



등록특허 10-2507685



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년03월08일
(11) 등록번호 10-2507685
(24) 등록일자 2023년03월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/574 (2006.01) *C07K 16/26* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
G01N 33/57449 (2013.01)
C07K 16/26 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7022682(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년01월02일
심사청구일자 2022년07월28일
- (85) 번역문제출일자 2022년07월01일
- (65) 공개번호 10-2022-0100100
- (43) 공개일자 2022년07월14일
- (62) 원출원 특허 10-2018-7020588
원출원일자(국제) 2017년01월02일
심사청구일자 2021년12월22일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2017/050033
- (87) 국제공개번호 WO 2017/114972
국제공개일자 2017년07월06일
- (30) 우선권주장
15307192.3 2015년12월31일
유럽특허청(EPO)(EP)
16305138.6 2016년02월05일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2011083091 A2*
Wouter W Van Solinge et al, Cancer Research (1993), vol 53, pp 1823-1828.

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

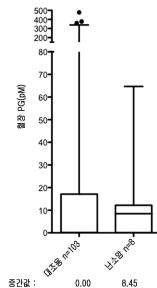
전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 이수진

(54) 발명의 명칭 난소암의 검출 및 치료를 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명은 난소암의 시험관내 진단 방법, 및 난소암의 예방 또는 치료를 위한 조성물 및 방법에 관한 것이며, 여기에서 상기 조성물은 프로가스트린에 결합하는 항체를 포함하고 상기 방법은 프로가스트린에 결합하는 항체의 사용을 포함한다.

대 표 도 - 도 1

(52) CPC특허분류

G01N 2333/595 (2013.01)

G01N 2800/52 (2021.08)

명세서

청구범위

청구항 1

피실험자(subject)에서 난소암을 시험관내 진단하기 위한 방법으로서,

- a) 상기 피실험자 유래의 생물학적 샘플과 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자를 접촉시키는 단계, 및
 - b) 상기 샘플 중의 프로가스트린에 대한 상기 프로가스트린-결합 분자의 결합을 검출하는 단계로서, 상기 결합은 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 나타내는 단계
- 를 포함하고,

상기 생물학적 샘플은 혈액, 혈청 및 혈장 중에서 선택되는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

단계 b)는 프로가스트린의 농도를 결정하는 단계를 추가로 포함하고, 상기 생물학적 샘플 중 적어도 5 pM, 적어도 10 pM, 적어도 20 pM, 적어도 30 pM, 또는 적어도 40 pM의 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 나타내는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

- c) 참조 샘플 중의 프로가스트린의 참조 농도를 측정하는 단계, 및
 - d) 상기 생물학적 샘플 중의 프로가스트린의 농도와 상기 프로가스트린의 참조 농도를 비교하는 단계로서, 단계 c)의 프로가스트린의 참조 농도보다 높은 단계 b)에서의 프로가스트린 농도는 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 나타내는 단계
- 를 추가로 포함하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 참조 샘플은 건강한 피실험자 유래의 생물학적 샘플인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 난소암의 제2 진단 테스트를 더 포함하는 방법.

청구항 6

환자에서 난소암 치료의 효능을 모니터링하는 방법으로서,

- a) 치료 전에 상기 환자로부터 수득된 제1 생물학적 샘플에서 프로가스트린의 농도를 측정하는 단계로서,
 - 상기 제1 생물학적 샘플과 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자를 접촉시키는 단계, 및
 - 상기 제1 샘플 중의 프로가스트린에 대한 상기 프로가스트린-결합 분자의 결합을 측정하는 단계를 포함하는 단계; 및
- b) 치료 후에 상기 환자로부터 수득된 제2 생물학적 샘플에서 프로가스트린의 농도를 측정하는 단계로서,
 - 상기 제2 생물학적 샘플과 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자를 접촉시키는 단계, 및
 - 상기 제2 샘플 중의 프로가스트린에 대한 상기 프로가스트린-결합 분자의 결합을 측정하는 단계

를 포함하는 단계; 및

c) 단계 a)의 프로가스트린의 농도와 단계 b)의 프로가스트린의 농도를 비교하는 단계로서, 제2 샘플 중의 프로가스트린의 농도보다 더 높은 제1 샘플 중의 프로가스트린의 농도는 치료가 효과적임을 나타내는 단계

를 포함하고,

상기 생물학적 샘플은 혈액, 혈청 및 혈장 중에서 선택되는 방법.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 프로가스트린-결합 분자는 항체, 단클론 항체, 또는 그의 항원-결합 단편인 방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 N-말단 항-프로가스트린 단클론 항체 및 C-말단 항-프로가스트린 단클론 항체 중에서 선택되는 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호: 2 또는 서열번호: 3에 포함된 에피토프에 결합하는 방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 프로가스트린에 결합하는 항체는

- 각각 서열번호 4, 5 및 6의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 7, 8 및 9의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

- 각각 서열번호 10, 11 및 12의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 13, 14 및 15의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

- 각각 서열번호 16, 17 및 18의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 19, 20 및 21의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

- 각각 서열번호 22, 23 및 24의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 25, 26 및 27의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

- 각각 서열번호 28, 29 및 30의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 31, 32 및 33의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체, 및

- 각각 서열번호 34, 35 및 36의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 37, 38 및 39의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 적어도 2개, 또는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체

로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 단클론 항체인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 프로가스트린에 대한 상기 프로가스트린-결합 분자의 결합은 형광 활성화 세포 분류(FACS), 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA), 방사면역측정법(RIA), 웨스턴 블롯 또는 면역조직화

학(IHC)에 의해 검출되거나 측정되는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 프로가스트린에 대한 상기 프로가스트린-결합 분자의 결합은 효소-결합 면역흡착검정(ELISA) 또는 방사면역측정법(RIA)에 의해 검출되거나 측정되는 방법.

청구항 13

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 프로가스트린의 제1 부분에 결합하는 제1 분자 및 프로가스트린의 제2 부분에 결합하는 제2 분자와 접촉되는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 제1 분자는 프로가스트린의 C-말단 부분에 결합하고, 상기 제2 분자는 프로가스트린의 N-말단 부분에 결합하는 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 제1 분자는 항-프로가스트린 단클론 항체이고, 상기 제2 분자는 항-프로가스트린 다클론 항체인 방법.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 암의 시험관내 진단, 예방 및 치료에 관한 것이며, 보다 특히 본 발명은 난소암의 시험관내 진단 방법, 및 난소암의 예방 또는 치료를 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 조성물은 프로가스트린-결합 분자, 특히 항-hPG 항체를 포함하는 반면, 본 발명에 따른 방법은 프로가스트린-결합 분자, 및 특히 항-hPG 항체의 사용을 포함한다.

배경 기술

[0002] 난소암은 인후와 위 사이의 도관에서 난소 세포로부터 발생하며, 여덟 번째로 흔한 암으로서, 많은 나라들에서 광범위하게 다양한 비율로, 여성보다는 남성이 더 많이 걸리는 것으로 기재되었다.

[0003] 2가지 가장 통상적인 유형의 난소암은 난소 편평세포 암종(ovarian squamous-cell carcinoma) 및 난소 선암종(ovarian adenocarcinoma)이다. 다수의 보다 드문 하위유형들도 또한 공지되어 있다. 편평세포 암종은 식도의 상피세포로부터 발생하는 반면 선암종은 식도의 하부 부분에 존재하는 선세포로부터 발생한다.

[0004] 임상적 진단은 생검을 근거로 하는데, 이는 대개 컴퓨터 단층 촬영 스캔 또는 초음파하에서 수행된다. 상기 병의 불량한 결과는 특히 늦은 진단, 특히 조기 징후 및 증상의 부재에 기인한다. 지금까지, 난소암의 광범위한 임상 실습으로 번역된 분자 생물마커는 없다(Kaz et al, Cancer Letters, 2014). 치료는 암의 발달에 따라 다르며, 대개 작은-국소화된 종양의 경우 수술, 또는 가능하게는 방사선 요법과 병용된 화학요법을 포함한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 따라서, 난소암의 예방 또는 치료를 위한 신규의 조성물 및 방법이 여전히 필요한 바와 같이, 난소암의 신속하고, 신뢰성 있으며, 비용-효과적인 진단을 허용하는 방법도 여전히 필요하다.
- [0006] 이것이 본 발명의 목적이다.
- ### 과제의 해결 수단
- [0007] 본 발명에 이르러 난소암의 시험관내 진단 방법을 제공하며, 여기에서 상기 방법은 피실험자(subject)로부터의 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 검출을 포함한다. 바람직하게는 상기 샘플 중의 프로가스트린의 양을 측정하여, 프로가스트린을 정량분석한다. 본 발명은 또한 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물을 제공하며, 여기에서 상기 조성물은 프로가스트린에 결합하는 항체를 포함하고, 상기 난소암의 예방 또는 치료를 위한 방법은 프로가스트린에 결합하는 항체를 포함하는 조성물을 단독으로 또는 난소암에 대한 임의의 다른 공지된 예방 또는 치료 방법과 함께 사용함을 포함한다.
- [0008] 인간 프리-프로가스트린, 101 아미노산 웨티드(아미노산 서열 참조: AAB19304.1)는 상기 가스트린 유전자의 1차 번역산물이다. 프로가스트린은 프리프로가스트린으로부터 처음 21 아미노산(신호 웨티드)의 절단에 의해 형성된다. 상기 프로가스트린의 80 아미노산 쇄는 절단, 및 효소의 다수의 생물학적으로 활성인 가스트린 호르몬 형태들: 프로가스트린의 아미노산 38-71을 포함하는 가스트린 34(G34) 및 글리신-연장된 가스트린 34(G34-Gly), 프로가스트린의 아미노산 55-71을 포함하는 가스트린 17(G17) 및 글리신-연장된 가스트린 17(G17-Gly)로의 변형에 의해 추가로 가공된다.
- [0009] 항-인간 프로가스트린(항-hPG) 단클론 항체 및 진단 또는 치료를 위한 그의 용도가 하기의 문헌들에 기재되었다: 결장직장암의 경우 WO 2011/083 088, 유방암의 경우 WO 2011/083 090, 췌장암의 경우 WO 2011/083 091, 결장직장 및 위장암의 경우 WO 2011/116 954, 및 간 병리학의 경우 WO 2012/013 609 및 WO 2011/083089.
- [0010] 본 발명은 본 명세서에 제공된 상세한 설명 및 첨부된 도면(상기는 단지 예시로서 제공되며 본 발명의 의도된 범위를 제한하지 않는다)으로부터 보다 충분히 이해될 것이다.
- [0011] 첫 번째 태양에서, 본 발명은 난소암의 존재 위험성에 대한 시험관내 평가 방법에 관한 것이며, 여기에서 상기 방법은 피실험자로부터의 생물학적 샘플에서 프로가스트린을 검출하는 단계를 포함한다. 상기 샘플 중 프로제스틴의 존재는 난소암이 존재할 위험이 있음을 가리킨다. 본 발명자들은 최초로 프로가스트린 수준이 건강한 피실험자에서보다 난소암 환자에서 더 상승됨을 보였다. 대조적으로, 선행의 연구들은 난소 가스트린 발현의 생리학적 유의의성을 평가하는 것은 어렵다는 결론을 내렸다(von Solinge et al., Cancer Res., 1993, 53(8): 1823-1828).
- [0012] 따라서, 첫 번째 실시태양에서, 본 발명은 피실험자에서 난소암의 존재 위험성을 평가하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이며, 상기 방법은
- a) 상기 피실험자로부터의 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키고,
 - b) 상기 프로가스트린-결합 분자의 상기 샘플 중 프로가스트린에의 결합을 검출하는
- [0013] 단계들을 포함하며, 여기에서 상기 결합은 난소암의 존재 위험성을 가리킨다.
- [0014] 상기 프로가스트린-결합 분자의 결합을 숙련가에게 이용 가능한 다양한 분석들에 의해 검출할 수 있다. 상기 분석을 수행하기 위한 임의의 적합한 수단들이 본 발명에 포함되지만, 특히 FACS, ELISA, RIA, 웨스턴 븍릿 및 IHC를 언급할 수 있다.
- [0015] 바람직한 실시태양에서, 피실험자에서 난소암의 존재 위험성을 시험관내에서 평가하기 위한 본 발명에 따른 방법은
- a) 상기 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키고,
 - b) 상기 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도를 측정하는
- [0016] 단계들을 포함하며, 여기에서 상기 생물학적 샘플 중 적어도 5 pm의 프로가스트린의 농도는 난소암의 존재 위험성을 가리킨다.
- [0017] 일단 상기 샘플 중에 존재하는 프로가스트린의 농도가 측정되면, 그 결과를 대조용 샘플(들)(상기 시험 샘플과 유사한 방식으로 수득되지만 난소암을 앓고 있지 않은 것으로 알려진 개인(들)으로부터 수득된다)의 결과와 비

교할 수 있다. 상기 프로가스트린의 농도가 상기 시험 샘플에서 현저하게 더 상승하는 경우, 상기 샘플이 유래된 피실험자는 난소암을 가질 가능성이 증가된다는 결론을 내릴 수 있다.

[0022] 따라서, 보다 바람직한 실시태양에서, 본 발명의 방법은

c) 참조 샘플 중의 프로가스트린의 참조 농도를 측정하고,

d) 상기 생물학적 샘플 중의 프로가스트린의 농도를 상기 프로가스트린의 참조 농도와 비교하고,

e) 상기 단계 d)의 비교로부터, 난소암의 존재 위험성을 평가하는

[0026] 추가의 단계들을 포함한다.

[0027] 또 다른 태양에 따라, 본 발명은 피실험자에서 난소암을 진단하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이며, 상기 방법은

a) 상기 피실험자로부터의 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키고,

b) 상기 프로가스트린-결합 분자의 상기 샘플 중 프로가스트린에의 결합을 검출하는

단계들을 포함하며, 여기에서 상기 결합은 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 가리킨다.

[0031] 바람직한 실시태양에서, 본 발명은 피실험자에서 난소암의 시험관내 진단 방법에 관한 것이며,

a) 상기 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키고,

b) 상기 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 수준 또는 농도를 측정하는

[0034] 단계들을 포함하며, 여기에서 상기 생물학적 샘플 중 적어도 5 pM의 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 가리킨다.

[0035] 본 발명에 따른 방법의 보다 특정한 실시태양에서, 상기 생물학적 샘플 중 적어도 5 pM, 10 pM, 적어도 20 pM, 적어도 30 pM의 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 가리킨다.

[0036] 보다 바람직한 실시태양에서, 본 발명의 방법은

c) 참조 샘플 중의 프로가스트린의 참조 농도를 측정하고,

d) 상기 생물학적 샘플 중의 프로가스트린의 농도를 상기 프로가스트린의 참조 수준 또는 농도와 비교하고,

e) 상기 단계 d)의 비교로부터, 난소암의 존재를 진단하는

[0040] 추가의 단계들을 포함한다.

[0041] 또 다른 태양에 따라, 본 발명은 피실험자에서 전이된 난소암의 시험관내 진단 방법에 관한 것이며, 상기 방법은

a) 상기 피실험자로부터의 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키고,

b) 상기 프로가스트린-결합 분자의 상기 샘플 중 프로가스트린에의 결합을 검출하는

[0044] 단계들을 포함하며, 여기에서 상기 결합은 상기 피실험자에서 전이된 난소암의 존재를 가리킨다.

[0045] 바람직한 실시태양에서, 본 발명은 피실험자의 생물학적 샘플로부터, 상기 피실험자에서 전이된 난소암을 시험관내에서 진단하는 방법에 관한 것이며,

a) 상기 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키고,

b) 상기 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 수준 또는 농도를 생물학적 분석에 의해 측정하는

[0048] 단계들을 포함하며, 여기에서 상기 생물학적 샘플 중 적어도 5 pM 초과의 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 전이된 난소암의 존재를 가리킨다.

[0049] 본 발명에 따른 방법의 보다 특정한 실시태양에서, 상기 생물학적 샘플 중 적어도 5 pM, 10 pM, 적어도 20 pM, 적어도 30 pM, 적어도 40 pM 또는 적어도 50 pM의 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 전이된 난소암의 존재를 가리킨다.

- [0050] 보다 바람직한 실시태양에서, 본 발명의 방법은
- [0051] c) 참조 샘플 중의 프로가스트린의 참조 농도를 측정하고,
- [0052] d) 상기 생물학적 샘플 중의 프로가스트린의 농도를 상기 프로가스트린의 참조 수준 또는 농도와 비교하고,
- [0053] e) 상기 단계 d)의 비교로부터, 전이된 난소암의 존재를 진단하는
- [0054] 추가의 단계들을 포함한다.
- [0055] 특정한 실시태양에서, 본 발명은 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도를 측정하고 상기 획득된 값을 참조 샘플 중 프로가스트린의 농도와 비교함을 포함하는, 피실험자에서 난소암의 시험관내 진단 방법에 관한 것이다.
- [0056] 보다 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 난소암의 진단 방법에서, 상기 피실험자의 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키며, 여기에서 상기 프로가스트린-결합 분자는 항체 또는 그의 항원-결합 단편이다.
- [0057] "피실험자에서 난소암의 존재 위험성의 평가"란 표현은 참조 피실험자 또는 참조값과 비교시, 주어진 피실험자가 난소암을 앓을 상대적인 확률을 측정함을 나타낸다. 본 발명에 따른 방법은 상기 위험성의 평가에서 임상적 검사, 생검 및 난소암의 공지된 생물마커의 수준의 측정과 같은 다른 방법 또는 지표와 병용되는 도구를 나타낸다.
- [0058] 특정한 실시태양에 따라, 본 발명은 피실험자로부터의 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도의 측정을 포함하는 난소암의 시험관내 진단 방법에 관한 것이며, 여기에서 상기 피실험자는 난소암의 적어도 하나의 임상적 증상을 나타낸다. 난소암의 임상적 증상은 체중 손실, 통증 또는 연하 곤란, 기침, 소화불량 및 속쓰림을 포함한다.
- [0059] 또 다른 특정한 실시태양에 따라, 본 발명은 피실험자로부터의 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도의 측정을 포함하는 난소암의 시험관내 진단 방법에 관한 것이며, 여기에서 상기 피실험자는 암 및/또는 전이의 적어도 하나의 임상적 증상을 나타낸다.
- [0060] "시험관내 진단"이란 표현은 피실험자가 특정한 질환을 앓고 있는지를 측정함을 의미한다.
- [0061] 따라서, 본 발명에 따른 난소암의 시험관내 진단 방법은 진단 과정내의 도구로서 간주될 수 있다.
- [0062] 보다 특정한 실시태양에서, 본 발명은 상기 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도의 측정, 및 난소암의 공지된 생물마커의 측정을 포함하는, 피실험자에서 난소암의 시험관내 진단 방법에 관한 것이다.
- [0063] "프로가스트린"이란 용어는 포유동물 프로가스트린 웨티드, 및 특히 인간 프로가스트린을 나타낸다. 의심을 피하기 위해서, 어떠한 명세서도 없이, "인간 프로가스트린"이란 표현은 서열번호 1의 서열의 인간 PG를 지칭한다. 인간 프로가스트린은 현저하게는 상기에 언급한 생물학적으로 활성인 가스트린 호르몬 형태 중에 존재하지 않는 N-말단 및 C-말단 도메인을 포함한다. 바람직하게, 상기 N-말단 도메인의 서열을 서열번호 2에 의해 나타낸다. 또 다른 바람직한 실시태양에서, 상기 C-말단 도메인의 서열을 서열번호 3에 의해 나타낸다.
- [0064] 본 발명에 따른 방법에서 프로가스트린의 농도의 측정을 생화학 분야의 숙련가에 의해 공지된 임의의 방법에 의해 수행한다.
- [0065] 바람직하게, 샘플 중 프로가스트린 수준의 측정은 상기 샘플을 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키고 상기 프로가스트린-결합 분자의 프로가스트린에의 결합을 측정함을 포함한다.
- [0066] 발현 수준을 단백질 수준에서 측정하는 경우, 이를 현저하게는 특이적인 프로가스트린-결합 분자, 예를 들어 항체를 사용하여, 특히 주지된 기술, 예를 들어 비오틴화를 사용하는 세포막 염색 또는 다른 동등한 기법을 사용한 다음 특이적인 항체에 의한 면역침전, 웨스턴 블렛, ELISA 또는 ELISPOT, 효소-결합된 면역흡수 분석 (ELISA), 방사성면역분석(RIA), 면역조직화학(IHC), 면역형광(IF), 항체 미세배열, 또는 면역조직화학에 결합된 조직 미세배열을 사용하여 수행할 수 있다. 다른 적합한 기법은 FRET 또는 BRET, 단일 또는 다중 여기 파장을 사용하고 적응된 광학 방법들 중 어느 하나, 예를 들어 전기화학적 방법(전압전류법 및 전류법 기법)을 적용하는 단세포 현미경 또는 조직화학 방법, 원자력 현미경, 및 무선주파수법, 예를 들어 다극성 공명 분광학, 공초점 및 비-공초점, 형광, 발광, 화학발광의 검출, 흡광도, 반사율, 투과율, 및 복굴절 또는 굴절률(예를 들어 표면 플라스몬 공명, 타원편광법, 공명 거울법, 격자 결합기 도파관법 또는 간섭계법), 세포 ELISA, 유식 세포측정, 방사성동위원소, 자기 공명 영상화, 폴리아크릴아미드 젤 전기영동(SDS-PAGE)에 의한 분석; HPLC-질량 분광

학; 액체 크로마토그래피/질량 분광학/질량 분광학(LC-MS/MS))을 포함한다.

- [0067] 상기 방법을 특히 하기 중에서 선택할 수 있다: 면역-검출을 기본으로 하는 방법, 웨스턴 블러트을 기본으로 하는 방법, 질량 분광분석법을 기본으로 하는 방법, 크로마토그래피를 기본으로 하는 방법, 및 유식 세포측정을 기본으로 하는 방법. 상기 분석들을 수행하기 위한 임의의 적합한 수단들이 본 발명내에 포함되지만, FACS, ELISA, RIA, 웨스턴-블럿 및 IHC와 같은 방법들이 본 발명의 방법을 수행하는데 특히 유용하다.
- [0068] 보다 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 난소암의 시험관내 진단 방법은 피실험자로부터의 생물학적 샘플을, 바람직하게는 RIA 및 ELISA 중에서 선택된 기법들에 기반한 면역효소 분석을 사용하여 프로가스트린 결합 분자와 접촉시킴을 포함한다.
- [0069] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "생물학적 샘플"은 예를 들어 난소암 단백질, 폴리뉴클레오티드 또는 전사물의 핵산 또는 폴리펩티드를 함유하는 생물학적 조직 또는 유체의 샘플이다. 상기와 같은 샘플은 프로가스트린의 발현 수준을 측정할 수 있어야 한다. 프로가스트린은 분비 단백질인 것으로 공지되어 있다. 따라서 상기 프로가스트린 단백질 수준의 측정에 바람직한 생물학적 샘플은 생물학적 유체를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "생물학적 유체"는 생물학적 기원의 물질을 포함하는 임의의 유체를 의미한다. 본 발명에 사용하기에 바람직한 생물학적 유체는 동물, 예를 들어 포유동물, 바람직하게는 인간 피실험자의 체액을 포함한다. 상기 체액은 임의의 체액, 예를 들어 비체한적으로 혈액, 혈장, 혈청, 림프, 뇌척수액(CSF), 타액, 땀 및 뇨일 수 있다. 바람직하게, 상기 바람직한 액체 생물학적 샘플은 혈액 샘플, 혈장 샘플, 또는 혈청 샘플과 같은 샘플을 포함한다. 보다 바람직하게, 상기 생물학적 샘플은 혈액 샘플이다. 실제로, 상기와 같은 혈액 샘플을 환자로부터 완전하게 무해한 혈액 수집에 의해 수득할 수 있으며, 따라서 이는 상기 피실험자가 종양을 나타낼 위험성의 비침습적인 평가를 허용한다.
- [0070] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "생물학적 샘플"은 암이 고형암인 경우, 시험하고자 하는 환자의 고형암 샘플을 또한 포함한다. 상기와 같은 고형암 샘플은 숙련가가 본 발명의 생물마커 수준의 임의의 유형의 측정을 수행할 수 있게 한다. 일부의 경우에, 본 발명에 따른 방법은 환자로부터 고형암 샘플을 채취하는 예비 단계를 추가로 포함할 수 있다. "고형암 샘플"은 종양 조직 샘플을 지칭한다. 암성 환자에서 조차, 상기 종양 부위가 있는 조직은 비종양인 건강한 조직을 여전히 포함한다. 따라서 상기 "암 샘플"은 상기 환자로부터 채취한 종양 조직으로 한정되어야 한다. 상기 "암 샘플"은 생검 샘플 또는 수술적 절제술로부터 채취한 샘플일 수 있다.
- [0071] 생물학적 샘플을 전형적으로는 진핵생물 유기체, 가장 바람직하게는 포유동물, 또는 조류, 과충류, 또는 어류로부터 수득한다. 실제로, 본 명세서에 기재된 방법이 수행될 수 있는 "피실험자"는 인간, 개, 고양이, 소, 염소, 돼지, 양 및 원숭이를 포함한 포유동물; 또는 조류; 과충류; 또는 어류 중 어느 하나일 수 있다. 바람직하게, 피실험자는 인간이고; 인간 피실험자는 "환자"로서 공지될 수 있다.
- [0072] 본 명세서에서 "생물학적 샘플을 수득함"은 본 발명에 기재된 방법에 사용하기 위해 생물학적 샘플을 수득함을 의미한다. 거의 대개, 이는 동물로부터 세포의 샘플을 제거함으로써 수행될 것이나, 앞서 단리된 세포(예를 들어 또 다른 사람에 의해, 또 다른 시간에, 및/또는 또 다른 목적으로 단리된)를 사용하거나, 또는 생체내에서 본 발명의 방법을 수행함으로써 또한 수행할 수 있다. 치료 또는 결과 이력을 갖는 기록보관 조직이 특히 유용할 것이다.
- [0073] 이러한 샘플을 수득할 수 있으며 필요한 경우 당해 분야의 숙련가에게 공지된 방법에 따라 제조할 수 있다. 특히, 상기 샘플을 단식 피실험자로부터 채취해야함이 당해 분야에 주지되어 있다.
- [0074] 상기 프로가스트린 농도의 측정은 기지 부피의 샘플 중 프로가스트린의 양의 측정에 관한 것이다. 상기 프로가스트린의 농도를 참조 샘플에 대해서, 예를 들어 비 또는 백분율로서 나타낼 수 있다. 상기 농도를 또한 상기 농도의 측정에 사용된 방법에 따라, 신호의 강도 또는 국소화로서 나타낼 수 있다. 바람직하게, 샘플 중 하나의 화합물의 농도를 상기 샘플 중 관련 화합물들의 전체 농도의 표준화 후에 나타낸다, 예를 들어 하나의 단백질의 수준 또는 농도를 상기 샘플 중 단백질들의 전체 농도의 표준화 후에 나타낸다.
- [0075] 바람직하게, 상기 피실험자가 난소암을 앓을 위험성을, 상기 생물학적 샘플 중에서 측정된 프로가스트린의 수준을 참조 수준과 비교함으로써 측정한다.
- [0076] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "참조 수준"이란 용어는 참조 샘플 중의 고려 중인 난소암 마커, 즉 프로가스트린의 발현 수준을 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "참조 샘플"은, 상기 질병이 없는 것으로 공지되거나 또는 한편으로 일반적인 집단으로부터의 피실험자, 바람직하게는 둘 이상의 피실험자로부터 수득된 샘플을 의미한다. 프로가스트린의 적합한 참조 발현 수준을 다수의 적합한 피실험자 중 상기 마커의 발현 수준을

측정함으로써 측정할 수 있으며, 상기와 같은 참조 수준을 특정한 피실험자 집단에 대해 조절할 수 있다. 상기 참조값 또는 참조 수준은 절대값; 상대값; 상한 또는 하한을 갖는 값; 값의 범위; 평균값; 중간값, 평균값, 또는 특정한 대조용 또는 기준선값과 비교된 값일 수 있다. 참조값은 개별적인 샘플값, 예를 들어 시험되는 피실험자로부터의 샘플로부터 획득된, 그러나 보다 이른 시점에서 획득된 값에 근거할 수도 있다. 상기 참조값은 다수의 샘플, 예를 들어 생활연령 합치된 그룹의 피실험자 집단으로부터의 샘플, 또는 상기 시험하고자 하는 샘플을 포함하거나 제외한 샘플의 풀에 근거할 수도 있다.

[0077] 유리하게, "참조 수준"은 암과 관련하여 공지된 특정 상태를 갖는 피실험자로부터의 생물학적 샘플로부터 획득된 사전측정된 프로가스트린 수준이다. 특정한 실시태양에서, 상기 단계(b)에서 시험 샘플과의 비교를 위해 사용된 참조 수준은 건강한 피실험자로부터의 생물학적 샘플로부터, 또는 암을 앓고 있는 피실험자로부터의 생물학적 샘플로부터 획득된 것일 수 있으며; 상기 참조 발현 프로파일은 또한 건강한 피실험자의 생물학적 샘플의 풀로부터 또는 암이 있는 피실험자로부터의 샘플의 풀로부터 획득될 수 있는 것으로 생각된다.

[0078] 본 발명의 방법의 특정한 실시태양에서, 상기 참조 샘플을 어떠한 암도 없고, 바람직하게는 어떠한 병리도 없는 피실험자로부터 수집한다. 환자로부터 수집된 생물학적 샘플의 성질에 따라, 상기 참조 샘플은 상기 생물학적 샘플의 동일한 성질의 생물학적 샘플일 것으로 이해해야 한다.

[0079] 상기 프로가스트린의 수준을 본 발명의 방법에서, 프로가스트린-결합 분자에 의해, 바람직하게는 프로가스트린을 인식하는 항체에 의해 결합된 프로가스트린의 양을 측정함으로써 측정한다.

[0080] 본 명세서에서 "프로가스트린-결합 분자"는 프로가스트린에 결합하지만, 가스트린-17(G17), 가스트린-34(G34), 글리신-연장된 가스트린-17(G17-Gly), 또는 글리신-연장된 가스트린-34(G34-Gly)에 결합하지 않는 임의의 분자를 지칭한다. 본 발명의 프로가스트린-결합 분자는 임의의 프로가스트린-결합 분자, 예를 들어 항체 분자 또는 수용체 분자일 수 있다. 바람직하게, 상기 프로가스트린-결합 분자는 항-프로가스트린 항체 또는 그의 항원-결합 단편이다.

[0081] "결합", "결합하다" 등은 상기 항체 또는 그의 항원 결합 단편이, 생리학적 조건하에서 비교적 안정한 항원과 복합체를 형성함을 의미한다. 2개의 분자가 결합하는지의 여부를 측정하기 위한 방법은 당해 분야에 주지되어 있으며, 예를 들어 평형 투석, 표면 플라스몬 공명 등을 포함한다. 특정한 실시태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 프로가스트린에, BSA 또는 카제인과 같은 비특이적인 분자에의 결합 친화성보다 적어도 2배 더 큰 친화성으로 결합한다. 보다 특정한 실시태양에서, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 오직 프로가스트린에만 결합한다.

[0082] 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 난소암의 진단 방법에서, 상기 피실험자로부터의 생물학적 샘플을 적어도 하나의 프로가스트린-결합 분자와 접촉시키며, 여기에서 상기 프로가스트린에 대한 상기 분자의 친화성은 상술한 바와 같은 방법에 의해 측정시, 적어도 100 nM, 적어도 90 nM, 적어도 80 nM, 적어도 70 nM, 적어도 60 nM, 적어도 50 nM, 적어도 40 nM, 적어도 30 nM, 적어도 20 nM, 적어도 10 nM, 적어도 5 nM, 적어도 1 nM, 적어도 100 pM, 적어도 10 pM, 또는 적어도 1 pM이다.

[0083] 특정한 실시태양에서, 본 발명은 피실험자로부터의 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도의 검출을 포함하는 난소암의 진단 방법에 관한 것이며, 여기에서 상기 생물학적 샘플을 항-hPG 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시킨다.

[0084] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "항체"란 용어는 다클론 및 단클론 항체를 포함함을 의미한다. 항체(또는 "면역글로불린")는 디설파이드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄를 포함하는 당단백질로 이루어진다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(또는 도메인)(본 명세서에서 HCVR 또는 VH라 약기한다) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 상기 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3를 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본 명세서에서 LCVR 또는 VL이라 약기한다) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 상기 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인, CL을 포함한다. 상기 VH 및 VL 영역을 "상보성 결정 영역"(CDR) 또는 "고가변 영역"이라 칭하는 고가변성의 영역들(이들은 주로 항원의 에피토프 결합을 담당하며 프레임워크 영역(FR)이라 칭하는 보다 보존된 영역들과 산재되어 있다)로 추가로 세분할 수 있다. 항체의 경쇄 및 중쇄내 CDR을 식별하고 이들의 서열을 측정하는 방법은 숙련가에게 주지되어 있다. 의심을 피하기 위해서, 본문에서 반대되는 임의의 표시의 부재하에, CDR이란 표현은 IMGT에 의해 한정되는 바와 같은 항체의 중쇄 및 경쇄의 고가변 영역을 의미하며, 여기에서 상기 IMGT 특유의 넘버링은 상기 프레임워크 영역 및 상보성 결정 영역, CDR1-IMGT: 27 내지 38, CDR2의 표준화된 한계결정을 제공한다.

- [0085] 상기 IMGT 특유의 넘버링은 상기 가변 영역을 항원 수용체, 쇄 유형 또는 종 중 어떤 것인지를 비교하기 위해 한정되었다[Lefranc M.-P., Immunology Today 18, 509 (1997) / Lefranc M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999) / Lefranc, M.-P., Pommie, C., Ruiz, M., Giudicelli, V., Foulquier, E., Truong, L., Thouvenin-Contet, V. and Lefranc, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)]. 상기 IMGT 특유의 넘버링에서, 상기 보존된 아미노산은 항상 같은 위치를 갖는다, 예를 들어 시스테인 23(첫 번째-CYS), 트립토판 41(보존된-TRP), 소수성 아미노산 89, 시스테인 104(두 번째-CYS), 페닐알라닌 또는 트립토판 118(J-PHE 또는 J-TRP). 상기 IMGT 특유의 넘버링은 상기 프레임워크 영역(FR1-IMGT: 1 내지 26번 위치, FR2-IMGT: 39 내지 55, FR3-IMGT: 66 내지 104 및 FR4-IMGT: 118 내지 128) 및 상보성 결정 영역: CDR1-IMGT: 27 내지 38, CDR2-IMGT: 56 내지 65 및 CDR3-IMGT: 105 내지 117의 표준화된 한계결정을 제공한다. 틈은 빈 위치를 나타내기 때문에, CDR-IMGT 길이(괄호 사이에 나타내며 점에 의해 분리된다, 예를 들어 [8.8.13])는 중요한 정보가 된다. 상기 IMGT 특유의 넘버링은 IMGT 구슬 목걸이(IMGT Colliers de Perles)[Ruiz, M. and Lefranc, M.-P., Immunogenetics, 53, 857-883 (2002) / Kaas, Q. and Lefranc, M.-P., Current Bioinformatics, 2, 21-30 (2007)]로서 표기된 2D 그래픽 표시에, 및 IMGT/3D 구조-DB(IMGT/3Dstructure-DB)[Kaas, Q., Ruiz, M. and Lefranc, M.-P., T cell receptor and MHC structural data. Nuc1. Acids. Res., 32, D208-D210 (2004)]에서 3D 구조에 사용된다.
- [0086] 각각의 VH 및 VL은 아미노-말단에서부터 카복시-말단까지 하기의 순서로 배열된, 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 상기 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합도메인을 함유한다. 상기 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예를 들어 효과기 세포) 및 전형적인 보체계의 제1 성분(C1q)을 포함한 숙주 조직 또는 인자에의 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 상이한 아이소타입들(즉 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM)을 가질 수 있다.
- [0087] 보다 특정한 실시태양에서, 상기 프로가스트린-결합 항체, 또는 그의 항원-결합 단편은 다클론 항체, 단클론 항체, 키메릭 항체, 단쇄 항체, 카멜화된 항체, IgA1 항체, IgA2 항체, IgD 항체, IgE 항체, IgG1 항체, IgG2 항체, IgG3 항체, IgG4 항체 및 IgM 항체로 이루어지는 그룹 중에서 선택된다.
- [0088] "다클론 항체"는 하나 이상의 다른, 동일하지 않은 항체들 중에서 또는 상기 항체들의 존재하에서 생성된 항체이다. 일반적으로 다클론 항체는 동일하지 않은 항체를 생성하는 다수의 다른 B-림프구의 존재하에서 B-림프구로부터 생성된다. 대개, 다클론 항체는 면역된 동물로부터 직접 수득된다.
- [0089] "단클론 항체"란 용어는 거의 동종의 항체 집단으로부터 발생하는 항체를 나타내며, 여기에서 집단은 최소의 비율로 발견될 수 있는 소수의 가능한 천연 돌연변이를 제외하고, 동일한 항체들을 포함한다. 단클론 항체는 단세포 클론, 예를 들어 하이브리도마의 성장으로부터 발생하며, 하나의 부류 및 하위부류의 중쇄, 및 하나의 유형의 경쇄를 특징으로 한다.
- [0090] 항체의 "항원-결합 단편"이란 표현은, 상기 항체의 표적(또한 일반적으로 항원이라 칭한다), 일반적으로는 같은 에피토프에 결합하는 능력을 유지하며 상기 항체의 아미노산 서열의 적어도 5개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 10개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 15개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 20개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 25개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 40개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 50개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 60개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 70개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 80개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 90개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 100개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 125개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 150개의 연속적인 아미노산 잔기, 적어도 175개의 연속적인 아미노산 잔기, 또는 적어도 200개의 연속적인 아미노산 잔기의 아미노산 서열을 포함하는 임의의 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 가리키고자 한다.
- [0091] 특정한 실시태양에서, 상기 항원-결합 단편은 상기 단편이 유래되는 항체의 적어도 하나의 CDR을 포함한다. 더욱 바람직한 실시태양에서, 상기 항원-결합 단편은 상기 단편이 유래되는 항체의 2, 3, 4 또는 5개 CDR, 보다 바람직하게는 6개 CDR을 포함한다.
- [0092] 상기 "항원-결합 단편"은 비제한적으로 Fv, scFv(단쇄의 경우 sc), Fab, F(ab')₂, Fab', scFv-Fc 단편 또는 다이아바디, 또는 무질서 펩티드, 예를 들어 XTEN(연장된 재조합 폴리펩티드) 또는 PAS 동기와의 융합 단백질, 또는 반감기가 화학적 변형, 예를 들어 폴리(알킬렌) 글리콜, 예를 들어 폴리(에틸렌) 글리콜의 부가("PEG화")(Fv-PEG, scFv-PEG, Fab-PEG, F(ab')₂-PEG 또는 Fab'-PEG라 칭하는 peg화된 단편)(("PEG", 폴리(에틸렌) 글리콜)에 의해 또는 리포솜에의 통합에 의해 증가되는 임의의 단편으로 이루어지는 그룹 중에서 선택될 수 있으며, 상기 단편들은 본 발명에 따른 항체의 특징적인 CDR 중 적어도 하나를 갖는다. 바람직하게, 상기 "항원-결

"합 단편"은 상기 단편이 유래되는 항체의 가변 중쇄 또는 경쇄의 부분적인 서열로 구성되거나 또는 상기 서열을 포함할 것이며, 상기 부분적인 서열은 표적에 관하여, 상기 서열이 내려가는 항체와 동일한 결합 특이성 및 충분한 친화성, 바람직하게는 상기 서열이 내려가는 항체의 친화성의 적어도 1/100, 보다 바람직한 방식으로 적어도 1/10의 친화성을 유지하기에 충분하다.

[0093] 또 다른 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 난소암의 진단 방법에서, 피실험자로부터의 생물학적 샘플을 프로가스트린에 결합하는 항체와 접촉시키며, 여기에서 상기 항체는 당해 분야의 숙련가에 의해 공지된 면역화 방법에 의해 수득되었고, 아미노산 서열이 프로가스트린의 아미노산 서열의 전체 또는 일부를 포함하는 웨티드를 면역원으로서 사용한다. 보다 특히, 상기 면역원은 하기 중에서 선택된 웨티드를 포함한다:

[0094] · 아미노산 서열이 서열번호 1의 완전길이 프로가스트린, 및 특히 완전길이 인간 프로가스트린의 아미노산 서열을 포함하거나 상기 서열로 이루어지는 웨티드,

[0095] · 아미노산 서열이 서열번호 1의 프로가스트린, 및 특히 완전길이 인간 프로가스트린의 아미노산 서열의 일부에 상응하는 웨티드,

[0096] · 아미노산 서열이 프로가스트린의 N-말단 부분의 일부 또는 전체 아미노산 서열에 상응하는 웨티드, 및 특히 아미노산 서열: SWKPRSQQPDAPLG(서열번호 2)를 포함하거나 상기 서열로 이루어지는 웨티드, 및

[0097] · 아미노산 서열이 프로가스트린의 C-말단 부분의 일부 또는 전체 아미노산 서열에 상응하는 웨티드, 및 특히 아미노산 서열: QGPWLEEEEAYGWMDFGRRSAEDEN(서열번호 3)을 포함하거나 상기 서열로 이루어지는 웨티드,

[0098] · 아미노산 서열이 프로가스트린의 C-말단 부분의 아미노산 서열의 일부에 상응하는 웨티드, 및 특히 프로가스트린의 아미노산 71-80에 상응하는 아미노산 서열 FGRRSAEDEN(서열번호 40)을 포함하는 웨티드.

[0099] 숙련가는 경우에 따라 상기와 같은 면역화를 사용하여 다클론 또는 단클론 항체를 생성시킬 수 있음을 알 것이다. 각각의 이들 유형의 항체를 수득하는 방법은 당해 분야에 주지되어 있다. 따라서 숙련가는 임의의 주어진 항원에 대한 다클론 및/또는 단클론 항체를 생성시키는 방법을 쉽게 선택하고 실행할 것이다.

[0100] 인간 프로가스트린의 아미노산 서열 1-14(N-말단 맨 끝)에 상응하는 아미노산 서열 "SWKPRSQQPDAPLG"을 포함하는 면역원을 사용함으로써 생성된 단클론 항체의 예는 비제한적으로 하기 표 1 내지 표 4에 기재된 바와 같은, mAb3, mAb4, mAb16, 및 mAb19 및 mAb20으로서 표시된 단클론 항체를 포함한다. 다른 단클론 항체들이 기재되었지만, 이들 항체가 실제로 프로가스트린에 결합하는지의 여부는 명확하지 않다(WO 2006/032980). 에피토프 맵핑의 실험 결과는 mAb3, mAb4, mAb16, 및 mAb19 및 mAb20이 상기 hPG N-말단 아미노산 서열내의 에피토프에 특이적으로 결합함을 보인다. 서열번호 2에 의해 나타낸 프로가스트린의 N-말단내 에피토프를 특이적으로 인식하는 다클론 항체들이 당해 분야에 기재되었다(예를 들어 WO 2011/083088을 참조하시오).

표 1

하이브리도마 탁물	mAb	아미노산 서열		서열번호
6B5B11C10	mAb3	VH CDR 1	GYIFTSYW	서열번호 4
		VH CDR 2	FYPGNSDS	서열번호 5
		VH CDR 3	TRRDSPQY	서열번호 6
		VL CDR 1	QSIVHSNGNTY	서열번호 7
		VL CDR 2	KVS	서열번호 8
		VL CDR 3	FQGSHVPFT	서열번호 9

표 2

하이브리도마 탁물	mAb	아미노산 서열		서열번호
20D2C3G2	mAb4	VH CDR 1	GYTFSSW	서열번호 10
		VH CDR 2	FLPGSGST	서열번호 11
		VH CDR 3	ATDGNYDWFAY	서열번호 12
		VL CDR 1	QSLVHSSGVTY	서열번호 13
		VL CDR 2	KVS	서열번호 14
		VL CDR 3	SQSTHVPPT	서열번호 15

표 3

[0103]	하이브리도마 탁물	mAb	아미노산 서열		서열번호
1E9D9B6	mAb16	VH CDR 1	GYTFTSYY	서열번호 16	
		VH CDR 2	INPSNGGT	서열번호 17	
		VH CDR 3	TRGGYYPFDY	서열번호 18	
		VL CDR 1	QSLLSDGKTY	서열번호 19	
		VL CDR 2	LVS	서열번호 20	
		VL CDR 3	WQGTHSPYT	서열번호 21	

표 4

[0104]	하이브리도마 탁물	mAb	아미노산 서열		서열번호
1B3B4F11	mAb19	VH CDR 1	GYSITSDYA	서열번호 22	
		VH CDR 2	ISFSGYT	서열번호 23	
		VH CDR 3	AREVNYGDSYHFDY	서열번호 24	
		VL CDR 1	SQHRTYT	서열번호 25	
		VL CDR 2	VKKDGSH	서열번호 26	
		VL CDR 3	GVGDAIKGQSVFV	서열번호 27	

[0105] 인간 프로가스트린의 아미노산 서열 55-80에 상응하는 아미노산 서열 "QGPWLEEEEAYGWMDFGRRSAEDEN"(프로가스트린의 C-말단 부분)을 포함하는 면역원을 사용함으로써 생성될 수 있는 단클론 항체의 예는 비제한적으로 하기 표 5 및 6에서 mAb8 및 mAb13으로서 표시된 항체들을 포함한다. 에피토프 맵핑의 실험 결과는 mAb13이 상기 hPG C-말단 아미노산 서열내 에피토프에 특이적으로 결합함을 보인다.

표 5

[0106]	하이브리도마 탁물	mAb	아미노산 서열		서열번호
1C10D3B9	mAb8	VH CDR 1	GFTFTTYA	서열번호 28	
		VH CDR 2	ISSGGTYT	서열번호 29	
		VH CDR 3	ATQGNYSLDF	서열번호 30	
		VL CDR 1	KSLRHTKGITF	서열번호 31	
		VL CDR 2	QMS	서열번호 32	
		VL CDR 3	AQNLEPLT	서열번호 33	

표 6

[0107]	하이브리도마 탁물	mAb	아미노산 서열		서열번호
2C6C3C7	mAb13	VH CDR 1	GFIFSSYG	서열번호 34	
		VH CDR 2	INTFGDR	서열번호 35	
		VH CDR 3	ARGTGTY	서열번호 36	
		VL CDR 1	QSLLSDGKTY	서열번호 37	
		VL CDR 2	LVS	서열번호 38	
		VL CDR 3	WQGTHFPQT	서열번호 39	

[0108] 다른 예들은 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 면역원을 사용함으로써 생성된 항-hPG 단클론 및/또는 다클론 항체를 포함한다.

[0109] 보다 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 방법에서 상기 생물학적 샘플을 항-hPG 항체 또는 그의 항원-결합

단편과 접촉시키며, 여기에서 상기 항-hPG 항체는 N-말단 항-hPG 항체 및 C-말단 항-hPG 항체 중에서 선택된다.

[0110] "N-말단 항-hPG 항체" 및 "C-말단 항-hPG 항체"란 용어는 각각 hPG의 N-말단 부분에 위치한 아미노산을 포함하는 에피토프 또는 hPG의 C-말단 부분에 위치한 아미노산을 포함하는 에피토프에 결합하는 항체를 나타낸다. 바람직하게, "N-말단 항-hPG 항체"란 용어는 서열번호 2에 의해 나타낸 서열을 갖는 프로가스트린의 도메인 중에 위치한 에피토프에 결합하는 항체를 지칭한다. 또 다른 바람직한 실시태양에서, "C-말단 항-hPG 항체"란 용어는 서열번호 3에 의해 나타낸 서열을 갖는 프로가스트린의 도메인 중에 위치한 에피토프에 결합하는 항체를 지칭한다.

[0111] "에피토프"란 용어는 항체에 의해 결합되는 항원의 영역을 지칭한다. 에피토프를 구조적으로서 또는 기능적으로서 정의할 수 있다. 기능적 에피토프는 일반적으로 구조적 에피토프의 부분집합이며 상호작용의 친화성에 직접 기여하는 아미노산들을 갖는다. 에피토프는 또한 입체형태적일 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 에피토프는, 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴기, 또는 설포닐기와 같은 분자들의 화학적으로 활성인 표면 그룹들이고 몇몇 실시태양에서 특이적인 3차원 구조 특징, 및/또는 특이적인 전하 특징을 가질 수 있는 결정인자를 포함할 수 있다. 항체에 의해 결합된 에피토프의 측정을 당해 분야의 숙련가에게 공지된 임의의 에피토프 맵핑 기법에 의해 수행할 수 있다. 에피토프는 단백질의 아미노산 서열내에 연속적으로 배치된 상이한 아미노산들을 포함할 수 있다. 에피토프는 또한 단백질의 아미노산 서열내에 연속적으로 배치되지 않는 아미노산들을 포함할 수 있다.

[0112] 특정한 실시태양에서, 상기 항체는 하기로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 단클론 항체이다:

[0113] · 각각 서열번호 4, 5 및 6의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 4, 5 및 6의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 7, 8 및 9의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 7, 8 및 9의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

[0114] · 각각 서열번호 10, 11 및 12의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 10, 11 및 12의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 13, 14 및 15의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 13, 14 및 15의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

[0115] · 각각 서열번호 16, 17 및 18의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 16, 17 및 18의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 19, 20 및 21의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 19, 20 및 21의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

[0116] · 각각 서열번호 22, 23 및 24의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 22, 23 및 24의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 25, 26 및 27의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 25, 26 및 27의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,

[0117] · 각각 서열번호 28, 29 및 30의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 28, 29 및 30의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 31, 32 및 33의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 31, 32 및 33의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체, 및

[0118] · 각각 서열번호 34, 35 및 36의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 34, 35 및 36의 서열과 최적으로 정렬 후

적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 37, 38 및 39의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 37, 38 및 39의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체.

[0119] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 2개의 핵산 또는 아미노산 서열간의 "일치성 백분율" 또는 "일치성%"는 최적의 정렬 후에 획득되는, 비교되는 상기 두 서열간의 일치하는 뉴클레오티드 또는 핵산의 백분율을 의미하며, 상기 백분율은 순전히 통계학적이고 상기 두 서열간의 차이는 그들의 길이에 따라 무작위로 분포된다. 2개의 핵산 또는 아미노산 서열의 비교는 전통적으로 이들을 최적으로 정렬 후 상기 서열들을 비교함으로써 수행되며, 상기 비교는 구획에 의해 또는 "정렬창"을 사용함으로써 수행될 수 있다. 비교를 위한 상기 서열들의 최적의 정렬을 수동 비교 외에, 당해 분야의 숙련가에 의해 공지된 방법들에 의해 수행할 수 있다.

[0120] 참조 아미노산 서열과 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 나타내는 아미노산 서열의 경우, 바람직한 예는 상기 참조 서열, 몇몇 변형, 현저하게는 적어도 하나의 아미노산의 결실, 부가 또는 치환, 절두 또는 연장을 함유하는 것들을 포함한다. 하나 이상의 연속적인 또는 비-연속적인 아미노산의 치환의 경우에, 상기 치환된 아미노산이 "등가의" 아미노산에 의해 교체되는 치환이 바람직하다. 여기에서, "등가의 아미노산"이란 표현은 상응하는 항체 및 하기로 정의되는 구체적인 예들의 생물학적 활성을 변형시키지 않으면서 구조적 아미노산 중 하나에 대해 치환되는 듯한 임의의 아미노산을 가리킴을 의미한다.

[0121] 등가의 아미노산은 치환되는 아미노산과의 구조적 상동성 또는 생성되는 듯한 다양한 항체들간의 생물학적 활성의 비교 시험의 결과에 따라 결정될 수 있다.

[0122] 또 다른 특정한 실시태양에서, 본 발명의 방법에 사용되는 항체는 인간화된 항체이다.

[0123] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "인간화된 항체"란 표현은 비인간 기원의 항체로부터 유래되는 CDR 영역을 함유하는 항체를 의미하며, 상기 항체 분자의 다른 부분은 하나 또는 다수의 인간 항체로부터 유래된다. 또한, 골격 구획 잔기들 중 일부(프레임워크의 경우 FR이라 칭한다)를 당해 분야의 숙련가에 의해 공지된 기법에 따라 결합 친화성을 보존하도록 변형시킬 수 있다(Jones *et al.*, Nature, 321:522-525, 1986). 인간화의 목적은 인간에의 도입을 위해, 항체의 전체 항원 결합 친화성 및 특이성을 유지하면서 이종 항체, 예를 들어 쥐 항체의 면역원성을 감소시키는 것이다.

[0124] 본 발명의 인간화된 항체 또는 그의 단편을 당해 분야의 숙련가에게 공지된 기법에 의해 제조할 수 있다(예를 들어 문헌[Singer *et al.*, J. Immun., 150:2844-2857, 1992]에 기재된 것들). 상기와 같은 인간화된 항체는 시험관내 진단 또는 생체내 예방학적 및/또는 치료학적 치료를 수반하는 방법에서의 그의 용도에 바람직하다. 다른 인간화 기법들이 또한 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있다. 실제로, 항체를 CDR-이식(EP 0 451 261; EP 0 682 040; EP 0 939 127; EP 0 566 647; US 5,530,101; US 6,180,370; US 5,585,089; US 5,693,761; US 5,639,641; US 6,054,297; US 5,886,152; 및 US 5,877,293), 베니어링(veneering) 또는 재표면화(resurfacing)(EP 0 592 106; EP 0 519 596; Padlan E. A., 1991, Molecular Immunology 28(4/5): 489-498; Studnicka G. M. *et al.*, 1994, Protein Engineering 7(6): 805-814; Roguska M.A. *et al.*, 1994, Proc. Natl. Acad. ScL U.S.A., 91:969-973), 및 쇄 셔플링(chain shuffling)(미국특허 제 5,565,332 호)을 포함한 다양한 기법들을 사용하여 인간화시킬 수 있다. 인간 항체를 과자 디스플레이법을 포함한 당해 분야에 공지된 다양한 방법들에 의해 제조할 수 있다. 또한 미국특허 제 4,444,887, 4,716,111, 5,545,806, 및 5,814,318 호; 및 국제 특허출원 공보 WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, 및 WO 91/10741을 참조하시오.

[0125] 보다 특정한 실시태양에서, 상기 항체는 하기로 이루어지는 그룹 중에서 선택된 인간화된 항체이며:

[0126] · 각각 서열번호 4, 5 및 6의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 4, 5 및 6의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 7, 8 및 9의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 7, 8 및 9의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 인간화된 항체,

[0127] · 각각 서열번호 10, 11 및 12의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 10, 11 및 12의 서열과 최적으로 정렬 후

적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 13, 14 및 15의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 13, 14 및 15의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 인간화된 항체,

[0128] · 각각 서열번호 16, 17 및 18의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 16, 17 및 18의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 19, 20 및 21의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 19, 20 및 21의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 인간화된 항체,

[0129] · 각각 서열번호 22, 23 및 24의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 22, 23 및 24의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 25, 26 및 27의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 25, 26 및 27의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 인간화된 항체,

[0130] · 각각 서열번호 28, 29 및 30의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 28, 29 및 30의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 31, 32 및 33의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 31, 32 및 33의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 인간화된 항체, 및

[0131] · 각각 서열번호 34, 35 및 36의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 34, 35 및 36의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 37, 38 및 39의 아미노산 서열, 또는 각각 서열번호 37, 38 및 39의 서열과 최적으로 정렬 후 적어도 80%, 바람직하게는 85%, 90%, 95% 및 98% 일치성을 갖는 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 중 적어도 하나, 우선적으로는 적어도 2개, 우선적으로는 3개를 포함하는 경쇄를 포함하는 인간화된 항체,

[0132] 여기에서 상기 항체는 또한 인간 항체로부터 유래된 경쇄 및 중쇄의 불변 영역들을 포함한다.

[0133] 첫 번째 실시태양에서, 본 발명에 따른 방법은 생물학적 샘플을 hPG의 에피토프(여기에서 상기 에피토프는 hPG의 C-말단 부분내에 위치한다) 또는 hPG의 N-말단 부분내에 위치하는 에피토프에 결합하는 항-hPG 항체와 접촉시킴을 포함한다.

[0134] 보다 구체적인 실시태양에서, 본 발명에 따른 방법은 생물학적 샘플을 hPG의 에피토프에 결합하는 항-hPG 항체와 접촉시킴을 포함하며, 여기에서 상기 에피토프는 hPG의 아미노산 10 내지 14, hPG의 아미노산 9 내지 14, hPG의 아미노산 4 내지 10, hPG의 아미노산 2 내지 10 및 hPG의 아미노산 2 내지 14에 상응하는 아미노산 서열 중에서 선택된 프로가스트린의 N-말단 부분의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 포함하고, 여기에서 hPG의 아미노산 서열은 서열번호 1이다.

[0135] 보다 구체적인 실시태양에서, 본 발명에 따른 방법은 생물학적 샘플을 hPG의 에피토프에 결합하는 항-hPG 항체와 접촉시킴을 포함하며, 여기에서 상기 에피토프는 hPG의 아미노산 71 내지 74, hPG의 아미노산 69 내지 73, hPG의 아미노산 71 내지 80(서열번호 40), hPG의 아미노산 76 내지 80 및 hPG의 아미노산 67 내지 74에 상응하는 아미노산 서열 중에서 선택된 프로가스트린의 C-말단 부분의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 포함하고, 여기에서 hPG의 아미노산 서열은 서열번호 1이다.

[0136] 첫 번째 실시태양에서, 본 발명에 따른 조성물은 프로가스트린의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 포함하는 에피토프를 인식하는 항체를 포함한다.

[0137] 보다 구체적인 실시태양에서, 본 발명에 따른 조성물은 프로가스트린의 에피토프를 인식하는 항체를 포함하며, 여기에서 상기 에피토프는 프로가스트린의 N-말단 부분의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 포함하고,

여기에서 상기 아미노산 서열은 hPG의 잔기 10 내지 14, hPG의 잔기 9 내지 14, hPG의 잔기 4 내지 10, hPG의 잔기 2 내지 10 또는 hPG의 잔기 2 내지 14를 포함할 수 있으며, 여기에서 hPG의 아미노산 서열은 서열번호 1이다.

[0138] 보다 구체적인 실시태양에서, 본 발명에 따른 조성물은 프로가스트린의 에피토프를 인식하는 항체를 포함하며, 여기에서 상기 에피토프는 프로가스트린의 C-말단 부분의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 포함하고, 여기에서 상기 아미노산 서열은 hPG의 잔기 71 내지 74, hPG의 잔기 69 내지 73, hPG의 잔기 71 내지 80(서열번호 40), hPG의 잔기 76 내지 80 또는 hPG의 잔기 67 내지 74를 포함할 수 있으며, 여기에서 hPG의 아미노산 서열은 서열번호 1이다.

[0139] 본 발명에 따른 난소암의 시험관내 진단 방법의 특정한 실시태양에서, 상기 방법은 피실험자로부터의 생물학적 샘플을 프로가스트린의 제1 부분에 결합하는 제1 문자 및 프로가스트린의 제2 부분에 결합하는 제2 문자와 접촉시키는 단계를 포함한다. 보다 특정한 실시태양에서, 상기 프로가스트린-결합 분자는 항체이며, 피실험자로부터의 생물학적 샘플을 프로가스트린의 제1 에피토프에 결합하는 항체 및 프로가스트린의 제2 에피토프에 결합하는 제2 항체와 접촉시킨다.

[0140] 바람직한 실시태양에서, 난소암의 진단을 위한 본 발명의 방법은 인간 피실험자로부터의 생물학적 샘플에서 프로가스트린을 검출함을 포함한다.

[0141] 보다 바람직한 실시태양에서, 난소암의 진단을 위한 본 발명의 방법은 인간 피실험자로부터의 생물학적 샘플에서 프로가스트린의 농도를 검출함을 포함한다.

[0142] 또 다른 특정한 실시태양에서, 난소암의 진단을 위한 본 발명의 방법은 인간 피실험자로부터의 생물학적 샘플에서 프로가스트린의 농도를 검출함을 포함하며, 여기에서 상기 생물학적 샘플은 혈액, 혈청 및 혈장 중에서 선택된다.

[0143] 추가의 바람직한 실시태양에서, 본 발명의 방법은 상기 피실험자로부터의 샘플을 상술한 바와 같은 항-hPG 항체와 접촉시킴을 포함하며, 여기에서 상기 샘플 중 항-hPG 항체의 결합은 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 가리킨다.

[0144] 보다 특정한 실시태양에서, 본 발명의 방법은 상기 피실험자로부터의 샘플을 상술한 바와 같은 항-hPG 항체와 접촉시킴을 포함하며, 여기에서 상기 샘플 중 5 pM보다 높은 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 가리킨다.

[0145] 보다 바람직하게, 본 발명의 방법은 상기 피실험자로부터의 샘플을 상술한 바와 같은 항-hPG 항체와 접촉시킴을 포함하며, 여기에서 상기 샘플 중 5 pM, 10 pM, 20 pM, 30 pM 또는 40 pM보다 높은 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 난소암의 존재를 가리킨다.

[0146] 더욱 더 바람직하게, 본 발명의 방법은 상기 피실험자로부터의 샘플을 상술한 바와 같은 항-hPG 항체와 접촉시킴을 포함하며, 여기에서 상기 혈장 중 5 pM, 10 pM, 20 pM, 30 pM, 40 pM보다 높은 프로가스트린의 농도는 상기 피실험자에서 전이된 난소암의 존재를 가리킨다.

[0147] 본 발명은 또한 난소암 치료 전 환자로부터 수득된 첫 번째 샘플, 예를 들어 체액 또는 난소암의 생검 중 프로가스트린의 농도를 측정하고 이어서 상기 첫 번째 샘플 중의 프로가스트린 농도를 치료 후 같은 환자로부터 수득된 두 번째 샘플 중의 농도와 비교함으로써, 환자에서 난소암의 치료, 예를 들어 화학요법, 생물학적 요법, 면역요법 또는 항체 요법의 효능을 모니터하는 방법에 관한 것이며, 이때 상기 첫 번째 샘플과 비교된 상기 두 번째 샘플 중 프로가스트린의 농도의 감소는 상기 치료가 유효하였음을 가리킨다.

[0148] 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 방법은 환자로부터 수득된 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도를 상기 샘플 중 프로가스트린의 사전측정된 값과 비교함을 포함하며, 보다 특정한 실시태양에서 상기 사전측정된 값은 하기 중에 선택된다: 평균을 기준으로 하는 샘플값의 평균, 난소암이 없는 집단에서 상기 값의 측정, 상기 환자가 난소암이 없는 것으로 알려졌을 때 획득된 프로가스트린 농도값.

[0149] 특정한 실시태양에서, 난소암의 시험관내 진단을 위한 본 발명에 따른 방법은 상기 환자로부터의 샘플 중 프로가스트린 농도의 측정 및 난소암의 두 번째 진단 시험을 포함한다. 보다 특정한 실시태양에서, 상기 난소암의 시험관내 진단을 위한 본 발명에 따른 방법은 상기 환자로부터의 샘플 중 프로가스트린 농도의 측정 및 난소암의 두 번째 진단 시험을 포함하며, 여기에서

- [0150] 본 발명의 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 방법은 난소암이 치료되었거나 또는 난소암에 대해 치료 중인 환자로부터의 샘플 중 시간에 따른 프로가스트린 수준의 측정을 포함한다.
- [0151] 또 다른 태양에서, 본 발명의 요지는 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물에 관한 것이며, 여기에서 상기 조성물은 프로가스트린-결합 항체, 또는 그의 항원-결합 단편을 포함한다.
- [0152] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 항체 조성물을 다양한 경로, 예를 들어 비제한적으로 비경구, 경막내, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 주입 또는 일시주사에 의한 투여를 위해, 비제한적으로 수성 혼탁액을 포함한 상이한 제형들로서 제조할 수 있다. 일부 실시태양에서, 상기 조성물을 비경구 투여용으로 제형화하고, 일부 구체적인 실시태양에서, 주입에 의한 정맥내 주사로 제형화한다.
- [0153] 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물은 0.001 mg/kg 내지 약 250 mg/kg 범위의 유효 용량의 본 발명의 항-프로가스트린 항체를 포함하며, 이를 1회 투여로, 또는 수회의 이격된 투여로 제공할 수 있다.
- [0154] 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물은 다클론 항체, 단클론 항체, 키메릭 항체, 단체 항체, 카멜화된 항체, IgA1 항체, IgA2 항체, IgD 항체, IgE 항체, IgG1 항체, IgG2 항체, IgG3 항체, IgG4 항체 및 IgM 항체 중에서 선택된 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 바람직하게, 상기 항체는 상술한 것들이다. 보다 바람직하게, 상기 항체는 인간화된 항체이다.
- [0155] 보다 특정한 실시태양에서, 본 발명에 따른, 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물은 상술한 바와 같은 방법에 의해 측정시, 적어도 5000 nM, 적어도 500 nM, 100 nM, 80 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM, 10 nM, 7 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0.5 nM, 0.1nM, 50 pM, 10 pM, 5 pM, 1 pM, 또는 적어도 0.1 pM의 프로가스트린에 대한 친화성을 갖는 프로가스트린-결합 항체, 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [0156] 훨씬 더 특정한 실시태양에서, 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물은 프로가스트린-결합 항체를 포함하며, 여기에서 상기 프로가스트린-결합 분자 또는 그의 항원-결합 단편은 중화 항체이다.
- [0157] "중화 항-PG 항체"란 표현은 PG와 결합하고 PG-의존적인 신호전달을 차단하여, 종양 세포 및 특히 난소 종양 세포에서 PG-유발된 응답의 억제를 생성시키는 항체를 나타낸다. 난소 세포의 PG-유발된 응답의 억제는 세포 분화의 억제, 세포사의 억제, 및/또는 세포 증식의 자극에 의해 매개될 수 있다.
- [0158] 또 다른 특정한 실시태양에서, 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물은 프로가스트린-결합 항체를 포함하며, 여기에서 상기 프로가스트린-결합 분자 또는 그의 항원-결합 단편은 인간화된 항체이다.
- [0159] 특정한 실시태양에서, 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물은 프로가스트린-결합 항체를 포함하며, 여기에서 상기 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 세포독성제에 접합시킨다.
- [0160] 또 다른 특정한 실시태양에서, 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물은 프로가스트린-결합 항체를 포함하며, 여기에서 상기 환자는 본 발명에 따른 방법에 의해 난소암으로 진단되었고, 여기에서 프로가스트린의 농도는 참조 샘플에서보다 상기 환자로부터의 생물학적 샘플에서 더 높다.
- [0161] 보다 특정한 태양에서, 본 발명은 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물에 관한 것이며, 여기에서 상기 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 N-말단 항-프로가스트린 항체 및 C-말단 항-프로가스트린 항체 중에서 선택된다.
- [0162] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 약학 조성물은 상술한 바와 같은 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다.
- [0163] 보다 특정한 태양에서, 본 발명은 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이며, 여기에서 상기 항-프로가스트린 항체는 0.001 mg/kg 내지 250 mg/kg의 용량, 및 바람직하게는 적어도 0.005 mg/kg, 적어도 0.01 mg/kg, 적어도 0.05 mg/kg, 적어도 0.1 mg/kg, 적어도 0.5 mg/kg, 적어도 1 mg/kg, 적어도 5 mg/kg, 적어도 10 mg/kg, 적어도 50 mg/kg 또는 적어도 100 mg/kg의 용량으로 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물, 및 항암 치료 분자를 포함하는 부분들의 키트에 관한 것이다.
- [0164] 실제로, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항-PG 단클론 항체에 의한 치료는 다른 요법과 병용되거나 또는 상기 요법에 부가적일 수 있다. 다른 요법의 비제한적인 예는 화학요법적 치료, 방사선요법, 수술적 절제, 및 항체 요

법을 포함한다.

[0165] 또 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물, 및 하기 중에서 선택된 항암 치료 분자를 포함하는 부분의 키트에 관한 것이다: 화학요법 분자, 표적화된 치료법 분자.

[0166] 특정한 실시태양에서, 본 발명은 동시, 연속 또는 별도 투여를 위한 본 발명에 따른 난소암의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 조성물 및 화학요법 분자를 포함하는 부분의 키트에 관한 것이다. 상기 목적에 유용한 화학요법 분자는 비제한적으로 플레이트 길항물질, 퓨린 길항물질, 피리미딘 길항물질, DNA 알킬화 분자, DNA 가교결합 약물, 항생제, 백금 치료제, 프로테아솔 억제제, 방추체 독, 국소이성화효소 억제제, 티로신 키나제 억제제 등을 포함한다.

[0167] 또 다른 특정한 실시태양에서, 본 발명은 동시, 연속 또는 별도 투여를 위한 본 발명에 따른 조성물 및 표적화된 치료법 분자를 포함하는 조성물을 포함하는 부분의 키트에 관한 것이다. 상기와 같은 표적화된 치료법 분자는 비제한적으로 EGFR을 표적화하는 항체, 예를 들어 세톡시맵 또는 파니투무맵, VEGF를 표적화하는 항체, 예를 들어 베바시주맵, HER2를 표적화하는 항체, 예를 들어 트라스투주맵 또는 페르투주맵, PD-1 및 PDL-1을 표적화하는 항체, 예를 들어 펜브로리주맵, CTLA-4를 표적화하는 항체, 예를 들어 이필리무맵, EGFR을 표적화하는 소분자 약물, 예를 들어 에를로티닙, BRAF를 표적화하는 소분자 약물, 예를 들어 베무라페닙 또는 다브라페닙, VEGF를 표적화하는 재조합 융합 단백질, 예를 들어 아플리베르셉트를 포함한다.

[0168] 또 다른 특정한 태양에서, 본 발명은 난소암의 진단을 위한 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도에 관한 것이다.

[0169] 또 다른 특정한 태양에서, 본 발명은 난소암의 예방 또는 치료를 위한 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도에 관한 것이다.

[0170] 보다 특정한 태양에서, 본 발명은 환자를 위한 난소암의 예방 또는 치료를 위한 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도에 관한 것이며, 여기에서 상기 환자의 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도가 측정되었으며 이는 참조 생물학적 샘플의 프로가스트린 농도보다 더 높다.

[0171] 또 다른 특정한 태양에서, 본 발명은 환자를 위한 난소암의 예방 또는 치료를 위한 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 용도에 관한 것이며, 여기에서 상기 환자는 전이를 나타낸다.

[0172] 훨씬 더 특정한 실시태양에서, 본 발명은 환자를 위한 난소암의 예방 또는 치료를 위한 프로가스트린-결합 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 용도에 관한 것이며, 여기에서 상기 환자는 전이를 나타내고 상기 환자의 생물학적 샘플 중 프로가스트린의 농도가 측정되었으며 이는 참조 생물학적 샘플의 프로가스트린 농도보다 더 높다.

[0173] 상기 조합을 구성하는 구성성분들을 상기 조합의 최대 효능을 획득하기 위해서 동시에, 별도로 또는 연속적으로 투여할 수 있으며; 각 투여는 빠른 투여에서부터 연속적인 관류까지 그의 지속기간에 따라 변화가 가능하다.

[0174] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "동시 투여"는 단일의 특유의 약제 형태에 따른 상기 조성물의 2개 화합물의 투여를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "별도의 투여"는 별개의 약제 형태 중의 본 발명에 따른 조성물의 2개 화합물의 동시적인 투여를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "연속적인 투여"는 각각 별개의 약제 형태로, 본 발명에 따른 조성물의 2개 화합물의 연속적인 투여를 지칭한다.

[0175] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "치료 유효량"은 치료되는 환자의 질병의 증상을 예방하거나, 완화시키거나, 감소시키거나 또는 개선시키거나 또는 상기 환자의 생존을 연장시키기에 유효한 화합물(또는 화합물들)의 최소 농도 또는 양을 지칭한다.

[0176] 본 발명의 실시태양들의 특징은 하기 실시예의 상세한 설명으로부터 더욱 자명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0177] 도 1: 난소암 환자(n=8) 및 대조용 환자(n=103)에서 프로가스트린의 중간 혈장 농도.

도 2: 48h 동안 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 인간화된 대조용 항체(항-인간 FcG1, 바이오엑셀(BioXCell)로부터)(CT Hz) 또는 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 항-hPG Hz(PG Hz) 처리후 SK-OV-3 세포에 대한 세포수 - 양측 t-검정, $^*p<0.05$.

도 3: 초저 부착 조건하에서 대조용(CT Hz) 또는 항-PG 인간화된 항체(PG Hz) 처리에 따라 형성된 SK-OV-3 구의 수 - 양측 t-검정, $^{***}p<0.001$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0178] 실시예 1: 다클론 항체를 사용하는 혈장 프로가스트린 농도의 검출

[0179] 혈장 프로가스트린 수준을 2개의 특이적인 항-프로가스트린 항체의 사용을 통해 ELISA에 의해 정량분석하였다: 포획 항체를 플레이트의 웰상에 코팅하는 반면, 표출(revelation) 항체는 프로가스트린을 검출하는데 사용되며 신호의 발현을 매개한다.

[0180] 본 실시예에서, 정량분석은 빛을 방출하는 반응을 갖는 기질의 사용을 통해 포획 항체에 의해 유지된 항원에 결합된 항체의 빛광 량에 비례하는 값의 할당을 허용하는 ELISA 방법에 근거한다.

[0181] 물질

[0182] 시약 및 기구를 표 7에 나열한다:

표 7

표시	제공자	참고문헌
플레이트 맥시솝 화이트 넝크(MaxiSorp white Nunc), 96 웰	덧처(Dutscher)	# 055221
나트륨 카보네이트/비카보네이트	시그마(Sigma)	# 21851
DPBS 1X	론자(Lonza)	# P04-36500
트윈(Tween)-20	바이오솔브(Biosolve)	# 20452335
BSA	유로메덱스(Euromedex)	# 04-100-810-C
스트렙트아비딘(Streptavidin)-HRP	피어스(Pierce)(씨모(Thermo))	# 21130
슈퍼시그널(SuperSignal) ELISA 펜토 맥시멈(Femto Maximum) 감수성 기질	피어스(씨모)	# 37074
항-프로가스트린 다클론 항체	유로젠텍(Eurogentec)	/

[0184] 다클론 항체를, 토끼를 표준 프로토콜에 따라, N-말단 프로가스트린(서열번호 2) 또는 hPG의 아미노산 71-80에 상응하고 서열 FGRRSAEDEN(서열번호 40)을 갖는 C-말단 프로가스트린으로 면역시킴으로써 수득하였다.

[0185] 본 분석에 사용된 프로가스트린에 대한 다클론 항체의 결합 특징은 하기와 같다: G34-Gly, G34, G17-Gly, G17에의 결합의 부재, 완전길이 프로가스트린에의 결합.

[0186] 96 웰 플레이트를, 한 캡슐의 내용물을 100 μl 의 밀리Q 수에 용해시킴으로써 카보네이트 - 나트륨 비카보네이트, 50 mM pH 9.6의 용액을 제조하여 코팅한다. 프로가스트린 FGRRSAEDEN(서열번호 40)의 C-말단을 사용하여 수득한 다클론 항체에 상응하는 포획 항체($3 \mu\text{g}/\text{ml}$)의 용액을 카보네이트 완충제 중에서 제조한다. 100 마이크로리터의 항체 용액을 각 웰에 가하고 4 °C에서 16시간(하룻밤) 동안 배양한다. 이어서 플레이트를, 상기 항체 용액을 제거함으로써 차단하고 300 μl 1X PBS/0.1% 트윈-20으로 3회 세척하고, 이어서 200 μl 의 차단 완충제(1X PBS/0.1% 트윈-20/0.1% BSA)/웰을 가하고, 22 °C에서 2시간 배양한다. 이어서 차단 완충제를 제거하고, 웰을 300 μl 1X PBS/0.1% 트윈-20으로 3회 세척한다.

[0187] 혈장 희석을 하기와 같이 수행한다: 순수한 혈장을 사용하고, 1/2, 1/5 및 1/10 희석한다. 희석액을 1X PBS/0.1% 트윈-20/0.1% BSA 중의 순수한 혈장으로부터 제조한다.

[0188] 대조용 시험인 기지 농도의 프로가스트린 존재하의 ELISA를 위해서, 프로가스트린 희석액을 하기와 같이 제조한다: 재조합 PG 스톡(이 콜라이에서 생성되고 글루타치온 아가로스/Tag 제거(Tev)/IMAC 카운터 정제/투석으로 친화성 정제된 완전길이 인간 프로가스트린(프랑스 파리 소재의 파스퇴르 연구소로부터))을 3회 중복해서 0.45 mg / ml (45 마이크로M)의 농도로 제조한다. 일련의 프로가스트린 농축물을 하기와 같이 제조하였다:

- [0189] · 용액 A: 사전-희석 1/10, 2 μl 의 스톡 + 18 μl 의 상기 완충제
- [0190] · 용액 B: 사전-희석 1/100, 10 μl 의 A + 90 μl 의 상기 완충제
- [0191] · 용액 C: 사전-희석 1/1000, 10 μl 의 B + 90 μl 의 상기 완충제
- [0192] · 용액 D: 500 pM, 5.55 μl 의 C + 494.5 μl 의 상기 희석제
- [0193] · 용액 E: 250 pM, 250 μl 의 D + 250 μl 의 상기 희석제

- [0194] · 용액 F: 100 pM, 200 μl 의 E + 300 μl 의 상기 희석제
- [0195] · 용액 G: 50 pM, 250 μl 의 F + 250 μl 의 상기 희석제
- [0196] · 용액 H: 25 pM, 200 μl 의 G + 200 μl 의 상기 희석제
- [0197] · 용액 I: 10 pM, 100 μl 의 H + 150 μl 의 상기 희석제
- [0198] 상기 재조합 PG의 범위는 선형이며 따라서 사용된 항체에 따라 다소 광범위할 수 있다.
- [0199] 시험 샘플의 제조를 위해서, 대략 500 μl 의 각 샘플을 따로 떼어두고 결과의 분석(및 필요한 경우 확인)시까지 보관한다. 100 μl 의 상기 각 포인트의 범위 및/또는 혈장을 순수하게 분석하고, 1/2, 1/5 및 1/10으로 희석하고, 상기 플레이트상에서 22 °C에서 2시간 동안 배양한다.
- [0200] 상기 시험의 표출을 위해서, 상기 플레이트를 300 μl 1X PBS/0.1% 트윈-20으로 3회 세척하였다. 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 비오틴에 결합된 상기 디클론 토키 항-프로가스트린 항체의 용액(여기에서 상기 항체는 면역원으로서 프로가스트린의 N-말단 부분을 사용함으로써 수득되었다)을 1X PBS/0.1% 트윈-20/0.1% BSA 중의 희석에 의해 제조한다. 100 μl 의 상기 용액을 각 웰에 가한다. 배양을 22 °C에서 1시간 동안 수행한다. 스트렙트아비딘-HRP에 의한 표출을, 검출 항체를 제거하고 300 μl 1X PBS/0.1% 트윈-20으로 3회 세척하고, 이어서 1X PBS/0.1% 트윈-20/0.1% BSA에서 희석된 20 ng/mL 의 스트렙트아비딘-HRP의 용액을 제조함으로써 수행하며, 여기에서 100 μl 의 상기 용액을 각 웰에 가한 후에 22 °C에서 1시간 동안 배양한다.
- [0201] 상기 검출은 스트렙트아비딘-HRP의 제거 및 300 μl 1X PBS/0.1% 트윈-20에 의한 3회 세척, 이어서 웰당 100 μl 의 화학발광성 기질 용액의 첨가로 이루어진다. 상기 기질 용액은 동 부피의 2개 용액 슈퍼시그널(SuperSignal) ELISA 팬토 키트, 20 mL + 20 mL 을 사용 30분 전에 혼합하여 제조하고, 암실에서 실온에서 보관한다. 상기 암실에서 실온에서 5분 배양 후에 발광을 판독한다.
- [0202] 각 조건에 대해서, 상기 시험을 3회 중복하여 수행하며 상기 범위의 결과는 상기 프로가스트린 농도에 따른 발광의 변화를 나타내는 그래프로서 나타낼 것이다. 각 혈장 희석을 위해서, 상기 프로가스트린의 농도를 상응하는 범위(1/10까지 희석된 샘플의 경우 1/10 범위)의 선형 회귀선의 식을 사용하여 측정한다.
- [0203] 방법 및 결과
- [0204] 프로가스트린의 중간 혈장 농도는 난소암 환자(n=8)에서 8.45 pM인 반면, 대조용 환자(n=103)에서 프로가스트린의 중간 혈장 농도는 0 pM이다(도 1). 상기 데이터는 난소암 환자가 건강한 대조용 개인에 비해 그의 혈장 중에 더 높은 프로가스트린 농도를 가졌음을 입증한다.
- [0205] 이들 데이터는 난소암 환자가 건강한 대조용 개인에 비해 그의 혈장 중에 더 높은 프로가스트린 수준을 가짐을 입증한다.
- [0206] **실시예 2: 단클론 항-프로가스트린 항체를 사용하는 프로가스트린 농도의 검출**
- [0207] 넝크 맥시숍 96-웰 플레이트의 웰을 하기와 같이 제1 프로가스트린-특이성 항체로 코팅한다. 프로가스트린의 카복시-말단 영역에 특이적인 항-프로가스트린 단클론 항체를 밀리Q 수 중의 50 mM, pH 9.6 나트륨 카보네이트/비카보네이트 완충제 용액 중에 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 희석한다.
- [0208] 이어서 총 100 μl 의 상기 항체 용액을 상기 96-웰 플레이트의 각 웰에 가하고, 4 °C에서 밤새 배양한다. 결합 후에, 상기 항체 용액을 상기 웰로부터 제거하고, 이어서 이를 100 μl 의 세척 완충제(1X PBS/0.1% 트윈-20)로 3회 세척한다. 이어서 총 100 μl 의 차단 완충제(1X PBS/0.1% 트윈-20/0.1% BSA)를 각 웰에 가하고 22 °C에서 2시간 동안 배양한다. 이어서 차단 완충제를 제거하고 상기 웰들을 세척 완충제로 3회 세척한다. 이어서 환자로부터 단리된 혈장 또는 혈청 샘플을 상기 웰들에 일련의 희석, 전형적으로 1:1, 1:2, 1:5 및 1:10 희석으로 100 μl 의 부피로 가하고, 이어서 22 °C에서 2시간 동안 배양한다. 혈장 또는 혈청 샘플을 중복하여 분석한다.
- [0209] 분석은 또한 2개의 표준 곡선을 포함한다. 첫 번째 표준 곡선은 웰당 1 ng, 0.5 ng, 0.25 ng, 0.1 ng, 0.05 ng, 0.01 ng 및 0 ng의 최종량으로 재조합 프로가스트린의 희석액을 사용하여 작성된다. 음성 대조용으로서 제공되는 두 번째 표준 곡선은 상기 시험 샘플과 동일한 희석으로, 즉 1:1, 1:2, 1:5 및 1:10으로 차단 완충제 중에서 희석된 프로가스트린-음성 인간 혈청으로부터 작성된다. 한편으로, 혈장 샘플을 분석할 경우, 음성 대조용으로서 제공되는 두 번째 표준 곡선은 상기 시험 샘플과 동일한 희석으로, 즉 1:1, 1:2, 1:5 및 1:10으로 차단 완충제 중에서 희석된 프로가스트린-음성 인간 혈장으로부터 작성된다.

- [0210] 상기 혈장 또는 혈청 샘플과의 배양을 완료한 후에, 상기 웰 내용물을 제거하고 상기 웰을 세척 완충제, 100 μl /웰로 3회 세척하고, 그 후에 상기 1차 항체에 결합된 프로가스트린을 하기와 같이 프로가스트린에 특이적인 2차 항체를 사용하여 검출한다.
- [0211] 프로가스트린의 아미노-말단 영역에 특이적인 비오틴-결합된 항-프로가스트린 단클론 항체를 차단 완충제 중에서 항체에 따라 0.1 내지 10 μl g/ml의 농도로 희석한다. 이어서 총 100 μl 의 상기 항체 용액을 각 웰에 가하고, 22 °C에서 1시간 동안 배양한다.
- [0212] 2차 항체 결합의 완료 후에, 상기 플레이트를 세척 완충제, 100 μl /웰로 3회 세척하고, 그 후에 100 μl 의 스트렙트아비딘-HRP(차단 완충제 중의 25 ng/ml) 용액을 각 웰에 가하고 22 °C에서 1시간 동안 배양한다. 상기 스트렙트아비딘-HRP 용액과의 배양의 완료 후에, 상기 플레이트를 세척 완충제, 100 μl /웰로 3회 세척한다. 그 후에, 피어스 슈퍼시그널 ELISA 펜토 최대 감도 화학발광 기질 키트를 사용하여 제조된 화학발광 기질 100 μl 을 웰당 가하고, 암실에서 실온에서 5분 동안 배양하고, 이어서 광도계상에서 판독한다.
- [0213] 상기 광도계 판독에 근거하여, 선형 회귀 분석을 사용하여 상기 표준 곡선 데이터에 상응하는 선들의 식을 유도 한다. 이어서 상기 식을 사용하여, 다양한 환자 샘플 중의 프로가스트린의 농도를 계산한다.
- [0214] 상기 프로가스트린의 중간 혈장 농도를 난소암 환자에서 계산하고 대조용 환자의 혈장 중 프로가스트린의 중간 혈장 농도와 비교한다. 이들 데이터는 난소암 환자가 건강한 대조용 개인에 비해 그의 혈장 중에 상승된 수준의 프로가스트린을 가졌음을 입증한다.
- [0215] **실시예 3: 암세포주에 대한 항-hPG 항체의 중화 활성**
- [0216] 3.1. 항-hPG 단클론 항체의 중화 활성
- [0217] PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3은 난소암 연구에 통상적으로 사용되는 세포주이며, 프로가스트린을 생산 및 분비한다. PG에 대한 단클론 항체를 이들 상이한 세포주들에서 중식을 억제하는 그의 능력에 대해 시험한다. 각각의 Caov-3, ES-2, SK-OV-3, KATO-III, AGS, 및 MGC-803 세포주로부터의 세포의 생존을 상이한 항-hPG 단클론 항체를 사용하여 시험한다.
- [0218] 각각의 실험을 위해서, 50,000 세포를 6-웰 플레이트 중의 송아지 태아 혈청을 함유하는 배지에 시딩하고 8시간 동안 배양한다. 세포를 밤새 혈청-차단하고, 시딩후 24시간째에 출발하여("T0" 시간), 세포를 송아지 태아 혈 청의 부재하에서 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 단클론 대조용 항체(단클론 항체 항-퓨로마이신)(CT mAb) 또는 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항-hPG mAb로, 48시간 동안 12h마다 6회 반복 처리하며, 여기에서 상기 mAb는 C-말단 항-hPG 단클론 항체 또는 N-말단 항-hPG 단클론 항체이다.
- [0219] 상기 mAb는 하기 중에서 선택된 C-말단 항-hPG 항체:
- [0220] · 서열번호 28, 29 및 30의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3를 포함하는 중쇄, 및 서열번호 31, 32 및 33의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체,
- [0221] · 서열번호 34, 35 및 36의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3를 포함하는 중쇄, 및 서열번호 37, 38 및 39의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체
- [0222] 또는 하기 중에서 선택된 N-말단 항-hPG 항체이다:
- [0223] · 각각 서열번호 4, 5 및 6의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3를 포함하는 중쇄, 및 서열번호 7, 8 및 9의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3를 포함하는 경쇄를 포함하는 단클론 항체,
- [0224] · 각각 서열번호 10, 11 및 12의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 13, 14 및 15의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체,
- [0225] · 각각 서열번호 16, 17 및 18의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 19, 20 및 21의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체,
- [0226] · 각각 서열번호 22, 23 및 24의 아미노산 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3를 포함하는 중쇄, 및 각각 서열번호 25, 26 및 27의 아미노산 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체.
- [0227] 각 실험에 대해 T0에서 세포의 수를 대조용 웰에서 카운트한다.
- [0228] 구체적으로, 대조용 및 항-hPG mAb 처리된 웰 모두 중의 살아있는 세포의 수를 48시간째에 카운트하고, 이어서

각 세포수와 T0에서 측정된 세포수간의 차이를 계산한다. 이어서 항-hPG mAb-처리된 세포의 생성수를 대조용 mAb-처리된 세포수의 백분율로서 나타낸다.

[0229] 항-hPG 단클론 항체에 의한 처리는 대조용 항체에 의한 처리에 비해 세포수를 감소시킨다. 통계학적 유의수준을 터키 사후 검정과 함께 일원 ANOVA를 사용하여 측정한다: * = p<0.05, ** = p<0.01, 및 *** = p<0.001. 각 세포주에서, 항-hPG 항체는 세포 생존을 감소시킨다.

[0230] 3.2. 세포 생존에 대한 항-hPG 인간화된 항체의 중화 활성

[0231] PG에 대한 인간화된 항체를 PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3 세포주의 증식을 억제하는 그의 능력에 대해 시험한다. PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3 세포주로부터의 세포의 생존을 상이한 항-hPG 인간화된 항체를 사용하여 시험한다.

[0232] 각각의 실험을 위해서, 80,000 세포를 6-웰 플레이트 중의 송아지 태아 혈청을 함유하는 배지에 시딩하고 8시간 동안 배양한다. 세포를 밤새 혈청-차단하고, 시딩후 24시간째에 출발하여("T0" 시간), 세포를 송아지 태아 혈청의 부재하에서 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 인간화된 대조용 항체(항-인간 FcG1, 바이오엑셀로부터)(CT mAb) 또는 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 항-hPG Hz(PG Hz)로, 48시간 동안 12h마다 6회 반복 처리하며, 여기에서 상기 Hz는 C-말단 항-hPG 인간화된 항체 또는 N-말단 항-hPG 인간화된 항체이다. 각각의 실험을 위해서 T0에서의 세포수를 대조용 웰에서 카운트한다.

[0233] 구체적으로, 대조용 및 항-hPG Hz 처리된 웰 모두 중의 살아있는 세포의 수를 48시간째에 카운트하고, 이어서 각 세포수와 T0에서 측정된 세포수간의 차이를 계산한다.

[0234] 항-hPG Hz 항체에 의한 처리는 대조용 항체에 의한 처리에 비해 세포수를 감소시킨다.

[0235] 3.3. 암 줄기세포 빈도에 대한 항-hPG 단클론 항체의 중화 활성

[0236] PG에 대한 단클론 항체를, 극단 제한 회석 분석(ELDA)을 사용하여 PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3 세포 주에서 암 줄기세포(CSC) 빈도를 감소시키는 그의 능력에 대해 시험한다. 각각의 PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3 세포주로부터의 CSC 빈도를 상이한 항-hPG 단클론 항체를 사용하여 시험한다.

[0237] 각각의 실험을 위해서, 세포를 FACS 아리아(Aria) 유식 세포계를 사용하여 웰당 고정된 세포 농도로 초저 부착(ULA) P96(96-웰 플레이트)에 시팅하고, 웰당 1 내지 500 세포의 일련의 농도를 사용한다. 상기 세포를 M11 배지(Macari et al, Oncogene, 2015)를 갖는 ULA 플레이트에서 11일 이하로 배양하고 3 또는 4일마다 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 단클론 대조용 항체(단클론 항체 항-퓨로마이신)(CT mAb) 또는 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 항-hPG mAb로 처리하며, 여기에서 상기 mAb는 C-말단 항-hPG 단클론 항체 또는 N-말단 항-hPG 단클론 항체이다.

[0238] 구체적으로, 상기 배양 단계의 끝에서, 상기 플레이트를 상-콘트라스트 현미경으로 관찰하고 세포 농도당 양성 웰의 수를 평가한다. 최종적으로, ELDA 웹툴(<http://www.bioinf.wehi.edu.au/software/elda/>)을 사용하여 각 처리 그룹의 CSC 빈도를 계산하고 그룹들간의 임의의 통계학적 차이에 대해 시험한다(변형된 카이-제곱 검정).

[0239] 항-hPG 단클론 항체에 의한 처리는 대조용 항체에 의한 처리에 비해 CSC 빈도를 감소시킨다.

[0240] 3.4. 암 줄기세포 빈도에 대한 항-hPG 인간화된 항체의 중화 활성

[0241] · 구 형성 분석

[0242] PG에 대한 인간화된 항체를 구 형성 분석을 사용하여 Caov-3, ES-2 및 SK-OV-3 세포주 중 암 줄기세포(CSC) 빈도를 감소시키는 그의 능력에 대해 시험한다.

[0243] 각각의 실험을 위해서, 500 세포를 24-웰 초저 부착(ULA)에 시팅한다. 상기 세포를 M11 배지(Macari et al, Oncogene, 2015)를 갖는 ULA 플레이트에서 10일 이하로 배양하고 3 또는 4일마다 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 인간화된 대조용 항체(항-인간 FcG1, 바이오엑셀로부터)(CT Hz) 또는 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 항-hPG Hz(PG Hz)로 처리하며, 여기에서 상기 Hz는 C-말단 항-hPG 인간화된 항체 또는 N-말단 항-hPG 인간화된 항체이다.

[0244] 구체적으로, 상기 배양 단계의 끝에서, 상기 웰들을 명시야 현미경을 통해 사진촬영하고, 상기 사진을 분석하고 30 μm 초과의 평균 직경을 갖는 구를 카운트한다.

[0245] 항-hPG 인간화된 항체에 의한 처리는 대조용 항체에 의한 처리에 비해 CSC 빈도를 감소시킨다.

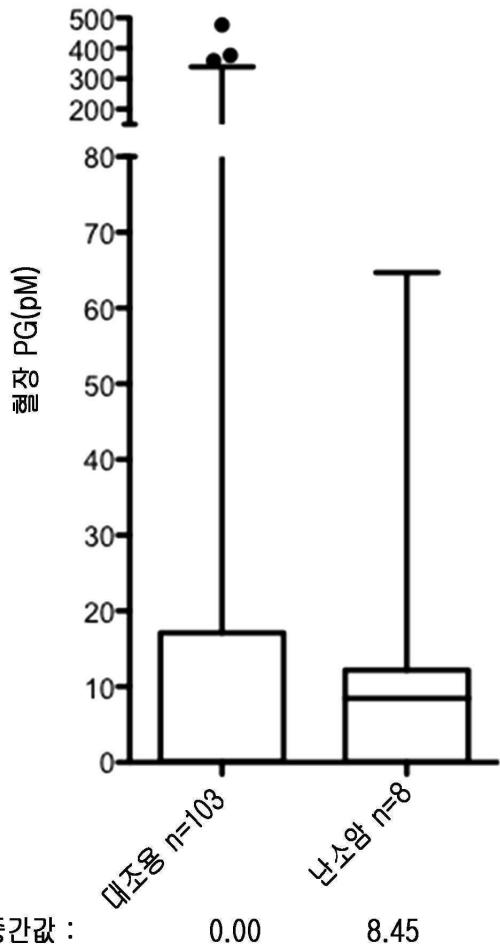
[0246] · 극단 제한 회석 분석

- [0247] PG에 대한 인간화된 항체를, 극단 제한 회석 분석(ELDA)을 사용하여 PA-1, Caov-3, SW626 및 SK-OV-3 세포주에서 암 줄기세포(CSC) 빈도를 감소시키는 그의 능력에 대해 시험한다. 각각의 PA-1, Caov-3, SW626 및 SK-OV-3 세포주로부터의 CSC 빈도를 상이한 항-hPG 인간화된 항체를 사용하여 시험한다.
- [0248] 각각의 실험을 위해서, 세포를 FACS 아리아 유식 세포계를 사용하여 웰당 고정된 세포 농도로 초저 부착(ULA) P96(96-웰 플레이트)에 시딩하고, 웰당 1 내지 500 세포의 일련의 농도를 사용한다. 상기 세포를 M11 배지 (Macari et al, Oncogene, 2015)를 갖는 ULA 플레이트에서 11일 이하로 배양하고 3 또는 4일마다 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 인간화된 대조용 항체(항-인간 FcG1, 바이오액셀로부터)(CT Hz) 또는 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 항-hPG Hz로 처리하며, 여기에서 상기 Hz는 C-말단 항-hPG 인간화된 항체 또는 N-말단 항-hPG 인간화된 항체이다.
- [0249] 구체적으로, 상기 배양 단계의 끝에서, 상기 플레이트를 상-콘트라스트 현미경으로 관찰하고 세포 농도당 양성 웰의 수를 평가한다. 최종적으로, ELDA 웹툴(<http://www.bioinf.wehi.edu.au/software/elda/>)을 사용하여 각 처리 그룹의 CSC 빈도를 계산하고 그룹들간의 임의의 통계학적 차이에 대해 시험한다(변형된 카이-제곱 검정).
- [0250] 항-hPG 인간화된 항체에 의한 처리는 대조용 항체에 의한 처리에 비해 CSC 빈도를 감소시킨다.
- [0251] 3.5. WNT/β-카테닌 경로에 대한 항-hPG 단클론 항체의 중화 활성
- [0252] PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3은 난소암 연구에 통상적으로 사용되는 세포주이며, 프로가스트린을 생산 및 분비한다. PG에 대한 단클론 항체를, 판독결과로서, 주지된 WNT/β-카테닌 경로 표적화된 유전자, 설비빈 단백질의 발현을 사용하여 이를 상이한 세포주들에서 상기 WNT/β-카테닌 경로를 억제하는 그의 능력에 대해 시험한다. 각각의 PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3 세포주로부터의 설비빈 발현을 상이한 항-hPG 단클론 항체를 사용하여 시험한다.
- [0253] 각각의 실험을 위해서, 50,000 세포를 6-웰 플레이트 중의 송아지 태아 혈청을 함유하는 배지에 시딩하고 8시간 동안 배양한다. 세포를 밤새 혈청-차단하고, 시딩후 24시간째에 출발하여, 세포를 송아지 태아 혈청의 부재하에서 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 단클론 대조용 항체(단클론 항체 항-퓨로마이신)(CT mAb) 또는 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 항-hPG mAb로, 72시간 동안 12h마다 4회 반복 처리하며, 여기에서 상기 mAb는 C-말단 항-hPG 단클론 항체 또는 N-말단 항-hPG 단클론 항체이다.
- [0254] 구체적으로, 72시간의 처리 후에 세포를 수확하고 전체 단백질을 RIPA 완충제를 사용하여 추출한다. 이어서 CT mAb 또는 항-hPG mAb 처리된 세포로부터 같은 양의 단백질에 항-설비빈 항체(단클론 항체, 셀 시그널링(Cell Signaling)으로부터의 #2802) 및 로딩 대조용으로서 항-액틴 항체(단클론 항체, 시그마로부터의 #A4700)를 사용하여 웨스턴 블러트를 수행한다. 정량분석을 신진(Syngene)으로부터의 GBOX 케미 시스템을 사용하여 수행한다.
- [0255] 항-hPG 단클론 항체에 의한 처리는 대조용 항체에 의한 처리에 비해 설비빈 발현을 감소시킨다. 통계학적 유의 수준을 비-대응 스튜던츠 T-검정을 사용하여 측정한다: * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, 및 *** = $p < 0.001$.
- [0256] 3.6. WNT/β-카테닌 경로에 대한 항-hPG 인간화된 항체의 중화 활성
- [0257] PG에 대한 인간화된 항체를, 판독결과로서, 주지된 WNT/β-카테닌 경로 표적화된 유전자, 설비빈 단백질의 발현을 사용하여 PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3 세포주에서 상기 WNT/β-카테닌 경로를 억제하는 그의 능력에 대해 시험한다. 각각의 PA-1, Caov-3, SW626, ES-2 및 SK-OV-3 세포주로부터의 설비빈 발현을 상이한 항-hPG 인간화된 항체를 사용하여 시험한다.
- [0258] 각각의 실험을 위해서, 50,000 세포를 6-웰 플레이트 중의 송아지 태아 혈청을 함유하는 배지에 시딩하고 8시간 동안 배양한다. 세포를 밤새 혈청-차단하고, 시딩후 24시간째에 출발하여, 세포를 송아지 태아 혈청의 부재하에서 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 인간화된 대조용 항체(항-인간 FcG1, 바이오액셀로부터)(CT Hz) 또는 1 내지 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 항-hPG Hz로, 72시간 동안 12h마다 4회 반복 처리하며, 여기에서 상기 Hz는 C-말단 항-hPG 인간화된 항체 또는 N-말단 항-hPG 인간화된 항체이다.
- [0259] 구체적으로, 72시간의 처리 후에 세포를 수확하고 전체 단백질을 RIPA 완충제를 사용하여 추출한다. 이어서 CT Hz 또는 항-hPG Hz 처리된 세포로부터 같은 양의 단백질에 항-설비빈 항체(단클론 항체, 셀 시그널링으로부터의 #2802) 및 로딩 대조용으로서 항-액틴 항체(단클론 항체, 시그마로부터의 #A4700)를 사용하여 웨스턴 블러트를 수행한다. 정량분석을 신진으로부터의 GBOX 케미 시스템을 사용하여 수행한다.
- [0260] 항-hPG 인간화된 항체에 의한 처리는 대조용 항체에 의한 처리에 비해 설비빈 발현을 감소시킨다. 통계학적 유

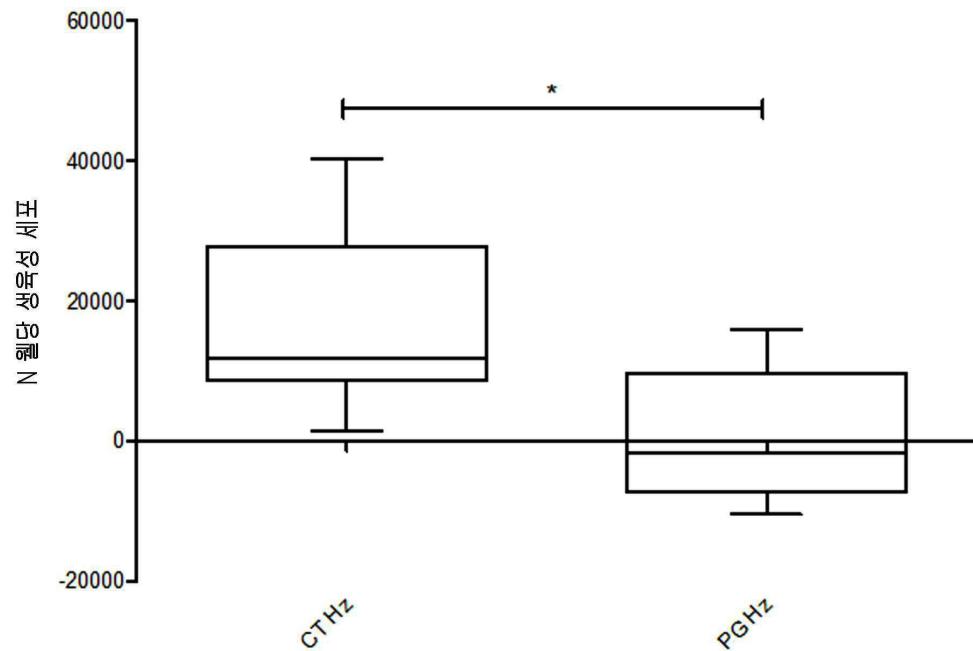
의수준을 비-대응 스튜던츠 T-검정을 사용하여 측정한다: * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, 및 *** = $p < 0.001$.

도면

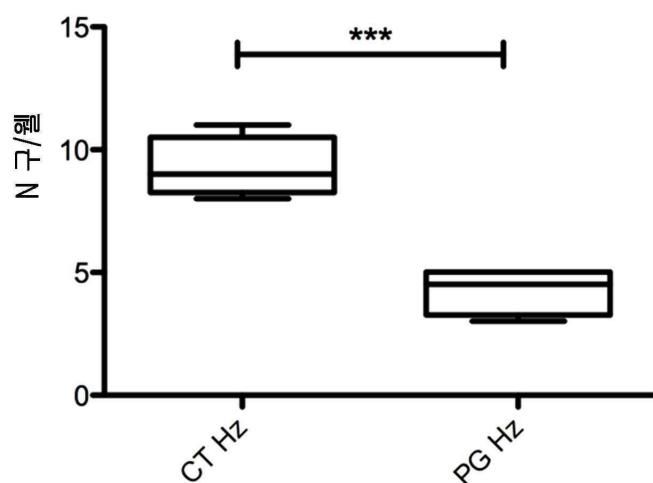
도면1



도면2



도면3



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Progastrine et Cancers S.A R.L.

<120> Compositions and methods for detecting and treating ovarian
cancer

<130> IPA180751-FR-D1

<140> PCT EP2017/050033

<141> 2017-01-02
 <150> EP 16305138.6
 <151> 2016-02-05
 <150> EP 15307192.3
 <151> 2015-12-31
 <160> 40
 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 80
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> SITE
 <222> (1)..(80)
 <223> Human progastrin
 <400> 1

Ser Trp Lys Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp Ala Pro Leu Gly Thr Gly

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

65	70	75	80
<210> 2			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> Artificial			
<220><223> Amino acids 1-14, N-terminal extremity of human progastrin			

<400> 2
 Ser Trp Lys Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp Ala Pro Leu Gly
 1 5 10

<210> 3

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Amino acids 55-80, C-terminal extremity of human progastrin

<400> 3

Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp

1 5 10 15

Phe Gly Arg Arg Ser Ala Glu Asp Glu Asn

20 25

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 6B5B11C10 CDR-H1

<400> 4

Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 6B5B11C10 CDR-H2

<400> 5

Phe Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Ser

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 6B5B11C10 CDR-H3

<400> 6

Thr Arg Arg Asp Ser Pro Gln Tyr

1 5

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 6B5B11C10 CDR-L1

<400> 7

Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 6B5B11C10 CDR-L2

<400> 8

Lys Val Ser

1

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223>

6B5B11C10 CDR-L3

<400> 9

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Phe Thr

1 5

<210> 10

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 20D2C3G2 CDR-H1

<400> 10

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Trp

1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 20D2C3G2 CDR-H2

<400> 11

Phe Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 20D2C3G2 CDR-H3

<400> 12

Ala Thr Asp Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 20D2C3G2 CDR-L1

<400> 13

Gln Ser Leu Val His Ser Ser Gly Val Thr Tyr

1 5 10

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 20D2C3G2 CDR-L2

<400> 14

Lys Val Ser

1

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 20D2C3G2 CDR-L3

<400

> 15

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr

1 5

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1E9D9B6 CDR-H1

<400> 16

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1E9D9B6 CDR-H2

<400> 17

Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr

1 5

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1E9D9B6 CDR-H3

<400> 18

Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1E9D9B6 CDR-L1

<400> 19

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 20

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1E9D9B6 CDR-L2

<400> 20

Leu Val Ser

1

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1E9D9B6 CDR-L3

<400> 21

Trp Gln Gly Thr His Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1B3B4F11 CDR-H1

<400> 22

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala

1 5

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1B3B4F11 CDR-H2

<400> 23

Ile Ser Phe Ser Gly Tyr Thr

1 5

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1B3B4F11 CDR-H3

<400> 24

Ala Arg Glu Val Asn Tyr Gly Asp Ser Tyr His Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1B3B4F11 CDR-L1

<400> 25

Ser Gln His Arg Thr Tyr Thr

1 5

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1B3B4F11 CDR-L2

<400> 26

Val Lys Lys Asp Gly Ser His

1 5

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1B3B4F11 CDR-L3

<400> 27

Gly Val Gly Asp Ala Ile Lys Gly Gln Ser Val Phe Val

1 5 10

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1C10D3B9 CDR-H1

<400> 28

Gly Phe Thr Phe Thr Thr Tyr Ala

1 5

<210> 29

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1C10D3B9 CDR-H2

<400> 29

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr

1 5

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1C10D3B9 CDR-H3

<400> 30

Ala Thr Gln Gly Asn Tyr Ser Leu Asp Phe

1 5 10

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1C10D3B9 CDR-L1

<400> 31

Lys Ser Leu Arg His Thr Lys Gly Ile Thr Phe

1 5 10

<210> 32

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1C10D3B9 CDR-L2

<400> 32

Gln Met Ser

1

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 1C10D3B9 CDR-L3

<400> 33

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 2C6C3C7 CDR-H1

<400> 34

Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 35

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 2C6C3C7 CDR-H2

<400> 35

Ile Asn Thr Phe Gly Asp Arg Thr

1 5

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 2C6C3C7 CDR-H3

<400> 36

Ala Arg Gly Thr Gly Thr Tyr

1 5

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 2C6C3C7 CDR-L1

<400> 37

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 2C6C3C7 CDR-L2

<400> 38

Leu Val Ser

1

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> 2C6C3C7 CDR-L3

<400> 39

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gln Thr

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Amino acids 71-80 of progastrin

<400> 40

Phe Gly Arg Arg Ser Ala Glu Asp Glu Asn

1

5

10