	19.9
HBLB	0.3
HBLC	44.0
HBLD	17.4
HBLE	DNB
HBLF	0.7
HCLA	DNB
HCLB	1.8
HCLC	DNB
HCLD	66.6
HCLE	DNB
HCLF	1.3
HDLA	DNB
HDLB	2.3
HDLC	DNB
HDLD	67.9
HDLE	DNB
HDLF	1.4
HELA	12.5
HELB	173.3
HELC	DNB
HELD	24.2
HELE	0.3
HELF	1.5

[0221] DNB는 “결합하지 않음”을 의미한다

[0222] 이들 데이터는 다음 인간화 항체 HBLF의 결합보다 적어도 2배 나은 결합 및 대부분의 인간화 항체에 비해 더 큰 한계(margin)를 나타내는 HBLB 및 HELE로 처리된 30개의 인간화 항체 사이의 EC<sub>50</sub>의 현저한 변동을 나타낸다. 도 2의 결합 곡선은 HBLB 및 HELE 둘 모두가 본래의 마우스 항체보다 강한 결합을 갖는 것을 나타낸다.

[0223] 인간화 항체의 최적으로서 HBLB 항체를 선택하였는데, 이는 상기 HBLB 항체가 (HELE와 함께) 가장 강한 결합을 갖지만, HELE에 비해 더 적은 역돌연변이를 갖기 때문이며, HBLB에는 4개의 역돌연변이가 존재하고, HELE에는 12개의 역돌연변이가 존재한다.

[0224] CHO 세포에서 발현된 인간 LIV-1에 결합한 인간화 LIV-1 mAb에 대한 EC<sub>50</sub>을 MCF7 세포주 내에서 자연 단백질로 발현된 인간 LIV-1에 대해 결정하였다(도 3). 다시, LIV-1 mAb HBLB 및 HELE가 가장 단단한 결합체인 것으로 결정되었다.

[0225] MCF7 세포주에서의 인간 LIV-1에 대한 HBLB의 K<sub>d</sub>는 여러 포화 결합 곡선의 평균으로부터 1.5 nM로 결정된 반면, 마우스 항체에 대한 K<sub>d</sub>는 2.9 nM이었다. 즉, HBLB 항체는 마우스 항체보다 자연 인간 LIV-1에 대해 약 2배의 친화성을 가졌다. 도 4에 제시된 포화 결합 곡선이 대표적 예이다.

[0226] HBLB의 두 형태를 CHO 세포로부터 재조합적으로 발현된 인간 LIV-1으로의 결합에 대해 비교하였다. 한 형태는 야생형 인간 IgG1 및 카파 불변 영역으로 발현되었다. 나머지 형태는 Fc 감마 수용체에 대한 항체의 결합을 감소시키는 IgG1 중쇄 내의 S239C 돌연변이(EU 넘버링)(LIV-14d 또는 HBLB S239C로 언급됨)를 제외하고는 동일하였다. 마우스 공여체 항체와 비교된 상기 항체의 결합 곡선 및 EC<sub>50</sub>이 도 5에 제시된다. HBLB의 둘 모두의 형태의 EC<sub>50</sub>은 서로 유사(연구의 오차 범위 내)하였고, 둘 모두는 마우스 항체보다 강했다.

[0227] 인간화 LIV-1 mAb HBLB 및 HBLB S239C에 대한 EC<sub>50</sub>을 또한 CHO 세포주에서 재조합 단백질로 발현된 시노물구스 LIV-1에 대해 결정하였다. 둘 모두의 항체는 동일한 친화성(뮤린 LIV-1 mAb보다 나음)으로 결합하였다.

[0228] LIV-1에 대한 발현 데이터

[0229] 무린 LIV-1 mAb(합치를 위해 적어도 2개)를 포르말린-고정되고 파라핀 포매된 조직을 이용한 다양한 종양 유형의 면역조직화학 분석에 사용하였다.

[0230] 표 4: 종양 샘플에서의 LIV-1에 대한 발현 데이터의 요약

기원	유형	LIV-1+	# 환자	%
유방	원발성 & 전이성 (TMA)			28-46
	원발성 종양	12	12	100
	전이성 종양	17	19	89
	호르몬 처리 후	19	22	86
	삼중 음성	13	20	65
전립선	전이성 호르몬 난치성: 뼈 전이	15	25	60
	연성 조직 전이	21	25	84
난소	원발성 (TMA)	9	72	13
	전이성 (TMA)	4	11	36
	화학처리 후	5	17	29
자궁내막		7	56	12
편평세포 암종(자궁 및 다수의 기관)	원발성 종양	8	114	7
췌장	원발성 종양	9	95	9
폐	원발성 종양(TMA)	3	192	2

[0231]

[0232] 본 발명자는 큰 조직 절편에 비해 조직 마이크로어레이를 이용하여 수행된 연구에서 더 낮은 LIV-1 IHC 확실성을 관찰하였다. 발현에서의 차이는 매우 유의하였고, 이는 더 큰 조직 절편에서의 LIV-1 발현의 분석이 바람직함을 암시한다. 적어도 2개의 상이한 항-LIV-1 mAb를 이용한 발현의 우수한 합치가 존재하였다. 도 6 및 7은 호르몬(타목시펜 또는 아로마타제 억제제) 처리된 후 유방 및 전립선 종양에서의 LIV-1 발현의 높은 수준을 나타내며, 이는 LIV-1 ADC를 이용하여 상기 종양을 표적화시키는 것의 강한 이론적 근거를 제공한다. 도 8은 삼중 음성(ER-, PgR-, Her2-) 유방암 조직에서의 검출가능한 LIV-1 발현을 제시한다. 면역조직화학 염색에 의한 삼중 음성 유방암에서의 LIV-1 발현 수준은 PC3 동물 모델에서의 수준과 동등하였고, 여기서 본 발명자는 LIV-1 ADC의 항-종양 활성을 입증하였다. 따라서, 삼중 음성 유방암, 특히 LIV-1을 발현하는 것으로 밝혀진 삼중 음성 유방암은 잠재적 표적 집단이다.

[0233] ADC로서의 hLIV-14 mAb 및 효과기 기능 향상된 mAb(SEA)의 시험관내 항-종양 활성

[0234] 시험관내에서의 LIV-1 ADC의 항-종양 활성을 세포독성 검정(도 9) 및 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC) 둘 모두를 이용하여 측정하였다(도 10 및 11). 첫째로, 본 발명자는 정량 FACS 분석에 의해 다양한 세포주에서의 LIV-1 발현의 조사를 수행하였다. ATCC로부터의 유방암 세포주 MCF-7은 다른 공급원으로부터의 MCF-7 세포주에 비해 가장 높은 수준의 LIV-1 결합 부위/세포를 가졌다(데이터는 제시하지 않음). 본 발명자는 시험관내에서의 둘 모두의 검정에 대해 상기 세포주를 사용하였다. 도 9를 참조하여, 다양한 hLIV-14 ADC(vcMMAE(1006으로 언급됨) 또는 mcMMAF(1269로 언급됨))(둘 모두 US20050238649호에 기재된 소분자 및/또는 링커)와 컨쥬게이션된 HBLB 항체)는 비결합 및 무린 대조군 컨쥬게이트(mIgG-1006, mIgG-1269, hIgG-1006 및 hIgG-1269)와 비교하여 MCF-7 세포를 사멸시키는데 매우 효과적이었다. 또한, 항체 당 평균 2개의 약물 링커를 갖는 시스템인 돌연변이 LIV-14d ADC가 또한 세포독성 검정에 의해 측정시 MCF-7 세포를 사멸시키는데 매우 효과적이었다. 도 10 및 11을 참조하여, ADCC 검정에서, 푸코실화/야생형(WT) mAb 및 ADC의 활성을 효과기-기능 향상된 형태(SEA로 언급되는, 푸코실화되지 않은 mAb 및 ADC)와 비교하였다. 결과는 효과기 기능 향상된 LIV-1 mAb 및 ADC가 효과기 기능 향상되지 않은 mAb 또는 ADC에 비해(예를 들어, 도 10의 hLIV-1 SEA vcMMAE와 hLIV-1 vcMMAE 비교) MCF-7 세포에 대한 우수한 ADCC 활성을 가진 것을 나타내었다. 도 9를 다시 참조하여, 효과기 기능 향상된 LIV-1 ADC(SEA로 표시됨)는 또한 야생형(푸코실화되지 않음) ADC와 유사한 수준의 세포독성 활성을 가졌다(hLIV-1 SEA 1006(vcMMAE)과 hLIV-1 1006(vcMMAE)을 비교함). 따라서, 세포독성은 효과기 기능 및 컨쥬게이트 작용 둘 모두에 의해 영향을 받을 수 있다.

[0235] hLIV-14 ADC의 생체내 항-종양 활성

[0236] 유방암(MCF-7) 및 전립선암(PC-3) 모델을 이용하여, 본 발명자는 생체내에서 LIV-1 ADC(항체 당 평균 4개의 약물을 갖는 키메라 및 인간화(HBLB) mAb)의 항-종양 활성을 결정하였다(도 12-15). vcMMAE에 컨쥬게이션된 LIV-1 ADC는 미처리 및 대조군 ADC에 비해 유의한 종양 지연을 나타내었다. 대조군에 비해 안정적이거나 천천히 성

장한 중량을 갖는 다수의 동물과 함께 3 mg/kg의 LIV-1-vcMMAE를 이용한 모든 연구에서 적어도 하나의 완전 회귀(complete regression, CR)가 관찰되었다. 도 12를 참조하여, vcMMAE에 컨쥬게이션된 모 무린 항체의 키메라 형태는 7마리의 마우스 중 3마리에서 완전 회귀를 발생시켰다. 도 13을 참조하여, 동일 키메라 ADC는 8마리의 마우스 중 한마리에서 완전 회귀를 발생시켰다. 도 14를 참조하여, vcMMAE에 컨쥬게이션된 인간화 ADC(HBLB)(hLIV-14-vcMMAE(4))는 8마리의 마우스 중 한마리에서 완전 회귀를 발생시켰다. 또한, HBLB 항체의 시스테인 돌연변이 형태(항체 당 2개의 약물 링커의 평균 약물 부하를 갖는 컨쥬게이트를 생성시키는, 위치 239에서 각각의 중쇄에 컨쥬게이션된 vcMMAE 약물 링커; hLIV-14d-vcMMAE(2)로 명명됨)는 4-부하된 형태와 유사한 활성을 나타내었다. 도 15를 참조하여, vcMMAE에 컨쥬게이션된 인간화 ADC(HBLB)(hLIV-14-vcMMAE(4))는 전립선 암종 모델에서 8마리의 마우스 중 한마리에서 완전 회귀를 발생시켰다. 대조적으로, 2개의 부하된 시스테인 돌연변이의 활성은 상기 모델만큼 현저하지 않았다(hLIV-14-vcMMAE(4)와 hLIV-14d-vcMMAE(2), 및 hLIV-14-mcMMAF(4)와 hLIV-14d-mcMMAF(2)를 비교함). 요컨대, 상기 연구는 LIV-1 ADC가 유방 및 전립선을 포함하는 LIV-1 발현 암의 성장을 정지시키거나 지연시킬 수 있는 것을 입증한다.

## II. BR2-22a의 인간화

때때로 mAb2로도 언급되는 BR2-22a는 아이소형 IgG1 카파의 마우스 모노클로날 항체이다.

### 방법:

하기에 달리 언급되지 않는 한, BR2-14a의 인간화 및 시험에 대해 기재된 방법이 또한 BR2-22에 적용가능하다.

### 포화 결합 검정

$1 \times 10^5$ 개의 항원 발현 세포(인간 LIV-1을 발현하는 MCF7 세포, 293F 세포, 인간 LIV-1을 발현하는 트랜스펙션된 CHO 세포주 또는 시노물구스 LIV-1을 발현하는 트랜스펙션된 CHO 세포주)를 96-웰 v-바닥 플레이트의 웰 당 분취하였다. AlexaFluor-647 표지된 무린 BR2-22a를 0.66 pM 내지 690 nM의 범위의 농도로 첨가하고, 30분 동안 얼음 상에서 인큐베이션하였다. 세포를 펠렛화시키고, PBS/BSA로 3회 세척하였다. 이후, 세포를 펠렛화시키고, 125  $\mu$ L의 PBS/BSA에 재현탁시켰다. 포화 형광 신호의 퍼센트를 이용하여 흐름세포측정법에 의해 형광을 분석하여, 결합된 퍼센트를 결정하고, 이후 겔보기 Kd를 계산하였다.

### 경쟁 결합 검정

PBS 중  $1 \times 10^5$ 개의 재조합 LIV-1을 발현하는 CHO 세포를 얼음 상의 96-웰 v-바닥 플레이트의 각각의 웰에 분취하였다. 세포를 5 nM AlexaFluor-647(AF) 표지된 모 BR2-22a, 및 인간화 경쇄 LA-LG 및 인간화 중쇄 FIA-HG의 모든 조합의 증가하는 농도(0.038 nM로부터 600 nM)의 표지되지 않은 인간화 BR2-22a 항체와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 펠렛화시키고, PBS로 3회 세척하였다. 이후, 세포를 펠렛화시키고, 125  $\mu$ L의 PBS/BSA에 재현탁시켰다. 포화 형광 신호의 퍼센트를 이용하여 흐름세포측정법에 의해 형광을 분석하여, 결합된 표지된 인간화 BR2-22a 항체 퍼센트를 결정하고, 이후 데이터를 가변 기울기를 갖는 S자 형 용량-반응 곡선에 적합화시킴으로써 EC50을 외삽하였다.

### 생체내 활성 연구

누드(nu/nu) 마우스(7-8마리의 동물/그룹)에 25% 마트리젤 중  $5 \times 10^6$ 개의 MCF-7(NCI), ATCC로부터의 PC3(25% 마트리젤 중  $2.5 \times 10^6$ 개의 세포), 및 DSMZ로부터의 PC3(25% 마트리젤 중  $5 \times 10^5$ 개)의 배양액에서 성장된 종양 세포를 이식하였다. MCF-7 세포의 생체내 성장을 위해, 암컷 마우스에 또한 서방형 에스트로겐 펠렛(90일 방출)을 이식함으로써 에스트로겐 보충물을 투여하였다. 키메라 또는 인간화 LIV-1 ADC 또는 비결합 대조군 ADC(3 mg/kg)의 투여를, 종양이 100 mm<sup>3</sup>에 도달한 경우에 개시하였다(q4d x 4 복막내 주사). 캘리퍼스를 이용하여 종양 부피를 모니터링하였고, 종양 부피가 ~800 mm<sup>3</sup>에 도달한 경우에 동물을 안락사시켰다. 하나 이상의 동물이 안락사 될 때까지 각 그룹에 대해 중간 종양 부피 플롯을 지속시켰다. 모든 동물 절차를 국제실험동물관리평가인 증협회에 의해 인가된 시설 내에서 동물실험윤리위원회에 의해 승인된 프로토콜 하에서 수행하였다.

### 결과 및 논의의 요약

### 포화 결합

BR2-22a는 성숙 중쇄 가변 영역에서 BR2-14a와 94%의 동일성 및 성숙 경쇄 가변 영역에서 91%의 동일성을 나타

낸다. BR2-22a의 뮤린 Liv1에 대한 KD(표 5)를 인간 유방암 세포주, 293F 세포 내 내인성 단백질로서 또는 CHO 세포주 내 재조합 단백질로서 발현된 인간 LIV-1에 대해 결정하였다. BR2-22a에 대한 KD를 또한 CHO 세포주 내 재조합 단백질로서 발현된 시노물구스 LIV-1에 대해 결정하였다.

[0250] 표 5: 인간(hLIV-1) 및 시노물구스 LIV-1(cyLIV-1)에 대한 BR2-22a의 친화성 측정

세포주	항원	Kd (nM)
MCF7 (ATCC)	hLIV-1	1.1
293F (hLIV-1)	hLIV-1	0.5
Cho hLIV-1	hLIV-1	1.5
Cho cyLIV-1	cLIV-1	4.2

[0251]

[0252] 인간화 방법

[0253] BR2-22a 항체를 중쇄에 대해 VH1-02 JH5 점라인 수용체 서열 및 경쇄에 대해 VK2-30 JK4 수용체 서열을 이용하여 인간화시켰다. 이들 수용체 서열을 BR2-22a 중쇄 및 경쇄의 성숙 가변 영역 프레임워크에 대해 가장 높은 서열 동일성을 갖는 이들 수용체 서열을 기초로 하여 선택하였다. 처음에, 5개의 변이체 중쇄를 작제하였다. 각각은 BR2-22a의 중쇄로부터의 3개의 케이벳 CDR을 포함하였고, 상기 사슬들은 O(VA) 내지 11개(VE)의 역돌연변이를 갖는 점에서 상이하였다. 처음에, 6개의 변이체 경쇄를 작제하였다. 각각은 BR2-22a의 경쇄로부터의 3개의 케이벳 CDR 및 O(LA) 내지 4개의 역돌연변이(LF)를 포함하였다. 이들 역돌연변이를 BR2-14a와 BR2-22a 사이의 높은 서열 동일성으로 인해 BR2-14a를 인간화시키는 이전의 경험을 기초로 하고, 항원과 직접 상호작용하여 CDR 형태에 영향을 미치거나 중쇄와 경쇄 사이의 경계면에 영향을 미칠 잠재성을 갖는 위치를 확인하기 위한 BR2-22a 항체의 모델링의 결과로서 선택하였다. 사실, 중쇄 내의 동일한 11개의 위치 및 경쇄 내의 동일한 4개의 위치가 BR2-14a 및 BR2-22a 둘 모두에서 역돌연변이에 대해 고려되었다(L39는 BR2-22a에서 고려되지 않았는데, 이는 마우스 잔기가 인간 잔기와 동일하기 때문이다). 인간화 BR2-22a의 각각의 변이체에 존재하는 역돌연변이는 하기 표 6 및 7에 제시된다.

[0254] 표 6

V <sub>H</sub> 변이체	VH 엑손 수용체 서열	공여체 프레임워크 잔기
hV <sub>H</sub> A	VH1-02	없음
hV <sub>H</sub> B	VH1-02	H29, H30, H76
hV <sub>H</sub> C	VH1-02	H66, H67, H71
hV <sub>H</sub> D	VH1-02	H27, H93, H94
hV <sub>H</sub> E	VH1-02	H27, H28, H29, H30, H48, H66, H67, H71, H76, H93, H94
hV <sub>H</sub> F	VH1-02	H27, H29, H30, H94
hV <sub>H</sub> G	VH1-02	H27, H29, H30, H76, H94

[0255]

[0256] 표 7

$V_L$ 변이체	VL 엑손 수용체 서열	공여체 프레임워크 잔기
hV <sub>K</sub> A	VK2-30	없음
hV <sub>K</sub> B	VK2-30	L36
hV <sub>K</sub> C	VK2-30	L37
hV <sub>K</sub> D	VK2-30	L45
hV <sub>K</sub> E	VK2-30	L46
hV <sub>K</sub> F	VK2-30	L36, L37, L45, L46
hV <sub>K</sub> G	VK2-30	L36, L46

[0257] 각각의 변이체의 성숙 가변 영역의 전체 서열은 도 16A 및 16B에 제시된다.

[0258] 상기 5개의 중쇄 및 6개의 경쇄의 모든 퍼뮤테이션을 이후 BR2-22a와 비교되는 경쟁 검정에서 시험하였다(도 17 참조). 놀랍게도, 마우스 항체에 비해 개선된 결합이 단지 4개의 역돌연변이와 함께 수득되었고, 추가 역돌연변이가 반드시 결합 친화성을 개선시키는 것이 아니었던 BR2-14a 항체에서의 경험에 비추어, BR2-22a의 결합 친화성과 가까운 결합 친화성을 나타낸 인간화 사슬의 유일한 조합은 15개의 역돌연변이를 갖는 HELF였다. 다른 퍼뮤테이션은 LIV-1에 대한 불량한 결합을 나타내거나, 유의한 결합을 나타내지 않았다. 다양한 퍼뮤테이션의 EC50이 하기 표 8에 제시된다.

[0260] 표 8: 인간화 BR2-22a 항체에 대한 EC<sub>50</sub>

Ab	EC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
HALA	DNB
HALB	DNB
HALC	DNB
HALD	DNB
HALE	DNB
HALF	33.2
HBLA	DNB
HBLB	4.9
HBLC	DNB
HBLD	DNB
HBLE	DNB
HBLF	6.5
HCLA	DNB
HCLB	>100
HCLC	DNB
HCLD	DNB
HCLE	DNB
HCLF	>100
HDLA	DNB
HDLB	DNB
HDLC	DNB
HDLD	DNB
HDLE	DNB
HDLF	14.4
HELA	68.2
HELB	>100
HELC	65.7
HELD	>100
HELE	25.1
HELF	0.3
HELG	0.2
HFLF	0.8
HFLG	0.8
HGLF	0.4
HGLG	0.5

DNB 는 결합하지 않은 것을 나타낸다

[0261]

[0262]

HELF가 만족스러운 결합을 나타내지만, 상기 항체는 전체 15개의 역돌연변이를 함유하며, 이는 잠재적 면역원성과 관련하여 이상적인 것보다 큰 수이다. 따라서, HE 및 LF 사슬을 개개의 역돌연변이 제거의 효과를 시험하기 위해 체계적으로 다양화시켰다. 도 18은 시험된 변이체를 제시한다. LF-1 내지 LF-4는 각각 LF에 존재하는 다양한 역돌연변이가 결핍된다는 점에서 LF와 상이하다. 유사하게, HE-1 내지 HE-11은 HE에 존재하는 역돌연변이 중 하나가 결핍된다. 도 19는 LF-1 내지 LF-4(각각 HE와 쌍을 이룸)를 비교한다. 도 19는 LF-2 및 LF-3가 LF(그래프에서 HELF 과거 대조군으로 표시됨)에 비해 실질적 결합 친화성을 상실하는데 반해, LF-1 및 LF-4는 그렇지 않은 것을 나타낸다. 역돌연변이 L36 및 L46이 결합 친화성의 보유에 실질적으로 기여하는 한편, 위치 L37 및 L45에서의 역돌연변이는 결합에 대한 유의한 효과 없이 분배될 수 있는 것으로 결론내렸다. 도 20은 HE 변이체에 대한 유사한 결합 곡선을 제시한다. 도 20은 HE-11이 이의 결합을 대부분 상실하는 것을 나타내며, 이는 위치 H94에서의 역돌연변이가 시험된 역돌연변이의 결합 친화성에 가장 큰 영향을 미치는 것을 나타낸다. 위치 H27, H29 및 H30에서의 역돌연변이의 상실은 또한 친화성의 유의한 상실을 야기시켰다. H30의 역할은 체 세포 돌연변이의 결과로 나타나는 마우스 잔기에 의해 합리적으로 설명될 수 있다. 위치 H76에서의 역돌연변이의 상실은 친화성의 일부 상실을 야기시켰다. 위치 H28, H48, H66, H67, H71 및 H93에서의 다른 역돌연변이는 결합 친화성에 거의 영향을 미치지 않거나 영향을 미치지 않고 분배될 수 있다.

[0263]

상기 실험에 비추어, 중쇄 HF 및 HG를 경쇄 LG를 삭제한 바와 같이 삭제하였다. HF는 H27, H29, H30 및 H94에 역돌연변이를 포함하였고, HG는 상기 돌연변이 및 H76에 역돌연변이를 포함하였다. LG는 L36 및 L46에 역돌연



변이를 함유한다. HF, HG, LE 및 LF의 여러 퍼뮤테이션을 도 21에 제시된 바와 같은 경쟁 결합에 대해 시험하였고, 모두 마우스 BR2-22a의 결합의 3배 이내의 결합을 나타내었다.

[0264] 상기 실험에 비추어, 결합 친화성 및 가장 적은 역돌연변이의 최적의 조합을 나타내는 HGLG를 추가 실험을 위해 선택하였다. 이러한 항체는 이후 hLIV22로 언급된다. CHO 세포로부터 발현된 인간 및 시노물구스 LIV-1에 대한 hLIV22의 포화 결합 친화성이 hLIV14의 포화 결합 친화성과 비교하여 도 22에 제시된다. 도 22는 hLIV22가 인간 LIV-1에 대해 hLIV14보다 약 4배 더 높은 친화성(해리 상수의 역수)을 갖는 것을 나타낸다. 또한, 인간 LIV-1에 대한 hLIV22의 친화성은 실험 오차 내에서 시노물구스 LIV-1에 대한 이의 친화성과 동일한 반면, hLIV14는 시노물구스 LIV-1에 대한 것보다 인간 LIV-1에 대해 2배의 친화성을 나타낸다. 인간 LIV-1에 대한 hLIV22의 친화성은 실험 오차 내에서 모 마우스 항체 BR2-22a의 친화성과 동일하다.

#### [0265] hLIV22 ADC의 시험관내 항-종양 활성

[0266] 시험관내에서의 hLIV22 ADC의 항-종양 활성을 세포독성 검정을 이용하여 측정하였다. 첫째로, 본 발명자는 정량 FACS 분석에 의해 다양한 세포주에서 LIV-1 발현의 조사를 수행하였다. ATCC로부터의 유방암 세포주 MCF-7이 다른 공급원으로부터의 MCF-7 세포주에 비해 가장 높은 수준의 LIV-1 결합 부위/세포를 가졌다(데이터는 제시하지 않음). 본 발명자는 시험관내 검정을 위해 상기 세포주를 사용하였다. 본 발명자는 다양한 hLIV22 ADC(vcMMAE(1006으로 언급됨) 또는 mMMAF(1269로 언급됨)(둘 모두 US 2005-0238649호에 기재된 소분자)로 컨쥬게이션됨)가 시험관내 세포독성 검정에 의해 측정된 MCF-7 세포를 사멸시키는데 매우 효과적인 것을 관찰하였다. 도 23 및 24는 1006 또는 1269에 컨쥬게이션된 hLIV22를 1006 또는 1269에 컨쥬게이션된 비결합 대조군 항체와 비교한다.

#### [0267] LIV-1 ADC의 생체내 항-종양 활성

[0268] 도 25 및 26에 제시된 바와 같이 전립선암(PC-3) 및 유방암(MCF-7) 모델을 이용하여, 본 발명자는 생체내에서 hLIV22 ADC(항체 당 평균 4개의 약물을 가짐)의 항-종양 활성을 결정하였다. vcMMAE에 컨쥬게이션된 hLIV22 ADC는 미처리 및 대조군 ADC에 비해 유의한 종양 지연을 나타내었다. 3 mg/kg의 hLIV22-vcMMAE를 이용한 MCF-7 연구에서 다수의 완전 회귀가 관찰되었다. 추가로, 모든 연구에서, 대조군에 비해 정지되거나 천천히 성장하는 종양을 갖는 다수의 동물이 있었다. 이들 연구는 hLIV22 ADC가 유방 및 전립선을 포함하는 LIV-1 발현 암의 성장을 정지시키거나 지연시킬 수 있는 것을 입증한다. 도 27은 MCF-7 모델에서 hLIV22 및 hLIV14 ADC의 활성을 비교한다. 둘 모두의 항체가 효과적이었으나, hLIV22가 약간 더 효과적이었다. hLIV22 ADC를 또한 자궁경부암의 모델에서 시험하였다. HeLa 세포 이중식 모델을 검정에 사용하였다. 종양이 적절한 크기로 성장한 후, vcMMAE에 컨쥬게이션된 hLIV22를 3 mg/kg 및 1 mg/kg으로 동물에 투여하였다. 대조군 항체 컨쥬게이트를 3 mg/kg으로 투여하였다. 완전 및 부분 회귀를 3 mg/kg의 hLIV22 vc MMAE 컨쥬게이트를 투여 받은 동물에서 관찰하였다(데이터는 제시하지 않음). 따라서, LIV-1 항체 및 항체 약물 컨쥬게이트를 LIV-1 발현 자궁경부암을 치료하는데 사용할 수 있다.

#### [0269] III. 항-LIV-1 항체를 이용한 피부암의 치료

#### [0270] 흑색종 종양 샘플에서의 LIV-1 단백질의 발현

[0271] 환자로부터의 흑색종 샘플을 IHC 염색을 이용하여 LIV-1 발현에 대해 평가하였다. FFPE 슬라이드를 72℃에서 Bond™ 탈랍 용액(Leica, cat # AR9222)을 이용하여 탈파라핀화시켰다. 항원 복구를 100℃에서 20분 동안 Bond™ 에피토프 복구 용액 2(Leica, cat # AR9640)에 기반한 EDTA를 이용하여 수행하였다. IHC 염색을 위해, 본 발명자는 알칼리성 포스파타제 기반 검출 키트: Bond™ 폴리머 정제 레드 검출 키트(Leica, cat # DS9390)를 사용하였다. 슬라이드를 예비적인 30분 단백질 차단(DAKO cat #X0909)과 함께 45분 동안 LIV-1에 대한 1 µg/ml의 묽은 모노클로날 일차 항체(BR2-14a)와 함께 인큐베이션하였다. 마우스 IgG(Sigma, cat # M5284)를 음성 대조군으로 사용하였다. 색소원 발달 후, 절편을 헤마톡실린으로 대조염색하고, 커버 슬립을 덮었다. 병리학자가 슬라이드를 평가하고 스코어를 매겼다.

[0272] 결과는 도 28에 제시된다. 시험된 흑색종 환자 샘플의 72퍼센트(21/29)가 LIV-1 발현에 대해 양성이었다. 이는 LIV-1 억제제, 예를 들어, 항-LIV-1 항체가 흑색종 암을 치료하는데 사용될 수 있음을 나타낸다.

#### [0273] LIV-1 ADC의 생체내 항-흑색종 활성

[0274] 누드(nu/nu) 마우스(7-8마리의 동물/그룹)에 배양액에서 성장된  $10 \times 10^6$  개의 SK-MEL-5 세포(흑색종 종양 유래 세

포주)를 이식하였다. 종양이 캘리퍼스를 이용하여 측정시  $100\text{ mm}^3$ 가 될때까지 생체내에서 종양을 성장시켰다. 인간화 LIV-1 ADC, 예를 들어, hLIV14 또는 hLIV22를  $3\text{ mg/kg}$ 으로 투여하였다. 약물 컨쥬게이트는, 예를 들어, vcMMAE 또는 mcMMAF이다. 대조군 ADC를 또한  $3\text{ mg/kg}$ 으로 대조군 동물에 투여하였다. ADC를 q4d x 4 복막내 주사로 제공하였다. 종양 부피를 캘리퍼스를 이용하여 모니터하였고, 종양 부피가  $\sim 800\text{ mm}^3$ 에 도달하는 경우 동물을 안락사시켰다. hLIV14 ADC 또는 hLIV22 ADC의 투여는 대조군 ADC가 투여된 동물에 비해 상기 동물에서 종양 성장을 크게 감소시켰다.

[0275]

**서열목록**

SEQ ID NO:1 <LIV-1 mAb 경쇄 선도;PRT/1;무스 무스쿨루스>  
MKLPVRLLVLMFWIPVSTS

SEQ ID NO:2<LIV-1 mAb 중쇄 선도;PRT/1;무스 무스쿨루스>  
MKCSWVIFFLMAVVLGINS

SEQ ID NO:3<대체 중쇄 선도 서열;PRT/1;무스 무스쿨루스>  
MAVWVTLFLMAAAQSAQA

SEQ ID NO:4<경쇄 불변 영역;PRT/1;호모 사피엔스>  
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS  
QESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN  
RGEC

SEQ ID NO:5<CH1-CH3;PRT/1;호모 사피엔스>  
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED  
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:6<중쇄 CH1 - CH3 (c-말단 K 없음);PRT/1;호모 사피엔스>  
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED  
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0276]



SEQ ID NO:7<S239C 중쇄 CH1 - CH3;PRT/1;호모 사피엔스>  
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
 TFPVAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
 CDKTHHTCPPCPAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED  
 PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
 KVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
 SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:8<S239C 중쇄 CH1 - CH3 (c-말단 K  
 없음);PRT/1;호모 사피엔스>  
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
 TFPVAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
 CDKTHHTCPPCPAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED  
 PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
 KVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
 SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:9<hLIV-1 mAb HA;PRT/1;인공>  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYMHWRQAPGQGLEWMGWI  
 DPENGDEYAPTFTQGRVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARHDAH  
 YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:10<hLIV-1 mAb HB;PRT/1;인공>  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTIEDYYMHWRQAPGQGLEWMGWI  
 DPENGDEYAPTFTQGRVTMTDRDTSINTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARHDAH  
 YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:11<hLIV-1 mAb HC;PRT/1;인공>  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYMHWRQAPGQGLEWMGWI  
 DPENGDEYAPTFTQGKATMTADTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARHDAH  
 YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:12<hLIV-1 mAb HD;PRT/1;인공>  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYMHWRQAPGQGLEWMGWI  
 DPENGDEYAPTFTQGRVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARHDAH  
 YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

[0277]

SEQ ID NO:13<hLIV-1 mAb HE;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIEDYYMHWVRQAPGQGLEWIGWI  
DPENGDT EYAPTFQ GKATMTADTSINTAYMELSR LRSDDTAVYYCNVHDAH  
YGTWTFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO:14<hLIV-1 mAb LA;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIIRNDGNTYLEWFQQRPGQSPRR  
LIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYPT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:15<hLIV-1 mAb LB;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIIRNDGNTYLEWFQQRPGQSPRR  
LIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYPT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:16<hLIV-1 mAb LC;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIIRNDGNTYLEWFLQRPQSPRR  
LIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYPT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:17<hLIV-1 mAb LD;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIIRNDGNTYLEWFQQRPGQSPKR  
LIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYPT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:18<hLIV-1 mAb LE;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIIRNDGNTYLEWFQQRPGQSPRL  
LIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYPT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:19<hLIV-1 mAb LF;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSIIRNDGNTYLEWYLQKPGQSPKL  
LIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYPT  
FGGGTKVEIKR

[0278]

[0279]

DNA 서열:

SEQ ID NO:20<LIV-1 mAb 중쇄 선도;DNA;무스 무스쿨루스>  
atgaaatgcagctgggtcatcttcttctcctgatggcagtggttctaggaatc  
aattca

SEQ ID NO:21<LIV-1 mAb 경쇄 선도;DNA;무스 무스쿨루스>  
atgaagttgcctgttaggctggttggtgctgatgttctggattcctgtttct  
accagt

SEQ ID NO:22<대체 중쇄 선도 서열;DNA;무스 무스쿨루스>  
atggccttgggtgtggaccttgctattcctgatggcagctgcccaaagtgcc  
caagca

SEQ ID NO:23<경쇄 불변 영역;DNA;무스 무스쿨루스>  
acgggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttg  
aaatctggaactgcctctgttggtgctgctgaataacttctatcccaga  
gaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcccctccaatcgggtaactcc  
caggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagc  
agcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcc  
tgcgaagtacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaac  
aggggagagtgt

SEQ ID NO:24<CH1-CH3;DNA;호모 사피엔스>  
gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcaccctcctccaagagc  
acctctgggggcacagctgccctgggctgctggtcaaggactacttccct  
gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcac  
accttccccggtgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtg  
gtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtg  
aatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatct  
tgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgccagcacctgaactcctgggg  
ggaccgtcagttcttcttcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatc  
tcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagac  
cctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
aagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagc  
gtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc  
aaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaa

[0280]

gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgg  
gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttc  
tatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgggagaac  
aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctc  
tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagc  
ctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO:25<CH1-CH3 (w/o c-말단 K);DNA;호모 사피엔스>  
gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcaccctcctccaagagc  
acctctgggggacagctgccttgggtgcctgggtcaaggactacttcct  
gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcac  
accttcccggctgtcctacagtccctcaggactctactccctcagcagcgtg  
gtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtg  
aatcacaagcccagcaaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactc  
tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg  
ggaccgtcagctcttctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatc  
tcccggacccttgaggtcacatgcgtgggtgggtgacgtgagccacgaagac  
cctgaggtcaagttcaactgggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
aagacaaagccgcgggagagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtcagc  
gtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc  
aaggtctccaacaaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaa  
gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgg  
gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttc  
tatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgggagaac  
aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctc  
tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagc  
ctctccctgtctccgggt

SEQ ID NO:26<S239C CH1-CH3;DNA;인공>  
gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcaccctcctccaagagc  
acctctgggggacagctgccttgggtgcctgggtcaaggactacttcct  
gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcac  
accttcccggctgtcctacagtccctcaggactctactccctcagcagcgtg  
gtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtg  
aatcacaagcccagcaaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactc  
tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg

[0281]

ggaccgtgtgtcttctctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatc  
tcccggaaccttgaggtcacatgctgtggtggtggacgtgagccacgaagac  
cctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
aagacaaagccgcgggaggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtcagc  
gtcctcacctcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc  
aaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaacctctccaaa  
gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatccgg  
gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttc  
tatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaac  
aactacaagaccacgcctcccgctgctggactccgacggctcctctctctc  
tacagaaagctcacctgggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagc  
ctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO:27<S239C CH1-CH3 (w/o c-말단 K);DNA;인공>  
gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcaccctcctccaagagc  
acctctgggggacagctgccttgggtgcttgggtcaaggactacttccct  
gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgac  
accttcccgggtgtcctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtg  
gtgacctgtccctccagcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtg  
aatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaattc  
tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggg  
ggacctgtgtcttctcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatc  
tcccggaacctctgaggtcacatgcgtgggtgggtggacgtgagccacgaagc  
cctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
aagacaaagccgcgggaggagcagtaaacagcacgtaccgtgtgggtcagc  
gtcctcacctcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc  
aaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaacctatccaaa  
gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccctcccg  
gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctgggtcaaaggctt  
tatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccgggagaac  
aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctc  
tacagcaagctcacctgggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
tcatgctcgtgatgcatgaggtcttgacaaccactacacacagaagagc  
cttccctgtctccgggt



SEQ ID NO:28<hLIV-1 mAb HA;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacaccttcacagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggcttgagtggatgggatggatt  
gatcctgagaatggtgatactgaatatgccccaccttcagggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcagcacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccagacatgatgctcac  
tatgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:29<hLIV-1 mAb HB;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattgaagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggcttgagtggatgggatggatt  
gatcctgagaatggtgatactgaatatgccccaccttcagggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcaacacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccagacatgatgctcac  
tatgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:30<hLIV-1 mAb HC;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacaccttcacagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggcttgagtggatgggatggatt  
gatcctgagaatggtgatactgaatatgccccaccttcagggcagggcc  
actatgactgcagacacctccatcagcacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccagacatgatgctcac  
tatgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:31<hLIV-1 mAb HD;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggattcaccttcacagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggcttgagtggatgggatggatt  
gatcctgagaatggtgatactgaatatgccccaccttcagggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcagcacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccagacatgatgctcac  
tatgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

[0283]

SEQ ID NO:32<hLIV-1 mAb HE;DNA;인공>

Caggtgcagctggtgcagctctgggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggattcaacattgaagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggttgagtggttgatggatt  
gatcctgagaatggtgatactgaatatgccccaccttccagggaaggcc  
actatgactgcagacacctccatcaacacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtaatgtccatgatgctcac  
tatgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:33<hLIV-1 mAb LA;DNA;인공>

gatgttgtgatgactcagctctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagcattataaggaatgatgga  
aacacctatattggaatggtttcagcagaggccaggccaatctccaaggagg  
ctaatttatagagtttccaacagggttttctggggtcccagacagattctct  
ggcagtggtcaggcactgatttcacactgaaaatcagcagggtggaggct  
gaggatgttggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttggaggagggaaccaagggtggagatcaaacgt

SEQ ID NO:34<hLIV-1 mAb LB;DNA;인공>

gatgttgtgatgactcagctctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagcattataaggaatgatgga  
aacacctatattggaatggtaccagcagaggccaggccaatctccaaggagg  
ctaatttatagagtttccaacagggttttctggggtcccagacagattctct  
ggcagtggtcaggcactgatttcacactgaaaatcagcagggtggaggct  
gaggatgttggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttggaggagggaaccaagggtggagatcaaacgt

SEQ ID NO:35<hLIV-1 mAb LC;DNA;인공>

gatgttgtgatgactcagctctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagcattataaggaatgatgga  
aacacctatattggaatggtttctgcagaggccaggccaatctccaaggagg  
ctaatttatagagtttccaacagggttttctggggtcccagacagattctct  
ggcagtggtcaggcactgatttcacactgaaaatcagcagggtggaggct  
gaggatgttggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttggaggagggaaccaagggtggagatcaaacgt

[0284]

SEQ ID NO:36<hLIV-1 mAb LD;DNA;인공>

gatgttgatgactcagtcctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagcattataaggaatgatgga  
aacacctaatttgggaatggtttcagcagagggccaggccaatctccaaagagg  
ctaatttatagagtttccaacagggttttctgggggtcccagacagattctct  
ggcagtggttcaggcactgatttcacactgaaaatcagcaggggtggaggct  
gaggatggtgggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttgaggaggaggaccaagggtggagatcaaacgt

SEQ ID NO:37<hLIV-1 mAb LE;DNA;인공>

gatgttgatgactcagtcctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagcattataaggaatgatgga  
aacacctaatttgggaatggtttcagcagagggccaggccaatctccaaggctc  
ctaatttatagagtttccaacagggttttctgggggtcccagacagattctct  
ggcagtggttcaggcactgatttcacactgaaaatcagcaggggtggaggct  
gaggatggtgggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttgaggaggaggaccaagggtggagatcaaacgt

SEQ ID NO:38<hLIV-1 mAb LF;DNA;인공>

gatgttgatgactcagtcctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagcattataaggaatgatgga  
aacacctaatttgggaatggttcacctgcagaaaccaggccaatctccaaagctc  
ctaatttatagagtttccaacagggttttctgggggtcccagacagattctct  
ggcagtggttcaggcactgatttcacactgaaaatcagcaggggtggaggct  
gaggatggtgggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttgaggaggaggaccaagggtggagatcaaacgt

SEQ ID NO:39<Liv1 mAb2 경쇄 선도;PRT/1;무스 무스쿨루스>  
MKLPVRLLLVLMFWIPVATSS

SEQ ID NO:40<Liv1 mAb2 중쇄 선도;PRT/1;무스 무스쿨루스>  
MKCSWVIFFLMAVVIGINS

SEQ ID NO:41<대체 중쇄 선도 서열;PRT/1;무스 무스쿨루스>  
MAWVWTLFLMAAAQSAQA

[0285]

SEQ ID NO:42<경쇄 불변 영역;PRT/1;호모 사피엔스>  
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS  
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN  
RGEC

SEQ ID NO:43<CH1-CH3;PRT/1;호모 사피엔스>  
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED  
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK\*

SEQ ID NO:44<중쇄 CH1 - CH3 (c-말단 K 없음);PRT/1;호모 사피엔스>  
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED  
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:45<S239C 중쇄 CH1 - CH3;PRT/1;호모 사피엔스>  
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
CDKTHHTCPPCPAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED  
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:46<S239C 중쇄 CH1 - CH3 (c-말단 K 없음);PRT/1;호모 사피엔스>  
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH  
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS

[0286]

CDKTHTCPPCPAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED  
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:47<hLiv1 mAb2 HA;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI  
DPENGDEYGPKEFQGRVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARHNAH  
YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:48<hLiv1 mAb2 HB;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTIEDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI  
DPENGDEYGPKEFQGRVTMTDRDTSINTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARHNAH  
YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:49<hLiv1 mAb2 HC;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI  
DPENGDEYGPKEFQGRVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARHNAH  
YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:50<hLiv1 mAb2 HD;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI  
DPENGDEYGPKEFQGRVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCTVHNAH  
YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:51<hLiv1 mAb2 HE;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTIEDYYMHWVRQAPGQGLEWIGWI  
DPENGDEYGPKEFQGRVTMTDRDTSINTAYMELSRRLRSDDTAVYYCTVHNAH  
YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:52<hLiv1 mAb2 HF;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGLTIEDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI  
DPENGDEYGPKEFQGRVTMTDRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCAVHNAH  
YGTWTFAYWGQGTLVTVSS

[0287]



SEQ ID NO:53<hLiv1 mAb2 HG;PRT/1;인공>  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGLTIEDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI  
DPENGDT EYGPKFQGRVTMTTRDTSINTAYMELSR LRSDDTAVYYCAVHNAH  
YGTWTFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO:54<hLiv1 mAb2 LA;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSL LHSSGNTYLEWFQQRPGQSPRR  
LIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVYT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:55<hLiv1 mAb2 LB;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSL LHSSGNTYLEWFQQRPGQSPRR  
LIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVYT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:56<hLiv1 mAb2 LC;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSL LHSSGNTYLEWFLQRPQSPRR  
LIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVYT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:57<hLiv1 mAb2 LD;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSL LHSSGNTYLEWFQQRPGQSPKR  
LIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVYT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:58<hLiv1 mAb2 LE;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSL LHSSGNTYLEWFQQRPGQSPRL  
LIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVYT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:59<hLiv1 mAb2 LF;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSL LHSSGNTYLEWYLQKPGQSPKL  
LIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVYT  
FGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:60<hLiv1 mAb2 LG;PRT/1;인공>  
DVVMTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSL LHSSGNTYLEWFQQRPGQSPRP  
LIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVYT  
FGGGTKVEIKR

[0288]

[0289]

DNA 서열:

SEQ ID NO:61<Liv1 mAb2 중쇄 선도;DNA;무스 무스쿨루스>  
atgaaatgcagctgggtcatcttcttctcctgatggcagtggttataggaatc  
aattca

SEQ ID NO:62<Liv1 mAb2 경쇄 선도;DNA;무스 무스쿨루스>  
atgaagttgcctgttaggctggttggtgctgatgttctggattcctgctacc  
agcagt

SEQ ID NO:63<대체 중쇄 선도 서열;DNA;무스 무스쿨루스>  
atggccttgggtgtggaccttgctattcctgatggcagctgccccaaagtgcc  
caagca

SEQ ID NO:64<경쇄 불변 영역;DNA;호모 사피엔스>  
acgacgggtggctgcaccatctgtcttcatcttccccgccatctgatgagcag  
ttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatccc  
agagaggccaaagtacagtgggaaggtggataacgccctccaatcgggtaac  
tcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctc  
agcagcaccctgacgtgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctac  
gcctgcgaagtaccccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttc  
aacaggggagagtgttag

SEQ ID NO:65<CH1-CH3;DNA;호모 사피엔스>  
gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcacccctcctccaagagc  
acctctgggggcacagctgccttggtgctgctggtcaaggactacttccct  
gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcac  
accttccccggtgtcctacagtccctcaggactctactccctcagcagcgtg  
gtgaccgtgcctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtg  
aatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactct  
tgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg  
ggaccgtcagctcttctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatc  
tcccgacccctgaggtcacatgcgtggtgggtggacgtgagccacgaagac  
cctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
aagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagc  
gtcctcacccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc

[0290]

aaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaa  
gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgg  
gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttc  
tatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaaac  
aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctc  
tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagc  
ctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO:66<CH1-CH3 (w/o c-말단 K);DNA;호모 사피엔스>  
gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcaccctcctccaagagc  
acctctgggggacagctgccctgggctgcctgggtcaaggactacttcct  
gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcac  
accttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtg  
gtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctaactctgcaacgtg  
aatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactct  
tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggg  
ggaccgtcagctcttctcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatc  
tcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtgggtggacgtgagccacgaagac  
cctgaggtcaagtccaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
aagacaaagccgcgggaggagcagtagtaaacagcacgtaccgtgtggtcagc  
gtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc  
aaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaa  
gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgg  
gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttc  
tatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaaac  
aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctc  
tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagc  
ctctccctgtctccgggt

SEQ ID NO:67<S239C CH1-CH3;DNA;인공>  
gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcaccctcctccaagagc  
acctctgggggacagctgccctgggctgcctgggtcaaggactacttcct  
gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcac  
accttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtg  
gtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctaactctgcaacgtg  
aatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactct

[0291]

tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggg  
 ggaccgtgtgtcttctcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatc  
 tcccggaacctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaagac  
 cctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
 aagacaaagccgcgaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagc  
 gtctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc  
 aaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaacctctccaaa  
 gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccg  
 gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctggtcaaaggcttc  
 tatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagAAC  
 aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctc  
 tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
 tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagc  
 ctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO:68<S239C CH1-CH3 (w/o c-말단 K);DNA;인공>  
 gctagcaccaagggcccatctgtcttccccctggcacacctcctccaagagc  
 acctctgggggcacagctgccctgggctgacctggtcaaggactacttccct  
 gaacctgtgacagtgtcctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcac  
 accttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtg  
 gtgacctgccccccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtg  
 aatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagccaaatct  
 tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggg  
 ggaccgtgtgtcttctcttccccccaaaacccaaggacacctcatgatc  
 tcccggaacctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaagac  
 cctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc  
 aagacaaagccgcgaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagc  
 gtctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc  
 aaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaacctctccaaa  
 gccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccg  
 gatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctggtcaaaggcttc  
 tatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagAAC  
 aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctc  
 tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
 tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagc  
 ctctccctgtctccgggt

[0292]

SEQ ID NO:69<hLiv1 mAb2 HA;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacaccttcacagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggttgagtggatgggatggatt  
gatcctgaaaatggtgatactgaatatggcccgaagtccaggggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcagcacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccagacataatgctcac  
tacgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:70<hLiv1 mAb2 HB;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattgaagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggttgagtggatgggatggatt  
gatcctgaaaatggtgatactgaatatggcccgaagtccaggggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcaacacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccagacataatgctcac  
tacgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:71<hLiv1 mAb2 HC;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacaccttcacagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggttgagtggatgggatggatt  
gatcctgaaaatggtgatactgaatatggcccgaagtccaggggcaaggcc  
accatgaccgcagacacctccatcagcacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccagacataatgctcac  
tacgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:72<hLiv1 mAb2 HD;DNA;인공>

Caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggactcaccttcacagactactatatg  
cactgggtgaggcaggccccctggacaagggttgagtggatgggatggatt  
gatcctgaaaatggtgatactgaatatggcccgaagtccaggggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcagcacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtactgtccataatgctcac  
tacgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

[0293]



SEQ ID NO:73<hLiv1 mAb2 HE;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggactcaacattgaagactactatatg  
cactgggtgagggcagggccctggacaagggcttgagtggattggatggatt  
gatcctgaaaatggtgatactgaatatggcccgaagtccaggggcaaggcc  
accatgaccgcagacacctccatcaacacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtactgtccataatgctcac  
tacgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:74<hLiv1 mAb2 HF;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggactcaccattgaagactactatatg  
cactgggtgagggcagggccctggacaagggcttgagtggatgggatggatt  
gatcctgaaaatggtgatactgaatatggcccgaagtccaggggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcagcacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccgtccataatgctcac  
tacgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:75<hLiv1 mAb2 HG;DNA;인공>

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctca  
gtgaaggtctcctgcaaggcttctggactcaccattgaagactactatatg  
cactgggtgagggcagggccctggacaagggcttgagtggatgggatggatt  
gatcctgaaaatggtgatactgaatatggcccgaagtccaggggcagggtc  
accatgaccagggaacacctccatcaacacagcctacatggagctgagcagg  
ctgagatctgatgacacagctgtgtattactgtgccgtccataatgctcac  
tacgggacctggtttgcttactggggccaaggaaccctggtcacagtctcc  
tca

SEQ ID NO:76<hLiv1 mAb2 LA;DNA;인공>

gatgttctggattcctgctaccagcagtgatgttgtgatgactcagtcctc  
actctccctgcctgtcacccttggacagcctgcctccatctcctgcagatc  
tagtcagagccttttacacagtagtggaacacctatttagaatggtttca  
gcagaggccaggccaatctccaaggaggctaatttataaaaatttccaccg  
atcttctggggctccagacagattctctggcagtgggtcaggcactgattt  
cacactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggatgttgggggtttattactg  
ctttcaagggttcacatgttccctacaccttggaggagggaaccaagggtgga  
gatcaaacgtacg

[0294]

SEQ ID NO:77<hLiv1 mAb2 LB;DNA;인공>

gatgttctggattcctgctaccagcagtgatgttgtgatgactcagtctcc  
actctccctgcctgtcacccttggacagcctgcctccatctcctgcagatc  
tagtcagagccttttacacagtagtggaacacctatttagaatggtacca  
gcagaggccaggccaatctccaaggaggctaatttataaaatttccaccg  
atcttctgggtcccagacagattctctggcagtggtcaggcactgattt  
cacactgaaaatcagcagggtggaggctgaggatgttgggtttattactg  
ctttcaagggtcacatgttccctacacctttggaggagggaaccaaggtgga  
gatcaaactgacg

SEQ ID NO:78<hLiv1 mAb2 LC;DNA;인공>

gatgttctggattcctgctaccagcagtgatgttgtgatgactcagtctcc  
actctccctgcctgtcacccttggacagcctgcctccatctcctgcagatc  
tagtcagagccttttacacagtagtggaacacctatttagaatggtttct  
gcagaggccaggccaatctccaaggaggctaatttataaaatttccaccg  
atcttctgggtcccagacagattctctggcagtggtcaggcactgattt  
cacactgaaaatcagcagggtggaggctgaggatgttgggtttattactg  
ctttcaagggtcacatgttccctacacctttggaggagggaaccaaggtgga  
gatcaaactgacg

SEQ ID NO:79<hLiv1 mAb2 LD;DNA;인공>

gatgttctggattcctgctaccagcagtgatgttgtgatgactcagtctcc  
actctccctgcctgtcacccttggacagcctgcctccatctcctgcagatc  
tagtcagagccttttacacagtagtggaacacctatttagaatggtttca  
gcagaggccaggccaatctccaaggaggctaatttataaaatttccaccg  
atcttctgggtcccagacagattctctggcagtggtcaggcactgattt  
cacactgaaaatcagcagggtggaggctgaggatgttgggtttattactg  
ctttcaagggtcacatgttccctacacctttggaggagggaaccaaggtgga  
gatcaaactgacg

SEQ ID NO:80<hLiv1 mAb2 LE;DNA;인공>

gatgttctggattcctgctaccagcagtgatgttgtgatgactcagtctcc  
actctccctgcctgtcacccttggacagcctgcctccatctcctgcagatc  
tagtcagagccttttacacagtagtggaacacctatttagaatggtttca  
gcagaggccaggccaatctccaaggcccctaatttataaaatttccaccg

[0295]

atcttctgggggtcccagacagattctctggcagtggggtcagggcactgattt  
cacactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggatgttgggggtttattactg  
ctttcaagggttcacatgttccctacacctttggaggagggaaccaaggtgga  
gatcaaacgtacg

SEQ ID NO:81<hLiv1 mAb2 LF;DNA;인공>

gatgttgatgactcagtcctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagccttttacacagtagtgga  
aacacctatcttagaatggtacctgcagaggccaggccaatctccaaagccc  
ctaatttataaaaatttccaccgattttctgggggtcccagacagattctct  
ggcagtggggtcagggcactgatttcacactgaaaatcagcaggggtggaggct  
gaggatgttgggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttggaggagggaaccaaggtggagatcaaacgt

SEQ ID NO:82<hLiv1 BR2-22a LG;DNA;인공>

gatgttgatgactcagtcctccactctccctgcctgtcacccttggacag  
cctgcctccatctcctgcagatctagtcagagccttttacacagtagtgga  
aacacctatcttagaatggtaccagcagaggccaggccaatctccaaggccc  
ctaatttataaaaatttccaccgattttctgggggtcccagacagattctct  
ggcagtggggtcagggcactgatttcacactgaaaatcagcaggggtggaggct  
gaggatgttgggggtttattactgctttcaagggttcacatgttccctacacc  
tttggaggagggaaccaaggtggagatcaaacgt

SEQ ID NO:83<Q13433; 단백질

MARKLSVILI LTFALSVTNP LHELKAAAFP QTTEKISPNW  
ESGINVDLAI STRQYHLQQL FYRYGENNSL SVEGFRKLLQ  
NIGIDKIKRI HIIHDDHDHHS DHEHSDHER HSDHEHHSEH  
EHHSDDHDHHS HHNHAASGKN KRKALCPDHD SDSSGKDPRN  
SQKGGAHRPE HASGRNVKD SVSASEVTST VYNTVSEGTH  
FLETIETPRP GKLFPKDVSS STPPSVTSKS RVSRLAGRKT  
NESVSEPRKG FMYSRNTNEN PQECFNASKL LTSHGMGIQV  
PLNATEFNYL CPAIINQIDA RSCLHTSEK KAEIPPKTYS  
LQIAWVGFI AISIISFLSL LGVILVPLMN RVFFKFLLSF

[0296]

LVALAVGTLS GDAFLHLLPH SHASHHSHS HEEDPAMEMKR  
 GPLFSLSSQ NIEESAYFDS TWKGLTALGG LYFMFLVEHV  
 LTLIKQFKDK KKKNQKKPEN DDDVEIKKQL SKYESQLSTN  
 EEKVDTDRT EGYLRADSQE PSHFDSQOPA VLEEEVEMIA  
 HAHPQEVYNE YVPRGCKNKC HSHFHDTLGQ SDDLIIHHHD  
 YHHILHHHHH QNHHPHSHSQ RYSREELKDA GVATLAWMVI  
 MGDGLHNFSD GLAIGAAFTE GLSSGLSTSV AVFCHELPHE  
 LGDFAVLLKA GMTVKQAVLY NALSAMLAYL GMATGIFIGH  
 YAENVSMWIF ALTAGLFMYV ALVDMVPEML HNDASDHGCS  
 RWGYFFLQNA GMLLGFGIML LISIFEHKIV FRINF

SEQ ID NO:84< AAA96258.2; 단백질

MARKLSVILI LTFALSVTNP LHELKAAAFP QTTEKISPWN  
 ESGINVDLAI STRQYHLQQL FYRYGENNSL SVEGFRKLLQ  
 NIGIDKIKRI HHHHDHSHS DHEHSDHER HSDHEHSDH  
 EHHSDHNHAA SGKNKRKALC PDHSDSSGK DPRNSQKGGA  
 HRPEHASGRR NVKDSVSASE VTSTVYNTVS EGTHTFLETIE  
 TPRPGKLFKP DVSSSTPPSV TSKSRVSRLA GRKTNESVSE  
 PRKGFMYSRN TNENPQECFN ASKLLTSHGM GIQVPLNATE  
 FNYLCPAIIN QIDARSCLIH TSEKKAIEPP KTYSLQIAWV  
 GGFIASIIIS FLSLLGVILV PLMNRVFFKF LLSFLVALAV  
 GTLSGDAFLH LLPHSHASHH HSHSHEEPAM EMKRGPLFSH  
 LSSQNIEESA YFDSTWKGLT ALGGLYFMFL VEHVLTLIKQ  
 FKDKKKKNQK KPENDDVEI KKQLSKYESQ LSTNEEKVDT  
 DDRTEGYLRA DSQEPHFDS QQPAVLEEEE VMIAHAHPQE  
 VYNEYVPRGC KNKCHSHFHD TLGQSDDLII HHHDYHHILH  
 HHHHQNHHPH SHSQRYSSRE LKDAGVATLA WMVIMGDGLH

NFSDGLAIGA AFTEGLSSGL STSVAVFCHE LPHELGDFAV  
 LLKAGMTVKQ AVLYNALSAM LAYLGMATGI FIGHYAENV  
 MWIFALTAGL FMYVALDMV PEMLHNDASD HGCSRWGYFF  
 LQNA GMLLGFGIMLLISIFE HKIVFRINF

SEQ ID NO:85>시노폴구스 LIV-1

MARKLSVILILTFTLSVTNPLHELKSAAFPQTTEKISPWNWESGINVDLAI  
 TTRQYHLQQLFYRYGENNSLSVEGFRKLLQNIGIDKIKRIHHHDHSHSD  
 HEHSDHEHSDHEHSHRNHAASGKNKRKALCPEHSDSSGKDPNRNSQGK  
 GAHRPEHANGRRNVKDSVSTSEVTSTVYNTVSEGTHTFLETIETPKLFPKDV  
 SSSTPPSVTEKSLVRLAGRKTNESMSEPRKGFMYSRNTNENPQECFNASK  
 LLTSHGMGIQVPLNATEFNYLCPAIINQIDARSCLIH TSEKKAIEPPKTY  
 LQIAWVGGFIASIIISFLSLLGVILVPLMNRVFFKFLLSFLVALAVGTLSG  
 DAFLHLLPHSHASHHSHSHEEPAMEMKRGPLFSLSSQNIEESAYFDSTW  
 KGLTALGGLYFMFLVEHVLTLIKQFKDKKKKNQKPPENDDVEIKKQLSKY  
 ESQSTNEEKVDTDDRTEGYLRADSQEPHFDSQQPALEEEVEMIAHAHP  
 QEVYNEYVPRGCKNCHSHFHD TLGQSDDLIIHHHDYHHILHHHHHQNHHP  
 HSHSQRYSSREELKDAGIATLAWMIMGDGLHNFSDGLAIGAAFTEGLSSGL  
 STSVAVFCHELPHLGDFAVLLKAGMTVKQAVLYNALSAMLAYLGMATGI  
 IGHYAENVSMWIFALTAGLFMYVALDMVPEMLHNDASDHGCSRWGYFFLQ  
 NAGMLLGFGIMLLISIFEHKIVFRINF

도면

도면1

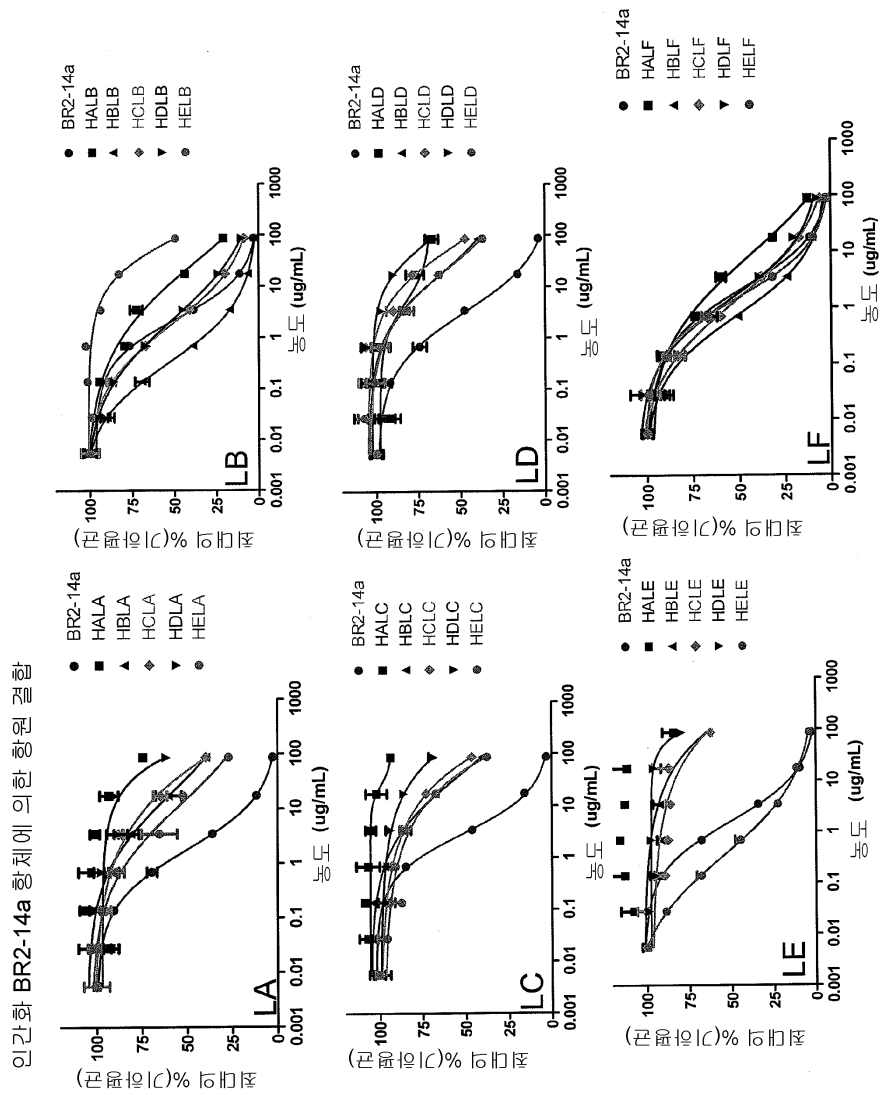
```

      10      20      30      40      50
hLiv-14 HA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFIDYYMHWRQAPQGLEWMGWIDPENGDT EY
hLiv-14 HB .....IE.....
hLiv-14 HC .....
hLiv-14 HD .....F.....
hLiv-14 HE .....FNIE.....I.....
BR2-14a .....Q.....LVRS.....L..T...FNIE.....K.R.K.....I.....
CDRs .....*****
      60      70      80      90     100     110
hLiv-14 HA APTFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARHDAHGTWFPAYWGQGTLLVTVSS
hLiv-14 HB .....N.....
hLiv-14 HC .....KA...A.....
hLiv-14 HD .....NV.....
hLiv-14 HE .....KA...A...N.....NV.....
BR2-14a .....KA...A...SN...LQ...S.T.E.....NV.....A
CDRs .....*****
      10      20      30      40      50
hLiv-14 LA DVVMTQSPLESLFVTLGQPASISCRSSQSIIIRNDGNTVLEWFOQRPGQSPRRLIYRVSNRF
hLiv-14 LB .....Y.....
hLiv-14 LC .....L.....
hLiv-14 LD .....K.....
hLiv-14 LE .....L.....
hLiv-14 LF .....YL.K.....KL.....
BR2-14a .....L..T.....S..DQ.....YL.K.....KL.....
CDRs .....*****
      60      70      80      90     100
hLiv14 LA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPEYTFGGGTKVEIKR
hLiv14 LB .....
hLiv14 LC .....
hLiv14 LD .....
hLiv14 LE .....
hLiv14 LF .....
BR2-14a .....L.....L.....
CDRs * .....*****

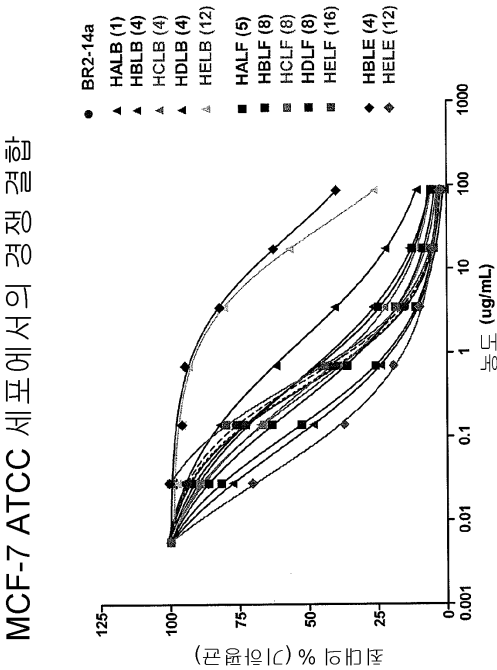
```



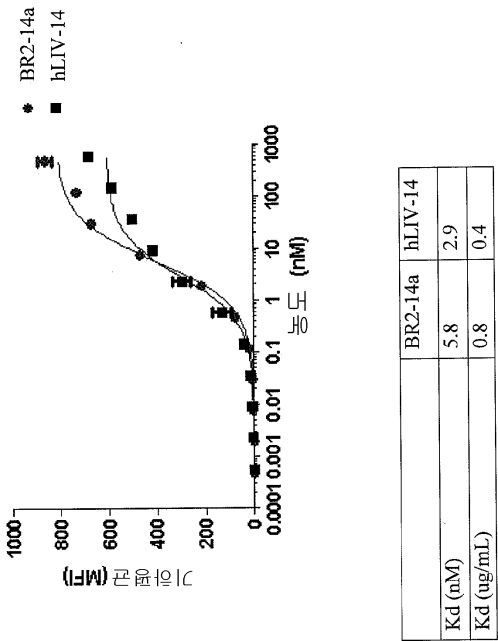
도면2



도면3

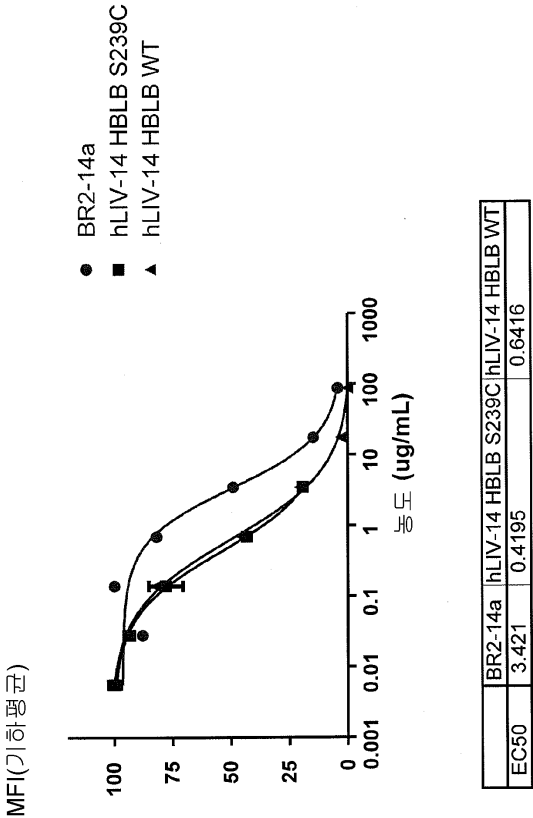


도면4

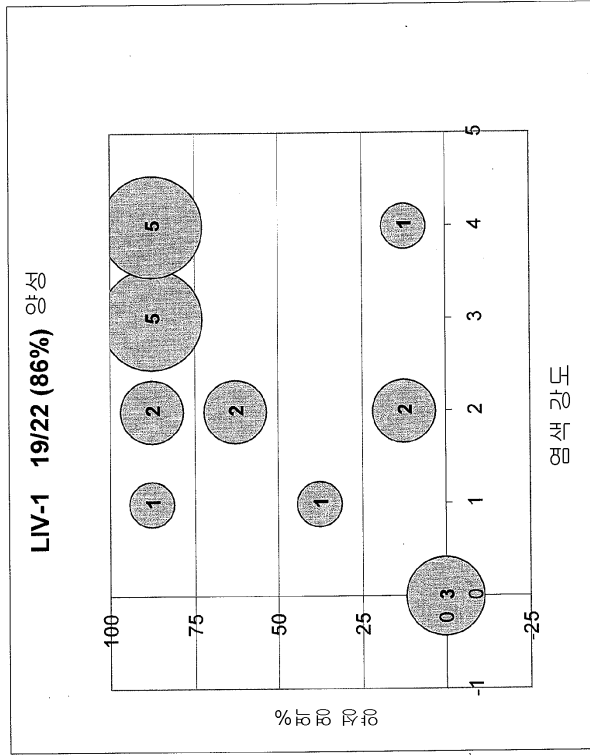


도면5

CHO hLIV1 부위에서의 경쟁 결합



호르몬 처리 후 유방암에서의 높은 LIV-1 발현

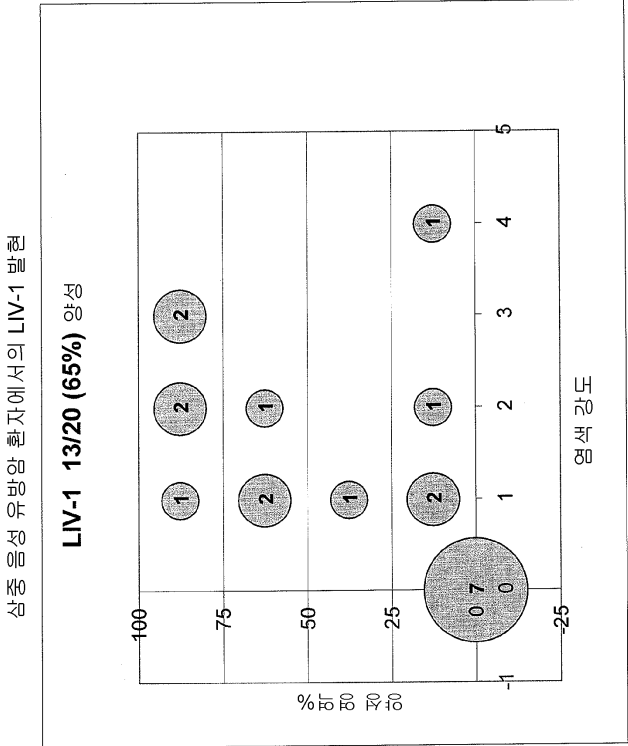


- 타목시펜 및 아로마타제 억제제를 포함하는 호르몬 요법으로 이전에 처리된 환자로부터의 원발성 및 전이성 병변의 샘플
- 5개의 상업적 공급원으로 부터의 조직 샘플

호르몬 난치성 전이성 전립선 암에서의 LIV-1 발현  
(부위에 의해 분류됨)

LIV-1		
	#	%
샘플의 전체 수 + (강도 1-4 +)	36/50	72
배 전이	15/25	60
연조직 전이	21/25	82

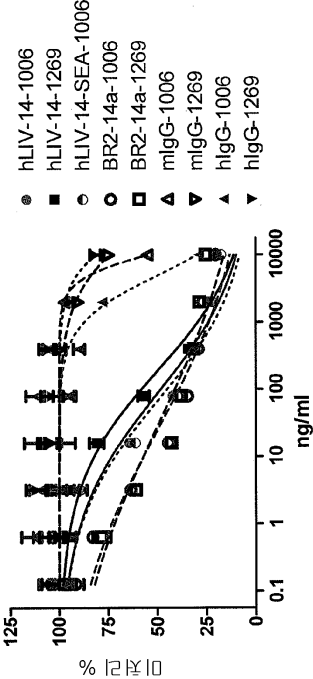
도면8





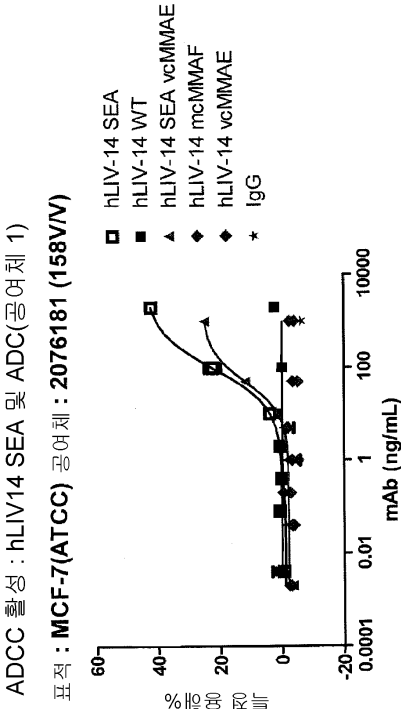
도면9

hLIV-14 ADC의 세포독성 활성  
MCF-7(ATCC)세포, 144h 처리



hLIV-14-1006	hLIV-14-SEA-1006	BR2-14a-1-1006	hlgG-1006	hLIV-14-1269	BR2-14a-1269	hlgG-1269	mgG-1269
91	91	20	>10 000	195	20	>10 000	>10 000

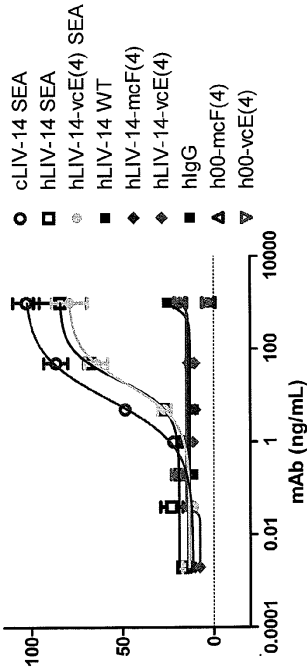
도면10



	IC50 (ng/mL)	최대 용해
hLIV-14 SEA	97.1	44%
hLIV-14 SEA vcMMAE	49.9	26%

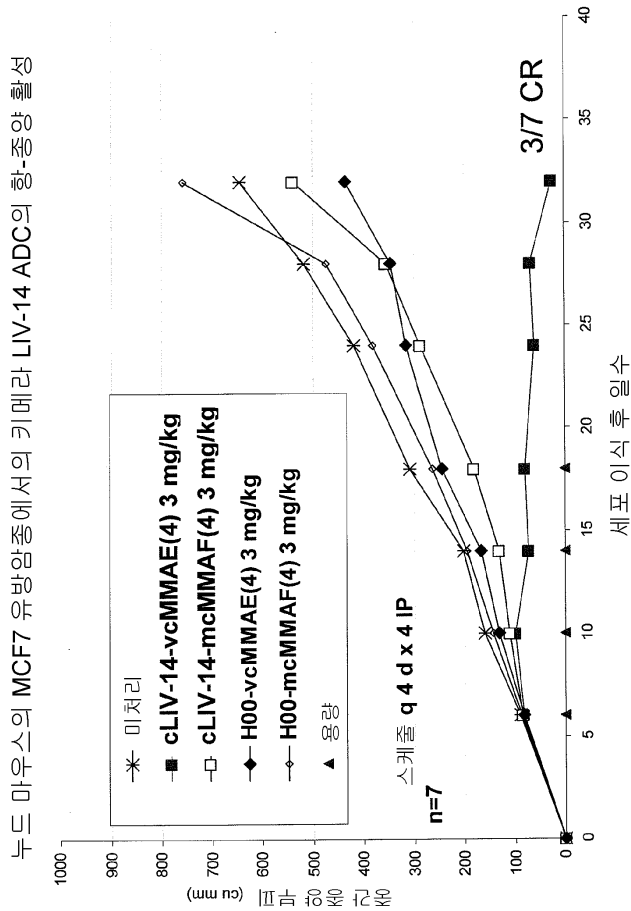
도면11

ADCC 활성 : hLIV-14 SEA 및 ADC (공여체 2)  
표적: MCF-7(ATCC) 공여체: PO16 (158V/V)



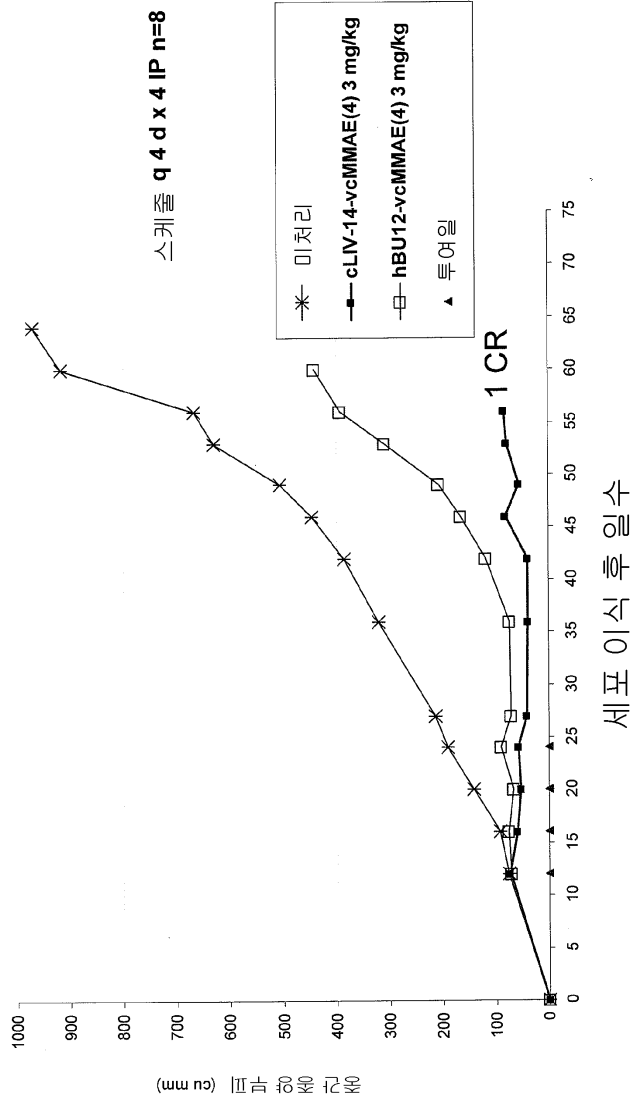
	IC50 (ng/mL)	최대 용해
hLIV-14 SEA	21.8	85%
hLIV-14 SEA vcMMAE	17.0	80%

도면12



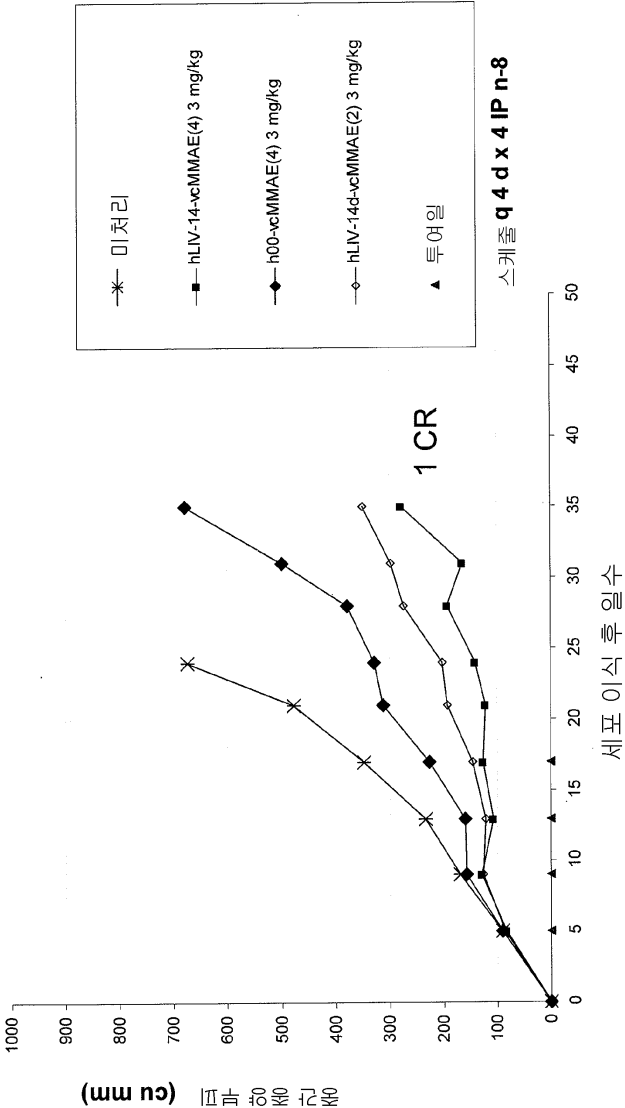
도면13

수컷 누드 마우스의 PC3(ATCC) 전립선암종에서의 키메라  
LIV-14-vcMMAE의 항-종양 활성



도면14

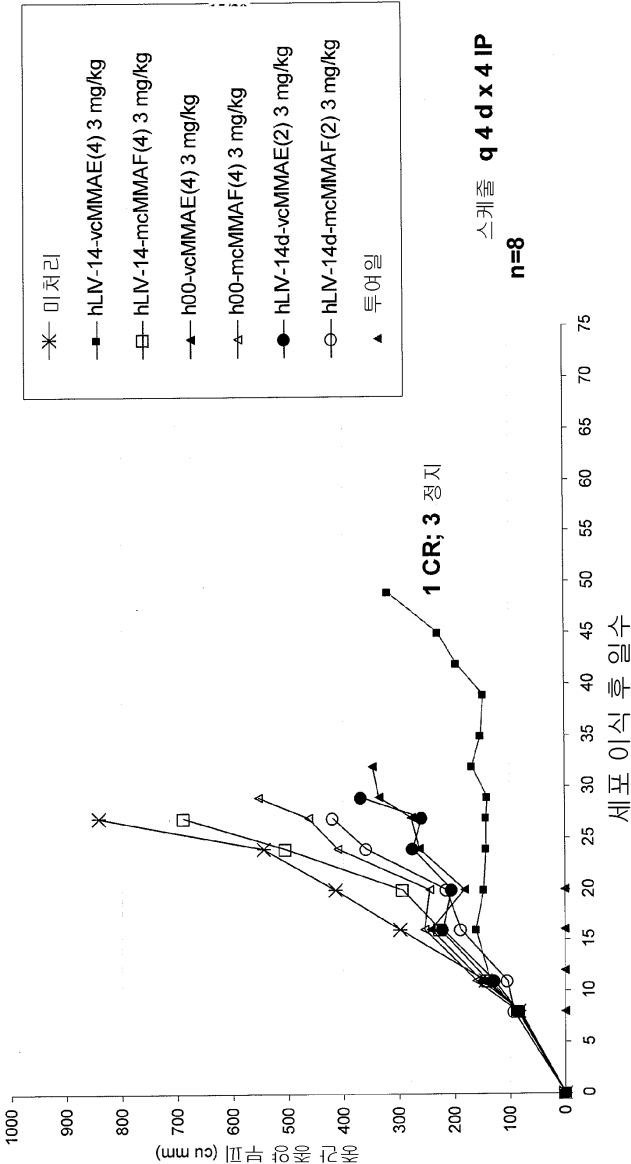
누드 마우스의 MCF7(NCI) 유방암종 종양에서의 인간화 LIV-14 ADC의 활성





도면15

누드 암컷 마우스의 PC3(DSMZ) 전립선암종 종양에서의 인간화 LIV-14 ADC의 활성



도면16a

```

      10      20      30      40      50
hLiv22 HA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDT EY
hLiv22 HB .....IE.....
hLiv22 HC .....
hLiv22 HD .....F.....
hLiv22 HE .....F.IE.....I.....
hLiv22 HF .....L.IE.....
hLiv22 HG .....L.IE.....
mLiv22 H E...Q....LVRS....L..T...LNIE.....K.R.E....I.....
CDRs          *****

      60      70      80      90     100     110
hLiv22 HA GPKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRLSDDTAVYYCARHNAHYGTWFAFWGQGTLVTSS
hLiv22 HB .....N.....
hLiv22 HC .....KA...A.....
hLiv22 HD .....TV.....
hLiv22 HE .....KA...A...N.....
hLiv22 HF .....V.....
hLiv22 HG .....N.....V.....
mLiv22 H .....KA...A...SN...LQ...S.T.G.....TV.....A
CDRs          *****

hLiv22 HA
hLiv22 HB
hLiv22 HC
hLiv22 HD
hLiv22 HE
hLiv22 HF
hLiv22 HG
hLiv22 H

```

도면16b

```

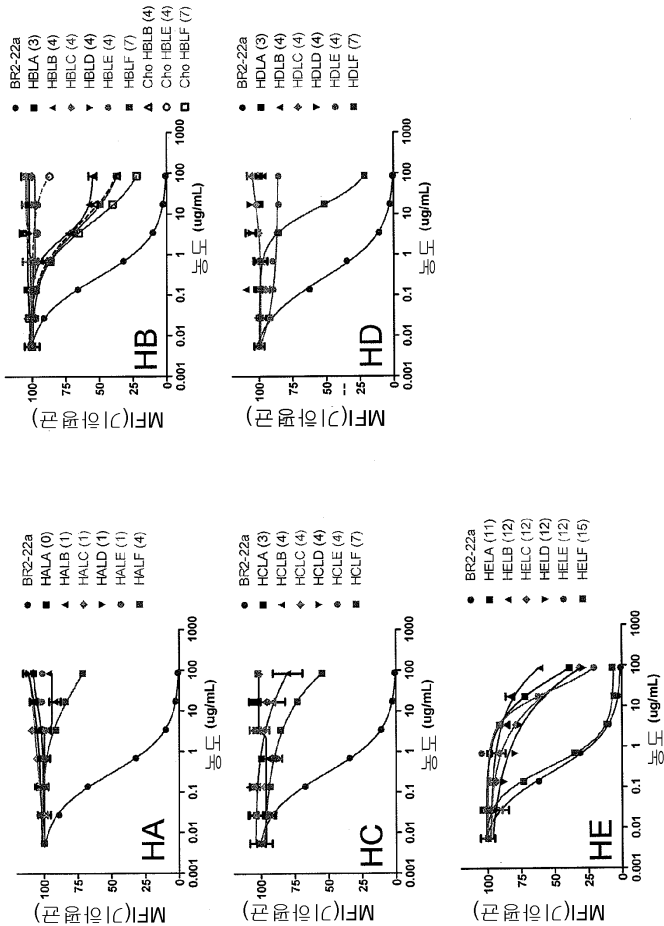
      10      20      30      40      50
hLiv22 LA DVVMTQSPFLSLPVTLGQPASTISCRSSQSLHSSGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIYKISTR F
hLiv22 LB .....Y.....
hLiv22 LC .....L.....
hLiv22 LD .....K.....
hLiv22 LE .....L.....
hLiv22 LF .....YL.....KL.....
hLiv22 LG .....Y.....P.....
mLiv22 L ..L...T.....S..DQ.....YL.....KP.....
CDRs          *****

      60      70      80      90     100
hLiv22 LA SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYCFQGSHPYTFGGGTKVEIKR
hLiv22 LB .....
hLiv22 LC .....
hLiv22 LD .....
hLiv22 LE .....
hLiv22 LF .....
hLiv22 LG .....
mLiv22 L .....L.L.....L.....
CDRs          *          *****

```

도면17

H-사슬에 의해 그룹화된 hLIV22 항원  
결합 인간화 라운드 2



도면18

LIV22 역돌연변이(라운드2)

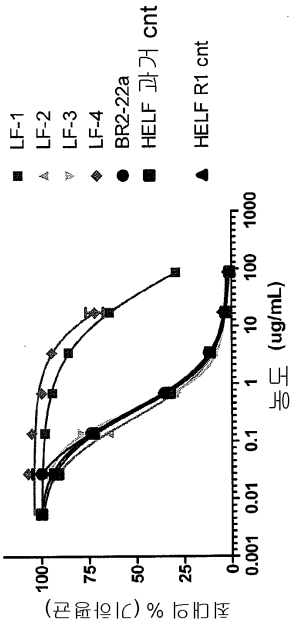
	L36	L37	L45	L46	역돌연변이#	H27	H28	H29	H30	H48	H66	H67	H71	H76	H93	H94	역돌연변이#
LA	F	Q	R	R	0	Y	T	F	T	M	R	V	R	S	A	R	0
LB	Y	Q	R	R	1	Y	T	I	(E)	M	R	V	R	N	A	R	3
LC	F	L	R	R	1	Y	T	F	T	M	K	A	A	S	A	R	3
LD	F	Q	K	R	1	L	T	F	T	M	R	V	R	S	I	V	3
LE	F	Q	R	P	1	L	N	I	(E)	I	K	A	A	N	I	V	11
LF	Y	L	K	L	4												

추가 LIV22 돌연변이(라운드3)

	L36	L37	L45	L46	역돌연변이#	H27	H28	H29	H30	H48	H66	H67	H71	H76	H93	H94	역돌연변이#
LF	Y	L	K	P	4	HE	N	I	(E)	I	K	A	A	N	I	V	11
LF-1	F	L	K	P	3	HE-1	N	I	(E)	I	K	A	A	N	I	V	10
LF-2	Y	Q	K	P	3	HE-2	T	I	(E)	I	K	A	A	N	I	V	10
LF-3	Y	L	R	P	3	HE-3	N	F	(E)	I	K	A	A	N	I	V	10
LF-4	Y	L	K	R	3	HE-4	N	I	T	I	K	A	A	N	I	V	10
						HE-5	N	I	(E)	M	K	A	A	N	I	V	10
						HE-6	N	I	(E)	I	R	A	A	N	I	V	10
						HE-7	N	I	(E)	I	K	V	A	N	I	V	10
						HE-8	N	I	(E)	I	K	A	R	N	I	V	10
						HE-9	N	I	(E)	I	K	A	A	S	I	V	10
						HE-10	N	I	(E)	I	K	A	A	N	A	V	10
						HE-11	N	I	(E)	I	K	A	A	N	I	R	10

도면19

hLIV22 경쟁 결합 : LF(라운드3)



추가 LIV22 역돌연변이 : LF

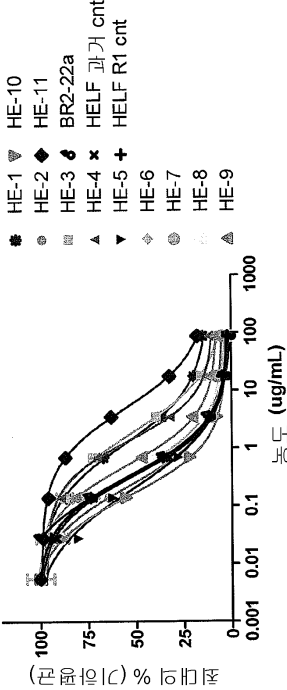
역		돌연변이#	
L36	L37	L45	L46
Y	L	K	P
F	L	K	P
Y	Q	K	P
Y	L	R	P
Y	L	K	R
LF	LF-1	LF-2	LF-3

항원 결합을  
유지시키는  
잔기:

Y36 (티로신)&  
P46 (프롤린)

도면20

hLIV22 경쟁 결합 : HE(라운드3)



추가 hLIV22 역동연변이 :HE

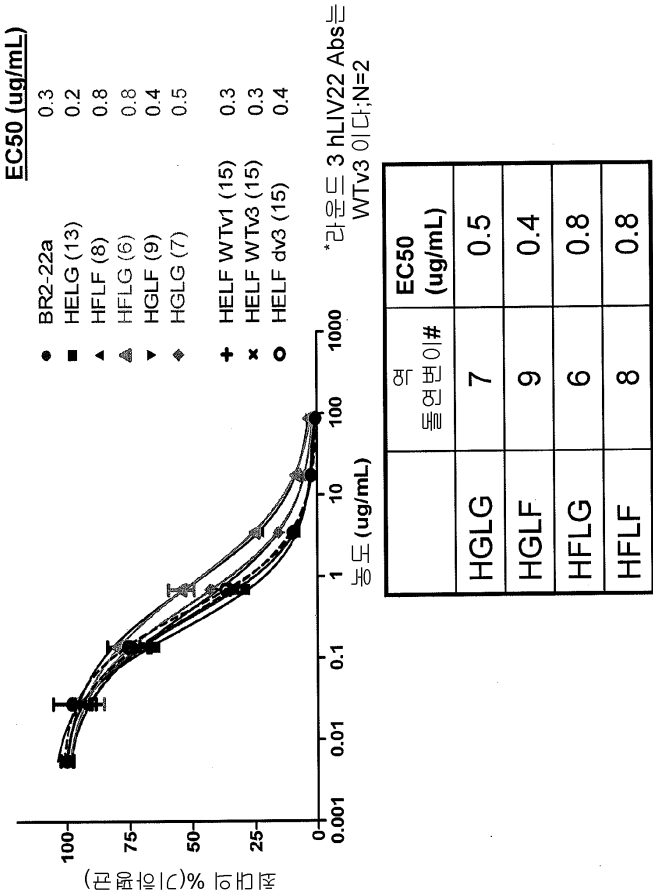
HE	H27	H28	H29	H30	H48	H66	H67	H71	H76	H93	H94	동연변이#
HE-1	Y	N	N	E	I	K	A	A	N	I	V	11
HE-2	L	N	I	E	I	K	A	A	N	I	V	10
HE-3	L	T	I	E	I	K	A	A	N	I	V	10
HE-4	L	N	F	E	I	K	A	A	N	I	V	10
HE-5	L	N	I	T	I	K	A	A	N	I	V	10
HE-6	L	N	I	E	M	K	A	A	N	I	V	10
HE-7	L	N	I	E	I	R	V	A	N	I	V	10
HE-8	L	N	I	E	I	K	A	A	N	I	V	10
HE-9	L	N	I	E	I	K	A	R	N	I	V	10
HE-10	L	N	I	E	I	K	A	A	S	I	V	10
HE-11	L	N	I	E	I	K	A	A	N	A	V	10

항원 결합을  
유지시키는 잔기:  
L27 (류신)  
I29 (이소류신)  
E30 (글루탐산)  
N76 (아스파라긴)  
V94 (발린)

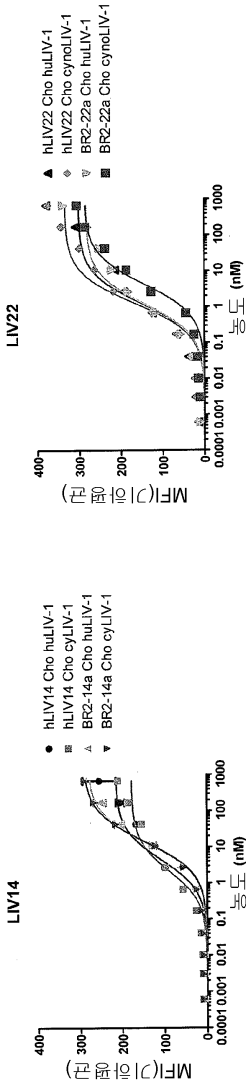


도면21

LIV22 인간화 : 라운드 4



포화 결합  
AF-647

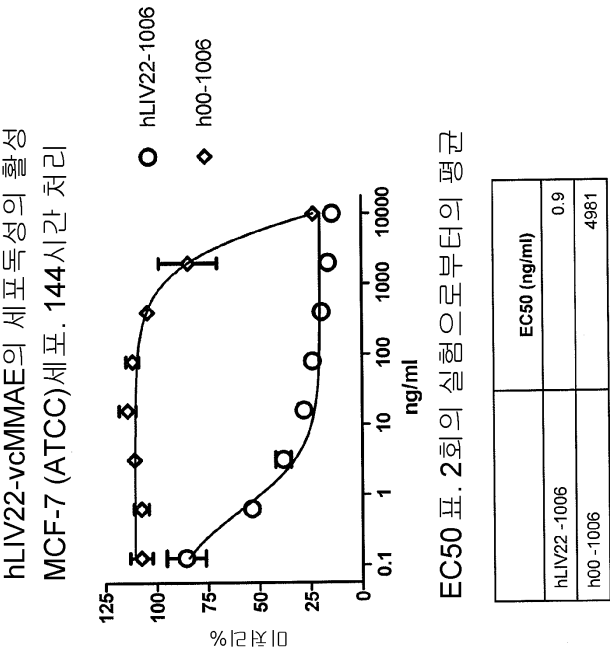


인간 및 시노물구스 LIV-1에 대한 BR2-14a, BR2-22a, hLIV14 및 hLIV14의 결합기 kd(nM)

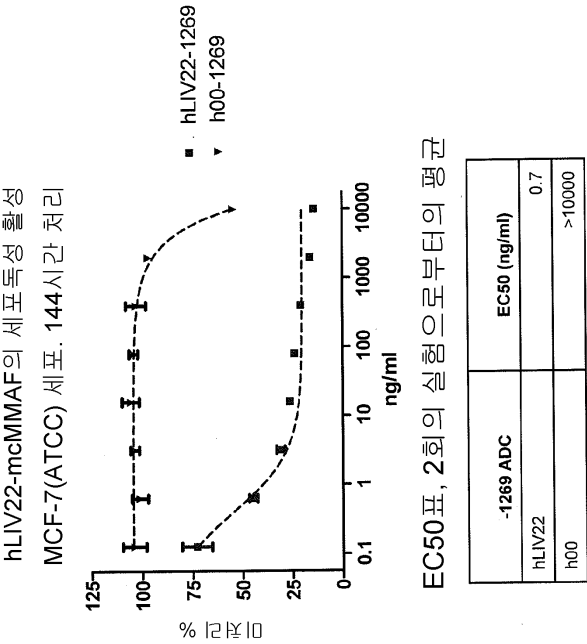
항원	BR-14a	hLIV14	BR-22a	hLIV22
인간 LIV1	12.5	4.3	1.2	1.2
시노물구스 LIV1	14.0	2.1	4.2	1.3

음성 대조군: m2H12

도면23

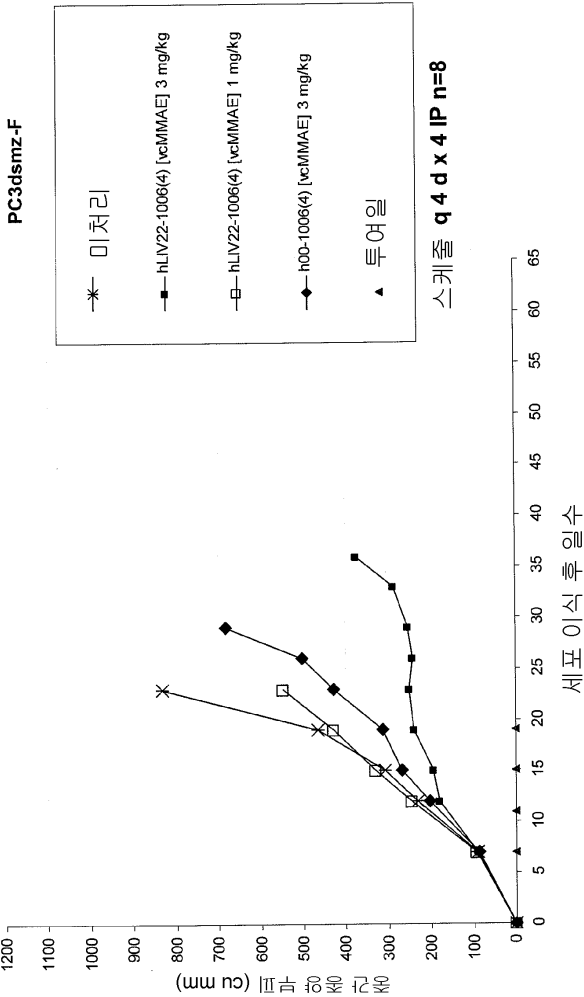


도면24

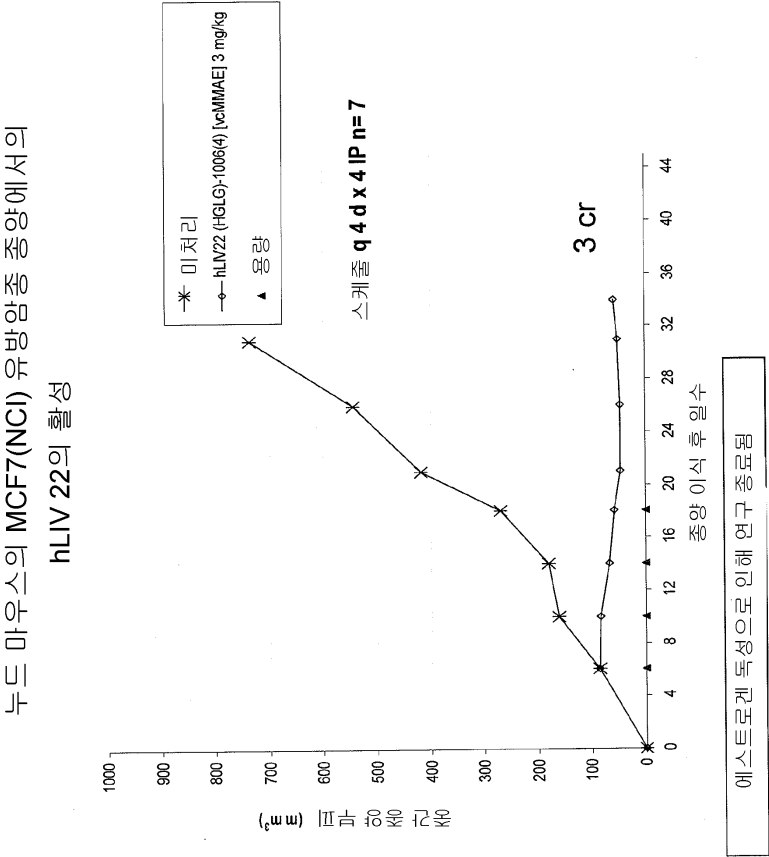


도면25

누드 암컷 마우스의 PC3(dsmz) 전립선암종 모델에서의 hLIV22 ADC의 활성

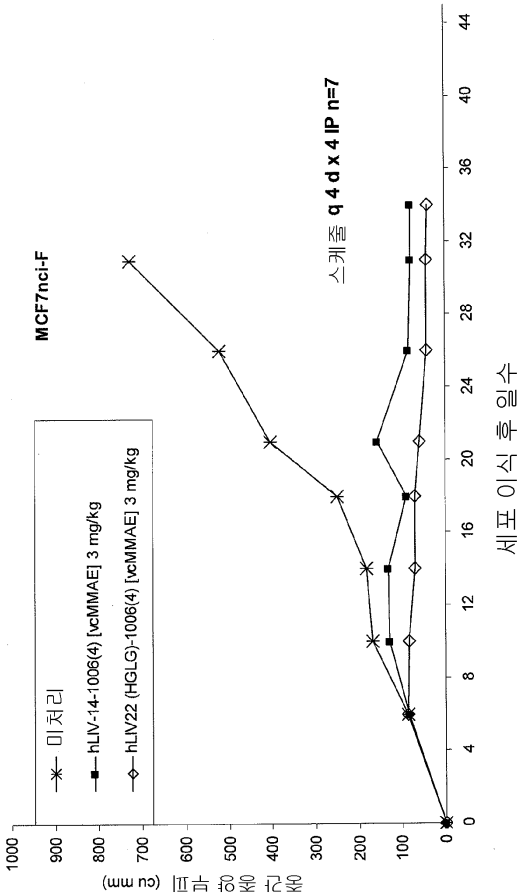


도면26



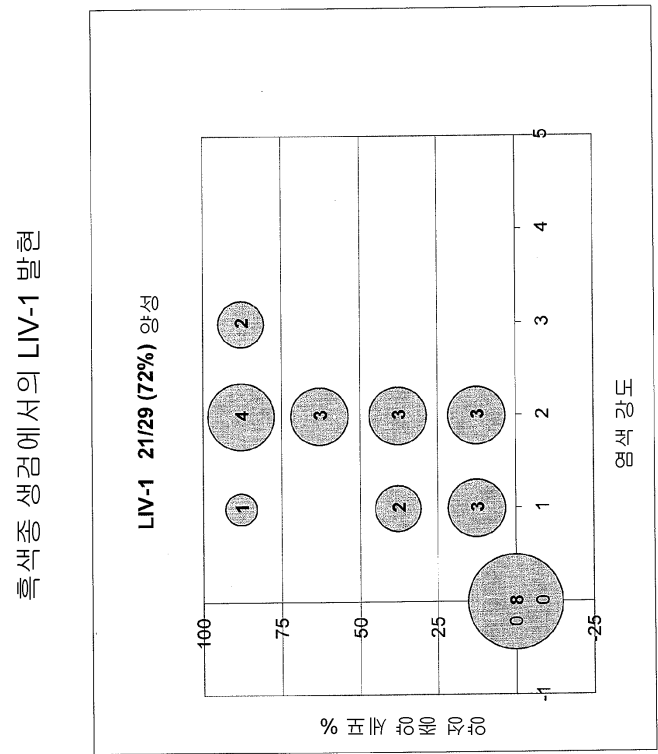
도면27

hLIV22(HGLG) vcMMAE vs hLIV-14vcE의 활성





도면28



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Seattle Genetics, Inc.
- SMITH, Maria Leia
- SUSSMAN, Django
- ARTHUR, William
- NESTEROVA, Albina
- <120> Humanized Antibodies to LIV-1 and Use of Same to Treat Cancer
- <130> 057762-413082
- <140> PCT/US11/63612
- <141> 2011-12-06
- <150> US 61/420,291
- <151> 2010-12-06
- <150> US 61/446,990
- <151> 2011-02-25
- <160> 85

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> mus musculus

<

400> 1

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Val

1 5 10 15

Ser Thr Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

20 25

<210> 2

<211> 25

<212> PRT

<213> mus musculus

<400> 2

Met Lys Cys Ser Trp Val Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Leu Gly

1 5 10 15

Ile Asn Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

20 25

<210> 3

<211

> 25

<212> PRT

<213> mus musculus

<400> 3

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser

1 5 10 15

Ala Gln Ala Ser Glu Gln Ile Asp Asn

20 25

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 4

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 1 5 10 15  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 20 25 30  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 35 40 45  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 50 55 60  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 65 70 75 80  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 85 90 95  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
 100 105 110  
 <210> 5  
 <211> 336  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 5  
 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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110  
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160  
  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220  
  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285  
  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
 325 330 335

<210> 6

<211> 335

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 6

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  
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110  
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125  
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140  
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160  
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175  
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190  
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205  
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
 325 330 335  
 <210> 7  
 <211> 336  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 7  
 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  
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100	105	110	
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Cys Val Phe Leu Phe Pro Pro			
115	120	125	
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
130	135	140	
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
165	170	175	
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
180	185	190	
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195	200	205	
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
210	215	220	
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu			
225	230	235	240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
245	250	255	
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
260	265	270	
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
275	280	285	
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
290	295	300	
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
305	310	315	320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Glu Gln Ile Asp Asn			
325	330	335	
<210> 8			
<211> 335			



<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 8

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Cys Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
 325 330 335  
 <210> 9  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> humanized heavy chain  
 <400> 9  
 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 Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Thr Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg His Asp Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110  
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115 120 125

<210> 10

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized heavy chain

<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 Ile Glu Asp Tyr  
20 25 30  
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Thr 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 Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg His Asp Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115 120 125

<210> 11

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized heavy chain

<400> 11

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

                    100                      105                      110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
                     115                      120                      125

<210> 12

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized heavy chain

<400> 12

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115 120 125

<210> 13

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized heavy chain

<400> 13

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 Phe Asn Ile Glu Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

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

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

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

85 90 95

Asn Val His Asp Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115 120 125

<210> 14

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized light chain

<400> 14

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Ile Arg Asn  
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115

<210> 15

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized light chain

<400> 15

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Ile Arg Asn  
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65                      70                      75                      80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115

<210> 16

<211> 119

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

<220><223> humanized light chain

<400> 16

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Ile Arg Asn

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115

<210> 17

<211> 119



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized light chain

<400> 17

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Ile Arg Asn

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized light chain

<400> 18

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Ile Arg Asn

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115

<210> 19

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> humanized light chain

<400> 19

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Ile Arg Asn  
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

Arg Asp Asn Ala Ser Glu Gln Glu Asn Cys Glu Ser Ser Glu Gln Ile  
115 120 125

Asp Asn

130

<210> 20

<211> 60

<212> DNA

<213> mus musculus

<220><221> misc\_feature

<222> (60)..(60)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 20

atgaaatgca gctgggtcat cttcttctg atggcagtgg ttctaggaat caattcasdn 60

<210> 21

<211> 60

<212> DNA

<213> mus musculus

<220><221> misc\_feature

<222> (60)..(60)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 21

atgaagtgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttctgtttc taccagtsdn 60

<210> 22

<211> 60

<212> DNA

<213> mus musculus

<220><221> misc\_feature

<222> (60)..(60)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 22

atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg cccaaagtgc ccaagcasdn 60

<210> 23

<211> 321

<212> DNA

<213> mus musculus

<220><221> misc\_feature

<222> (321)..(321)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 23

acggtggctg caccatctgt cttcatcttc cgcctatctg atgagcagtt gaaatctgga 60

actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg 120

aaggtggata acgcccctca atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc 180

aaggacagca cctacagcct cagcagcacc ctgacgtga gcaaagcaga ctacagagaa 240

cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat cagggcctga gctcgcccggt cacaaagagc 300

ttcaacaggg gagagtgtsd n 321

<210> 24

<211> 993

<212> DNA

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (993)..(993)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 24

gctagcacca agggcccatc tgtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagctg cctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120

tggaactcag gcgcccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtctca 180

ggactctact cctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cactgaact cctgggggga 360

ccgtcagttt tctcttcccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt 420

gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcttcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aacctctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gaggcaggtgg 900  
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960  
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa sdn 993

<210> 25

<211> 990

<212> DNA

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (990)..(990)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 25

gctagcacca agggcccatc tgtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 60  
ggcacagctg cctgggctg cctggtaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120  
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgttctt acagtctca 180  
ggactctact cctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240  
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300  
aaatcttgtg aaaaaactca cacatgccc cgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcattgatctc ccggaccctt 420  
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480  
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540  
agcacgtacc gtgtggctag cgtcctcacc gtctctgacc aggactggct gaatggcaag 600  
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660  
aaagccaaag ggagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 720  
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccctgt 840  
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gaggcaggtgg 900  
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960  
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtsdn 990

<210> 26

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic senquence

<220><221> misc\_feature

<222> (993)..(993)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 26

gctagcacca agggcccatc tgtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagctg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120

tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtctca 180

ggactctact cctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg aaaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtgtgtct tctcttcccc cccaaaacc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt 420

gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcttcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggagcccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccctgt 840

ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa sdn 993

<210> 27

<211> 990

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic senquence

<220><221> misc\_feature

<222> (990)..(990)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 27

gctagcacca agggcccatc tgtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagctg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120  
 tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgctg cacaccttcc cggctgtcct acagtctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240  
 tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300  
 aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360  
 ccgtgtgtct tectcttccc cccaaaacc aaggacacce tcatgatctc cgggaccct 420  
 gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480  
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540  
 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcttcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660  
 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc cgggatgag 720  
 ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780  
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccctgt 840  
 ctggactccg acggctcttt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900  
 cagcagggga acgtcttctc atgtccctgt atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960  
 cagaagagcc tctccctgtc tccggtsdn 990

<210> 28

<211> 363

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic senquence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 28

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg ctcttgata caccttcaca gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180  
 gccccacct tcagggcag ggtcaccatg accagggaca cctccatcag cacagcctac 240  
 atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cagacatgat 300

gctcactatg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctggtcac agtctcctca 360



sdn 363

<210> 29

<211> 363

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic senquence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 29

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccattgaa gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180

gccccacct tccagggcag ggtcacatg accagggaca cctccatcaa cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cagacatgat 300

gctcactatg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca 360

sdn 363

<210> 30

<211> 363

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic senquence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 30

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcaca gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180

gccccacct tccagggcaa ggccactatg actgcagaca cctccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cagacatgat 300

gctcactatg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca 360

sdn 363

<210> 31

<211> 363

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 31

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcctgcaagg cttctggatt caccttcaca gactactata tgcactgggt gaggcaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat	180
gccccacct tccagggcag ggtcaccatg accagggaca cctccatcag cacagcctac	240
atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cagacatgat	300
gtcactatg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca	360

sdn	363
-----	-----

<210> 32

<211> 363

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 32

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcctgcaagg cttctggatt caacattgaa gactactata tgcactgggt gaggcaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat	180
gccccacct tccagggcaa ggccactatg actgcagaca cctccatcaa cacagcctac	240

atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtaa tgtccatgat	300
---	-----

gtcactatg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca	360
---	-----

sdn	363
-----	-----

<210> 33  
 <211> 342  
 <212> DNA  
 <213> artificial  
 <220><223> synthetic senquence  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (342)..(342)  
 <223> n is a, c, g, or t  
 <400> 33  
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc 60  
 atctcctgca gatctagtc gagcattata aggaatgatg gaaacaccta ttggaatgg 120  
  
 tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg aggctaattt atagagtttc caacaggttt 180  
 tctgggggcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240  
 agcagggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc 300  
 tacacctttg gaggagggac caaggtggag atcaaacgts dn 342  
 <210> 34  
 <211> 342  
 <212> DNA  
 <213> artificial  
 <220><223> synthetic senquence  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (342)..(342)  
 <223> n is a, c, g, or t  
 <400> 34  
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc 60  
  
 atctcctgca gatctagtc gagcattata aggaatgatg gaaacaccta ttggaatgg 120  
 taccagcaga ggccaggcca atctccaagg aggctaattt atagagtttc caacaggttt 180  
 tctgggggcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240  
 agcagggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc 300  
 tacacctttg gaggagggac caaggtggag atcaaacgts dn 342  
 <210> 35  
 <211> 342  
 <212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (342)..(342)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 35

gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc	60
atctcctgca gatctagtc gagcattata aggaatgatg gaaacaccta ttggaatgg	120
tttctgcaga ggccaggcca atctccaagg aggctaattt atagagtttc caacaggttt	180
tctggggtcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc	240
agcagggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc	300
tacacctttg gaggaggac caaggtggag atcaaagcgs dn	342

<210> 36

<211> 342

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (342)..(342)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 36

gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc	60
atctcctgca gatctagtc gagcattata aggaatgatg gaaacaccta ttggaatgg	120
tttcagcaga ggccaggcca atctccaaag aggctaattt atagagtttc caacaggttt	180
tctggggtcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc	240
agcagggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc	300

tacacctttg gaggaggac caaggtggag atcaaagcgs dn	342
---	-----

<210> 37

<211> 342

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (342)..(342)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 37

gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc 60

atctcctgca gatctagtc gagcattata aggaatgatg gaaacaccta ttggaatgg 120

tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg ctccctaattt atagagtttc caacaggttt 180

tctggggctcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240

agcagggtgg aggtcagga tggtggggtt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc 300

tacacctttg gaggaggac caaggtggag atcaaacgts dn 342

<210> 38

<211> 339

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic senquence

<400> 38

gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc 60

atctcctgca gatctagtc gagcattata aggaatgatg gaaacaccta ttggaatgg 120

tacctgcaga aaccaggcca atctccaaag ctccctaattt atagagtttc caacaggttt 180

tctggggctcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240

agcagggtgg aggtcagga tggtggggtt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc 300

tacacctttg gaggaggac caaggtggag atcaaacgt 339

<210> 39

<211> 26

<212> PRT

<213> mus musculus

<400> 39

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Val

1 5 10 15

Ala Thr Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

20 25

<210> 40

<211> 25

<212> PRT

<213> mus musculus

<400> 40

Met Lys Cys Ser Trp Val Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Ile Gly

1 5 10 15

Ile Asn Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

20 25

<210> 41

<211> 25

<212> PRT

<213> mus musculus

<400> 41

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser

1 5 10 15

Ala Gln Ala Ser Glu Gln Ile Asp Asn

20 25

<210> 42

<211> 112

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 42

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

85 90 95  
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
100 105 110

<210> 43

<211> 336

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 43

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  
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110  
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125  
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140  
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160  
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175  
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

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

195 200 205  
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
210 215 220  
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
225 230 235 240  
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
245 250 255  
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

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

325 330 335

<210> 44

<211> 335

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 44

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  
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110  
  
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175  
  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240  
  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300  
  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305	310								315								320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Ser	Glu	Gln	Ile	Asp	Asn						
				325				330				335								
<210>	45																			
<211>	336																			
<212>	PRT																			
<213>	homo sapiens																			
<400>	45																			
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								
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys					
				100				105				110								
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Cys	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro					
115				120				125												
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys					
130				135				140												
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp					
145				150				155				160								
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu					
				165				170				175								
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu					
180				185				190												

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
195 200 205  
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
210 215 220  
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
225 230 235 240  
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
245 250 255  
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
260 265 270  
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
275 280 285  
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
290 295 300  
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
305 310 315 320  
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
325 330 335  
<210> 46  
<211> 335  
<212> PRT  
<213> homo sapiens  
<400> 46  
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	
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Cys	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115					120					125		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	130						135				140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150				155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165					170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180						185				190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195					200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210						215				220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225						230				235					240
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245					250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
		260						265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290						295				300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr

305                      310                      315                      320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Glu Gln Ile Asp Asn

325 330 335

<210> 47

<211> 126

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

&lt;400&gt; 47

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 Asp Tyr

20                      25                      30

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

35                      40                      45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Gly Pro Lys Phe

50                      55                      60

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

65                      70                      75                      80

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

85                      90                      95

Ala Arg His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100                      105                      110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115                      120                      125

<210> 48

<211> 126

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 48

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 Ile Glu Asp Tyr  
                   20                    25                    30  
  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                   35                    40                    45  
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Gly Pro 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 Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95

Ala Arg His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln  
                   100                    105                    110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
                   115                    120                    125

<210> 49

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 49

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 Asp Tyr

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

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

85

90

95

Ala Arg His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

120

125

<210> 50

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 50

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 Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Gly Pro Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Thr Val His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

120

125

<210> 51

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 51

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

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

<210> 52

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 52

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



50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Val His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

120

125

<210> 53

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 53

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 Leu Thr Ile Glu Asp Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Gly Pro 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 Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Val His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

120

125

<210> 54

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 54

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

<210> 55

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 55

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

<210> 56

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 56

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

<210> 57

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 57

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

<210> 58

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 58

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30  
Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
115

<210> 59

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 59

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

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

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

<210> 60

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 60

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ser Glu Gln Ile Asp Asn

115

<210> 61

<211> 60

<212> DNA

<213> mus musculus

<220><221> misc\_feature

<222> (60)..(60)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 61  
atgaaatgca gctgggtcat cttcttcctg atggcagtggt ttataggaat caattcasdn 60  
<210> 62  
<211> 60  
<212> DNA  
<213> mus musculus  
<220><221> misc\_feature  
<222> (60)..(60)  
<223> n is a, c, g, or t  
<400> 62  
atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcttgctac cagcagtsdn 60  
<210> 63  
<211> 60  
<212> DNA  
<213> mus musculus  
<220><221> misc\_feature  
<222> (60)..(60)  
<223> n is a, c, g, or t  
<400> 63  
atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg cccaaagtgc ccaagcasdn 60  
<210> 64  
<211> 327  
<212> DNA  
<213> homo sapiens  
<220><221> misc\_feature  
<222> (327)..(327)  
<223> n is a, c, g, or t  
<400> 64  
acgacggtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcgcccat ctgatgagca gttgaaatct 60  
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120  
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180  
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240  
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg ttagsdn 327

<210> 65

<211> 993

<212> DNA

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (993)..(993)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 65

gctagcacca agggcccatc tgtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagctg ccttgggctg cctgttcaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120

tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgctg cacaccttcc cggtctgcct acagtcctca 180

ggactctact ccttcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg aaaaaactca cacatgccca ccgtgccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcattgatctc ccggaccctt 420

gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtctcacc gtcttcgacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagcccc agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960

cagaagagcc tctccctgtc tccggtaaa sdn 993

<210> 66

<211> 990

<212> DNA

<213> homo sapiens

<220><221> misc\_feature

<222> (990)..(990)



<223> n is a, c, g, or t

<400> 66

gctagcacca agggcccatc tgtcttcccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagctg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagctt tctcttcccc cccaaaacc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt 420

gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcttcacc gtccctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggagcccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcgcccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccctgt 840

ctggactccg acggctcttt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgtccctgt atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960

cagaagagcc tctccctgtc tccggtsdn 990

<210> 67

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (993)..(993)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 67

gctagcacca agggcccatc tgtcttcccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagctg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg aaaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtgtgtct tctcttccc cccaaaacc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgctctcacc gtccctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggctcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa sdn 993

<210> 68

<211> 990

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<

222> (990)..(990)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 68

gctagcacca agggcccac tgtcttccc ctggcacct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagctg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ctgaacctgt gacagtgtcc 120

tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtctct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg aaaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtgtgtct tctcttccc cccaaaacc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600  
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660  
aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720  
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840  
ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900  
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 960  
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtsdn 990

<210> 69

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 69

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcaca gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120  
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg aaaatggtga tactgaatat 180  
ggccccgaagt tccagggcag ggtcaccatg accagggaca cctccatcag cacagcctac 240  
atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cagacataat 300  
gtcactacg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca 360  
sdn 363

<210> 70

<211> 363

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 70  
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
tcctgcaagg ctcttgata caccattgaa gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120  
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg aaaatggtga tactgaatat 180  
ggccccgaagt tccagggcag ggtcaccatg accagggaca cctccatcaa cacagcctac 240  
atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cagacataat 300  
gtcactacg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca 360

sdn 363

<210> 71

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 71

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
tcctgcaagg ctcttgata caccttcaca gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120  
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg aaaatggtga tactgaatat 180  
ggccccgaagt tccagggcaa ggccacatg accgcagaca cctccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cagacataat 300  
gtcactacg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca 360  
sdn 363

<210> 72

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 72

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg ctcttgact caccttcaca gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg aaaatggtga tactgaatat 180  
 ggcccgaagt tccagggcag ggtcaccatg accagggaca cctccatcag cacagcctac 240  
 atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtac tgtccataat 300  
 gctcactacg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctggtcac agtctcctca 360  
 sdn 363

<210> 73  
 <211> 363  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic sequence  
 <220><221> misc\_feature  
 <  
 222> (363)..(363)  
 <223> n is a, c, g, or t  
 <400> 73

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg ctcttgact caacattgaa gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gattggatgg attgatcctg aaaatggtga tactgaatat 180  
 ggcccgaagt tccagggcaa ggccaccatg accgcagaca cctccatcaa cacagcctac 240  
 atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtac tgtccataat 300  
 gctcactacg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctggtcac agtctcctca 360

sdn 363

<210> 74  
 <211> 363  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> syynthetic sequence  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (363)..(363)  
 <223> n is a, c, g, or t  
 <400> 74

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg ctctggact caccattgaa gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg aaaatggtga tactgaatat 180  
 ggcccgaagt tccagggcag ggtcaccatg accagggaca cctccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cgtccataat 300  
 gctcactacg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca 360  
 sdn 363

<210> 75

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (363)..(363)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 75

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg ctctggact caccattgaa gactactata tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg attgatcctg aaaatggtga tactgaatat 180  
 ggcccgaagt tccagggcag ggtcaccatg accagggaca cctccatcaa cacagcctac 240  
 atggagctga gcaggctgag atctgatgac acagctgtgt attactgtgc cgtccataat 300  
 gctcactacg ggacctggtt tgcttactgg ggccaaggaa ccctgggtcac agtctcctca 360  
 sdn 363

<210> 76

<211> 373

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<

222> (373)..(373)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 76

gatgttctgg attcctgcta ccagcagtga tgttgtgatg actcagtctc cactctccct 60  
gcctgtcacc ctggacagc ctgcctccat ctctgcaga tctagtcaga gccttttaca 120  
cagtagtgga aacacctatt tagaatggtt tcagcagagg ccaggccaat ctccaaggag 180  
gctaatttat aaaatttcca cccgattttc tggggtccca gacagattct ctggcagtgg 240  
gtcaggcact gatttcacac tgaaaatcag cagggtggag gctgaggatg ttggggttta 300  
ttactgcttt caaggttcac atgttcccta cacctttgga ggagggacca aggtggagat 360

caaacgtacg sdn 373

<210> 77

<211> 373

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (373)..(373)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 77

gatgttctgg attcctgcta ccagcagtga tgttgtgatg actcagtctc cactctccct 60  
gcctgtcacc ctggacagc ctgcctccat ctctgcaga tctagtcaga gccttttaca 120  
cagtagtgga aacacctatt tagaatggtt ccagcagagg ccaggccaat ctccaaggag 180  
gctaatttat aaaatttcca cccgattttc tggggtccca gacagattct ctggcagtgg 240

gtcaggcact gatttcacac tgaaaatcag cagggtggag gctgaggatg ttggggttta 300  
ttactgcttt caaggttcac atgttcccta cacctttgga ggagggacca aggtggagat 360

caaacgtacg sdn 373

<210> 78

<211> 373

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (373)..(373)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 78

gatgttctgg attcctgcta ccagcagtga tgttgtgatg actcagtctc cactctccct 60

gcctgtcacc ctggacagc ctgcctccat ctctgcaga tctagtcaga gccttttaca 120

cagtagtgga aacacctatt tagaatggtt tctgcagagg ccaggccaat ctccaaggag 180

gctaatttat aaaatttcca cccgattttc tgggtccca gacagattct ctggcagtgg 240

gtcaggcact gatttcacac tgaaaatcag cagggtggag gctgaggatg ttggggttta 300

ttactgcttt caaggttcac atgttccta cacctttgga ggagggacca aggtggagat 360

caaacgtacg sdn 373

<210> 79

<211> 373

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (373)..(373)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 79

gatgttctgg attcctgcta ccagcagtga tgttgtgatg actcagtctc cactctccct 60

gcctgtcacc ctggacagc ctgcctccat ctctgcaga tctagtcaga gccttttaca 120

cagtagtgga aacacctatt tagaatggtt tcagcagagg ccaggccaat ctccaagag 180

gctaatttat aaaatttcca cccgattttc tgggtccca gacagattct ctggcagtgg 240

gtcaggcact gatttcacac tgaaaatcag cagggtggag gctgaggatg ttggggttta 300

ttactgcttt caaggttcac atgttccta cacctttgga ggagggacca aggtggagat 360

caaacgtacg sdn 373

<210> 80

<211> 373

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> misc\_feature

<222> (373)..(373)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 80

gatgttctgg attcctgcta ccagcagtga tgttgtgatg actcagtctc cactctccct 60



gcctgtcacc ctggacagc ctgcctccat ctctgcaga tctagtcaga gccttttaca 120  
cagtagtgga aacacctatt tagaatggtt tcagcagagg ccaggccaat ctccaaggcc 180  
cctaatttat aaaatttcca cccgattttc tggggtccca gacagattct ctggcagtgg 240  
gtcaggcact gatttcacac tgaaaatcag cagggtggag gctgaggatg ttggggttta 300

ttactgcttt caaggttcac atgttccta cacctttgga ggagggacca aggtggagat 360  
caaacgtacg sdn 373

<210> 81  
<211> 342  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic sequence  
<220><221> misc\_feature  
<222> (342)..(342)  
<223> n is a, c, g, or t  
<400> 81

gatgttgta tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc 60  
atctcctgca gatctagtc gagcctttta cacagtagtg gaaacaccta tttagaatgg 120  
tacctgcaga ggccaggcca atctccaaag ccctaattt ataaaatttc cacccgattt 180

tctgggggcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240  
agcagggtgg aggtcagga tggtgggggt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc 300  
tacacctttg gaggaggac caaggtggag atcaaacgts dn 342

<210> 82  
<211> 342  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic sequence  
<220><221> misc\_feature  
<222> (342)..(342)  
<223> n is a, c, g, or t  
<400> 82

gatgttgta tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccttggaca gcctgcctcc 60  
atctcctgca gatctagtc gagcctttta cacagtagtg gaaacaccta tttagaatgg 120

taccagcaga ggccaggcca atctccaagg ccctaattt ataaaatttc cacccgattt 180  
tctgggtcc cagacagatt ctctggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240  
agcagggtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgct ttcaaggttc acatgttccc 300  
tacaccttg gaggaggac caaggtggag atcaaacgts dn 342

<210> 83

<211> 761

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Met Ala Arg Lys Leu Ser Val Ile Leu Ile Leu Thr Phe Ala Leu Ser

1 5 10 15

Val Thr Asn Pro Leu His Glu Leu Lys Ala Ala Ala Phe Pro Gln Thr

20 25 30

Thr Glu Lys Ile Ser Pro Asn Trp Glu Ser Gly Ile Asn Val Asp Leu

35 40 45

Ala Ile Ser Thr Arg Gln Tyr His Leu Gln Gln Leu Phe Tyr Arg Tyr

50 55 60

Gly Glu Asn Asn Ser Leu Ser Val Glu Gly Phe Arg Lys Leu Leu Gln

65 70 75 80

Asn Ile Gly Ile Asp Lys Ile Lys Arg Ile His Ile His His Asp His

85 90 95

Asp His His Ser Asp His Glu His His Ser Asp His Glu Arg His Ser

100 105 110

Asp His Glu His His Ser Glu His Glu His His Ser Asp His Asp His

115 120 125

His Ser His His Asn His Ala Ala Ser Gly Lys Asn Lys Arg Lys Ala

130 135 140

Leu Cys Pro Asp His Asp Ser Asp Ser Ser Gly Lys Asp Pro Arg Asn

145 150 155 160

Ser Gln Gly Lys Gly Ala His Arg Pro Glu His Ala Ser Gly Arg Arg

165 170 175

Asn Val Lys Asp Ser Val Ser Ala Ser Glu Val Thr Ser Thr Val Tyr

180	185	190
Asn Thr Val Ser Glu Gly Thr His Phe Leu Glu Thr Ile Glu Thr Pro		
195	200	205
Arg Pro Gly Lys Leu Phe Pro Lys Asp Val Ser Ser Ser Thr Pro Pro		
210	215	220
Ser Val Thr Ser Lys Ser Arg Val Ser Arg Leu Ala Gly Arg Lys Thr		
225	230	235
Asn Glu Ser Val Ser Glu Pro Arg Lys Gly Phe Met Tyr Ser Arg Asn		
245	250	255
Thr Asn Glu Asn Pro Gln Glu Cys Phe Asn Ala Ser Lys Leu Leu Thr		
260	265	270
Ser His Gly Met Gly Ile Gln Val Pro Leu Asn Ala Thr Glu Phe Asn		
275	280	285
Tyr Leu Cys Pro Ala Ile Ile Asn Gln Ile Asp Ala Arg Ser Cys Leu		
290	295	300
Ile His Thr Ser Glu Lys Lys Ala Glu Ile Pro Pro Lys Thr Tyr Ser		
305	310	315
Leu Gln Ile Ala Trp Val Gly Gly Phe Ile Ala Ile Ser Ile Ile Ser		
325	330	335
Phe Leu Ser Leu Leu Gly Val Ile Leu Val Pro Leu Met Asn Arg Val		
340	345	350
Phe Phe Lys Phe Leu Leu Ser Phe Leu Val Ala Leu Ala Val Gly Thr		
355	360	365
Leu Ser Gly Asp Ala Phe Leu His Leu Leu Pro His Ser His Ala Ser		
370	375	380
His His His Ser His Ser His Glu Glu Pro Ala Met Glu Met Lys Arg		
385	390	395
Gly Pro Leu Phe Ser His Leu Ser Ser Gln Asn Ile Glu Glu Ser Ala		
405	410	415
Tyr Phe Asp Ser Thr Trp Lys Gly Leu Thr Ala Leu Gly Gly Leu Tyr		
420	425	430

Phe Met Phe Leu Val Glu His Val Leu Thr Leu Ile Lys Gln Phe Lys  
 435 440 445  
 Asp Lys Lys Lys Lys Asn Gln Lys Lys Pro Glu Asn Asp Asp Asp Val  
 450 455 460  
  
 Glu Ile Lys Lys Gln Leu Ser Lys Tyr Glu Ser Gln Leu Ser Thr Asn  
 465 470 475 480  
 Glu Glu Lys Val Asp Thr Asp Asp Arg Thr Glu Gly Tyr Leu Arg Ala  
 485 490 495  
 Asp Ser Gln Glu Pro Ser His Phe Asp Ser Gln Gln Pro Ala Val Leu  
 500 505 510  
 Glu Glu Glu Glu Val Met Ile Ala His Ala His Pro Gln Glu Val Tyr  
 515 520 525  
  
 Asn Glu Tyr Val Pro Arg Gly Cys Lys Asn Lys Cys His Ser His Phe  
 530 535 540  
 His Asp Thr Leu Gly Gln Ser Asp Asp Leu Ile His His His His Asp  
 545 550 555 560  
 Tyr His His Ile Leu His His His His His Gln Asn His His Pro His  
 565 570 575  
 Ser His Ser Gln Arg Tyr Ser Arg Glu Glu Leu Lys Asp Ala Gly Val  
 580 585 590  
  
 Ala Thr Leu Ala Trp Met Val Ile Met Gly Asp Gly Leu His Asn Phe  
 595 600 605  
 Ser Asp Gly Leu Ala Ile Gly Ala Ala Phe Thr Glu Gly Leu Ser Ser  
 610 615 620  
 Gly Leu Ser Thr Ser Val Ala Val Phe Cys His Glu Leu Pro His Glu  
 625 630 635 640  
 Leu Gly Asp Phe Ala Val Leu Leu Lys Ala Gly Met Thr Val Lys Gln  
 645 650 655  
  
 Ala Val Leu Tyr Asn Ala Leu Ser Ala Met Leu Ala Tyr Leu Gly Met  
 660 665 670  
 Ala Thr Gly Ile Phe Ile Gly His Tyr Ala Glu Asn Val Ser Met Trp

675 680 685  
 Ile Phe Ala Leu Thr Ala Gly Leu Phe Met Tyr Val Ala Leu Val Asp  
 690 695 700  
 Met Val Pro Glu Met Leu His Asn Asp Ala Ser Asp His Gly Cys Ser  
 705 710 715 720

Arg Trp Gly Tyr Phe Phe Leu Gln Asn Ala Gly Met Leu Leu Gly Phe  
 725 730 735  
 Gly Ile Met Leu Leu Ile Ser Ile Phe Glu His Lys Ile Val Phe Arg  
 740 745 750  
 Ile Asn Phe Ser Glu Gln Ile Asp Asn  
 755 760

<210> 84  
 <211> 1519  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 84

Met Ala Arg Lys Leu Ser Val Ile Leu Ile Leu Thr Phe Ala Leu Ser  
 1 5 10 15

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

Asn Ile Gly Ile Asp Lys Ile Lys Arg Ile His Ile His His Asp His  
 85 90 95  
 Asp His His Ser Asp His Glu His His Ser Asp His Glu Arg His Ser  
 100 105 110  
 Asp His Glu His His Ser Asp His Glu His His Ser Asp His Asn His  
 115 120 125

Ala Ala Ser Gly Lys Asn Lys Arg Lys Ala Leu Cys Pro Asp His Asp  
130 135 140

Ser Asp Ser Ser Gly Lys Asp Pro Arg Asn Ser Gln Gly Lys Gly Ala  
145 150 155 160

His Arg Pro Glu His Ala Ser Gly Arg Arg Asn Val Lys Asp Ser Val  
165 170 175

Ser Ala Ser Glu Val Thr Ser Thr Val Tyr Asn Thr Val Ser Glu Gly  
180 185 190

Thr His Phe Leu Glu Thr Ile Glu Thr Pro Arg Pro Gly Lys Leu Phe  
195 200 205

Pro Lys Asp Val Ser Ser Ser Thr Pro Pro Ser Val Thr Ser Lys Ser  
210 215 220

Arg Val Ser Arg Leu Ala Gly Arg Lys Thr Asn Glu Ser Val Ser Glu  
225 230 235 240

Pro Arg Lys Gly Phe Met Tyr Ser Arg Asn Thr Asn Glu Asn Pro Gln  
245 250 255

Glu Cys Phe Asn Ala Ser Lys Leu Leu Thr Ser His Gly Met Gly Ile  
260 265 270

Gln Val Pro Leu Asn Ala Thr Glu Phe Asn Tyr Leu Cys Pro Ala Ile  
275 280 285

Ile Asn Gln Ile Asp Ala Arg Ser Cys Leu Ile His Thr Ser Glu Lys  
290 295 300

Lys Ala Glu Ile Pro Pro Lys Thr Tyr Ser Leu Gln Ile Ala Trp Val  
305 310 315 320

Gly Gly Phe Ile Ala Ile Ser Ile Ile Ser Phe Leu Ser Leu Leu Gly  
325 330 335

Val Ile Leu Val Pro Leu Met Asn Arg Val Phe Phe Lys Phe Leu Leu  
340 345 350

Ser Phe Leu Val Ala Leu Ala Val Gly Thr Leu Ser Gly Asp Ala Phe  
355 360 365

Leu His Leu Leu Pro His Ser His Ala Ser His His His Ser His Ser

370                      375                      380  
 His Glu Glu Pro Ala Met Glu Met Lys Arg Gly Pro Leu Phe Ser His  
 385                      390                      395                      400  
  
 Leu Ser Ser Gln Asn Ile Glu Glu Ser Ala Tyr Phe Asp Ser Thr Trp  
                          405                      410                      415  
 Lys Gly Leu Thr Ala Leu Gly Gly Leu Tyr Phe Met Phe Leu Val Glu  
                          420                      425                      430  
 His Val Leu Thr Leu Ile Lys Gln Phe Lys Asp Lys Lys Lys Lys Asn  
                          435                      440                      445  
 Gln Lys Lys Pro Glu Asn Asp Asp Asp Val Glu Ile Lys Lys Gln Leu  
                          450                      455                      460  
  
 Ser Lys Tyr Glu Ser Gln Leu Ser Thr Asn Glu Glu Lys Val Asp Thr  
 465                      470                      475                      480  
 Asp Asp Arg Thr Glu Gly Tyr Leu Arg Ala Asp Ser Gln Glu Pro Ser  
                          485                      490                      495  
 His Phe Asp Ser Gln Gln Pro Ala Val Leu Glu Glu Glu Glu Val Met  
                          500                      505                      510  
 Ile Ala His Ala His Pro Gln Glu Val Tyr Asn Glu Tyr Val Pro Arg  
                          515                      520                      525  
  
 Gly Cys Lys Asn Lys Cys His Ser His Phe His Asp Thr Leu Gly Gln  
                          530                      535                      540  
 Ser Asp Asp Leu Ile His His His His Asp Tyr His His Ile Leu His  
 545                      550                      555                      560  
 His His His His Gln Asn His His Pro His Ser His Ser Gln Arg Tyr  
                          565                      570                      575  
 Ser Arg Glu Glu Leu Lys Asp Ala Gly Val Ala Thr Leu Ala Trp Met  
                          580                      585                      590  
  
 Val Ile Met Gly Asp Gly Leu His Asn Phe Ser Asp Gly Leu Ala Ile  
                          595                      600                      605  
 Gly Ala Ala Phe Thr Glu Gly Leu Ser Ser Gly Leu Ser Thr Ser Val  
                          610                      615                      620

Ala Val Phe Cys His Glu Leu Pro His Glu Leu Gly Asp Phe Ala Val  
625 630 635 640  
Leu Leu Lys Ala Gly Met Thr Val Lys Gln Ala Val Leu Tyr Asn Ala  
645 650 655  
Leu Ser Ala Met Leu Ala Tyr Leu Gly Met Ala Thr Gly Ile Phe Ile  
660 665 670  
Gly His Tyr Ala Glu Asn Val Ser Met Trp Ile Phe Ala Leu Thr Ala  
675 680 685  
Gly Leu Phe Met Tyr Val Ala Leu Val Asp Met Val Pro Glu Met Leu  
690 695 700  
His Asn Asp Ala Ser Asp His Gly Cys Ser Arg Trp Gly Tyr Phe Phe  
705 710 715 720  
Leu Gln Asn Ala Gly Met Leu Leu Gly Phe Gly Ile Met Leu Leu Ile  
725 730 735  
Ser Ile Phe Glu His Lys Ile Val Phe Arg Ile Asn Phe Ser Glu Gln  
740 745 750  
Ile Asp Asn Cys Tyr Asn Leu Ile Val Pro Arg Thr Cys Tyr Asn Met  
755 760 765  
Leu Gly Ser Ser Pro Glu Cys Ile Glu Ser Met Ala Arg Lys Leu Ser  
770 775 780  
Val Ile Leu Ile Leu Thr Phe Thr Leu Ser Val Thr Asn Pro Leu His  
785 790 795 800  
Glu Leu Lys Ser Ala Ala Ala Phe Pro Gln Thr Thr Glu Lys Ile Ser  
805 810 815  
Pro Asn Trp Glu Ser Gly Ile Asn Val Asp Leu Ala Ile Thr Thr Arg  
820 825 830  
Gln Tyr His Leu Gln Gln Leu Phe Tyr Arg Tyr Gly Glu Asn Asn Ser  
835 840 845  
Leu Ser Val Glu Gly Phe Arg Lys Leu Leu Gln Asn Ile Gly Ile Asp  
850 855 860  
Lys Ile Lys Arg Ile His Ile His His Asp His Asp His His Ser Asp



865	870	875	880
His Glu His His Ser Asp His Glu His His Ser Asp His Glu His His			
	885	890	895
Ser His Arg Asn His Ala Ala Ser Gly Lys Asn Lys Arg Lys Ala Leu			
	900	905	910
Cys Pro Glu His Asp Ser Asp Ser Ser Gly Lys Asp Pro Arg Asn Ser			
	915	920	925
Gln Gly Lys Gly Ala His Arg Pro Glu His Ala Asn Gly Arg Arg Asn			
	930	935	940
Val Lys Asp Ser Val Ser Thr Ser Glu Val Thr Ser Thr Val Tyr Asn			
945	950	955	960
Thr Val Ser Glu Gly Thr His Phe Leu Glu Thr Ile Glu Thr Pro Lys			
	965	970	975
Leu Phe Pro Lys Asp Val Ser Ser Ser Thr Pro Pro Ser Val Thr Glu			
	980	985	990
Lys Ser Leu Val Ser Arg Leu Ala Gly Arg Lys Thr Asn Glu Ser Met			
	995	1000	1005
Ser Glu Pro Arg Lys Gly Phe Met Tyr Ser Arg Asn Thr Asn Glu			
	1010	1015	1020
Asn Pro Gln Glu Cys Phe Asn Ala Ser Lys Leu Leu Thr Ser His			
	1025	1030	1035
Gly Met Gly Ile Gln Val Pro Leu Asn Ala Thr Glu Phe Asn Tyr			
	1040	1045	1050
Leu Cys Pro Ala Ile Ile Asn Gln Ile Asp Ala Arg Ser Cys Leu			
	1055	1060	1065
Ile His Thr Ser Glu Lys Lys Ala Glu Ile Pro Pro Lys Thr Tyr			
	1070	1075	1080
Ser Leu Gln Ile Ala Trp Val Gly Gly Phe Ile Ala Ile Ser Ile			
	1085	1090	1095
Ile Ser Phe Leu Ser Leu Leu Gly Val Ile Leu Val Pro Leu Met			
	1100	1105	1110

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

1340	1345	1350
Ala Gly Ile Ala Thr Leu Ala	Trp Met Val Ile Met	Gly Asp Gly
1355	1360	1365
Leu His Asn Phe Ser Asp Gly	Leu Ala Ile Gly Ala	Ala Phe Thr
1370	1375	1380
Glu Gly Leu Ser Ser Gly Leu	Ser Thr Ser Val Ala	Val Phe Cys
1385	1390	1395
His Glu Leu Pro His Glu Leu	Gly Asp Phe Ala Val	Leu Leu Lys
1400	1405	1410
Ala Gly Met Thr Val Lys Gln	Ala Val Leu Tyr Asn	Ala Leu Ser
1415	1420	1425
Ala Met Leu Ala Tyr Leu Gly	Met Ala Thr Gly Ile	Phe Ile Gly
1430	1435	1440
His Tyr Ala Glu Asn Val Ser	Met Trp Ile Phe Ala	Leu Thr Ala
1445	1450	1455
Gly Leu Phe Met Tyr Val Ala	Leu Val Asp Met Val	Pro Glu Met
1460	1465	1470
Leu His Asn Asp Ala Ser Asp	His Gly Cys Ser Arg	Trp Gly Tyr
1475	1480	1485
Phe Phe Leu Gln Asn Ala Gly	Met Leu Leu Gly Phe	Gly Ile Met
1490	1495	1500
Leu Leu Ile Ser Ile Phe Glu	His Lys Ile Val Phe	Arg Ile Asn
1505	1510	1515

Phe

<210> 85

<211> 741

<212> PRT

<213> cynomolgous species

<400> 85

Met Ala Arg Lys Leu Ser Val Ile Leu Ile Leu Thr Phe Thr Leu Ser

1

5

10

15

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

260 265 270  
 Phe Asn Tyr Leu Cys Pro Ala Ile Ile Asn Gln Ile Asp Ala Arg Ser  
 275 280 285  
 Cys Leu Ile His Thr Ser Glu Lys Lys Ala Glu Ile Pro Pro Lys Thr  
 290 295 300  
 Tyr Ser Leu Gln Ile Ala Trp Val Gly Gly Phe Ile Ala Ile Ser Ile  
  
 305 310 315 320  
 Ile Ser Phe Leu Ser Leu Leu Gly Val Ile Leu Val Pro Leu Met Asn  
 325 330 335  
 Arg Val Phe Phe Lys Phe Leu Leu Ser Phe Leu Val Ala Leu Ala Val  
 340 345 350  
 Gly Thr Leu Ser Gly Asp Ala Phe Leu His Leu Leu Pro His Ser His  
 355 360 365  
 Ala Ser His His His Ser His Ser His Glu Glu Pro Ala Met Glu Met  
  
 370 375 380  
 Lys Arg Gly Pro Leu Phe Ser His Leu Ser Ser Gln Asn Ile Glu Glu  
 385 390 395 400  
 Ser Ala Tyr Phe Asp Ser Thr Trp Lys Gly Leu Thr Ala Leu Gly Gly  
 405 410 415  
 Leu Tyr Phe Met Phe Leu Val Glu His Val Leu Thr Leu Ile Lys Gln  
 420 425 430  
 Phe Lys Asp Lys Lys Lys Lys Asn Gln Lys Lys Pro Glu Asn Asp Asp  
  
 435 440 445  
 Asp Val Glu Ile Lys Lys Gln Leu Ser Lys Tyr Glu Ser Gln Leu Ser  
 450 455 460  
 Thr Asn Glu Glu Lys Val Asp Thr Asp Asp Arg Thr Glu Gly Tyr Leu  
 465 470 475 480  
 Arg Ala Asp Ser Gln Glu Pro Ser His Phe Asp Ser Gln Gln Pro Ala  
 485 490 495  
 Ile Leu Glu Glu Glu Glu Val Met Ile Ala His Ala His Pro Gln Glu  
  
 500 505 510

Val Tyr Asn Glu Tyr Val Pro Arg Gly Cys Lys Asn Lys Cys His Ser  
515 520 525

His Phe His Asp Thr Leu Gly Gln Ser Asp Asp Leu Ile His His His  
530 535 540

His Asp Tyr His His Ile Leu His His His His His Gln Asn His His  
545 550 555 560

Pro His Ser His Ser Gln Arg Tyr Ser Arg Glu Glu Leu Lys Asp Ala

565 570 575

Gly Ile Ala Thr Leu Ala Trp Met Val Ile Met Gly Asp Gly Leu His  
580 585 590

Asn Phe Ser Asp Gly Leu Ala Ile Gly Ala Ala Phe Thr Glu Gly Leu  
595 600 605

Ser Ser Gly Leu Ser Thr Ser Val Ala Val Phe Cys His Glu Leu Pro  
610 615 620

His Glu Leu Gly Asp Phe Ala Val Leu Leu Lys Ala Gly Met Thr Val

625 630 635 640

Lys Gln Ala Val Leu Tyr Asn Ala Leu Ser Ala Met Leu Ala Tyr Leu  
645 650 655

Gly Met Ala Thr Gly Ile Phe Ile Gly His Tyr Ala Glu Asn Val Ser  
660 665 670

Met Trp Ile Phe Ala Leu Thr Ala Gly Leu Phe Met Tyr Val Ala Leu  
675 680 685

Val Asp Met Val Pro Glu Met Leu His Asn Asp Ala Ser Asp His Gly

690 695 700

Cys Ser Arg Trp Gly Tyr Phe Phe Leu Gln Asn Ala Gly Met Leu Leu  
705 710 715 720

Gly Phe Gly Ile Met Leu Leu Ile Ser Ile Phe Glu His Lys Ile Val  
725 730 735

Phe Arg Ile Asn Phe  
740