



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0086536
(43) 공개일자 2017년07월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/50 (2017.01) *A61K 31/395* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/48384 (2013.01)
A61K 31/395 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7014576
- (22) 출원일자(국제) 2015년12월02일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2017년05월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/063510
- (87) 국제공개번호 WO 2016/090038
국제공개일자 2016년06월09일
- (30) 우선권주장
62/087,184 2014년12월03일 미국(US)

- (71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
브라운, 에릭
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
하젠보스, 우터
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 54 항

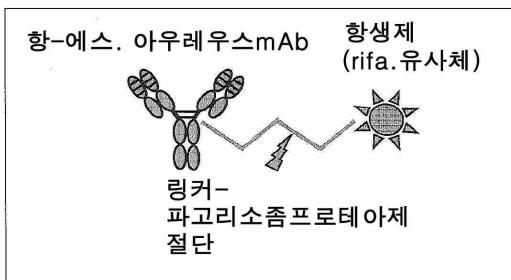
(54) 발명의 명칭 항-스타필로코커스 아우레우스 항체 리파마이신 접합체 및 이의 용도

(57) 요 약

본 발명은 항-스타필로코커스 아우레우스 항체 리파마이신 항생제 접합체 및 이를 사용하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도2

- TAC의 개념:
항생제는 파고리소좀프로테아제에 의해 TAC로부터 방출된다



(52) CPC특허분류

A61K 47/48507 (2013.01)

A61K 47/48715 (2013.01)

(72) 발명자

호트겔, 이시드로

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

카지하라, 김별리

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

레하르, 소피 엠.

미국 94037 캘리포니아주 몬타라 어빙 스트리트
945

마리아타산, 산지브

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

필로우, 토마스

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

스타벤, 리안나

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

베르마, 비살

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

웨이, 빙청

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

쉬, 민

미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커에 의해 리파마이신형 항생제에 공유적으로 부착된 항-벽 테이코산 (WTA) 항체를 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



여기서:

Ab는 항-벽 테이코산 항체이고;

PML은 하기 화학식을 갖는 프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커이고:



여기서, Str은 스트레쳐 유닛이고; PM은 펩티도모사체 유닛이고, Y는 스페이서 유닛이고;

abx는 리파마이신형 항생제이고;

p는 1 내지 8의 정수이다.

청구항 3

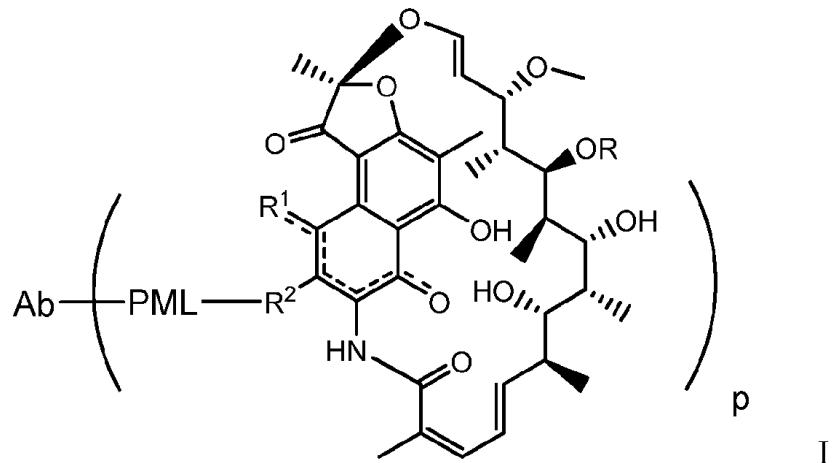
청구항 2에 있어서, 상기 리파마이신형 항생제가 리팔라질형 항생제인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 상기 리파마이신형 항생제가 프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커에 부착된 4급 아민을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 5

청구항 2에 있어서 화학식 I를 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



여기서:

파선은 임의의 결합을 지적하고;

R은 H, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 C(O)CH₃이고;

R¹은 OH이고;

R²는 CH=N-(헥테로사이클릴)이고, 여기서, 상기 헥테로사이클릴은 임의로 C(O)CH₃, C₁-C₁₂ 알킬, C₁-C₁₂ 헥테로아릴, C₂-C₂₀ 헥테로사이클릴, C₆-C₂₀ 아릴, 및 C₃-C₁₂ 카보사이클릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 그룹으로 치환되거나;

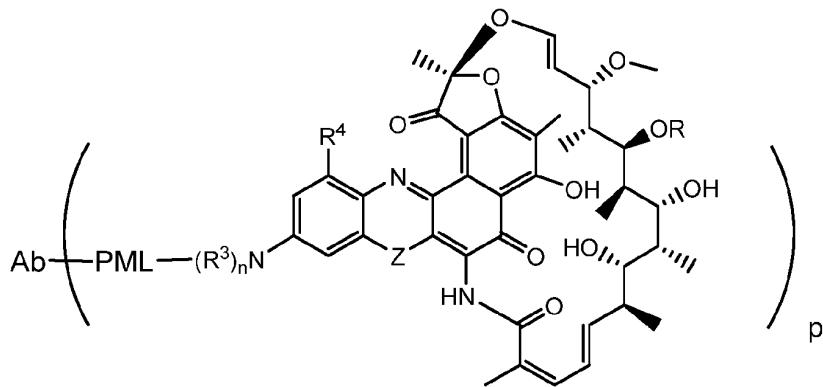
R¹ 및 R²는 5원 또는 6원 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴을 형성하고, 임의로 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴, 또는 카보사이클릴 환을 형성하고, 여기서, 상기 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴 또는 카보사이클릴 환은 임의로 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 OH로 치환되고;

PML은 R² 또는 R¹ 및 R²에 의해 형성된 융합된 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴에 부착된 프로테아제-절단 가능한, 비-펩타이드 링커이고;

Ab는 항-벽 테이코산(WTA) 항체이다.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



여기서,

R³은 H 및 C₁-C₁₂ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

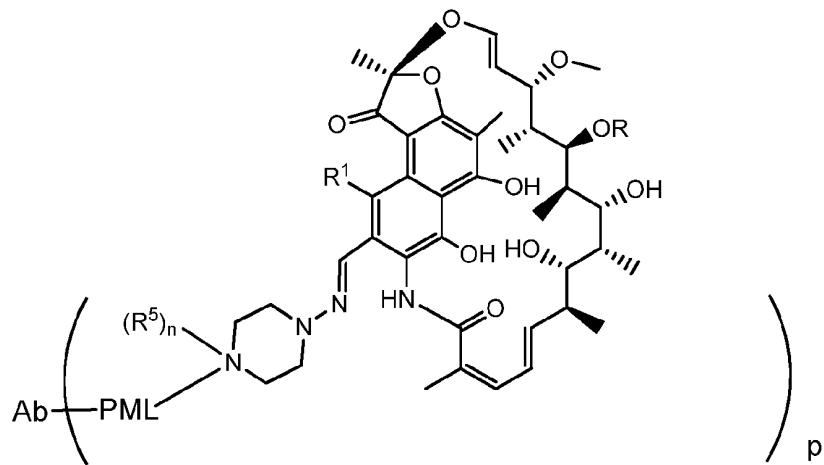
n은 1 또는 2이고;

R⁴은 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 및 OH로부터 선택되고;

Z는 NH, N(C₁-C₁₂ 알킬), O 및 S로부터 선택된다.

청구항 7

청구항 2에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



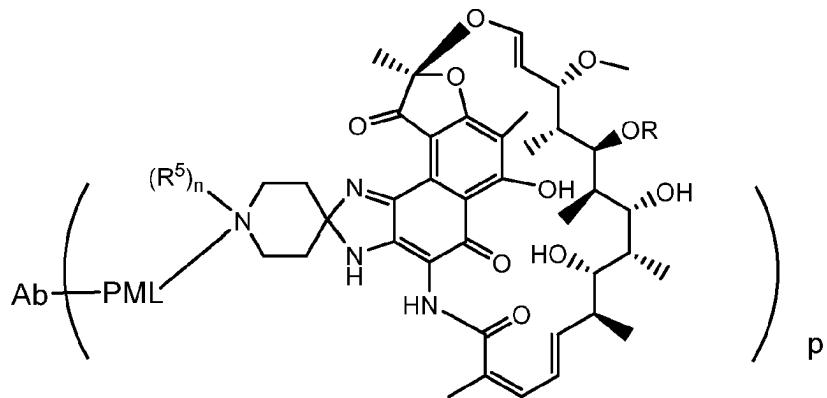
여기서,

R^5 는 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 선택되고;

n은 0 또는 1이다.

청구항 8

청구항 2에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



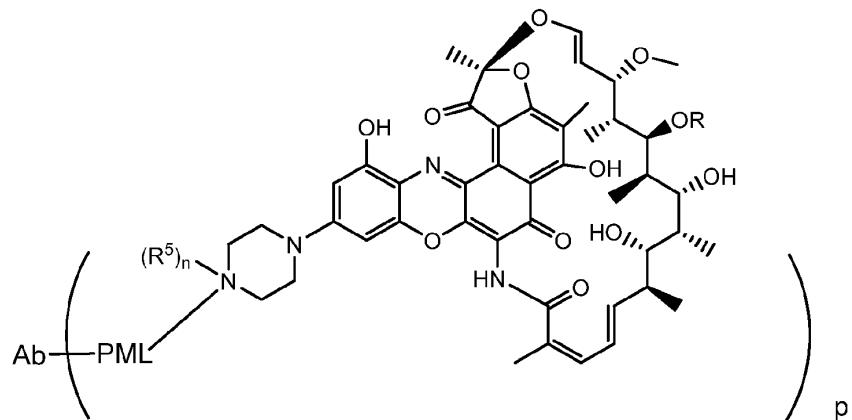
여기서,

R^5 는 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 선택되고;

n은 0 또는 1이다.

청구항 9

청구항 2에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



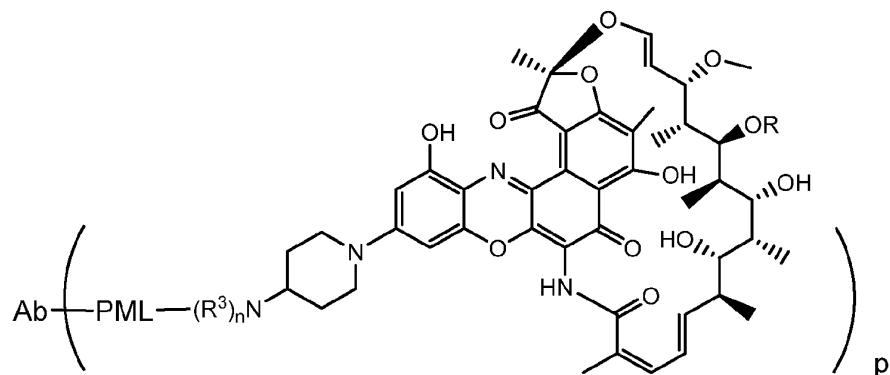
여기서,

R^5 은 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

n은 0 또는 1이다.

청구항 10

청구항 2에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



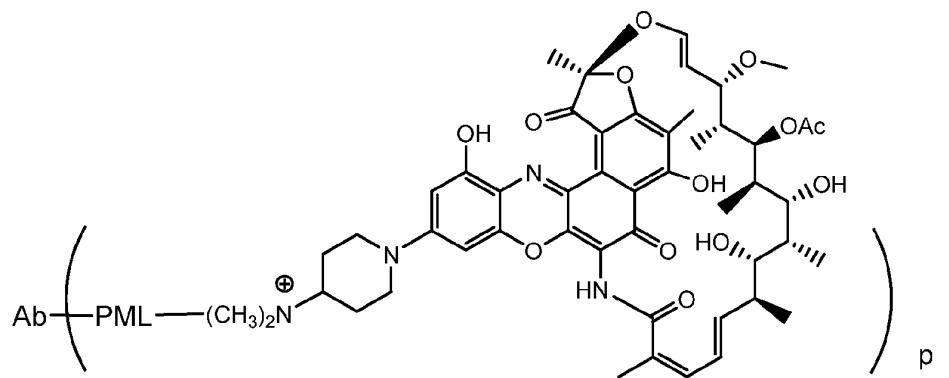
여기서,

R^3 은 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

n은 1 또는 2이다.

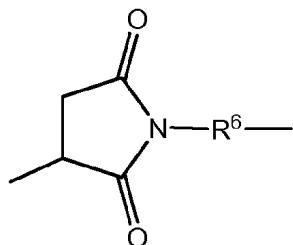
청구항 11

청구항 10에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



청구항 12

청구항 2에 있어서, Str^o이 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



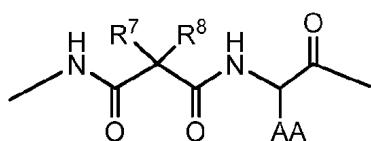
여기서, R⁶은 C₁-C₁₂ 알킬렌, C₁-C₁₂ 알킬렌-C(=O), C₁-C₁₂ 알킬렌-NH, (CH₂CH₂O)_r, (CH₂CH₂O)_r-C(=O), (CH₂CH₂O)_r-CH₂, 및 C₁-C₁₂ 알킬렌-NHC(=O)CH₂CH(티오펜-3-일)로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 여기서, r은 1 내지 10 범위의 정수이다.

청구항 13

청구항 12에 있어서, R⁶이 (CH₂)₅인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 14

청구항 2에 있어서, PM이 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



여기서, R⁷ 및 R⁸은 함께 C₃-C₇ 사이클로알킬 환을 형성하고,

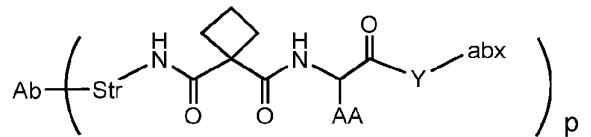
AA는 H, -CH₃, -CH₂(C₆H₅), -CH₂CH₂CH₂NH₂, -CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂, -CHCH(CH₃)CH₃, 및 -CH₂CH₂CH₂NHC(O)NH₂로부터 선택되는 아미노산 측쇄이다.

청구항 15

청구항 2에 있어서, Y가 파라-아미노벤질 또는 파라-아미노벤질옥시카보닐을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

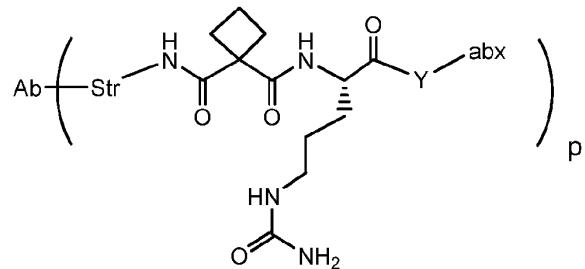
청구항 16

청구항 2에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



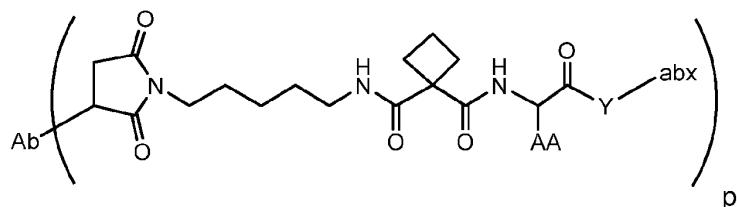
청구항 17

청구항 16에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



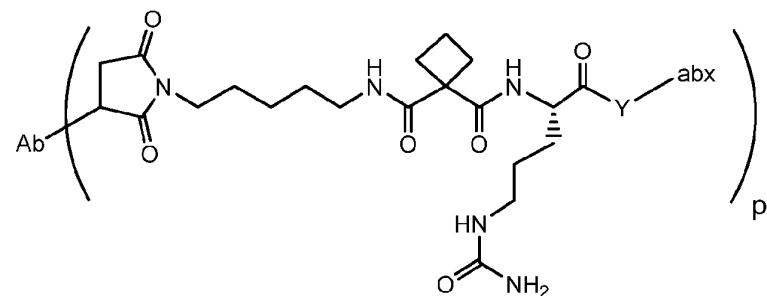
청구항 18

청구항 15에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:



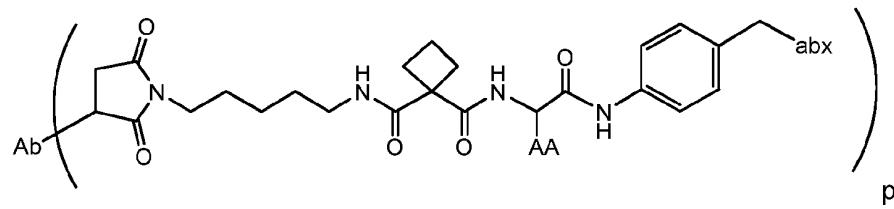
청구항 19

청구항 18에 있어서, 하기 화학식을 갖는, 항체-항생제 접합체 화합물:

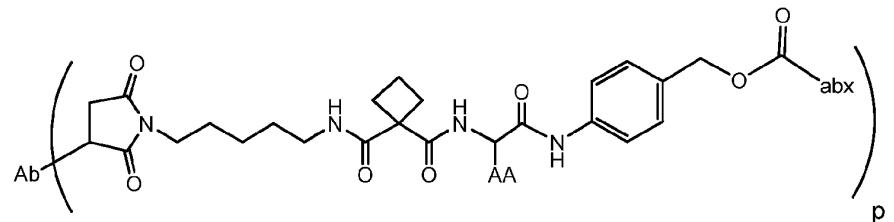


청구항 20

청구항 15에 있어서, 하기 화학식들로부터 선택되는, 항체-항생제 접합체 화합물:

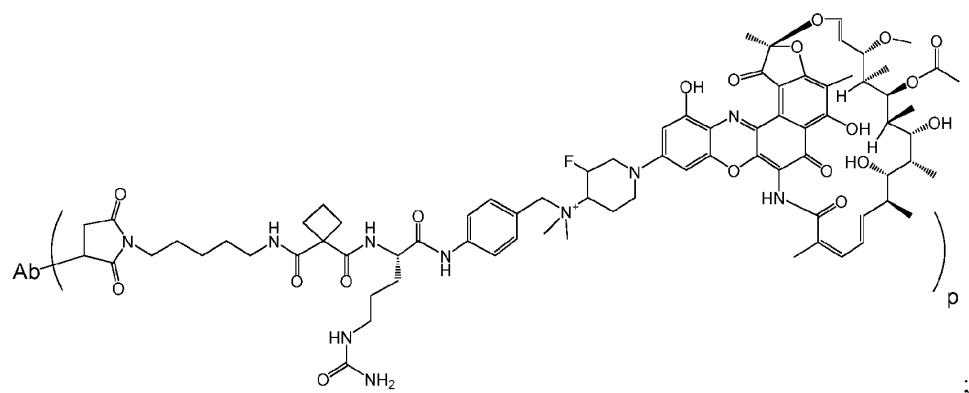


및

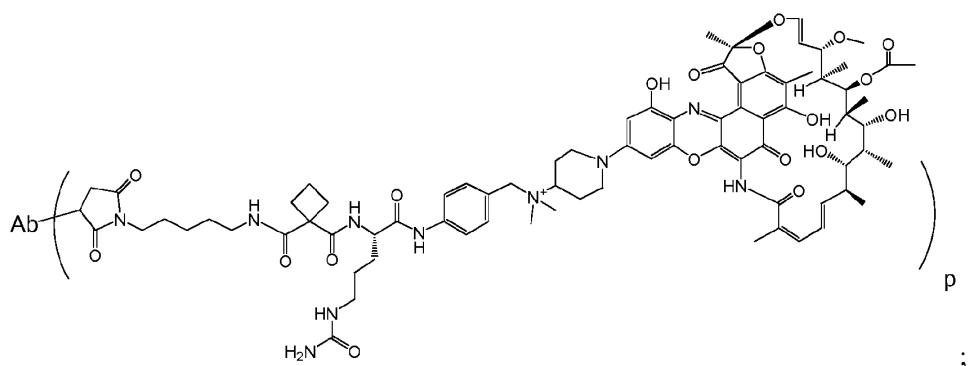


청구항 21

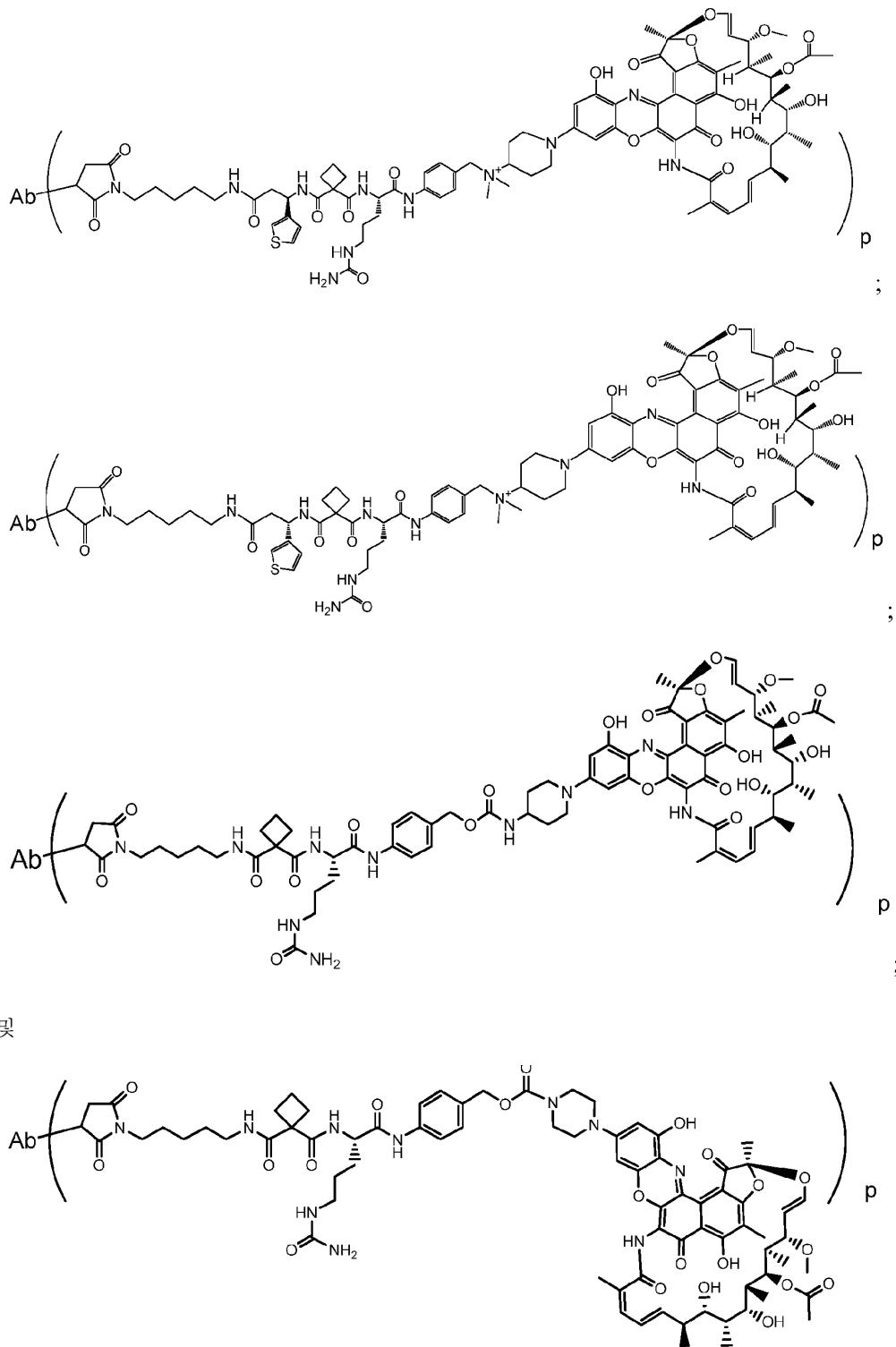
청구항 16에 있어서, 하기 화학식들로부터 선택되는, 항체-항생제 접합체 화합물:



;



;



청구항 22

청구항 1에 있어서, 상기 항체가 항-WTA α 모노클로날 항체인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 23

청구항 22에 있어서, 상기 항-벽 테이코산 (WTA) 항체가 경(L)쇄 및 중(H)쇄를 포함하는 단리된 모노클로날 항체이고, 상기 L쇄는 CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3을 포함하고 상기 H쇄는 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 포함하고, 여기서, CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3 및 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3은 Abs 4461 각각의 CDR의 아미노산 서열 (서열번호 1-6), 4624 (서열번호 7-12), 4399 (서열번호 13-18), 및 6267 (서열번호 19-24)을 포함하고, 이의 각각은 표 1A 및 1B에 나타낸, 항체-항생제 접합체.

청구항 24

청구항 22에 있어서, 상기 항-벽 테이코산 (WTA) 항체가 중쇄 가변 영역 (VH)를 포함하고, 상기 VH가 항체 4461, 4624, 4399, 및 6267 각각의 서열번호 26, 서열번호 28, 서열번호 30, 서열번호 32의 VH 서열로부터 선택된 VH 영역의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하는, 항체-항생제 접합체.

청구항 25

청구항 24에 있어서, L쇄 가변 영역 (VL)을 추가로 포함하는 항체-항생제 접합체로서, 여기서, 상기 VL이 항체 4461, 4624, 4399, 및 6267 각각의 서열번호 25, 서열번호 27, 서열번호 29, 서열번호 31의 VL 서열로부터 선택된 VL 영역의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하는, 항체-항생제 접합체.

청구항 26

청구항 1에 있어서, 상기 항체가 항-WTA β 모노클로날 항체인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 경쇄 및 H쇄를 포함하고, 상기 L쇄는 CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3을 포함하고 상기 H쇄는 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 포함하고, 여기서, 상기 CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3 및 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3은 도 12에 나타낸 바와 같은 Ab 각각의 상응하는 CDR의 아미노산 서열 (서열번호 33-110)을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 28

청구항 26에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 L쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고, 상기 VL이 카밧 위치 1 내지 107에서 도 15a-1, 15a-2, 15a-3에 나타낸 바와 같이 항체 6078, 6263, 4450, 6297, 6239, 6232, 6259, 6292, 4462, 6265, 6253, 4497, 및 4487 각각에 상응하는 VL 서열로부터 선택된 VL 영역의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 29

청구항 28에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 중쇄 가변 영역 (VH)을 추가로 포함하고, 여기서, 상기 VH는 카밧 위치 1 내지 113에서 도 15b-1 내지 15b-6에 나타낸 바와 같은 항체 6078, 6263, 4450, 6297, 6239, 6232, 6259, 6292, 4462, 6265, 6253, 4497, 및 4487 각각에 상응하는 VH 서열로부터 선택되는 VH 영역의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 상기 VL이 서열번호 111의 서열을 포함하고 VH가 서열번호 112의 서열을 포함하고, 여기서, X가 Q 또는 E이고 X_i는 M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 31

청구항 26에 있어서, 상기 항체 경쇄가 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 115의 서열을 포함하고 상기 H쇄가 서열번호 116의 서열을 포함하고, 여기서, X가 M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 32

청구항 26에 있어서, 상기 항체 경쇄가 서열번호 113의 서열을 포함하고 상기 H쇄가 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서, X가 M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 33

청구항 26에 있어서, 상기 항체 경쇄가 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 115의 서열을 포함하고, 상기 H쇄가 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서, X가 M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 34

청구항 26에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 상기 VH가 서열번호 156의 VH의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하고 상기 VL이 서열번호 119의 VL의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 35

청구항 26에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 서열번호 156의 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 119의 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 36

청구항 26에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 서열번호 121의 서열을 포함하는 L쇄 및 서열번호 124의 서열을 포함하는 H쇄를 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 37

청구항 26에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 서열번호 123의 서열을 포함하는 L쇄 및 서열번호 157의 서열을 포함하는 H쇄를 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 38

청구항 26에 있어서, 상기 항-WTA β 항체가 서열번호 123의 서열을 포함하는 L쇄 및 서열번호 124의 서열을 포함하는 H쇄를 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 39

청구항 1에 있어서, 상기 항체가 다음을 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물: i) 서열번호 99 내지 104의 L쇄 및 H쇄 CDR 또는 서열번호 33 내지 38의 L쇄 및 H쇄 CDR; 또는 ii) 서열번호 119 또는 서열번호 123의 VL (이는 서열번호 120 또는 서열번호 156의 VH와 쌍을 이룬다); 또는 iii) 서열번호 112의 VH와 쌍을 이루는 서열번호 111의 VL.

청구항 40

청구항 1에 있어서, 상기 항-벽 테이코산(WTA) 항체가 스타필로코커스 아우레우스에 결합하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 41

청구항 1 내지 40 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 항체가 F(ab) 또는 F(ab')₂인, 항체-항생제 접합체 화합물.

청구항 42

청구항 1에 따른 항체-항생제 접합체 화합물 및 약제학적으로 허용되는 담체, 활주제, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 43

청구항 1의 치료학적 유효량의 항체-항생제 접합체 화합물을 환자에게 투여함을 포함하는, 환자에서 세균 감염을 치료하는 방법.

청구항 44

숙주 세포를 사멸시키는 것 없이 청구항 1의 항-WTA-항생제 접합체를 투여함에 의해 스타프 아우레우스 감염된 환자의 세포에서 세포내 스타프 아우레우스를 사멸시키는 방법.

청구항 45

리파마이신형 항생제를 항-벽 테이코산(WTA) 항체에 접합시킴을 포함하는, 청구항 1의 항체-항생제 접합체 화합물을 제조하는 방법.

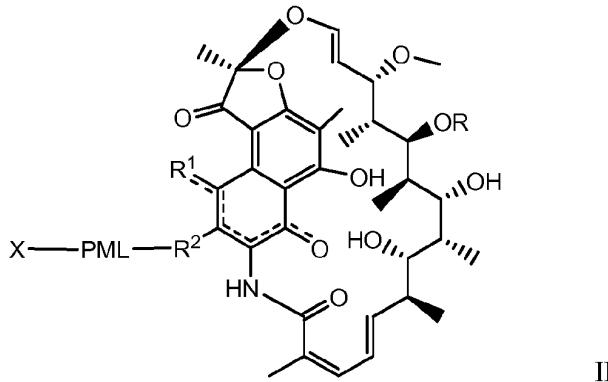
청구항 46

다음을 포함하는 세균 감염을 치료하기 위한 키트:

- a) 청구항 23의 약제학적 조성물; 및
- b) 사용 지침서.

청구항 47

화학식 II를 갖는 항생제-링커 중간체:



여기서:

파선은 임의의 결합을 지적하고;

R은 H, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 C(O)CH₃이고;

R¹은 OH이고;

R²는 CH=N-(헵테로사이클릴)이고, 여기서, 상기 헵테로사이클릴은 임의로 C(O)CH₃, C₁-C₁₂ 알킬, C₁-C₁₂ 헵테로아릴, C₂-C₂₀ 헵테로사이클릴, C₆-C₂₀ 아릴, 및 C₃-C₁₂ 카보사이클릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 그룹으로 치환되거나;

R¹ 및 R²는 5원 또는 6원 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴을 형성하고, 임의로 스피로 또는 융합된 6원 헵테로아릴, 헵테로사이클릴, 아릴, 또는 카보사이클릴 환을 형성하고, 여기서, 상기 스피로 또는 융합된 6원 헵테로아릴, 헵테로사이클릴, 아릴 또는 카보사이클릴 환은 임의로 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 OH로 치환되고;

PML은 R² 또는 R¹ 및 R²에 의해 형성된 융합된 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴에 부착된 프로테아제-절단가능한 비-펩타이드 링커이고, 하기 화학식을 가지며:

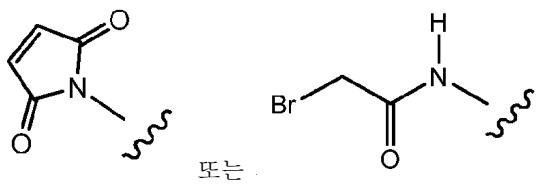


여기서, Str은 스트레쳐 유닛이고; PM은 펩티도모사체 유닛이고, Y는 스페이서 유닛이고;

X는 말레이미드, 티올, 아미노, 브로마이드, 브로모아세트아미도, 요오도아세트아미도, p-톨루엔설포네이트, 요오다이드, 하이드록실, 카복실, 피리딜 디설파이드, 및 N-하이드록시숙신이미드로부터 선택되는 반응성 기능성 그룹이다.

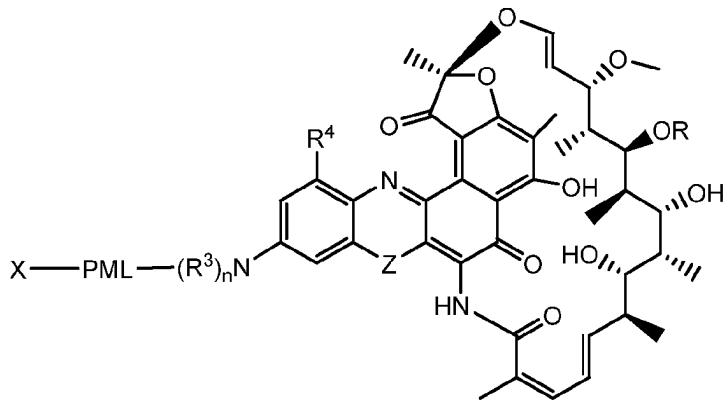
청구항 48

청구항 47에 있어서, X가 다음과 같은 항생제-링커 중간체.



청구항 49

청구항 47에 있어서, 하기 화학식을 갖는 항생제-링커 중간체:



여기서,

R^3 은 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

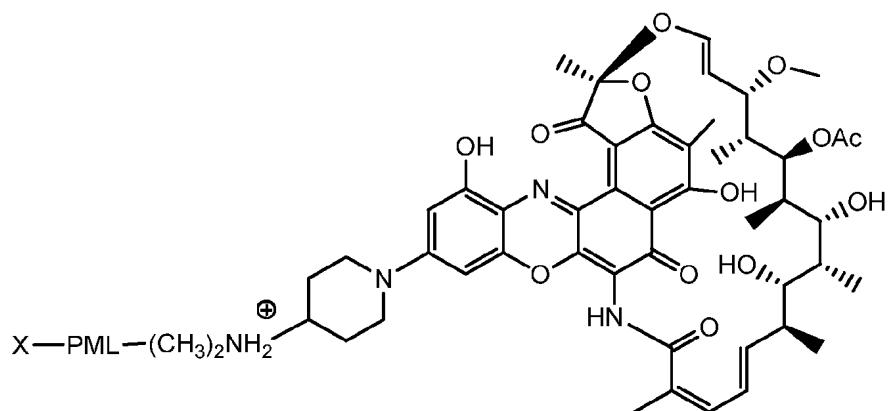
n 은 1 또는 2이고;

R^4 은 H, F, Cl, Br, I, C_1-C_{12} 알킬, 및 OH로부터 선택되고;

Z는 NH, N(C_1-C_{12} 알킬), O 및 S로부터 선택된다.

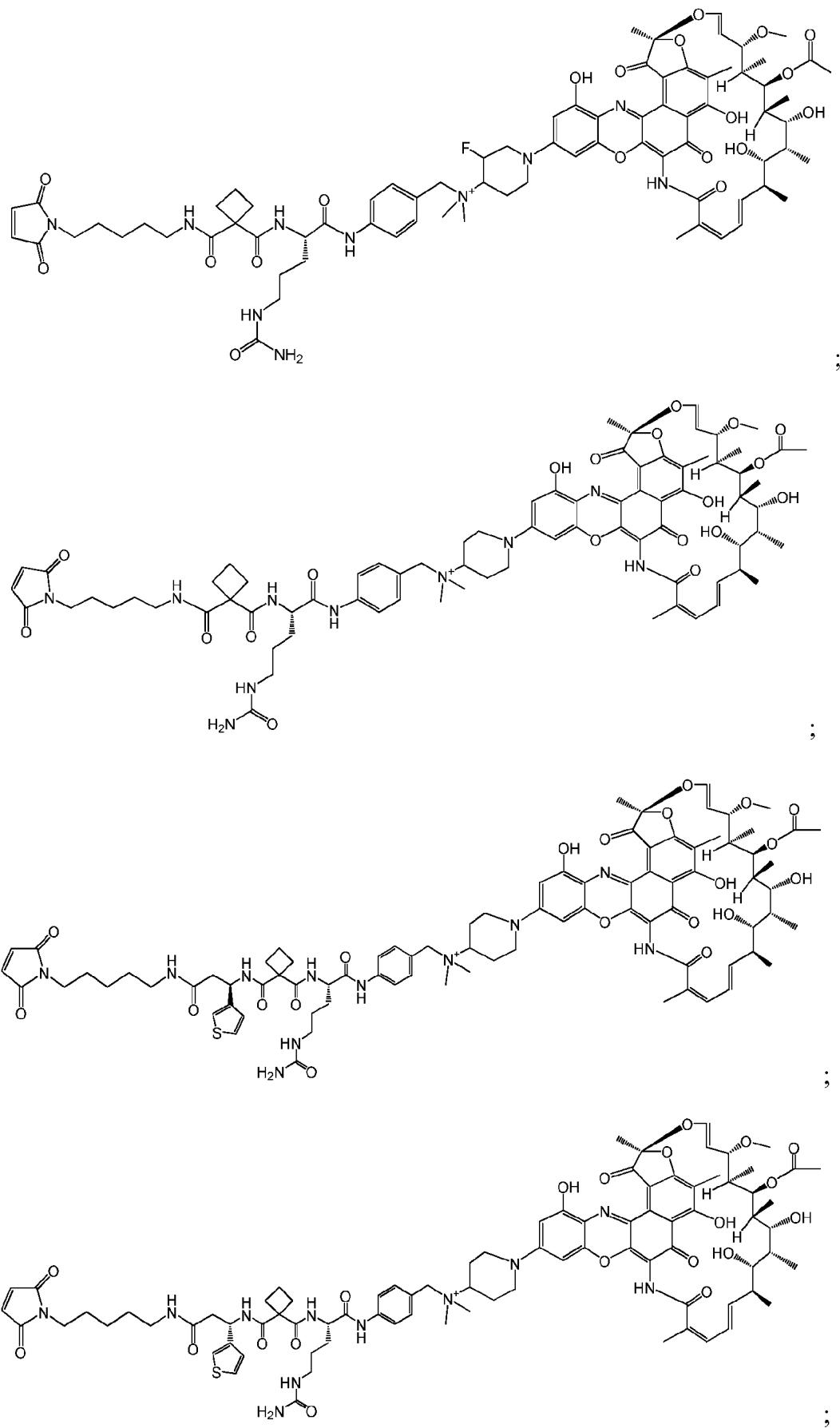
청구항 50

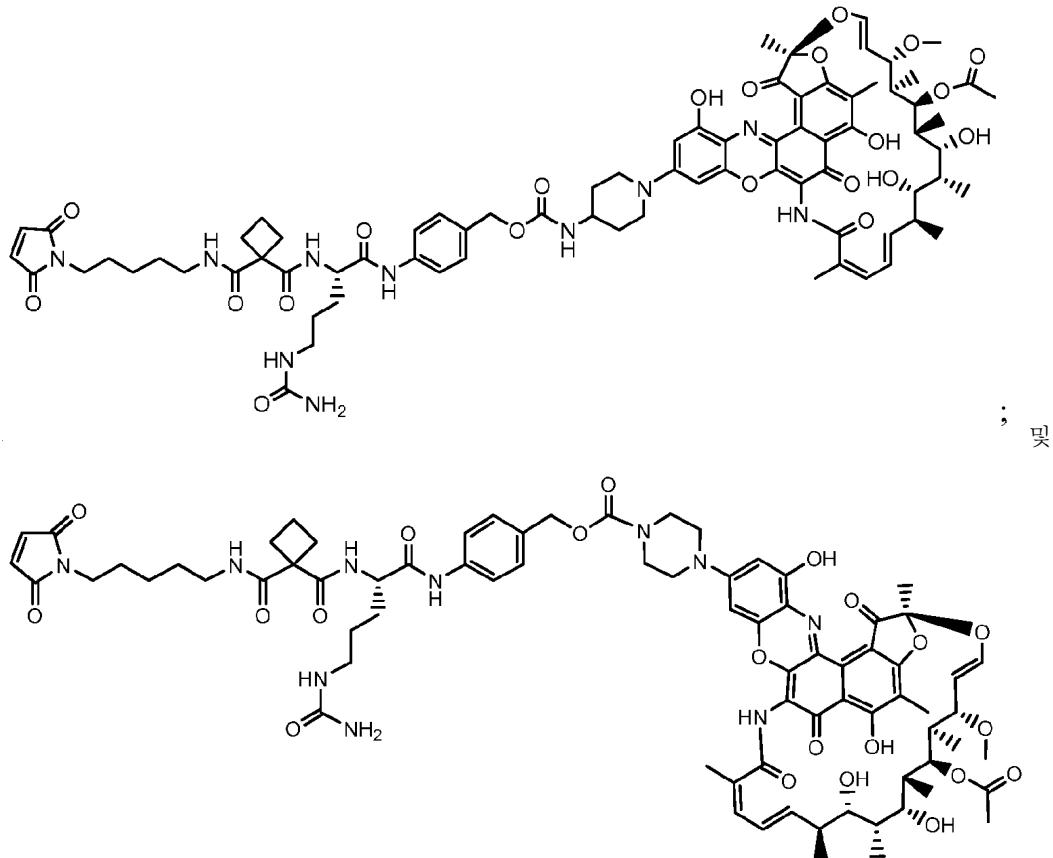
청구항 47에 있어서, 하기 화학식을 갖는 항생제-링커 중간체:



청구항 51

청구항 47에 있어서 하기 화학식으로부터 선택되는 항생제-링커 중간체:





청구항 52

청구항 43에 있어서, 상기 환자가 스타필로코커스 유형 세균으로 감염된, 방법.

청구항 53

청구항 52에 있어서, 상기 환자가 스타필로코커스 아우레우스로 감염된, 방법.

청구항 54

청구항 43에 있어서, 상기 항체-항생제 접합체 화합물이 약 50mg/kg 내지 100mg/kg 범위의 용량으로 환자에게 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원들에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 하기 미국 출원의 우선권을 주장한다: 가출원 번호 제62/087,184호, 상기 출원은 2014년 12월 3일자로 출원되었고 모든 목적을 위해 이의 전문은 본원에 참조로 인용된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출되고 이의 전문이 본원에 참조로 삽입된 서열 목록을 포함한다. 2015년 11월 20일자로 작성된 상기 ASCII 카피물은 P32433-W0_SL.txt로 호칭되고 크기가 190541 바이트이다.

[0005] 기술 분야

[0006] 본 발명은 리파마이신형 항생제에 접합된 항-벽 테이코산("항-WTA") 항체 및 스타필로코커스 감염의 치료에 있어서 상기 수득한 항체-항생제 접합체의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0007]

스파필로코커스 아우레우스 (에스. 아우레우스; SA)는 전세계 인간에서 세균 감염의 주요 원인이고 병원 및 사회 시설 둘다에서 주요 건강상의 문제점을 나타낸다. 그러나, 에스. 아우레우스는 전적으로 병원체는 아니고 통상적으로 건강한 개체의 외비공 및 피부에 군집해 있다. 감염이 발생하는 경우, 심내막염, 골수염, 괴사 폐렴 및 폐혈증과 같은 가장 중증의 감염들은 세균이 혈류로 전파된 후 발생한다(문헌참조: Lowy, F.D. (1998) "Staphylococcus aureus infections" *N Engl J Med* **339**, 520-532). 지난 수십년 동안, 에스. 아우레우스에 의한 감염은 모든 공지된 베타 락탐 항생제에 내성인 메티실린-내성 에스. 아우레우스 (MRSA)의 출현 및 신속한 확산으로 인해 날로 치료하기 어렵게 되었다 (문헌참조: Boucher, H. W., 등 (2009) "Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America" *Clin Infect Dis* **48**, 1-12). 침입성 MRSA 감염은 치료하기 어렵고 사망률은 ~20%이고 미국에서 감염성 제제에 의한 사망의 주요 원인이다. 반코마이신, 리네졸리드 및 담토마이신은 침입성 MRSA 감염을 치료하기 위한 소수의 선택 항생제가 되었다(문헌참조: Boucher, H., Miller, L.G. & Razonable, R. R. (2010) "Serious infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*" *Clin Infect Dis* **51** Suppl 2, S183-197). 그러나, 반코마이신에 대한 감소된 민감성 및 리네졸리드 및 담토마이신에 대한 교차 내성은 MRSA 임상 균주에서 이미 보고되었다 (문헌참조: Nannini, E., Murray, B. E. & Arias, C. A. (2010) "Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*" *Curr Opin Pharmacol* **10**, 516-521). 시간 경과에 따라, 내성을 극복하기 위해 필요한 반코마이신 용량은 신독성이 일어나는 수준으로 서서히 상향되었다. 따라서, 침입성 MRSA 감염으로부터의 사망률 및 이환율은 이를 항생제에도 불구하고 높게 유지된다.

[0008]

연구는 에스. 아우레우스가 세균 제거에 관여하는 식세포를 포함하는 포유동물 세포를 공격하고 이의 내부에서 생존할 수 있음을 밝혔다(문헌참조: Thwaites, G. E. & Gant, V. (2011) Are bloodstream leukocytes Trojan Horses for the metastasis of *Staphylococcus aureus*? *Nat Rev Microbiol* **9**, 215-222); Rogers, D.E., Tompsett, R. (1952) "The survival of staphylococci within human leukocytes" *J. ExP. Med* **95**, 209-230); Gresham, H. D., 등 (2000) "Survival of *Staphylococcus aureus* inside neutrophils contributes to infection" *J Immunol* **164**, 3713-3722); Kapral, F.A. & Shayegani, M.G. (1959) "Intracellular survival of staphylococci" *J ExP Med* **110**, 123-138; Anwar, S., 등 (2009) "The rise and rise of *Staphylococcus aureus*: laughing in the face of granulocytes" *Clin ExP Immunol* **157**, 216-224); Fraunholz, M. & Sinha, B. (2012) "Intracellular *Staphylococcus aureus*: live-in and let die" *Front Cell Infect Microbiol* **2**, 43); Garzoni, C. & Kelley, W.L. (2011) "Return of the Trojan horse: intracellular phenotype switching and immune evasion by *Staphylococcus aureus*" *EMBO Mol Med* **3**, 115-117). 에스. 아우레우스는 정맥내 감염 후 수분 이내에 숙주 식세포, 주로 호중구 및 대식세포에 의해 취득된다(문헌참조: Rogers, D.E. (1956) "Studies on Bacteremia: Mechanisms Relating to the Persistence of Bacteremia in Rabbits Following the Intravenous Injection of *Staphylococci*" *JEM* **103**, 713). 다수의 세균은 이를 세포에 의해 효과적으로 사멸되지만, 혈액 매개 식세포 내부에서 에스. 아우레우스의 불완전 제거는 이를 감염된 세포가 초기 감염 부위로부터 떨어진 세균의 전파를 위한 "트로이 목마"로서 작용하도록 할 수 있다. 실제로, 정상의 호중구 수를 갖는 환자는 감소된 호중구 수를 갖는 환자들 보다 질환이 전파되는 경향이 있을 수 있다 (문헌참조: Thwaites, G. E. & Gant, V. (2011) *supra*). 일단 조직으로 전달되는 경우, 에스. 아우레우스는 다양한 비-식세포 유형에 침입할 수 있고, 조직내에서 세포내 에스. 아우레우스는 만성 또는 재발성 감염과 관련된다. 추가로, 세포내 세균의 준최적 항생제 농도로의 노출은 항생제 내성 균주의 출현을 고무시킬수있어 이러한 임상적 문제점은 보다 심각하게 된다. 균혈증 또는 심내막염과 같은 침입성 MRSA 감염을 갖는 환자에 대한 반코마이신 또는 담토마이신을 사용한 치료는 50% 초과의 실패율과 관련되었다(문헌참조: Kullar, R., Davis, S.L., Levine, D.P. & Rybak, M.J. Impact of vancomycin exposure on outcomes in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: support for consensus guidelines suggested targets. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **52**, 975-981 (2011); Fowler, V.G., Jr. 등 Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *The New England journal of medicine* **355**, 653-665 (2006); Yoon, Y.K., Kim, J. Y., Park, D.W., Sohn, J. W. & Kim, M.J. Predictors of persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia in patients treated with vancomycin. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* **65**: 1015-1018 (2010)). 따라서, 보다 성공적인 항-스타필로코커스 치료요법은 세포 내 세균의 제거를 포함해야 한다.

- [0009] 안사마이신은 리파마이신, 리팜핀, 리팜피신, 리파부틴, 리파펜틴, 리팔라질, ABI-1657, 및 이의 유사체를 포함하는 항생제 부류이고, 이는 세균 RNA 폴리미라제를 억제하고 그람-양성 및 선택적 그람-음성 세균에 대해 예외적인 효능을 갖는다 (문헌참조: Rothstein, D.M., 등 (2003) *Expert Opin. Invest. Drugs* 12(2): 255-271; US 7342011; US 7271165).
- [0010] 면역치료요법은 에스. 아우레우스 (MRSA를 포함하는) 감염을 예방하고 치료하기 위한 것으로 보고되었다. US 2011/0262477는 MRSA에 대한 면역 반응을 자극하기 위한 백신으로서의 세균 접착 단백질 Eap, Emp 및 AdsA의 용도에 관한 것이다. WO 2000/071585는 특정 에스. 아우레우스 균주 분리물에 반응성인 분리된 모노클로날 항체를 기재하고 있다. US 2011/0059085A1은 어떠한 실제 항체를 기재하고 있지 않지만 하나 이상의 SA 캡슐 항원에 특이적인 IgM Ab를 사용하는 Ab 기반 전략을 제안한다.
- [0011] 또한 면역접합체로서 공지된 항체-약물 접합체 (ADC)는 강력한 세포독성 약물을 항원-발현 종양 세포에 표적화 시켜(문헌참조: Teicher, B. A. (2009) *Curr. Cancer Drug Targets* 9: 982-1004), 효능을 최대화하고 표적외 독성을 최소함에 의해 치료학적 지수를 증진시키는 항체 및 세포독성 약물 둘다의 이상적인 성질이 조합된 표적화된 화학치료학적 분자이다(문헌참조: Carter, P. J. 및 Senter P. D. (2008) *The Cancer J.*, 14(3): 154-169; Chari, R. V. (2008) *Acc. Chem. Res.* 41: 98-107). ADC는 링커 유닛을 통해 세포독성 약물 모이어티에 공유적으로 부착된 표적화 항체를 포함한다. 면역접합체는 약물 모이어티의 종양으로의 표적화된 전달 및 세포 내 축적을 가능하게 하고, 여기서 비접합된 약물의 전신 투여는 제거되어야 할 종양 세포 뿐만 아니라 정상 세포에 허용되지 않는 수준의 독성을 유발할 수 있다(문헌참조: Polakis P. (2005) *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 382-387).
- [0012] 패혈증을 치료하기 위해 항생제를 통해 표적 세균의 표면에 결합하는 비-특이적 면역글로불린-항생제 접합체는 문헌 (참조: US 5,545,721; US 6,660,267)에 기재되어 있다. 세균 항원(예를 들어, SA 캡슐 폴리사카라이드)에 특이적인 항원 결합 부분을 갖지만 세균 Fc-결합 단백질, 예를 들어, 스타필로코커스 단백질 A와 반응하는 불변 영역이 부재인 항생제-접합된 항체가 문헌(참조: US 7569677)에 기재되어 있다.
- [0013] MRSA의 통상적인 항생제에 대한 놀라운 내성을 및 침입성 MRSA 감염으로 비롯되는 사망률 및 이환율의 관점에서, 에스. 아우레우스 감염을 치료하기 위한 새로운 치료제에 대한 큰 필요성이 충족되고 있지 않다. 본 발명은 상기 필요성을 충족하고 하기 상세한 설명으로부터 자명하게 될 추가의 이점을 제공하는 것 뿐만 아니라 현 치료학적 조성물의 한계를 극복하는 조성물 및 방법을 제공한다.
- [0014] **발명의 요약**
- [0015] 본 발명은 세포내 세균의 제거를 포함하는 특유의 치료제를 제공한다. 본 발명은 반코마이신과 같은 통상의 항생제가 실패한 경우 상기 치료제가 생체내 효과적임을 입증한다.
- [0016] 본 발명은 하나 이상의 리파마이신형 항생제 모이어티로의 공유적 부착에 의해 접합된 항체를 포함하는, "항체-항생제 접합체" 또는 "AAC")로 언급되는 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명의 한 양상은 프로테아제-절단가능한 비-펩타이드 링커에 의해 리파마이신형 항생제에 공유적으로 부착된 항-벽 테이코산(WTA) 항체를 포함하는 항체-항생제 접합체 화합물이다.
- [0018] 본 발명의 예시적 구현에는 하기 화학식을 갖는 청구항 1의 항체-항생제 접합체이다:
- Ab-(PML-abx)_p**
- [0019]
- [0020] 여기서:
- [0021] Ab는 항-벽 테이코산 항체이고;
- [0022] PML은 하기 화학식을 갖는 프로테아제-절단가능한 비-펩타이드 링커이다:
- Str-PM-Y-**
- [0023]
- [0024] 여기서, Str은 스트레쳐 유닛이고; PM은 펩티도모사체 유닛이고, Y는 스페이서 유닛이고;
- [0025] abx는 리파마이신형 항생제이고;

- [0026] p는 1 내지 8의 정수이다.
- [0027] 임의의 이전의 구현예의 항체-항생제 접합체 화합물은 본원에 기재된 항-벽 테이코산 (WTA) Ab 중 임의의 하나를 포함할 수 있다. 이들 항-WTA 항체는 스타필로코커스 아우레우스에 결합한다. 하나의 구현예에서, 항체는 항-WTA a 모노클로날 항체이다. 예시적인 항-WTA a 항체에서, Ab는 경(L)쇄 및 중(H)쇄를 포함하는 모노클로날 항체이고, 상기 L 쇄는 CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3을 포함하고 H쇄는 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 포함하고, 여기서, 상기 CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3 및 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3은 하기 Ab의 각각의 CDR의 아미노산 서열을 포함한다: Abs 4461 (서열번호 1-6), 4624 (서열번호 7-12), 4399 (서열번호 13-18), 및 6267 (서열번호 19-24)을 포함하고, 이의 각각은 표 1A 및 1B에 나타낸, 항체-항생제 접합체.
- [0028] 일부 구현예에서, 항-WTA 항체는 중쇄 가변 영역(VH)를 포함하고, 여기서, VH는 항체 4461, 4624, 4399, 및 6267 각각의 서열번호 26, 서열번호 28, 서열번호 30, 서열번호 32의 VH 서열로부터 선택된 VH 영역의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함한다. 항체는 L쇄 가변 영역(VL)을 추가로 포함할 수 있고, 여기서, 상기 VL은 항체 4461, 4624, 4399, 및 6267 각각의 서열번호 25, 서열번호 27, 서열번호 29, 서열번호 31의 VL 서열로부터 선택되는 VL 영역의 길이를 따라 적어도 95%의 서열 동일성을 포함한다.
- [0029] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항체-항생제 접합체 화합물은 항-WTA β 모노클로날 항체를 포함한다. 예시적인 항-WTA β 항체는 경쇄 및 H 쇄를 포함하고, 상기 L 쇄는 CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3을 포함하고 상기 H 쇄는 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 포함하고, 여기서, 상기 CDR L1, CDR L2, 및 CDR L3 및 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3은 도 12에 나타낸 Ab 각각의 상응하는 CDR의 아미노산 서열 (서열번호 33-110)을 포함한다.
- [0030] 본 발명의 AAC를 생성하기 위해 유용한 또 다른 항-WTA β 항체는 L 쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고, 여기서, 상기 VL은 카밧 위치 1 내지 107번에서 도 15a-1, 15a-2, 15a-3에 각각 나타낸 바와 같은 항체 6078, 6263, 4450, 6297, 6239, 6232, 6259, 6292, 4462, 6265, 6253, 4497, 및 4487 각각에 상응하는 VL 서열로부터 선택되는 VL 영역의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함한다. 상기 항체는 중쇄 가변 영역 (VH)를 추가로 포함할 수 있고, 여기서, 상기 VH는 카밧 위치 1 내지 113번에서 각각 도 15b-1 내지 15b-6에 나타낸 바와 같은 항체 6078, 6263, 4450, 6297, 6239, 6232, 6259, 6292, 4462, 6265, 6253, 4497, 및 4487 각각에 상응하는 VH 서열로부터 선택되는 VH 영역의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함한다.
- [0031] 또 다른 항-WTA β 항체에서, VL은 서열번호 111의 서열을 포함하고 VH가 서열번호 112의 서열을 포함하고, 여기서, X가 Q 또는 E이고 X₁는 M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물.
- [0032] 본 발명은 본 발명의 AAC를 생성하기 위해 유용한 항-WTA β 를 제공하고, 여기서, 상기 항체 경쇄는 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 115의 서열을 포함하고 상기 H쇄가 서열번호 116의 서열을 포함하고, 여기서, X가 is M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물. 또 다른 쌍을 형성하는 L 및 H 쇄에서, 항체 경쇄는 서열번호 113의 서열을 포함하고 상기 H쇄가 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서, X가 M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물. Cys는 L 및 H 쇄 각각으로 가공될 수 있고; 상기 WTA β 항체의 하나의 예에서, 경쇄는 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 115의 서열을 포함하고, 115의 서열을 포함하고, 상기 H쇄가 가공된 시스테인을 함유하고 서열번호 117의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서, X가 M, I 또는 V인, 항체-항생제 접합체 화합물.
- [0033] 접합을 위해 유용한 또 다른 항-WTA β 항체는 VH 및 VL을 포함하고, 여기서, 상기 VH는 서열번호 156의 VH의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하고 상기 VL이 서열번호 119의 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 구현예에서, 항-WTA β 항체는 서열번호 156 VH 및 서열번호 119의 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0034] 본 발명의 항-WTA β 항체는 서열번호 121의 서열을 포함하는 L 쇄 및 서열번호 124의 서열을 포함하는 H쇄를 포함한다. 또 다른 예에서, 항-WTA β 항체는 서열번호 123의 서열을 포함하는 L쇄 및 서열번호 157 또는 서열번호 124의 서열을 포함하는 H쇄를 포함한다.
- [0035] 다른 구현예에서, 상기 항체는 다음을 포함한다: i) 서열번호 99 내지 104의 L쇄 및 H쇄 CDR 또는 서열번호 33 내지 38의 L쇄 및 H쇄 CDR; 또는 ii) 서열번호 119 또는 서열번호 123의 VL (이는 서열번호 120 또는 서열번호 156의 VH와 쌍을 이룬다); 또는 iii) 서열번호 112의 VH와 쌍을 이루는 서열번호 111의 VL.
- [0036] 본 발명의 AAC의 일부 구현예에서, 항체는 이전의 구현예 중 어느 하나의 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0037] 이전의 구현예 중 어느 하나의 항체는 Fc 영역이 부재인 항원-결합 단편일 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는

$F(ab)$ 또는 $F(ab')$ ₂이다. 일부 구현예에서, 항체는 중쇄 불변 영역 및/또는 경쇄 불변 영역을 추가로 포함하고, 여기서, 상기 중쇄 불변 영역 및/또는 경쇄 불변 영역은 시스테인 잔기로 치환된 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄 불변 영역은 아미노산 치환 A118C 및/또는 S400C를 포함하고/하거나 경쇄 불변 영역은 아미노산 치환 V205C를 포함하고, 상기 넘버링 시스템은 EU 넘버링에 따른 것이다.

[0038] 상기된 임의의 항체의 일부 구현예에서, 상기 항체는 IgM 이소형이 아니다. 상기된 임의의 항체의 일부 구현예에서, 항체는 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgE, IgD, 또는 IgA (예를 들어, IgA1 또는 IgA2) 이소형이다.

[0039] 본 발명의 예시적 구현예는 항체-항생제 접합체 화합물 및 약제학적으로 허용되는 담체, 활주제, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이다.

[0040] 본 발명의 항-WTA-AAC는 인간 및 수의과의 스타필로코씨, 예를 들어, 에스. 아우레우스, 에스. 사프로피티쿠스 및 에스. 시뮬란스, 및 리스테리아(Listeria), 예를 들어, 리스테리아 모노사이토게네스(Listeria monocytogenes)를 처리하기 위해 효과적인 항미생물 제제로서 유용하다. 특정 양상에서, 본 발명의 AAC는 에스. 아우레우스 감염을 치료하기 위해 유용하다. 따라서, 본 발명은 또한 이전 구현예 중 어느 하나의 치료학적 유효량의 항체-항생제 접합체를 환자에게 투여함을 포함하는, 인간 또는 수의과 환자에서 스타필로코커스 감염을 치료하는 방법을 제공한다. 하나의 구현예에서, 세균 감염은 스타필로코커스 아우레우스 감염이다. 일부 구현예에서, 환자는 에스. 아우레우스 감염으로 진단되었다. 일부 구현예에서, 세균 감염을 치료하는 것은 세균 로드 또는 카운트를 감소시킴을 포함한다. 하나의 구현예에서, 치료 방법은 에스. 아우레우스를 포함하는 세균 감염이 균형증을 유도하는 환자에게 적용된다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 스타필로코스성 심내막염 또는 골수염을 치료하기 위해 사용된다. 하나의 구현예에서, 상기 항체-항생제 접합체 화합물은 약 50mg/kg 내지 100mg/kg 범위의 용량으로 감염된 환자에게 투여된다.

[0041] 또한, 상기 임의의 구현예의 항-WTA-항생제 접합체 화합물을 투여함에 의해 숙주 세포를 사멸시키는 것 없이 에스. 아우레우스 감염된 환자의 세포내에서 세포내 에스. 아우레우스를 사멸시키는 방법이 제공된다. 또 다른 방법은 퍼시스터(persister) 세균을 이전의 구현예 중 어느 하나의 AAC와 접촉시킴에 의해 생체내에서 퍼시스터 스타필로코커스 세균 세포(예를 들어, 에스. 아우레우스)를 사멸시키기 위해 제공된다.

[0042] 또 다른 구현예에서, 치료 방법은 제2 치료학적 제제를 투여함을 추가로 포함한다. 추가의 구현예에서, 제2 치료학적 제제는 일반적으로 스타프 아우레우스 또는 특히 MRSA에 대한 항생제를 포함하는 항생제이다.

[0043] 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체-항생제 접합체 화합물과 병용하여 투여되는 제2 항생제는 하기의 구조적 부류로부터 선택된다: (i) 아미노글리코사이드; (ii) 베타-락탐; (iii) 마크롤리드/사이클릭 펩타이드; (iv) 테트라사이클린; (v) 플루오로퀴놀론/플루오로퀴놀론; (vi) 및 옥사졸리디논.

[0044] 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체-항생제 접합체 화합물과 병용하여 투여되는 제2 항생제는 클린다마이신, 노보바이오신, 레타파물린, 담토마이신, GSK-2140944, CG-400549, 시타플록사신, 테이코플라닌, 트리클로란, 나프티리돈, 라데졸리드, 독소루비신, 암피실린, 반코마이신, 이미페넴, 도리페넴, 젬시타빈, 달바반신 및 아지트로마이신으로부터 선택된다.

[0045] 본원의 일부 구현예에서, 감염된 환자에서 세균 로드는 치료 후 검출가능하지 않은 수준으로 감소되었다. 하나의 구현예에서, 환자의 혈액 배양물은 치료 전 양성 혈액 배양물과 비교하여 치료 후 음성이다. 본원에 일부 구현예에서, 대상체내 세균 내성은 검출가능하지 않거나 낫다. 본원의 일부 구현예에서, 대상체는 메티실린 또는 반코마이신을 사용한 치료에 응답하지 않는다.

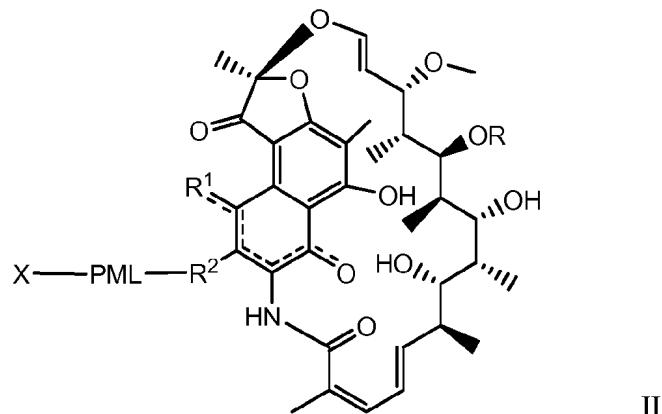
[0046] 본 발명의 예시적 구현예는 리파마이신형 항생제를 항-벽 테이코산(WTA) 항체에 접합시킴을 포함하는 항체-항생제 접합체를 제조하기 위한 방법이다.

[0047] 본 발명의 예시적 구현예는 하기를 포함하는, 세균 감염을 치료하기 위한 키트이다:

[0048] a) 항체-항생제 접합체 화합물, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 활주제, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물; 및

[0049] b) 사용 지침서.

[0050] 본 발명의 한 양상은 화학식 II를 갖는 항생제-링커 중간체이다:



[0051]

[0052] 여기서:

[0053]

파선은 임의의 결합을 지적하고;

[0054]

R은 H, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 C(O)CH₃이고;

[0055]

R¹은 OH이고;

[0056]

R²는 CH=N-(헥테로사이클릴)이고, 여기서, 상기 헥테로사이클릴은 임의로 C(O)CH₃, C₁-C₁₂ 알킬, C₁-C₁₂ 헥테로아릴, C₂-C₂₀ 헥테로사이클릴, C₆-C₂₀ 아릴, 및 C₃-C₁₂ 카보사이클릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 그룹으로 치환되거나;

[0057]

R¹ 및 R²는 5원 또는 6원 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴을 형성하고, 임의로 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴, 또는 카보사이클릴 환을 형성하고, 여기서, 상기 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴 또는 카보사이클릴 환은 임의로 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 OH로 치환되고;

[0058]

PML은 R² 또는 R¹ 및 R²에 의해 형성되는 융합된 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴에 부착되고 하기 화학식을 갖는 프로테아제 결단가능한 비-펩타이드 링커이다:

—Str—PM—Y—

[0059]

여기서, Str은 스트레쳐 유닛이고; PM은 펩티도모사체 유닛이고, Y는 스페이서 유닛이고;

[0060]

X는 말레이미드, 티올, 아미노, 브로마이드, 브로모아세트아미도, 요오도아세트아미도, p-톨루엔설포네이트, 요오다이드, 하이드록실, 카복실, 퍼리딜 디설파이드, 및 N-하이드록시숙신이미드로부터 선택되는 반응성 기능성 그룹이다.

[0062]

본원에 기재된 다양한 구현예 중 어느 하나, 일부 또는 모두가 본 발명의 다른 구현예를 형성하기 위해 조합될 수 있는 것으로 이해되어야만 한다. 본 발명의 이들 및 다른 양상은 당업자에게 자명해질 것이다.

[0063]

도면의 간단한 설명

[0064]

도 1: MRSA의 세포내 스토어는 생체내 및 시험관내에서 반코마이신으로부터 보호된다. 도 1a는 유리된 세균 (플랑크톤성) 대 세포내 세균을 생성하기 위한 실험적 디자인의 도식을 보여준다. 마우스의 4개의 코호트는 정맥내 주사에 의해 대량 동등한 용량의 생존가능한 유리된 세균 또는 세포내 세균으로 감염시키고 선택된 그룹은 감염 후 즉시 및 하루 1회 반코마이신으로 치료하였다(실시예 2 참조). 도 1b 및 도 1c는 감염시킨지 4일 후 감염된 마우스 각각의 신장 및 뇌에서 세균 로드를 보여준다. 파선은 분석을 위한 검출 한계를 지적한다. 도 1d는 MRSA가 감염가능한 세포의 단일층 상에서 배양되는 경우 반코마이신으로부터 보호됨을 보여준다. (ND = 검출되지 않음). 도 1e 및 도 1f는 MRSA가 감염가능한 세포의 단일층상에서 배양되는 경우 반코마이신의 존재하에 성장할 수 있음을 보여준다. MRSA (유리된 세균)는 배지, 배지 + 반코마이신, 또는 배지 + 반코마이신에 씨딩하였고 MG63 골아세포 (도 1e) 또는 인간 뇌 미세혈관 내피 세포 (HBMEC, 도 1f)의 단일층상에 분주하였다. 세포외 세

균 (유리된 세균)은 단독의 배지에 잘 성장하였지만, 반코마이신에 의해 사멸되었다. 포유동물 세포(세포내 + vanco)의 단일층을 함유하는 웰에서, 세균 분획은 감염 후 처음 8시간 동안에 반코마이신으로부터 보호되었고 24시간 이상 세포내 격실내에서 증식될 수 있었다. 예를 막대는 3개의 웰에 대한 표준 편차를 보여준다.

[0065] 도 2: 항체 항생제 접합체 (AAC)의 개념을 보여준다. 하나의 예에서, AAC는 에스. 아우레우스의 표면상에서 에피토프에 대해 지시된 항체로 이루어지고, 이는 강력한 리파마이신형 항생제 (예를 들어, 리팔로그)에 연결되고, 이러한 연결은 리소좀 프로테아제에 의해 절단되는 링커를 통해서이다.

[0066] 도 3은 항체-항생제 접합체 (AAC)에 대해 가능한 약물 활성화 기작을 보여준다. AAC는 항체의 항원 결합 도메인 (Fab)을 통해 세포외 세균에 결합하고 Fc-매개된 식세포작용을 통해 읍소닌작용 세균의 흡수를 촉진한다. 링커는 카텝신 B와 같은 리소좀 프로테아제에 의해 절단된다. 링커의 절단 후, 링커는 가수분해되어 파고리소좀 (phagolysosome) 내부에서 유리된 항생제를 방출한다. 유리된 항생제는 동일한 격실에 거주하는 임의의 이전에 내재화된 세균과 함께 읍소닌화되고 식세포작용을 받은 세균을 사멸시킨다.

[0067] 도 4는 세포막을 안정화시키고 접착 부위를 제공하는 벽 테이코산(WTA), 리포 테이코산(LTA) 및 펩티도글리칸 (PGN) 쉬스(sheath)의 그램 도식과 함께 에스. 아우레우스와 같은 그램-양성 세균의 세포벽을 보여준다.

[0068] 도 5는 정의하에 상세히 기재된, 벽 테이코산(WTA)의 화학적 구조 및 글리코실 변형을 보여준다.

[0069] 도 6a 및 6b는 실시예 3에 기재된 바와 같이, USA300 또는 Wood46 균주 에스. 아우레우스 균주로부터 기원하는 세포 벽 제제에 결합하는 양성 ELISA를 보여주는 mAb의 라이브리리의 1차 스크리닝 기원의 Ab의 특성을 요약한다. WTA에 결합하는 Ab 중, 4개는 WTA 알파에 특이적이고 13개는 WTA 베타에 특이적으로 결합한다.

[0070] 도 7a는 감염된 마우스 신장으로부터 직접 분리된 MRSA 상에 Alexa-488 표지된 항- β -GlcNAC WTA 또는 항- α -GlcNAC WTA 항체의 적정을 보여준다. 항-CMV-gD 항체는 항체 이소형 대조군으로서 작용하였다. 도 7b는 AAC를 생성하기 위해 사용되는 항체가 글리코실트랜스퍼라제 TarS에 의해 매개되는 벽 테이코산 상의 에피토프를 인지함을 보여준다. Wt USA300, USA300-TarM 또는 USA300-TarS 상의 항- β -GlcNAC WTA 항체 또는 이소형 대조군을 사용한 FACS 분석.

[0071] 도 8은 비-복제 MRSA를 사멸시키는 이의 능력에 대해 강력한 리파마이신형 항생제(리팔로그) 디메틸피프BOR의 선택을 보여준다.

[0072] 도 9: 항생제가 카텝신 B로 처리하여 방출되지 않는 경우 온전한 TAC (AAC의 한가지 형태)가 플랑크톤성 세균을 사멸시키지 않음을 입증하는 성장 억제 검정. TAC는 단독의 완충액 중에서 항온처리하거나 (개방 원형) 카텝신 B로 처리하였다(폐쇄된 원형). 온전한 TAC는 밤새 항온처리 후 세균 성장을 예방할 수 없었다. TAC의 카텝신 B로의 전처리는 0.06 μ g/mL의 항생제를 함유할 것으로 예측되는 6 μ g/mL의 TAC에서 세균 성장을 예방하기에 충분한 항생제 활성을 방출하였다.

[0073] 도 10은 실시예 10에 기재된 바와 같이, 에스. 아우레우스 감염된 마우스의 항-WTA-PML AAC를 사용한 처리가 누출된 항체와 비교하여 감염된 기관에서 세균 수를 크게 감소시키거나 박멸시켰다. 도 10a는 실시예 10에 기재된 바와 같이 실험 및 주사 시점의 타임라인을 보여주는 도식이다. 도 10b는 표 3의 AAC(DAR2)를 사용한 처리가 대략 7,000배까지 신장에서 세균 로드를 감소시킴을 보여준다. 도 10c는 AAC(DAR2)를 사용한 처리가 대략 500배까지 심장에서 세균 부하량을 감소시킴을 보여준다.

[0074] 도 11a는 하기의 4개의 인간 항-WTA 알파 항체의 경쇄 가변 영역(VL)의 아미노산 서열 정렬을 제공한다: 4461.4624, 4399, 6267 (각각 나타낸 순서로 서열번호 25, 27, 29 및 31). 카밧 넘버링에 따른 CDR 서열 CDRL1, L2 및 L3은 밀줄 쳐져 있다. 도 11b는 도 11a의 4개의 인간 항-WTA 알파 항체들의 중쇄 가변 영역 (VH)의 아미노산 서열 정렬을 보여준다. 카밧 넘버링에 따른 CDR 서열 CDR H1, H2 및 H3은 밀줄 쳐져 있다(각각 나타낸 순서로 서열번호 26, 28, 30 및 32).

[0075] 도 12는 13개 인간 항-WTA 베타 항체의 L 및 H쇄의 CDR 서열 (서열번호 33 내지 110)을 보여준다.

[0076] 도 13a-1 및 13a-2는 항-WTA 베타 Ab 6078 (비변형된) 및 이의 변이체, v2, v3, v4의 전장 L쇄 (경쇄) (각각 나타낸 순서로 서열번호 113, 113, 115, 113, 115, 113, 115 및 115)의 정렬을 보여준다. 카밧 넘버링에 따른 CDR 서열 CDRL1, L2 및 L3은 밀줄 쳐져 있다. 박스는 접촉 잔기, 및 카밧 및 초티아에 따른 CDR 잔기를 보여준다. 가공된 Cys를 함유하는 L쇄 변이체는 불변 영역의 말단 부근에서 블랙 박스의 C로 나타낸다(EU 잔기 번호 205). 변이체 지정, 예를 들어, v2LC-Cys는 L 쇄로 가공된 Cys를 함유하는 변이체 2를 의미한다. HCLC-Cys는 H 및 L 쇄 각각이 가공된 Cys를 함유함을 의미한다. 변이체 2, 3 및 4는 도 13b에 나타낸 바와 같이 H 쇄의 개시

부분에 변화를 갖는다.

[0077] 도 13b-1, 13b-2, 13b-3, 13b-4는 항-WTA 베타 Ab 6078 (비변형된)의 전장 H쇄 (중쇄) 및 H쇄의 처음 부분에 변화를 갖는 이의 변이체, v2, v3, v4 (나타낸 순서로 각각 서열번호 114, 139-144 및 143)의 정렬을 보여준다. 가공된 Cys를 함유하는 H쇄 변이체는 불변 영역의 하기 개시 부위에서 블랙 박스의 C로 나타낸다(이 경우에 EU 전기 번호 118에서, 이 경우에).

[0078] 도 14a-1 및 14a-2는 항-WTA 베타 Ab 4497 (비변형된)의 전장 L쇄 및 Cys 가공된 L쇄 (나타낸 순서로 각각 서열번호 121, 123, 145 및 145)의 정렬을 보여준다. 카밧 넘버링에 따른 CDR 서열 CDRL1, L2 및 L3은 밀줄 쳐져 있다. 박스는 접촉 잔기, 및 카밧 및 초티아에 따른 CDR 잔기를 보여준다. 가공된 Cys를 함유하는 L쇄 변이체는 불변 영역의 하기 말단 근처의 접선 박스에서 C로 나타낸다(이 경우에, EU 잔기 번호 205).

[0079] 도 14b-1, 14b-2, 14b-3은 가공된 Cys의 존재 또는 부재하에 항-WTA 베타 Ab 4497 (비변형된)의 전장 H쇄 및 CDR H3 위치 96에서 D가 E로 변형된 이의 v8 변이체 (나타낸 순서로 각각 SEQ ID NOS 146-147, 157 및 147)의 정렬을 보여준다. 가공된 Cys를 함유하는 H쇄 변이체는 불변 영역의 하기 개시 부위에서 블랙 박스의 C로 나타낸다(이 경우에 EU 전기 번호 118에서, 이 경우에).

[0080] 도 15a-1, 15a-2, 15a-3은 13개의 항-WTA 베타 항체의 전장 경쇄 (나타낸 순서로 각각 서열번호 113, 158-167, 121 및 168)의 아미노산 서열 정렬을 보여준다. 가변 영역 (VL)은 카밧 위치 1번 내지 107번에 걸쳐 있다. 카밧 넘버링에 따른 CDR 서열 CDRL1, L2 및 L3은 밀줄 쳐져 있다.

[0081] 도 15b-1 내지 15b-6는 도 15a-1, 15a-2, 15a-3의 13개의 인간 항-WTA 베타 항체의 전장 중쇄 (나타낸 순서로 각각 서열번호 114, 169-176, 133-134, 138 및 127)의 아미노산 서열 정렬을 보여준다. 가변 영역 (VH)은 카밧 아미노산 위치 1-113에 걸쳐 있다 카밧 넘버링에 따른 CDR 서열 CDR H1, H2 및 H3은 밀줄 쳐져 있다. 별표로 표시한 H쇄 Eu 위치 118은 약물 접합을 위해 Cys로 변화시킬 수 있다. 블랙으로 나타낸 잔기는 탈아미드화, 아스파르트산 이성체화, 산화 또는 N-연결된 당화를 회피하기 위해 항원 결합에 영향을 미치지 않는 다른 잔기들로 대체될 수 있다.

[0082] 도 16은 표시된 아미노산 위치에서 Ab 4497 및 이의 돌연변이체의 비교 및 ELISA에 의해 시험된 바와 같은 이들의 상대적 항원 결합 강도를 보여준다. 도 16은 나타낸 순서로 각각 서열번호 177, 177, 177, 178, 178, 179, 179, 180, 180 및 180을 도시한다.

[0083] 도 17은 50 mg/kg의 유리된 항체를 사용한 전처리가 정맥내 감염 모델에서 효과적이지 않음을 보여준다. Balb/c 마우스에 2×10^7 CFU의 USA300으로의 감염 30분 전 정맥내 주사에 의해 단일 용량의 비히를 대조군(PBS) 또는 50 mg/Kg의 항체를 투여하였다. 처리 그룹은 에스. 아우레우스 (gD)에 결합하지 않는 이소형 대조군 항체, 벽 테이코산 (4497)의 베타 변형에 대해 지시된 항체 또는 벽 테이코산 (7578)의 알파 변형에 대해 지시된 항체를 포함하였다. 대조군 마우스에는 복강내 주사 (Vanco)에 의해 110mg/kg의 반코마이신으로 매일 2회 처리를 제공하였다.

발명의 상세한 설명

[0085] 본 발명의 특정 구현예에 대해 상세히 기재될 것이고 이의 예는 수반된 구조 및 화학식에서 설명된다. 본 발명은 방법, 물질 및 예를 포함하는 열거된 양태와 연계하여 기재되지만 그러한 기재 내용은 비제한적이고 본 발명은 이들이 일반적으로 공지되거나 본원에 인용된 모든 다른 대안물, 변형물 및 균등물을 포함하는 것으로 의도된다. 본원에 인용된 문헌, 특히 문헌 및 유사 자료 중 하나 이상이 정의된 용어, 용법, 기재된 기술 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 본원과 상이하거나 이와 상반되는 경우 본원이 조절한다. 달리 정의되지 않은 경우, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 부문의 기술자에게 통상으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 당업자가 본 발명의 수행에 사용될 수 있는 본원에 기재된 것들과 유사하거나 균등한 많은 방법 및 물질을 인지할 것이다. 본 발명은 기재된 방법 및 물질에 어떠한 방식으로든지 제한되지 않는다.

[0086] 모든 공보, 특히 출원, 특히 및 본원에 언급된 다른 문헌은 이들의 전문이 참조로 인용된다.

I. 일반 기술

[0088] 본원에 기재되거나 참조된 기술 및 과정은 일반적으로 널리 이해되고 있고 통상적으로 다음 문헌에 기재된 광범위하게 활용되는 방법과 같은 당업자에 의해 통상적인 방법을 사용하여 사용된다[문헌참조: Sambrook 등, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold

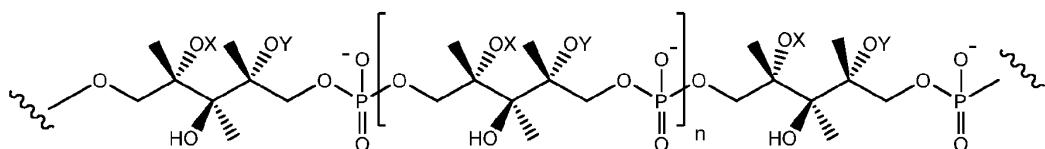
Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M.Ausubel, 등 eds., (2003)); the series *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.); *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B. D.Hames 및 G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow 및 Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, and *Animal Cell Culture* (R. I.Freshney, Ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, Ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J. E. Cellis, Ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney), Ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J. P. Mather 및 P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley 및 Sons; *Handbook of Experimental Immunology* (D.M.Weir 및 C. C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J. M.Miller 및 M.P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis 등, eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan 등, eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley 및 Sons, 1999); *Immunobiology* (C. A. Janeway 및 P. Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D.Catty., Ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd 및 C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow 및 D.Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); *The Antibodies* (M.Zanetti 및 J. D.Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); 및 *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V.T.DeVita 등, eds., J. B. Lippincott Company, 1993)].

[0089] 본원에 사용되는 명명법은 달리 지적되지 않는 경우 IUPAC 분류적 명명법을 기반으로 한다. 달리 정의되지 않는 경우, 본원에 사용된 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 이해되는 바와 동일한 의미를 갖고 이는 하기 문헌과 일치한다: [문헌참조: Singleton 등 (1994) *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, 2nd Ed., J. Wiley & Sons, New York, NY; 및 Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immunobiology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York].

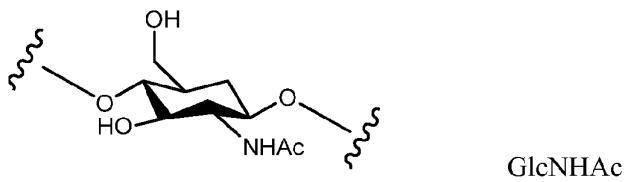
II. 정의

[0090] "항체 항생제 접합체" 또는 AAC는 링커에 의해 항생제에 화학적으로 연결된 항체로 이루어진 화합물이다. 상기 항체는 세균 표면, 예를 들어, 세균 세포벽 성분상의 항원 또는 에피토프에 결합한다. 본 발명에 사용된 바와 같은 링커는 대부분의 포유동물 세포 유형에서 발견되는 카텝신 B, 리소좀 프로테아제를 포함하는 프로테아제에 의해 절단되도록 디자인된 프로테아제 절단 가능한 비-펩타이드 링커이다 (문헌참조: Dubowchik 등 (2002) BioconJ. Chem. 13: 855-869). 이의 3개 성분을 갖는 AAC의 다이아그램은 도 2에 도시된다. "THIOMABTM 항생제 접합체" 또는 "TAC"는 AAC의 형태이고, 여기서 상기 항체는 화학적으로 하나 이상의 시스테인, 일반적으로 항원 결합 기능을 방해하지 않도록 항체 상의 특정 부위(들)에서 항체로 재조합적으로 가공된 시스테인을 통해 링커-항생제 유닛에 접합된다.

[0091] 용어 "벽 테이코산" (WTA)은 N-아세틸 무람산 당의 C6 하이드록실로 포스포디에스테르 연결을 통해 펩티도글리캔에 공유적으로 부착된 음이온 당중합체를 의미한다. 정확한 화학적 구조는 유기체마다 다양할 수 있지만, 하나의 구현예에서, WTA는 위치 2번 상에 D-리비톨 및 D-알라닐 및 위치 4번 상에 글리코실 치환체의 1,5-포스포디에스테르 연결체의 반복 유닛을 갖는 리비톨 테이코산이다. 글리코실 그룹은 하기에 존재하는 바와 같은 N-아세틸글루코사민 α (알파) 또는 β (베타)일 수 있다: 애스. 아우레우스. 알디톨/당 알코올 포스페이트 반복체 상의 하이드록실은 양이온성 D-알라닌 에스테르, 및 N-아세틸글루코사민과 같은 모노사카라이드로 치환된다. 하나의 양상에서, 하이드록실 치환체는 D-알라닐 및 알파 (α) 또는 베타 (β) GlcNHAc을 포함한다. 하나의 특정 양상에서, WTA는 하기 화학식의 화합물을 포함한다:



[0093] 여기서, 상기 물결선은 폴리알디톨-P 또는 펩티도글리캔의 반복 연결 유닛 또는 접착 부위를 지적하고, 여기서, X는 D-알라닐 또는 -H이고; Y는 α (알파)-GlcNHAc 또는 β (베타)-GlcNHAc.



[0095]

에스. 아우레우스에서, WTA는 N-아세틸글루코사민 (GlcNAc)-1-P 및 N-아세틸만노스아민 (ManNAc)으로 구성된 디 사카라이드에 이어서 2개 또는 3개의 글리세롤-포스페이트 유닛을 통해 N-아세틸 무람산 (MurNAc)의 6-OH에 공유적으로 연결된다. 이어서 실제 WTA 중합체는 11 내지 40개 리비톨-포스페이트 (Rbo-P) 반복 유닛으로 구성된다. WTA의 단계적 합성은 처음에 Tag0로 불리우는 효소에 의해 개시되고, Tag0 유전자가 부재 (상기유전자의 인위적 결실)인 에스. 아우레우스 균주는 어떠한 WTA를 생성하지 않는다. 반복 유닛은 C2-OH에서 D-알라닌 (D-Ala) 및/ 또는 α - (알파) 또는 β - (베타) 글리코시드 연결을 통해 C4-OH 위치에서 N-아세틸글루코사민 (GlcNAc)으로 추가로 조정될 수 있다. 에스. 아우레우스 균주, 또는 세균의 성장 단계에 의존하여, 글리코시드 연결체는 α -, β -, 또는 2개의 어노머의 혼합물일 수 있다.

[0097]

본원에 사용된 바와 같은 용어 "WTA 항체"는 WTA 알파 또는 WTA 베타이든 상관 없이 WTA에 결합하는 임의의 항체를 언급한다. 용어 "항-벽 테이코산 알파 항체" 또는 "항-WTA 알파 항체" 또는 "항- α WTA" 또는 "항- α GlcNAc WTA 항체"는 벽 테이코산 (WTA) 알파에 특이적으로 결합하는 항체를 언급하기 위해 상호교환적으로 사용된다. 유사하게, 용어 "항-벽 테이코산 베타 항체" 또는 "항-WTA 베타 항체" 또는 "항- β WTA" 또는 "항- β GlcNAc WTA 항체"는 벽 테이코산 (WTA) 베타에 특이적으로 결합하는 항체를 언급하기 위해 상호교환적으로 사용된다.

[0098]

용어 "항생제" (abx 또는 Abx)는 세균과 같은 미생물의 증식을 특이적으로 억제하거나 미생물을 사멸시키지만 투여되는 농도 및 투여 간격에서 숙주에 치명적이지 않은 임의의 분자를 언급한다. 특정 양상에서, 항생제는 투여된 농도 및 투여 간격에서 숙주에 비독성이다. 세균에 대해 효과적인 항생제는 광범위하게 살균성 (즉, 직접적으로 사멸시키는) 또는 세균증식억제성 (즉, 분열 방지)으로서 분류될 수 있다. 항-살균성 항생제는 좁은-스펙트럼 또는 광범위-스펙트럼으로서 추가로 하위 분류될 수 있다. 광범위-스펙트럼 항생제는 보다 작은 범위 또는 특정 세균 패밀리에 대해 효과적인 좁은-스펙트럼 항생제와는 대조적으로 그램-양성 및 그램-양성 세균 둘다를 포함하는 광범위한 세균에 대해 효과적인 항생제이다. 항생제의 예는 다음을 포함한다: (i) 아미노글리코시드, 예를 들어.., 아미카신, 젠타미신, 가나마이신, 네오마이신, 네틸미신, 스트렙토마이신, 토브라마이신, 파로마이신, (ii) 안사마이신, 예를 들어, 젤다나마이신, 허비마이신, (iii) 카바세펩, 예를 들어, 로라카페프, (iv), 카바페넴, 예를 들어, 에르타페넴, 도리페넴, 이미페넴/실라스타틴, 메로페넴, (v) 세팔로스포린 (제1 세대), 예를 들어, 세파드록실, 세파졸린, 세팔로틴, 세팔렉신, (vi) 세팔로스포린 (제2 세대), 예를 들어, 세풀라클로르, 세파만돌, 세폭시틴, 세프프로질, 세푸록심, (vi) 세팔로스포린 (제3 세대), 예를 들어, 세핀심, 세프디니르, 세프디토렌, 세포페라존, 세포탁심, 세프포독심, 세프타지덤, 세프티부텐, 세프티족심, 세프트리악손, (vii) 세팔로스포린 (제4 세대), 예를 들어, 세페넴, (viii), 세팔로스포린 (제5 세대), 예를 들어, 세프토비프롤, (ix) 글리코펩타이드, 예를 들어, 테이코플라닌, 반코마이신, (x) 마크롤리드, 예를 들어, 악시트로마이신, 클라리트로마이신, 디리트로마이신, 에리트로마이신, 록시트로마이신, 트롤레안도마이신, 테리트로마이신, 스펙티노마이신, (xi) 모노박탐, 예를 들어, 악스트레오남, (xii) 페니실린, 예를 들어, 아목시실린, 암피실린, 아슬로실린, 카베니실린, 클록사실린, 디클록사실린, 플루클록사실린, 메즐로실린, 메티실린, 나프실린, 옥사실린, 페니실린, 페페라실린, 티카실린, (xiii) 항생제 폴리펩타이드, 예를 들어, 바시트라신, 클로리스틴, 폴리믹신 B, (xiv) 퀴놀론, 예를 들어, 시프로플록사신, 예녹사신, 가티플록사신, 레보플록사신, 레메플록사신, 목시플록사신, 노르플록사신, 오르플록사신, 트로바플록사신, (xv) 셀폰아미드, 예를 들어, 마페니드, 프론토실, 셀프아세트아미드, 셀파메티졸, 셀파닐아미드, 셀파살라진, 셀피속사졸, 트리메토프림, 트리메토프림-셀파메타졸 (TMP-SMX), (xvi) 테트라사이클린, 예를 들어, 데메클로사이클린, 독시사이클린, 미노사이클린, 옥시테트라사이클린, 테트라사이클린 및 (xvii) 기타, 예를 들어, 아르스페나민, 클로르암페니콜, 클린다마이신, 린코마이신, 에탐부톨, 포스포마이신, 푸시드산, 푸라졸리돈, 이소니아지드, 리네졸리드, 메트로니다졸, 무피로신, 니트로푸란토인, 플라텐시마이신, 피라진아미드, 퀴누프리스틴 /달포프리스틴, 리팜핀/리팜시신 또는 티니다졸.

[0099]

스타필로코커스 아우레우스는 또한 본원에서 단축어로 Staph A 또는 에스. 아우레우스로 언급된다. 용어 "메티실린-내성 스타필로코커스 아우레우스" (MRSA)는 또한, 다중약물 내성 스타필로코커스 아우레우스 또는 옥사실린-내성 스타필로코커스 아우레우스 (ORSA)로서 공지되어 있고, 이는 페니실린 (예를 들어.., 메티실린, 디클록사실린, 나프실린, 옥사실린, 등.) 및 세팔로스포린을 포함하는 베타-락탐 항생제에 내성인 스타필로코커스 아

우레우스의 임의의 균주를 언급한다. "메티실린-민감성 스타필로코커스 아우레우스"(MSSA)는 베타-락탐 항생제에 민감성인 스타필로코커스 아우레우스의 임의의 균주를 언급한다.

[0100] 용어 "항-Staph a 항체" 및 "Staph a에 결합하는 항체"는 항체가 에스. 아우레우스를 표적화하는데 진단제 및/ 또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화성으로 스타필로코커스 아우레우스 ("에스. 아우레우스") 상의 항원에 결합할 수 있는 항체를 언급한다. 하나의 구현예에서, 항-Staph a 항체의 관련되지 않은 비-Staph a 단백질로의 결합 정도는 예를 들어, 방사선면역검정(RIA)에 의한 측정시 MRSA에 대한 항체 결합의 약 10% 미만이다. 특정 구현예에서, Staph a에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 5 nM$, $\leq 4 nM$, $\leq 3 nM$, $\leq 2 nM$, $\leq 1 nM$, $\leq 0.1 nM$, $\leq 0.01 nM$, 또는 $\leq 0.001 nM$ 의 해리 상수(Kd)를 갖는다 (예를 들어, $10^{-8} M$ 이하, 예를 들어, $10^{-8} M$ 내지 $10^{-13} M$, 예를 들어, $10^{-9} M$ 내지 $10^{-13} M$). 특정 구현예에서, 항-Staph a 항체는 상이한 종 기원의 Staph 중에서 보존된 Staph의 에피토프에 결합한다.

[0101] 용어 "최소 억제 농도" ("MIC")는 밤새 배양 후 미생물의 가시적 성장을 억제하는 항미생물의 최저 농도를 언급한다. MIC를 결정하기 위한 검정은 공지되어 있다. 하나의 방법은 하기의 실험 섹션에 기재된 바와 같다.

[0102] 본원에서 용어 "항체"는 가장 광범위한 의미로 사용되고 구체적으로 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 이량체, 다량체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이특이적 항체) 및 이의 항원 결합 항체 단편을 포함한다 (문헌참조: Miller 등 (2003) J. of Immunology 170: 4854-4861). 항체는 쥐, 인간, 인간화된, 키메라일 수 있거나 다른 종으로부터 유래될 수 있다. 항체는 특이적 항원을 인지하고 이에 결합할 수 있는 면역계에 의해 생성되는 단백질이다 (문헌참조: Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) Immuno Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York). 표적 항원은 일반적으로 다중 항체 상에 CDR에 의해 인지되는 에피토프로 불리우는 다수의 결합부위를 갖는다. 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 각각의 항체는 상이한 구조를 갖는다. 따라서, 하나의 항원은 하나 이상의 상응하는 항체에 의해 인지되고 결합될 수 있다. 항체는 전장 면역글로불린 분자, 또는 전장 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉, 목적하는 표적 또는 이의 일부의 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 포함하고, 상기 표적은 암 세포 또는 자가면역 질환과 관련된 자가면역 항체를 생성하는 세포, 감염된 세포 또는 세균과 같은 미생물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본원에 기재된 면역글로불린 (Ig)는 임의의 이소형일 수 있고, IgM (예를 들어, IgG, IgE, IgD, 및 IgA) 및 서브클래스(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2)는 제외한다. 면역글로불린은 임의의 종으로부터 유래할 수 있다. 하나의 양상에서, Ig는 인간, 쥐 또는 토끼 기원이다. 특정 구현예에서, Ig는 인간 기원이다.

[0103] 항체의 "부류"는 이의 중쇄에 의해 가공되는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 언급한다. 5개 주요 부류의 항체가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 및 이들 중 여러 개는 하기의 서브클래스(이소형)로 추가로 분류될 수 있고, 예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂이다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , β , ϵ , γ , 및 μ 이다.

[0104] "고유 항체"는 다양한 구조를 갖는 천연의 면역글로불린 분자를 언급한다. 예를 들어, 고유 IgG 항체는 디설파이드-결합된, 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 동일한 중쇄로 약 150,000 돌턴의 이종사량체 당단백질이다. N-에서 C-말단으로 각각의 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인으로 호칭되는 가변영역(VH)에 이어서 3개의 불변 도메인 (CH1, CH2, 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N-말단에서 C-말단으로, 각각의 경쇄는 또한 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인으로 호칭되는 가변 영역 (VL)에 이어서 불변 경쇄(CL) 도메인을 갖는다. 항체의 경쇄는 이의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기준으로, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 불리우는 2개의 유형 중 하나에 할당될 수 있다.

[0105] 용어 "전장 항체," "온전한 항체," 및 "전체 항체"는 본원에서, 고유 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조 및 본원에서 정의된 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 언급하기 위해 상호교환적으로 사용된다.

[0106] 항체의 "항원-결합 단편"은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 다른 분자를 언급한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일쇄 항체 분자 (예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0107] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균일한 항체 집단으로부터 수득된 항체를 언급하고, 즉, 상기 집단을 포함하는 개별 항체들은 동일하고/하거나 동일한 에피토프에 결합하고, 이는 가능한 변이 항체, 예를 들어, 천연 돌연변이를 함유하거나 모노클로날 항체 제조의 제조 동안에 발생하는 (당화에서 천

연적 변화) 항체를 제외하고, 상기 변이체는 일반적으로 소량으로 존재한다. IgG1 항체에 대한 한가지 가능한 변이체는 중쇄 불변 영역의 C-말단 라이신(K)의 절단이다. 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원에 대한 단일 결정인자에 대해 지시된다. 따라서, 수식어 "모노클로날"은 실질적으로 균일한 집단의 항체로부터 수득된 바와 같은 항체의 특성을 지적하고 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생성을 요구하는 것으로서 해석되지 말아야 한다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있고, 이는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파아지-디스플레이 방법, 및 인간 면역글로불린 유전자좌 모두 또는 일부를 함유하는 유전자전이 동물을 사용하는 방법, 본원에 기재된 모노클로날 항체를 제조하기 위한 방법 및 다른 예시적 방법을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이들의 특이성에 추가로, 모노클로날 항체는 이들이 다른 항체로 비오염된 채로 합성될 수 있다는 점에서 유리하다.

- [0108] 용어 "키메라 항체"는 중쇄 및/또는 경쇄 부분이 특정 공급원 또는 종으로부터 유래되고 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지가 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래되는 항체를 언급한다.
- [0109] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생성되거나 항체 래퍼토리 또는 다른 인간 항체-암호화 서열을 사용하는 비-인간 공급원으로부터 유래된 항체의 서열에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체이다. 인간 항체의 상기 정의는 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화된 항체를 구체적으로 제외한다.
- [0110] "인간화된 항체"는 비-인간 HVR 기원의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 언급한다. 특정 구현예에서, 인간화된 항체는 실질적으로 적어도 하나 및 전형적으로 2개의 가변 도메인 전부를 포함하고, 여기서, 모든 또는 실질적으로 모든 HVR (예를 들어, CDR)은 비-인간 항체의 것들에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 것들에 상응한다. 인간화된 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어, 비-인간 항체의 "인간화된 형태"는 인간화를 진행한 항체를 언급한다.
- [0111] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 항원으로의 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 언급한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄(각각, VH 및 VL)의 가변 도메인은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR) 및 3개의 초가변 영역(HVR)을 포함한다. (문헌참조: 예를 들어, Kindt 등 Kuby Immunology, 6th Ed., W.H. Freeman and Co., 페이지 91 (2007).) 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 추가로, 특정 항원에 결합하는 항체는 각각 상보적 VL 또는 VH 도메인 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체 기원의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 분리될 수 있다. 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Portolano 등, J. Immunol. 150: 880-887 (1993); Clarkson 등, Nature 352: 624-628 (1991).
- [0112] 용어 "초가변 영역," "HVR," 또는 "HV"가 본원에서 사용되는 경우 서열에서 초가변성 ("상보성 결정 영역" 또는 "CDR")이고/이거나 구조적으로 한정된 루프를 형성하고/하거나 항원-접촉 잔기 ("항원 접촉")를 함유하는 항체 가변 도메인의 영역을 언급한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR를 포함하고, VH 중 3개 (H1, H2, H3), 및 VL 중 3개 (L1, L2, L3)이다. 천연 항체에서, H3 및 L3는 6개의 HVR 중 최상의 다양성을 나타내고 특히 H3은 미세 특이성을 항체에 부여하는 독특한 역할을 수행하는 거승로 사료된다. 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Xu 등, Immunity 13: 37-45 (2000); Johnson 및 Wu, in Methods in Molecular Biology 248: 1-25 (Lo, Ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003). 실제로, 중쇄만으로 이루어진 천연의 낙타 항체는 경쇄의 부재하에 기능적이고 안정하다 (문헌참조: Hamers-Casterman 등, (1993) Nature 363: 446-448; Sheriff 등, (1996) Nature Struct. Biol. 3: 733-736).
- [0113] 다수의 HVR 기재법이 사용 중에 있고 본원에 포함된다. 카밧 상보성 결정 영역 (CDR)은 서열 다양성을 기준으로 하고 가장 통상적으로 사용된다 (문헌참조: Kabat 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). 초티아는 대신 구조적 루프의 위치를 언급한다 (Chothia 및 Lesk, (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917). 항원 접촉을 위해, 다음 문헌을 참조한다: MacCallum 등 J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996). 상기 AbM HVR은 카밧 HVR과 초티아 구조적 루프간의 절충을 나타내고 옥스포드 분자의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다. "접촉" HVR은 가용한 복합체 결정 구조의 분석을 토대로 한다. 이들 HVR 각각으로부터의 잔기는 하기에 나타낸다.

루프	카밧	AbM	초티아	접촉
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (카밧 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (초티아 넘버링)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0114]

HVR은 하기와 같이 "연장된 HVR"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34 (L1), 46-56 또는 50-56 (L2) 및 89-97 또는 89-96 (L3) 및 VH에서 26-35 (H1), 50-65 또는 49-65 (H2) 및 93-102, 94-102, 또는 95-102 (H3). 달리 지적되지 않는 경우, 가변 도메인 중 HVR 잔기, CDR 잔기 및 기타 잔기 (예를 들어, FR 잔기)는 본원에서 카밧 등에 따라 넘버링한다. 상기 참조.

[0115]

표현 "카밧에서와 같은 가변 도메인 잔기-넘버링" 또는 "카밧에서와 같은 아미노산-위치 넘버링" 및 이의 변형은 카밧 등에서 항체의 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 위해 사용되는 넘버링 시스템을 언급한다. 상기 참조. 상기 넘버링 시스템을 사용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축 또는 이로의 삽입에 상응하는 보다 적거나 추가의 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52번 이후에 단일 아미노산 삽입 (카밧에 따르면 잔기 52a) H2 및 중쇄 FR 잔기 82번 이후에 삽입된 잔기 (예를 들어 카밧에 따라 잔기 82a, 82b, 및 82c, 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 카밧 넘버링은 "표준" 카밧 넘버링된 서열과 항체의 서열 상동성 영역에서의 정렬에 의해소정의 항체에 대해 결정될 수 있다.

[0116]

"프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 언급한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인으로 이루어진다: FR1, FR2, FR3, 및 FR4. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH(또는 VL)에서 하기의 서열로 나타낸다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0117]

본원의 목적을 위한 "수용체 인간 프레임워크"는 하기 정의된 바와 같이 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인(VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인(VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크 "로부터 유래된" 수용체 인간 프레임워크는 이의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나 이것은 아미노산 서열 변화를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하이다. 일부 구현예에서, VL 수용체 인간 프레임워크는 VL 인간 면역글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과 서열에서 동일하다.

[0118]

"인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 통상적으로 존재하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열은 가변 도메인 서열의 서브그룹으로부터 선택된다. 일반적으로, 서열의 서브그룹은 하기 문헌의 카밧 등에서와 같은 서브그룹이다: Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. 하나의 구현예에서, VL에 대해, 서브그룹은 카밧 등에서와 같은 서브그룹 카파 I이다: 상기 참조. 하나의 구현예에서, VH에 대해, 서브그룹은 카밧 등에서와 같은 서브그룹 III이다: 상기 참조.

[0119]

본원에서 용어 "Fc 영역"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. 상기 용어는 고유-서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계가 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 위치 Cys 226에서 아미노산으로부터 또는 Pro230으로부터 이의 카복실 말단으로 스트레칭하기 위해 정의된다. Fc 영역의 C-말단 라이신(EU 넘버링 시스템에 따른 잔기 447 - 또한 하기의 문헌에 기재된 바와 같이 EU 지수로서 호칭됨: Kabat 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991)은 예를 들어, 항체의 생성 또는 정체 동안에 또는 항체의 중쇄를 암호화하는 핵산을 재조합적으로 가공함에 의해 제거될 수 있다. 따라서, 온전한 항체의 조성을 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, 어떠한 K447 잔기도 제거되지 않은 항체 집단 및 K447 잔기가 존재하거나 부재인 항체의 혼합물을 갖는 항체 집단을 포함할 수 있다. 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은

또한 모계 IgG의 태아로의 전달에 관여하는 신생아 수용체, FcRn을 포함한다. Guyer 등, *J. Immunol.* 117: 587 (1976) 및 Kim 등, *J. Immunol.* 24: 249 (1994). FcRn으로의 결합을 측정하는 방법은 공지되어 있다(문헌참조: e.g., Ghetie 및 Ward, *Immunol. Today* 18: (12): 592-8 (1997); Ghetie 등, *Nature Biotechnology* 15 (7): 637-40 (1997); Hinton 등, *J. Biol. Chem.* 279(8): 6213-6 (2004); WO 2004/92219 (Hinton 등). 생체내 FcRn으로의 결합 및 인간 FcRn 고친화성 결합 폴리펩타이드의 혈청 반감기는 예를 들어, 인간 FcRn을 발현하는 유전자전이 마우스 또는 형질감염된 인간 세포주에서 또는 변이체 Fc 영역을 갖는 폴리펩타이드가 투여된 영장류에서 분석될 수 있다. WO 2004/42072 (Presta)는 FcR로의 결합을 개선시키거나 감소시키는 항체 변이체를 기재한다. 또한 다음 문헌을 참조한다: 예를 들어, Shields 등, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).

[0121] "친화성 성숙화된" 항체는 변형을 갖지 않는 모 항체와 비교하여 항원에 대한 항체의 친화성을 개선시키는, 하나 이상의 초가변 영역 (HVR)에서 하나 이상의 변형을 갖는 항체를 언급한다.

[0122] 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는 항원 분자 상의 특정 부위를 언급한다.

[0123] 표준 항체와 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 표준 항체의 이의 항원으로의 결합을 50% 이상 까지 차단하는 항체를 언급하고, 역으로, 표준 항체는 경쟁 검정에서 이의 항원으로의 항체의 결합을 50% 이상 까지 차단한다. 예시적인 경쟁 검정은 본원에 제공된다.

[0124] "누출된 항체"는 이종성 모이어티 (예를 들어, 세포독성 모이어티) 또는 방사능표지에 접합되지 않는 항체를 언급한다. 누출된 항체는 약제학적 제형 중에 존재할 수 있다.

[0125] "이펙터 기능"은 항체 이소형과 함께 다양한, 항체의 Fc 영역에 기인할 수 있는 생물학적 활성을 언급한다. 항체 이펙터 기능의 예는 다음을 포함한다: C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개된 세포독성(ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체의 하향 조절(예를 들어, B 세포 수용체); 및 B 세포 활성화.

[0126] "항체-의존성 세포-매개된 세포독성" 또는 ADCC는 특정 세포독성 세포(예를 들어, 천연 킬러(NK) 세포, 호중구 및 대식세포) 상에 존재하는 Fc 수용체(FcR) 상에 결합된 분비된 Ig가, 상기 세포독성 이펙터 세포가 항원-함유 표적 세포에 특이적으로 결합하고 이어서 세포독소와 함께 표적 세포를 사멸시킬 수 있도록 하는 세포독성 형태를 언급한다. 항체는 세포독성 세포를 "무장"시키고 상기 기작에 의한 표적 세포의 사멸을 위해 요구된다. ADCC를 매개하기 위한 1차 세포인, NK 세포는 Fc γ (감마)RIII만을 발현하는 반면 단핵구는 Fc γ (감마)RI, Fc γ (감마)RII 및 Fc γ (감마)RIII을 발현한다. 조혈 세포상에 Fc 발현은 하기 문헌의 제464면 상의 표 3에 요약되어 있다: Ravetch 및 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991). 목적하는 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위해, US 5,500,362 또는 US 5,821,337에 기재된 것과 같은 시험관내 ADCC 검정이 수행될 수 있다. 상기 검정을 위해 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 천연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가로, 목적하는 분자의 ADCC 활성을 예를 들어, 하기 문헌에 기재된 것과 같은 동물 모델에서 생체내 평가될 수 있다: Clynes 등, *PNAS USA* 95: 652-656 (1998).

[0127] "식세포작용"은 병원체가 속주 세포 (예를 들어, 대식세포 또는 호중구)에 의해 취득되거나 내재화되는 과정을 언급한다. 식세포는 3개 경로에 의해 식세포작용을 매개한다: (i) 직접적인 세포 표면 수용체 (예를 들어, 렉틴, 인테그린 및 스캐빈저 수용체) (ii) 보체 읍소노닌화된 병원체에 결합하고 섭취하기 위해 보체 수용체 (C3b, CR3 및 CR4에 대한 수용체인 CRI를 포함하는)를 사용하여 증진된 보체, 및 (iii) 항체 읍소노닌화된 입자에 결합함에 이어서 내재화되고 리소좀과 융합하여 파고리소좀이 되도록 하기 위해 Fc 수용체 (Fc감마RI, Fc감마RIIA 및 Fc감마RIIIA)를 사용하여 증진된 항체.본 발명에서, 경로 (iii)는 감염된 백혈구, 예를 들어, 호중구 및 대식세포로의 항-MRSA AAC 치료제의 전달에 주요 역할을 수행하는 것으로 사료된다(문헌참조: Phagocytosis of Microbes: complexity in Action by D.Underhill 및 A Ozinsky. (2002) *Annual Review of Immunology*, Vol 20: 825).

[0128] "보체 의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재하에 표적 세포의 용해를 언급한다. 전형적 보체 경로의 활성화는 이들의 동종 항원으로 결합되는 항체 (적당한 서브클래스의)로의 보체 시스템 제1 성분(C1q)의 결합에 의해 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예를 들어, CDC 검정은 문헌[참조: Gazzano-Santoro 등, *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996)]에 기재된 바와 같고, 수행될 수 있다.

[0129] Fc 영역에 부착된 탄수화물은 변형될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생성된 고유 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297로의 N-연결에 의해 일반적으로 부착된 측쇄화된 바이안테나 올리고사카라이드를 포함한다. 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Wright 등 (1997) *TIBTECH* 15: 26-32. 올리고사카라이드는 바이안테나 올리

고사카라이드 구조의 "줄기"에서 GlcNAc로 부착된 푸코스 뿐만 아니라 다양한 탄수화물, 예를 들어, 만노스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토스, 및 시알산을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, IgG에서 올리고사카라이드를 변형시켜 특정 추가로 개선된 성질을 갖는 IgG를 생성시킬 수 있다. 예를 들어, Fc 영역에 부착된(직접적으로 또는 간접적으로) 푸코스가 없는 탄수화물 구조를 갖는 항체 변형이 제공된다. 상기 변형은 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). "탈푸코실화된" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변형과 관련된 공보의 예는 다음을 포함한다: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO 2005/053742; WO 2002/031140; Okazaki 등, J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki 등 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). 탈푸코실화된 항체를 생성할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 13개 CHO 세포 (문헌참조: Ripka 등 Arch. BioChem. Biophys. 249: 533-545 (1986); US Pat.App1.Pub.No.2003/0157108 A1, Presta, L; 및 WO 2004/056312 A1, Adams 등, 특히 실시예 11에서), 및 녹아웃 세포주, 예를 들어, 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포(문헌참조: 예를 들어, Yamane-Ohnuki 등, Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al, Biotechnol. Bioeng., 94(4): 680-688 (2006); 및 WO 2003/085107)를 포함한다.

[0130] "단리된 항체"는 이의 천연 환경의 성분으로부터 분리되어 있는 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 예를 들어, 하기의 기술에 의한 결정시 95% 초과 또는 99% 초과의 순도로 정제된다: 전기영동(예를 들어, SDS-PAGE, 등전점포커싱 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC). 항체 순도의 평가를 위한 방법의 검토를 위해 예를 들어, 하기의 문헌을 참조한다: Flatman 등, J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007).

[0131] "단리된 핵산"은 이의 천연 환경의 성분으로부터 분리되어 있는 핵산 분자를 언급한다. 단리된 핵산은 통상적으로 핵산 분자를 함유하는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함하지만 상기 핵산 분자는 염색체외에 존재하거나 이의 고유 염색체 위치와는 상이한 염색체 위치에 존재한다.

[0132] "항-WTA 베타 항체를 암호화하는 단리된 핵산"은 항체 종쇄 및 경쇄를 암호화하는 하나 이상의 핵산 분자를 언급하고, 이는 단일 베타 또는 별도의 베타에 상기 핵산 분자(들)을 포함하고 상기 핵산 분자(들)은 숙주 세포에 하나 이상의 위치에 존재한다.

[0133] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "특이적으로 결합한다" 또는 "에 대해 특이적이다"는 표적과 항체 간의 결합과 같은 측정가능하고 재현가능한 상호작용을 언급하고 상기 항체는 생물학적 분자를 포함하는 이종성 분자 집단의 존재하에 표적의 존재를 결정한다. 예를 들어, 표적 (이는 에피토프일 수 있는)에 특이적으로 결합하는 항체는 이의 표적에 보다 큰 친화성으로, 결합가로, 보다 용이하게 및/또는 다른 표적에 결합하는 것 보다 큰 지속 기간으로 결합하는 항체이다. 하나의 구현예에서, WTA-베타와 관련 없는 표적으로의 항체의 결합 정도는 예를 들어, 방사능면역검정 (RIA)에 의한 측정시 표적으로의 항체 결합의 약 10% 미만이다. 특정 구현예에서, WTA 베타에 특이적으로 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, 또는 $\leq 0.1 nM$ 의 해리 상수 (Kd)를 갖는다. 특정 구현예에서, 항체는 상이한 종으로부터 보존된 것 상의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 또 다른 구현예에서, 특이적 결합은 배타적 결합을 포함할 수 있지만 이를 요구하지 않는다.

[0134] "결합 친화성"은 일반적으로 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 이의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 간의 비-공유 상호작용의 총합 강도를 언급한다. 달리 지적되지 않는 경우, 본원에 사용된 바와 같은 "결합 친화성"은 결합 쌍(예를 들어, 항체와 항원)의 구성원 간의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화성을 언급한다. 분자 X의 이의 파트너 Y에 대한 친화성은 일반적으로 해리 상수 (Kd)로 나타낼 수 있다. 친화성은 본원에 기재된 것들을 포함하는 당업계에 공지된 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 저친화성 항체는 일반적으로 항원에 서서히 결합하고 용이하게 해리하는 경향이 있는 반면, 고친화성 항체는 일반적으로 보다 신속하게 항원에 결합하고 보다 길게 결합된 상태를 유지하는 경향이 있다. 결합 친화성을 측정하는 다양한 방법은 당업계에 공지되어 있고 임의의 방법이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다. 결합 친화성을 측정하기 위한 특정 설명 및 예시적 구현예는 하기에 기재된다.

[0135] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 "Kd" 또는 "Kd 값"은 하기의 검정에 의해 기재된 바와 같은 목적하는 항체의 Fab 베타와 이의 항원과 함께 수행되는 방사능표지된 항원-결합 검정(RIA)에 의해 측정된다. 항원에 대한 Fab의 용액-결합 친화성은 적정 시리즈의 비표지된 항원의 존재하에 최소 농도의 (^{125}I)-표지된 항원으로 Fab를 평형화시키고 이어서 결합된 항원을 항-Fab 항체-피복된 플레이트로 포획시킴에 의해 측정된다 (문헌참조: 예를

들어, Chen 등, (1999) *J. Mol. Biol.* 293: 865-881). 상기 검정을 위한 조건을 확립하기 위해, 미세역가 플레이트 (DYNEX Technologies, Inc.)는 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중에서 5 μ g/ml의 포획 항-Fab 항체 (Cappel Labs)로 밤새 퍼복하고, 이어서 실온(대략 23°C)에서 2 내지 5시간 동안 PBS 중에서 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 차단시켰다. 비-흡착 플레이트 (Nunc #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [125 I]-항원은 목적하는 Fab 연속 희석액과 혼합한다 (예를 들어, 이는 하기 문헌의 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치한다. 문헌참조: Presta 등, *Cancer Res.* 57: 4593-4599 (1997)). 목적하는 Fab는 이어서 밤새 항온처리하지만; 상기 항온처리는 평형에 도달되도록 확실히 하기 위해 보다 긴 기간 (예를 들어, 약 65시간) 동안 계속할 수 있다. 이후, 혼합물은 실온에서 항온처리를 위해 (예를 들어, 1시간 동안) 포획 플레이트로 전달한다. 상기 용액은 이어서 제거하고 플레이트는 PBS 중 0.1% TWEEN-20TM 계면활성제로 8회 세척하였다. 상기 플레이트가 건조된 경우, 150 μ l/웰의 섬광제 (MICROSCINT-20TM; Packard)를 첨가하고 상기 플레이트는 10분 동안 TOPCOUNTTM 감마 계수기 (Packard) 상에서 계수한다. 20% 이하의 최대 결합을 부여하는 각각의 Fab의 농도는 경쟁 결합 검정에 사용하기 위해 선택한다.

[0136] 또 다른 구현예에 따라, Kd는 BIACORE[®]-2000 또는 BIACORE[®]-3000 기구를 사용하는 표면-플라스몬 공명 검정을 사용함에 의해 측정하고 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) 이러한 측정은 ~10 반응 유닛 (RU)에서 고정화된 항원 CM5 칩으로 25°C에서 수행한다. 간략하게, 카복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, BIAcore Inc.)은 공급업자의 지침에 따라 N-에틸-N'- (3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 하이드로클로라이드 (EDC) 및 N-하이드록시숙신이미드 (NHS)으로 활성화시켰다. 항원은 커플링된 단백질의 대략 10 반응 유닛 (RU)을 성취하기 위해 5 μ l/분의 유속으로 주사 전 10 mM 나트륨 아세테이트 (pH 4.8)를 사용하여 5 μ g/ml (~0.2 μ M)로 희석시켰다. 항원의 주사 후, 1 M의 에탄올아민은 미반응된 그룹을 차단하기 위해 주사한다. 역학적 측정을 위해, Fab(0.78 nM 내지 500 nM)의 2배 시리즈 희석액을 PBS 중에서 25°C에서 대략 25 μ l/분의 유속으로 0.05% TWEEN 20TM 계면활성제 (PBST)와 함께 주사한다. 결합-레이트 (k_{on}) 및 해리-레이트 (k_{off})는 결합 및 해리 센서그램을 동시에 피팅함에 의해 단순한 1 대 1 랑그비르 결합 모델 (BIAcore[®] 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 계산한다. 평형 해리 상수 (Kd)는 비율 k_{off}/k_{on} 로서 계산한다. 예를 들어, 다음 문헌을 참조한다: Chen 등, *J. Mol. Biol.* 293: 865-881 (1999). 온-레이트가 상기 표면-플라스몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 을 초과하는 경우, 이어서 상기 온-레이트는 형광성 켄칭 기술을 사용함에 의해 결정될 수 있고 상기 기술은 PBS (pH 7.2) 중 25°C에서 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)의 형광성-발광 강도 (여기 = 295nm; 발광 = 340nm, 16nm 밴드-패스)에서, 증가 또는 감소를 측정하고, 이는 교반 큐벳과 함께 정지-흐름-장착된 분광측정기 (Aviv Instruments) 또는 8000-시리즈 SLM-AMINCOTM 분광측정기 (ThermoSpectronic)와 같은 분광측정기에서 측정된다.

[0137] 본 발명에 따른 "온-레이트," "결합의 속도," "결합율," 또는 " k_{on} "은 또한 BIACORE[®]-2000 또는 BIACORE[®]-3000 시스템을 사용하여 상기된 바와 같이 결정될 수 있다 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ).

[0138] 용어 "숙주 세포," "숙주 세포주," 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환적으로 사용되고 외인성 핵산이 도입되는 세포를 언급하고 상기 세포의 자손을 포함한다. 숙주 세포는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함하고 이는 1차 형질전환된 세포 및 계대수와 관련 없이 이로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 핵산 함량에서 모 세포와 완전히 동일할 수 없지만 돌연변이를 함유할 수 있다. 본래에 형질전환된 세포에서 스크리닝되고 선택된 바와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이 자손이 본원에 포함된다.

[0139] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "벡터"는 이것이 연결된 또 다른 핵산을 증가시킬 수 있는 핵산 분자를 언급한다. 상기 용어는 이것이 도입된 숙주 세포의 개념으로 혼입된 벡터 뿐만 아니라 자가-복제 핵산 구조물로서의 벡터를 포함한다. 특정 벡터는 이들이 작동적으로 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 상기 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로서 언급된다.

[0140] 표준 폴리펩타이드 서열과 관련하여 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 서열을 정렬하고 캡을 도입한 후, 필요하다면 최대 퍼센트 서열 동일성을 성취하기 위해 정렬한 후 표준 폴리펩타이드 서열에서 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열에서 아미노산 잔기의 백분율로서 정의되고 서열 동일성의 일부로서 임의의 보존성 치환을 고려하지 않는다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 예를 들어, 공개적으로 사용한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들어, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하는, 당업계 기술 범위내의 다양한 방식으로 성취될 수 있다. 당업자는 비교되는 전장 서열 상에 최대 정렬을 성취하기 위해 요구

되는 임의의 알고리듬을 포함하는, 서열 정렬을 위해 적당한 파라미터를 결정할 수 있다. 본원의 목적을 위해, 그러나, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2을 사용하여 생성시킨다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제조원[Genentech, Inc.]이 소유하고 공급 코드는 미국에서 사용자의 문서작성과 함께 제출되었다. 저작권 사무소, Washington D.C., 20559, 이는 미국에서 등록되었고, 저작권 등록번호 TXU510087. ALIGN-2 프로그램은 하기 제조원으로부터 공개적으로 사용하거나(Genentech, Inc., South San Francisco, California) 공급 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 포함하는 UNIX 작동 시스템 상에서 사용하기 위해 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되고 변동하지 않는다.

[0141] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 사용되는 상황에서, 소정의 아미노산 서열 A와 소정의 아미노산 서열 B에 대한, 이와 함께, 이에 대하여 (상기 아미노산 서열 B는 소정의 아미노산 서열 B에 대해, 이와 함께, 이에 대하여 특정 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 포함하는 소정의 아미노산 서열 A로서 구입될 수 있는)의 % 아미노산 서열 동일성은 다음과 같이 계산된다: $100 \times \text{분수 } X/Y$, 여기서, X는 A 및 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 동일한 매치로서 스코어링되는 아미노산 잔기의 수이고 Y는 B에서 아미노산 잔기의 총수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않는 경우, B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성은 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 균등하지 않다. 달리 구체적으로 기재되지 않는 경우, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 기재된 바와 같이 수득된다.

[0142] 용어 "리파마이신형 항생제"는 리파마이신의 구조 또는 이와 유사한 구조를 갖는 항생제 부류 또는 그룹을 의미한다.

[0143] 용어 "리팔라질형 항생제"는 리팔라질의 구조 또는 이와 유사한 구조를 갖는 항생제 부류 또는 그룹을 의미한다.

[0144] 치환체의 수를 나타내는 경우, 용어 "하나 이상"은 하나의 치환 내지 최고 가능한 수의 치환의 범위, 즉, 치환에 의해 하나의 수소의 대체에서 모든 수소의 대체의 범위를 언급한다. 용어 "치환체"는 모 분자 상의 수소 원자를 대체하는 원자 또는 원자 그룹을 지칭한다. 용어 "치환된"은 특정 그룹이 하나 이상의 치환체를 함유함을 지칭한다. 임의의 그룹이 다수의 치환체를 가질 수 있고 다양한 가능한 치환이 제공되는 경우, 치환체는 독립적으로 선택되고 동일할 필요는 없다. 용어 "비치환된"은 특정 그룹이 어떠한 치환체를 함유하지 않음을 의미한다. 용어 "임의로 치환된"은 특정 그룹이 비치환되거나 가능 치환체 그룹으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 치환된 것을 의미한다. 치환체의 수를 지적하는 경우, 용어 "하나 이상"은 하나의 치환에서 최고 가능한 수의 치환, 즉, 치환에 의해 하나의 수소의 대체에서 모든 수소의 대체를 의미한다.

[0145] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "알킬"은 1 내지 12개 탄소원자 (C_1-C_{12})의 포화된 직쇄 또는 측쇄 1가 탄화수소 라디칼을 언급하고, 여기서, 상기 알킬 라디칼은 임의로 하기된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 알킬 라디칼은 1 내지 8개 탄소원자 (C_1-C_8), 또는 1 내지 6개 탄소원자 (C_1-C_6)이다. 알킬 그룹의 예는 메틸(Me, $-CH_3$), 에틸 (Et, $-CH_2CH_3$), 1-프로필 (n-프로필, $-CH_2CH_2CH_3$), 2-프로필 (i-Pr, i-프로필, $-CH(CH_3)_2$), 1-부틸 (n-Bu, n-부틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-메틸-1-프로필 (i-Bu, i-부틸, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-부틸 (s-Bu, s-부틸, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-메틸-2-프로필 (t-Bu, t-부틸, $-C(CH_3)_3$), 1-펜틸 (n-펜틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$), 3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$), 3-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$), 2-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$), 1-헥실 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-헥실 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$), 3-헥실 ($-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$), 2-메틸-2-펜틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$), 4-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$), 3-메틸-3-펜틸 ($-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$), 2,3-디메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$), 3,3-디메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)C(CH_3)_3$), 1-헵틸, 1-옥틸 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0146] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "알킬렌"은 1 내지 12개 탄소원자 (C_1-C_{12})의 포화된 직쇄 또는 측쇄 2가 탄화수소 라디칼을 언급하고, 여기서, 알킬렌 라디칼은 임의로 하기된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 알킬렌 라디칼은 1 내지 8개 탄소원자 (C_1-C_8), 또는 1 내지 6개 탄소원자 (C_1-C_6)이다. 알킬렌 그룹의 예는 메틸렌 ($-CH_2-$), 에틸렌 ($-CH_2CH_2-$), 프로필렌 ($-CH_2CH_2CH_2-$) 등을 포함하지만

이에 제한되지 않는다.

[0147] 용어 "알케닐"은 2 내지 8개 탄소원자 (C_2-C_8)의 직쇄 또는 측쇄 1가 탄화수소 라디칼을 언급하고, 이는 불포화, 즉, 탄소-탄소, sp^2 이중 결합의 적어도 하나의 부위를 갖고, 여기서, 상기 알케닐 라디칼은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있고 "시스" 및 "트랜스" 배향 또는 대안적으로 "E" 및 "Z" 배향을 갖는 라디칼을 포함한다. 이의 예는 에틸레닐 또는 비닐 ($-CH=CH_2$), 알릴 ($-CH_2CH=CH_2$) 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0148] 용어 "알케닐렌"은 2 내지 8개 탄소 원자 (C_2-C_8)의 직쇄 또는 측쇄 2가 탄화수소 라디칼을 언급하고 이는 불포화, 즉, 탄소-탄소 sp^2 이중 결합의 적어도 하나의 부위를 갖고, 여기서, 상기 알케닐렌 라디칼은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있고 "시스" 및 "트랜스" 배향, 또는 대안적으로, "E" 및 "Z" 배향을 갖는 라디칼을 포함한다. 이의 예는 에틸레닐렌 또는 비닐렌 ($-CH=CH-$), 알릴렌 ($-CH_2CH=CH-$) 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0149] 용어 "알키닐"은 2 내지 8개의 탄소원자 (C_2-C_8)의 직쇄 또는 측쇄 1가 탄화수소 라디칼을 언급하고, 이는 불포화, 즉, 탄소-탄소, sp 3중 결합의 적어도 하나의 부위를 갖고, 여기서, 상기 알키닐 라디칼은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있다. 이의 예는 에티닐 ($-C\equiv CH$), 프로피닐 (프로파르길, $-CH_2C\equiv CH$) 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0150] 용어 "알키닐렌"은 2 내지 8개 탄소 원자 (C_2-C_8)의 직쇄 또는 측쇄 2가 탄화수소 라디칼을 언급하고, 이는 불포화, 즉, 탄소-탄소, sp 3중 결합의 적어도 하나의 부위를 갖고, 여기서, 상기 알키닐렌 라디칼은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환될 수 있다. 이의 예는 에티닐렌 ($-C\equiv C-$), 프로피닐렌 (프로파르길렌, $-CH_2C\equiv C-$) 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0151] 용어 "카보사이클", "카보사이클릴", "카보사이클릭 환" 및 "사이클로알킬"은 모노사이클릭 환으로서 3 내지 12개 탄소원자 (C_3-C_{12}) 또는 바이사이클릭 환으로서 7 내지 12개 탄소원자를 갖는 1가 방향족 포화 또는 부분적으로 불포화된 환을 언급한다. 7 내지 12개 원자를 갖는 바이사이클릭 카보사이클은 예를 들어, 바이사이클로 [4,5], [5,5], [5,6] 또는 [6,6] 시스템으로서 배열될 수 있고, 9 또는 10개 환 원자를 갖는 바이사이클릭 카보사이클은 바이사이클로 [5,6] 또는 [6,6] 시스템으로서 또는 바이사이클로[2.2.1]헵탄, 바이사이클로 [2.2.2]옥탄 및 바이사이클로 [3.2.2]노난과 같은 브릿지된 시스템으로서 배열될 수 있다. 스페로 모이어티는 또한 상기 정의 범위내에 포함된다. 모노사이클릭 카보사이클의 예는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 1-사이클로펜트-1-에닐, 1-사이클로펜트-2-에닐, 1-사이클로펜트-3-에닐, 사이클로헥실, 1-사이클로헥스-1-에닐, 1-사이클로헥스-2-에닐, 1-사이클로헥스-3-에닐, 사이클로헥사디에닐, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 사이클로노닐, 사이클로데실, 사이클로운데실, 사이클로도데실 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 카보사이클릴 그룹은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환된다.

[0152] "아릴"은 모 방향족 환 시스템의 단일 탄소 원자로부터 하나의 수소 원자의 제거에 의해 유래된 6 내지 20개 탄소 원자 (C_6-C_{20})의 1가 방향족 탄화수소 라디칼을 의미한다. 일부 아릴 그룹은 "Ar"로서 예시적 구조로 나타낸다. 아릴은 포화된, 부분적으로 불포화된 환, 또는 방향족 카보사이클릭 환에 융합된 방향족 환을 포함하는 바이사이클릭 라디칼을 포함한다. 전형적인 아릴 그룹은 벤젠 (페닐), 치환된 벤젠, 나프탈렌, 안트라센, 바이페닐, 인데닐, 인다닐, 1,2-디하이드로나프탈렌, 1,2,3,4-테트라하이드로나프틸 등으로부터 유래된 라디칼을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 아릴 그룹은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환된다.

[0153] "아릴렌"은 모 방향족 환 시스템의 2개 탄소원자로부터 2개의 수소 원자의 제거에 의해 유래된 6 내지 20개 탄소 원자 (C_6-C_{20})의 2가 방향족 탄화수소 라디칼을 의미한다. 일부 아릴렌 그룹은 "Ar"로서 예시적 구조로 나타낸다. 아릴렌은 포화된, 부분적으로 불포화된 환 또는 방향족 카보사이클릭 환에 융합된 방향족 환을 포함하는 바이사이클릭 라디칼을 포함한다. 전형적 아릴렌 그룹은 벤젠(페닐렌), 치환된 벤젠, 나프탈렌, 안트라센, 바이페닐렌, 인데닐렌, 인다닐렌, 1,2-디하이드로나프탈렌, 1,2,3,4-테트라하이드로나프틸 등으로부터 유래된 라디칼을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 아릴렌 그룹은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 치환된다.

[0154] 용어 "헵테로사이클," "헵테로사이클릴" 및 "헵테로사이클릭 환"은 본원에서 상호교환적으로 사용되고 3 내지 약 20개 환 원자의 포화되거나 부분적으로 불포화된 (즉, 상기 환내에 하나 이상의 2중 및/또는 3중 결합) 카보

사이클릭 라디칼을 언급하고, 여기서, 적어도 하나의 환 원자는 질소, 산소, 인 및 황으로부터 선택되는 헤테로원자이고 나머지 환 원자는 C이고, 여기서, 하나 이상의 환 원자는 임의로 하기된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환된다. 헤테로사이클은 3 내지 7개 환 구성원 (2 내지 6개 탄소 원자 및 N, O, P, 및 S로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자)을 갖는 모노사이클 또는 예를 들어, 7 내지 10 환 구성원 (4 내지 9개 탄소 원자 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 6개 헤�테로원자)을 갖는 바이사이클일 수 있다: 바이사이클로 [4,5], [5,5], [5,6], 또는 [6,6] 시스템. 헤테로사이클은 다음 문헌에 기재되어 있다: Paquette, Leo A. ; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968), 특히 챕터 1, 3, 4, 6, 7, 및 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950에서 현재), 특히 13, 14, 16, 19, 및 28권; 및 J. Am. Chem. Soc. (1960) 82: 5566. "헤테로사이클릴"은 또한 헤테로사이클 라디칼이 포화된, 부분적으로 불포화된 환, 또는 방향족 카보사이클릭 또는 헤�테로사이클릭 환과 융합된 라디칼을 포함한다. 헤�테로사이클릭 환의 예는 모르폴린-4-일, 피페리딘-1-일, 피페라지닐, 피페라진-4-일-2-온, 피페라진-4-일-3-온, 피롤리딘-1-일, 티오모르폴린-4-일, S-디옥소티오모르폴린-4-일, 아조칸-1-일, 아제티딘-1-일, 옥타하이드로피리도 [1,2-a]피라진-2-일, [1,4]디아제판-1-일, 피롤리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 디하이드로푸라닐, 테트라하이드로피리도, 티오모르폴리노, 티옥사닐, 피페라지닐, 호모피페라지닐, 아제티디닐, 옥세타닐, 티에타닐, 호모피페리디닐, 옥세파닐, 티에파닐, 옥사제피닐, 디아제피닐, 티아제피닐, 2-피롤리닐, 3-피롤리닐, 인돌리닐, 2H-피라닐, 4H-피라닐, 디옥사닐, 1,3-디옥솔라닐, 피라졸리닐, 디티아닐, 디티올라닐, 디하이드로피라닐, 디하이드로티에닐, 디하이드로푸라닐, 피라졸리디닐이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 3-아자바이사이코 [3.1.0]헥사닐, 3-아자바이사이클로 [4.1.0]헵타닐, 아자바이사이클로 [2.2.2]헥사닐, 3H-인돌릴퀴놀리지닐 및 N-피리딜 우레아를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 스퍼로 모이어티는 또한 상기 정의 범위내에 포함된다. 2개 환 원자가 옥소 (=O) 모이어티로 치환된 헤�테로사이클릭 그룹의 예는 피리미디노닐 및 1,1-디옥소-티오모르폴리닐이다. 본원의 헤�테로사이클 그룹은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환된다.

[0155] 용어 "헤테로아릴"은 5-, 6-, 또는 7-원 환의 1가 방향족 라디칼을 언급하고, 질소, 산소 및 황으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 헤테로원자를 함유하는 5 내지 20개 원자의 융합된 환 시스템(이의 적어도 하나는 방향족이다)을 포함한다. 헤테로아릴 그룹의 예는 피리디닐 (예를 들어, 2-하이드록시피리디닐을 포함하는), 이미디졸릴, 이미다조피리디닐, 피리미디닐 (예를 들어, 4-하이드록시피리미디닐을 포함하는), 피라졸릴, 트리아졸릴, 피라지닐, 테트라졸릴, 푸릴, 티에닐, 이속사졸릴, 티아졸릴, 옥사디아졸릴, 옥사졸릴, 이소티아졸릴, 피롤릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 인돌릴, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 시놀리닐, 인다졸릴, 인돌리지닐, 프탈라지닐, 피리아지닐, 트리아지닐, 이소인돌릴, 프테리디닐, 푸리닐, 옥사디아졸릴, 트리아졸릴, 티아디아졸릴, 티아디아졸릴, 푸라자닐, 벤조푸라자닐, 벤조티오페닐, 벤조티아졸릴, 벤족사졸릴, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 나프티리디닐 및 푸로피리디닐이다. 헤테로아릴 그룹은 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 치환체로 독립적으로 치환된다.

[0156] 헤�테로사이클 또는 헤�테로아릴 그룹은 가능한 경우 탄소(탄소-연결된) 또는 질소 (질소-연결된) 결합될 수 있다. 비제한적으로 예를 들면, 탄소 결합된 헤�테로사이클 또는 헤�테로아릴은 피리딘의 위치 2, 3, 4, 5, 또는 6에서, 피리다진의 위치 3, 4, 5, 또는 6에서, 피리미딘의 위치 2, 4, 5, 또는 6에서, 피라진의 위치 2, 3, 5, 또는 6에서, 푸란, 테트라하이드로푸란, 티오푸란, 티오펜, 피롤 또는 테트라하이드로피롤의 위치 2, 3, 4, 또는 5에서, 옥사졸, 이미다졸 또는 티아졸의 위치 2, 4, 또는 5에서, 이속사졸, 피라졸 또는 이소티아졸의 위치 3, 4, 또는 5에서, 아지리딘의 위치 2 또는 3에서, 아제티딘의 위치 2, 3, 또는 4에서, 퀴놀린의 위치 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8에서 또는 이소퀴놀린의 위치 1, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8에서 결합된다.

[0157] 비제한적으로 예를 들면, 질소 결합된 헤�테로사이클 또는 헤�테로아릴은 아지리딘, 아제티딘, 피롤, 피롤리딘, 2-피롤린, 3-피롤린, 이디다졸, 이미다졸리딘, 2-이미다졸린, 3-이미다졸린, 피라졸, 피라졸린, 2-피라졸린, 3-피라졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌, 인돌린, 1H-인다졸의 위치 1, 이소인돌 또는 이소인돌린의 위치 2, 모르폴린의 위치 4, 및 카바졸 또는 β -카볼린의 위치 9에서 결합된다.

[0158] "대사물"은 신체에서 특정 화합물 또는 이의 염의 대사를 통해 생성되는 생성물이다. 화합물의 대사물은 당업계에 공지된 통상의 기술을 사용하여 동정될 수 있고 이들의 활성은 본원에 기재된 것들과 같은 시험을 사용하여 결정한다. 상기 생성물은 예를 들어, 투여된 화합물의 산화, 환원, 가수분해, 아미드화, 탈아미드화, 에스테르화, 탈에스테르화, 효소적 절단 등으로부터 비롯될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 화학식 I의 화합물을 이의 대사 생성물을 수득하기에 충분한 기간 동안 포유동물과 접촉시킴을 포함하는 공정에 의해 생성된 화합물

을 포함하는, 본 발명의 화합물의 대사물을 포함한다.

[0159] 용어 "약제학적 제형"은 여기에 함유된 효과적인 활성 성분의 생물학적 활성을 허용하도록 하는 형태로 있고 제형이 투여되는 대상체에 허용가능하지 않게 독성인 어떠한 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 언급한다.

[0160] "멸균" 제형은 무균성이거나 모든 살아있는 미생물 및 이들의 포자가 없다.

[0161] "안정한" 제형은 여기에 단백질이 필수적으로 저장시 물리적 및 화학적 안정성 및 통합성을 보유하는 제형이다. 단백질 안정성을 측정하기 위해 다양한 분석적 기술은 다음 문헌에서 검토된다: Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, New York, Pubs. (1991) 및 Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993). 안정성은 선택된 기간 동안 선택된 온도에서 측정될 수 있다. 신속한 스크리닝을 위해, 상기 제형은 이 시점에서 안정성이 측정되는 2주 내지 1개월 동안 40 ° C에서 유지될 수 있다. 상기 제형이 2-8 ° C에서 저장되어야만 하는 경우, 일반적으로 상기 제형은 적어도 1개월 동안 30 ° C 또는 40 ° C에서 안정해야만 하고/하거나 적어도 2년 동안 2-8 ° C에서 안정해야만 한다. 제형이 30 ° C에서 저장되어야만 하는 경우, 일반적으로 상기 제형은 30 ° C에서 적어도 2년 동안 안정해야만 하고/하거나 적어도 6개월 동안 40 ° C에서 안정해야만 한다. 예를 들어, 저장 동안에 응집 정도는 단백질 안정성을 위해 지표로서 사용될 수 있다. 따라서, "안정한" 제형은 단백질의 약 10% 미만 및 바람직하게 약 5% 미만이 제형 중 응집체로서 존재하는 제형일 수 있다. 다른 구현예에서, 제형의 저장 동안에 응집체 제제에서의 임의의 증가는 결정될 수 있다.

[0162] "등장성" 제형은 인간 혈액과 필수적으로 동일한 삼투압을 갖는 제형이다. 등장성 제형은 일반적으로 약 250 내지 350 mOsm의 삼투압을 갖는다. 용어 "저장성"은 인간 혈액의 삼투압 미만의 삼투압을 갖는 제형을 기재한다. 상응하게, 용어 "고장성"은 인간 혈액의 삼투압 보다 높은 삼투압을 갖는 제형을 기재하기 위해 사용된다. 등장성은 예를 들어, 증기압 또는 빙-동결 유형 삼투압측정기를 사용하여 측정될 수 있다. 본 발명의 제형은 염 및/ 또는 완충제의 첨가의 결과로서 고장성이다.

[0163] 본원에 사용된 바와 같은 "담체"는 사용되는 용량 및 농도에서 여기에 노출된 세포 또는 포유동물에 비독성인 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제를 포함한다. 흔히, 생리학적으로 허용되는 담체는 수성 pH 완충 용액이다. 생리학적으로 허용되는 담체의 예는 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산을 포함하는 항산화제; 저분자량 (약 10개 잔기 미만) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 친수성 중합체, 예를 들어, 폴리비닐파리돈; 아미노산, 예를 들어, 글라이신, 글루타민, 아스파라진, 아르기닌 또는 라이신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; EDTA와 같은 칼레이팅제; 만니톨 또는 소르비톨과 같은 당 알콜; 나트륨과 같은 염-형성 역이온; 및/또는 TWEEN®, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 및 PLURONICS™과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0164] "약제학적으로 허용되는 담체"는 대상체에 비독성인 활성 성분 이외의 약제학적 제형 중 성분을 언급한다. 약제학적으로 허용되는 담체는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. "약제학적으로 허용되는 산"은 이들이 제형화된 농도 및 방식에서 비독성인 무기산 및 유기산을 포함한다. 예를 들어, 적합한 무기산은 염산, 과염소산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 질산, 횡산, 셀폰산, 셀핀산, 셀판산, 인산, 카본산 등을 포함한다. 적합한 유기산은 칙산 및 칙산 알킬, 방향족, 사이클릭, 지환족, 아릴지방족, 헤테로사이클릭, 포화된, 불포화된, 모노, 디- 및 트리-카복실산을 포함하고, 예를 들어, 포름산, 아세트산, 2-하이드록시아세트산, 트리플루오로아세트산, 페닐아세트산, 트리메틸아세트산, t-부틸 아세트산, 안트라닐산, 프로판산, 2-하이드록시프로판산, 2-옥소프로판산, 프로판디오산, 사이클로펜탄프로피온산, 사이클로펜탄 프로피온산, 3-페닐프로피온산, 부타노산, 부탄디온산, 벤조산, 3-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 2-아세톡시-벤조산, 아스코브산, 신남산, 라우릴 셀푸르산, 스테아르산, 무콘산, 만델산, 숙신산, 앤본산, 푸마르산, 말산, 말레산, 하이드록시말레산, 말론산, 탁트산, 시트르산, 타르타르산, 글리콜산, 글루콘산, 피루브산, 글리옥살산, 옥살산, 메실산, 숙신산, 살리실산, 프탈산, 팔모산, 팔메산, 티오시안산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 1,2-에탄디설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 벤젠설폰산, 4-코로벤젠설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, p-톨루엔설폰산, 카포르설폰산, 4-메틸바이사이클로 [2.2.2]-옥트-2-엔-1-카복실산, 글루코헵تون산, 4,4'-메틸렌비스-3-(하이드록시-2-엔-1-카복실산), 하이드록시나프토산을 포함한다.

[0165] "약제학적으로 허용되는 염기"는 이들이 제형화된 농도 및 방식에서 비독성인 무기 및 유기 염기를 포함한다. 예를 들어, 적합한 염기는 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 암모늄, 철, 아연, 구리, 메탄, 알루미늄과 같은 금속을 형성하는 무기염, N-메틸글루카민, 모르폴린, 피페리딘 및 1급, 2급 및 3급 아민, 치환된 아민, 사이

클릭 아민 및 염기성 이온 교환 수지[예를 들어, $N(R')_4^+$ (여기서, R' 는 독립적으로 H 또는 C_{1-4} 알킬, 예를 들어, 암모늄, Tris이다)], 예를 들어, 이소프로필아민, 트리메틸아민, 디에틸아민, 트리에틸아민, 트리프로필아민, 에탄올아민, 2-디에틸아미노에탄올, 트리메타민, 디사이클로헥실아민, 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인, 하이드라바민, 콜린, 베타인, 에틸렌디아민, 글루코사민, 메틸글루카민, 테오브로민, 푸린, 피페라진, 피페리딘, N-에틸피페리딘, 폴리아민 수지 등을 포함하는 유기 비독성 염기로부터 형성된 것들을 포함한다. 특히 바람직한 유기 비-독성 염기는 이소프로필아민, 디에틸아민, 에탄올아민, 트리메타민, 디사이클로헥실아민, 콜린 및 카페인이다.

- [0166] 본 발명과 함께 사용하 수 있는 추가의 약제학적으로 허용되는 산 및 염기는 아미노산, 예를 들어, 히스티딘, 글라이신, 페닐알라민, 아스파르트산, 글루탐산, 라이신 및 아스파라긴으로부터 유래된 것들을 포함한다.
- [0167] "약제학적으로 허용되는" 완충제 및 염은 상기 지적된 산 및 염기의 산 및 염기 둘다의 부가염으로부터 유래된 것들을 포함한다. 특히 완충제 및/또는 염은 히스티딘, 숙시네이트 및 아세테이트를 포함한다.
- [0168] "약제학적으로 허용되는 당"은 목적하는 단백질과 배합되는 경우 저장시 단백질의 화학적 및/또는 물리적 불안정성을 상당히 차단하거나 감소시키는 분자이다. 제제가 동결건조되고 재구성되는 것으로 의도되는 경우, "약제학적으로 허용되는 당"은 또한 "동결보호제"로서 공지될 수 있다. 예시적 당 및 이들의 상응하는 당 알코올은 다음을 포함한다: 모노나트륨 글루타메이트 또는 히스티딘과 같은 아미노산; 베타인과 같은 메틸아민; 황산마그네슘과 같은 친액성 염; 트리하이드르산 또는 고분자량의 당 알코올과 같은 폴리올, 예를 들어, 글리세린, 텍스트란, 에리트리톨, 글리세롤, 아라비톨, 크실리톨, 소르비톨, 및 만니톨; 프로필렌 글리콜; 폴리에틸렌 글리콜; PLURONICS[®]; 및 이의 배합물. 추가의 예시적 동결보호제는 글리세린 및 젤라틴, 및 당, 멜리비오스, 멜레지토스, 라피노스, 만노트리오스 및 스타키오스를 포함한다. 환원 당의 예는 글루코스, 말토스, 락토스, 말툴로스, 이소-말툴로스 및 락툴로스를 포함한다. 비-환원 당의 예는 당 알코올 및 다른 직쇄 폴리알콜로부터 선택된 폴리하이드록시 화합물의 비-환원 글리코시드를 포함한다. 바람직한 당 알콜은 모노글리코시드, 특히, 락토스, 말토스, 락툴로스 및 말툴로스와 같은 디사카라이드의 환원에 의해 수득된 화합물들이다. 글리코시드 측쇄 그룹은 글루코시드 또는 갈락토시드일 수 있다. 당 알코올의 추가의 예는 글루시톨, 말티톨, 락티톨 및 이소-말툴로스이다. 바람직한 약제학적으로 허용되는 당은 비-환원 당 트레할로스 또는 슈크로스이다. 약제학적으로 허용되는 당은 단백질이 저장시 (예를 들어, 재구성 및 저장 후) 필수적으로 이의 물리적 및 화학적 안정성 및 통합성을 보유함을 의미하는 "보호량" (예를 들어, 동결건조)의 제형으로 첨가된다.
- [0169] 본원에 목적하는 "희석제"는 약제학적으로 허용되는 (인간에게 투여를 위해 안전하고 비독성인) 하나이고 동결건조 후 재구성된 제형과 같은 액체 제형의 제제를 위해 유용하다. 예시적 희석제는 멸균수, 세균증식억제 주사용수(BWFI), pH 완충 용액 (예를 들어, 포스페이트-완충 식염수), 멸균 식염 용액, 렇거 용액 또는 텍스트로스 용액을 포함한다. 대안적 구현예에서, 희석제는 염 및/또는 완충제의 수용액을 포함할 수 있다.
- [0170] "보존제"는 세균 활성을 감소시키기 위해 제형에 첨가될 수 있는 화합물이다. 보존제의 첨가는 예를 들어, 다중 용도(다중-용량) 제형의 제조를 촉진시킬 수 있다. 잠재적인 보존제의 예는 옥타데실디메틸벤질 암모늄클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤즈알코늄 클로라이드 (알킬 그룹이 장쇄 화합물인 알킬벤질디메틸암모늄 클로라이드의 혼합물), 및 벤즈에토늄 클로라이드를 포함한다. 다른 유형의 보존제는 방향족 알코올, 예를 들어, 페놀, 부틸 및 벤질 알콜, 알킬 파라벤, 예를 들어, 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레소르시놀, 사이클로헥산올, 3-펜탄올 및 m-크레졸을 포함한다. 본원에서 가장 바람직한 보존제는 벤질 알콜이다.
- [0171] "개체" 또는 "대상체" 또는 "환자"는 포유동물이다. 포유동물은 가축 동물 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류(예를 들어, 인간 및 비-인간영장류, 예를 들어, 원숭이), 토끼 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.
- [0172] 본원에 사용된 바와 같은 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 문법적 변형어구)는 임상병리의 과정 동안에 치료받는 개체, 조직 또는 세포의 천연 과정을 변형시키도록 디자인된 임상적 중재를 언급한다. 치료의 목적할 수 있는 효과는 질환 진행율을 감소시키거나, 질환 상태를 개선시키거나 완화시키거나, 차도 및 개선된 예후를 포함하지만 이에 제한되지 않고 이 모두는 담당의와 같은 당업자에 의해 측정가능하다. 하나의 구현예에서, 치료는 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적이거나 간접적인 병리학적 결과의 감소, 감염성 질환 진행율의 감소, 질환 상태의 개선 또는 경감 및 차도 또는 개선된 예후를 의미할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 AAC, TAC를 사용하여 질환 발병을 지연시키거나 감염성 질환의 진행을 느리게하거나 혈류 및/또는 감염성 조직 및 기관에서 세균 로드를 감소시킨다.

- [0173] 본원에 사용된 바와 같이, "와 연계하여"는 또 다른 치료 양상에 추가로 하나의 치료 양상의 투여를 언급한다. 이와 같이, "이와 연계하여"는 다른 치료 양상의 개체로의 투여 전, 투여 동안에 또는 투여 후 하나의 치료 양상의 투여를 언급한다.
- [0174] 용어 "균혈증"은 혈액 배양을 통해 가장 통상적으로 검출되는 혈류 중 세균의 존재를 언급한다. 세균은 감염의 중증 합병증 (폐렴 또는 뇌수막염)으로서, 수술 동안에 (특히, 위장관과 같은 점성 막을 포함하는 경우), 또는 동맥 또는 정맥에 진입하는 카테터 및 다른 외래 몸체로 인해 혈류에 진입할 수 있다. 균혈증은 여러 결과를 가질 수 있다. 세균에 대한 면역 반응은 폐혈증 및 폐혈성 쇼크 (이는 상대적으로 높은 치사율을 갖는다)를 유발할 수 있다. 세균은 또한 혈액을 사용하여 신체의 다른 부분으로 퍼져 감염 본래 부위로부터 떨어진 감염을 유발할 수 있다. 이의 예는 심내막염 또는 골수염을 포함한다.
- [0175] "치료학적 유효량"은 특정 장애의 측정가능한 개선을 수행하기 위해 요구되는 최소 농도이다. 본원에서 치료학적 유효량은 환자의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중 및 개체에서 목적하는 반응을 유발하는 항체의 능력과 같은 인자에 따라 다양할 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 항체의 임의의 독성 또는 해로운 효과가 치료학적으로 이로운 효과를 능가하지 못하는 양이다. 하나의 구현예에서, 치료학적 유효량은 생체내 감염에서 균혈증을 감소시키기 위해 효과적인 양이다. 하나의 양상에서, "치료학적 유효량"은 적어도 약물 투여 전과 대비하여 적어도 하나의 로그 만큼 혈액과 같은 환자 샘플로부터 단리된 세균 로드 또는 콜로니 형성 유닛을 감소시키는데 효과적인 양이다. 보다 구체적인 양상에서, 상기 감소는 적어도 2 로그이다. 또 다른 양상에서, 상기 감소는 적어도 3, 4, 5 로그이다. 또 다른 양상에서, 상기 감소는 본원에 예시된 검정을 포함하는 당업계에 공지된 검정을 사용하여 검출가능한 수준 미만이다. 또 다른 구현예에서, 치료학적 유효량은 감염된 환자의 치료 개시 전 또는 개시에 양성 혈액 배양과 비교하여 음성 혈액 배양 (즉, AAC의 표적인 세균이 성장하지 않은)을 성취하는 치료 기간 과정 동안 투여되는 하나 이상의 용량에서 AAC의 양이다.
- [0176] "예방학적 유효량"은 목적하는 예방학적 결과를 성취하기 위해 필요한 용량 및 기간 동안 효과적인 양을 언급한다. 전형적이지만 필연적인 것은 아닌, 예방학적 용량은 질환의 조기 단계 전, 조기 단계 또는 심지어 감염 위험이 상승되는 조건에 노출되기 전에 대상체에서 사용되지 않기 때문에, 예방학적 유효량은 치료학적 유효량 미만일 수 있다. 하나의 구현예에서, 예방학적 유효량은 적어도 하나의 세포로부터 또 다른 세포로의 감염 발생 또는 퍼짐을 감소시키거나 차단하기 위해 효과적인 양이다.
- [0177] "만성" 투여는 연장된 기간 동안 초기 치료학적 효과 (활성)을 유지하기 위해 급성 방식과는 반대로 연속적인 약물(들)의 투여를 언급한다. "간헐적" 투여는 중단 없이 연속적으로 수행되지 않고 근본적으로 주기적인 치료이다.
- [0178] 용어 "팩키지 삽입물"은 치료학적 제품의 사용에 관한 지적, 활용, 용량, 투여, 조합 치료, 금기 사항 및/또는 경고에 대한 정보를 포함하는 치료학적 제품의 상업적 팩키지에 통상적으로 포함되는 지침서를 언급한다.
- [0179] 용어 "키랄"은 거울 이미지 파트너의 비-겹침능 성질을 갖는 분자를 언급하고, 용어 "비키랄"은 이들 거울 이미지 파트너 상에 겹칠 수 있는 분자를 언급한다.
- [0180] 용어 "입체이성체"는 동일한 화학적 구성을 갖지만 공간내 원자 또는 그룹의 배열에 있어서 상이한 화합물을 언급한다.
- [0181] "부분입체이성체"는 키랄성의 2개 이상의 중심을 갖는 입체이성체를 언급하고 상기 분자는 서로 거울 이미지가 아니다. 부분입체이성체는 상이한 물리적 성질, 예를 들어, 용점, 비점, 스펙트럼 성질 및 반응성을 갖는다. 부분입체이성체의 혼합물은 전기영동 및 크로마토그래피와 같은 고분리능 분석적 과정하에 분리할 수 있다.
- [0182] "에난티오머"는 서로 비-겹침성 거울 이미지인 화합물의 2개의 입체이성체를 언급한다.
- [0183] 본원에 사용된 입체화학적 정의 및 관례는 일반적으로 다음 문헌을 따른다: S.P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 및 Eliel, E. 및 Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York. 많은 유기 화합물은 광학 활성 형태로 존재하고, 즉, 이들은 평면 편광의 평면을 회전시키는 능력을 갖는다. 광학 활성 화합물을 기재하는데 있어서, 접두어 D 및 L, 또는 R 및 S,는 이의 키랄 중심(들)에 대한 분자의 절대 배위를 지칭하기 위해 사용된다. 접두어 d 및 l 또는 (+) 및 (-)는 화합물의 평면 편광의 회전 징후를 지정하기 위해 사용되고 (-) 및 l은 상기 화합물이 좌선성임을 의미한다. (+) 또는 d의 접두어를 갖는 화합물은 우선성이다. 소정의 화학적 구조에 대해, 이들 입체이성체는 이들이 서로 거울 이미지인 것을 제외하고는 동일하다. 특정 입체이성체는 또한 예

난티오머로서 언급될 수 있고 상기 이성체의 혼합물은 흔히 에난티오머 혼합물로 불리운다. 에난티오머의 50:50 혼합물은 라세믹 혼합물 또는 라세미체로 언급되고, 이는 화학적 반응 또는 공정에서 입체선택성 또는 입체특이성이 없는 경우 발생할 수 있다. 용어 "라세믹 혼합물" 및 "라세미체"는 광학 활성이 없는 2개의 에난티오머 종의 등물 혼합물을 언급한다.

[0184] 용어 "보호 그룹"은 다른 기능성 그룹이 화합물 상에서 반응하도록 하면서 특정 기능성을 차단하거나 보호하기 위해 통상적으로 사용되는 치환체를 언급한다. 예를 들어, "아미노-보호 그룹"은 상기 화합물에서 아미노 기능성을 차단하거나 보호하는 아미노 그룹에 부착된 치환체이다. 적합한 아미노-보호 그룹은 아세틸, 트리플루오로아세틸, t-부톡시카보닐 (BOC), 벤질옥시카보닐 (CBZ) 및 9-플루오레닐메틸렌옥시카보닐 (Fmoc)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 보호 그룹 및 이의 용도의 일반적인 기재에 대해서 하기 문헌을 참조한다: T.W.Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1991, 또는 최신판.

[0185] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "약"은 본 기술 분야의 당업자에게 공지된 각각의 수치에 대한 통상의 오차 범위를 언급한다. 본원에서 수치 또는 파라미터에 대한 "약"의 언급은 수치 또는 파라미터 자체에 지시되는 구현예를 포함한다(ad 기재한다).

[0186] 본원에 기재된 바와 같고 첨부된 청구항에서, 단수 형태 "a," "an," 및 "the"는 달리 명백하게 지적되지 않는 경우 복수의 언급을 포함한다. 예를 들어, "항체"에 대한 언급은 몰 양과 같은, 1개 내지 많은 항체에 대한 언급이고 당업자에게 공지된 이의 등가물 등을 포함한다.

[0187] III. 조성물 및 방법

항체-항생제 접합체 (AAC)

[0189] 본원에서의 실험 결과는 세포내 세균을 제거하는 것을 목적으로 하는 치료요법이 임상적 성공을 개선시킴을 강하게 지적한다. 상기 목적을 위해, 본 발명은 숙주 세포의 세포내 격실을 침입하는 에스. 아우레우스 유기체를 선택적으로 사멸시키는 독특한 치료제를 제공한다. 본 발명은 상기 치료제가, 반코마이신과 같은 통상의 항생제가 실패한 경우 생체내 모델에서 효과적임을 입증한다.

[0190] 본 발명은 통상의 항생제 치료요법을 회피하는 세균 짐단을 표적화함에 의해 항생제 회피의 차단을 목적으로 하는 항세균 치료요법을 제공한다. 신규 항세균 치료요법은 항체-항생제 접합체(AAC)로 성취되고, 여기서, 에스. 아우레우스 상에서 발견된 세포벽 성분 (MRSA를 포함하는)에 특이적인 항체는 잠재적인 항생제 (리파마이신의 유도체)에 화학적으로 연결된다. 항생제는 프로테아제-절단가능한 비=페타이드 링커를 통해 항체에 연결되고, 상기 항체는 대부분의 포유동물 세포 유형에서 발견되는 리소좀 프로테아제인 카텝신 B를 포함하는 프로테아제에 의해 절단되도록 디자인되어 있다(문헌참조: Dubowchik 등 (2002) *BioconJ. Chem.* 13: 855-869). 이의 3개의 성분과 함께 AAC의 다이아그램은 도 2에 도시되어 있다. 임의의 하나의 이론에 국한되지 않으면서, AAC의 하나의 작용 기작은 도 3에 도시되어 있다. AAC는 항생제가 링커가 절단될 때까지 항생제가 불활성 (항체의 큰 크기로 인해)이라는 점에서 프로-드럭으로서 작용한다. 천연 감염에서 발견되는 에스. 아우레우스의 상당 비율은 숙주 세포, 주요 호중구 및 대식세포에 의해 숙주 내 감염 과정 동안의 일부 시점에 취득되기 때문에, 숙주 세포내 소모 시간이 세균이 항생제 활성을 회피할 상당한 기회를 제공한다. 본 발명의 AAC는 에스. 아우레우스에 결합하고 세균이 숙주 세포에 의해 취득된 후 파고리소좀 내부에 항생제를 방출하도록 디자인된다. 상기 기작에 의해, AAC는 에스. 아우레우스가 통상의 항생제에 의해 불량하게 처리되는 위치에 특이적으로 활성 항생제를 집중시킬 수 있다. 본 발명은 특정 작용 기작에 의해 제한되지 않거나 정의되지 않으면서, AAC는 3개의 잠재적 기작을 통해 항생제 활성을 개선시킨다: (1) AAC는 세균을 취득한 포유동물 세포 내부에 항생제를 전달함으로써 세균이 격리되는 파고리소좀으로 불량하게 확산되는 항생제의 효능을 증가시킨다. (2) AAC는 세균을 옵소닌화함으로써 식세포에 의해 유리된 세균의 취득을 증가시키고 국소적으로 항생제를 방출하여 이들을 파고리소좀 내 격리시키면서 세균을 사멸시킨다. 수천개의 AAC가 단일 세균에 결합할 수 있기 때문에, 상기 플랫폼은 최대 항미생물 사멸을 유지하기 위해 이들 세포내 틈새에 충분한 항생제를 방출한다. 추가로, 보다 많은 세균이 기존의 세포내 저장소로부터 방출되기 때문에, 상기 항체 기반 치료요법의 신속한 온-레이트는 이들이 이웃하거나 원거리의 세포로 피할 수 있기 전에 이들 세균의 즉각적인 "태깅"을 보장함에 따라 감염의 추가의 퍼짐을 완화시킨다. (3) AAC는 혈청으로부터 신속하게 제거되는 항생제와 비교하여 항생제를 항체로 연결시킴에 의해 생체내 항생제의 반감기를 개선시킨다(개선된 약리역학). AAC의 개선된 약리역학은 전신 투여될 필요가 있는 전체 항생제 용량을 제한하면서 에스. 아우레우스가 집중되는 지역에 충분한 항생제의 전달을 가능하게 한다. 상기 성질은 최소의 항생제 부작용과 함께 지속적 감염을 표적화하는 AAC를 사용한 장기 치료요법을 허용해야만 한다.

[0191] 프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커에 의해 리파마이신형 항생제에 공유적으로 부착된 항-벽 테이코산 (WTA) 항체를 포함하는, 항체-항생제 접합체 화합물.

[0192] 예시적 구현예는 하기 화학식을 갖는 항체-항생제 접합체이다:

Ab-(PML-abx)_p

[0193] 여기서:

[0194] Ab는 항-벽 테이코산 항체이고;

[0195] PML은 하기 화학식을 갖는 프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커이고:

-Str-PM-Y-

[0196] 여기서, Str은 스트레쳐 유닛이고; PM은 펩티도모사체 유닛이고, Y는 스페이서 유닛이고;

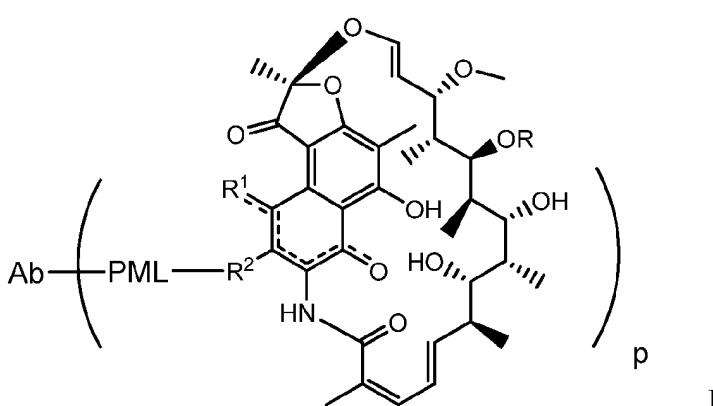
[0197] abx는 리파마이신형 항생제이고;

[0198] p는 1 내지 8의 정수이다.

[0199] 리파마이신형 항생제는 리팔라질형 항생제일 수 있다.

[0200] 리파마이신형 항생제는 프로테아제-절단가능한 비-펩타이드 링커에 부착된 4급 아민을 포함할 수 있다.

[0201] 항체-항생제 접합체의 예시적 구현예는 화학식 I를 갖는다:



[0202] 여기서:

[0203] 파선은 임의의 결합을 지적하고;

[0204] R은 H, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 C(O)CH₃이고;

[0205] R¹은 OH이고;

[0206] R²는 CH=N-(헥테로사이클릴)이고, 여기서, 상기 헥테로사이클릴은 임의로 C(O)CH₃, C₁-C₁₂ 알킬, C₁-C₁₂ 헥테로아릴, C₂-C₂₀ 헥테로사이클릴, C₆-C₂₀ 아릴, 및 C₃-C₁₂ 카보사이클릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 그룹으로 치환되거나;

[0207] R¹ 및 R²는 5원 또는 6원 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴을 형성하고, 임의로 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴, 또는 카보사이클릴 환을 형성하고, 여기서, 상기 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴 또는 카보사이클릴 환은 임의로 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 OH로 치환되고;

[0208] PML은 R² 또는 R¹ 및 R²에 의해 형성된 융합된 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴에 부착된

프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커이고;

[0212] Ab는 항-벽 테이코산(WTA) 항체이다.

[0213] 반응성 링커 모이어티를 통해 항체 분자로 접합될 수 있는 항생제 모이어티의 수는 본원에 기재된 방법에 의해 도입된 유리된 시스테인 잔기의 수에 의해 제한될 수 있다. 예시적 AAC는 1, 2, 3, 또는 4개의 가공된 시스테인 아미노산을 갖는 항체를 포함한다(문헌참조: Lyon, R. 등 (2012) *Methods in Enzym.* 502: 123-138).

항-벽 테이코산 (WTA) 항체

[0215] 본원에 기재된 것은 스타필로코커스 아우레우스를 포함하는 다수의 Gm+ 세균 상에 발현되는 WTA에 결합하는 특정 항-WTA Ab 및 접합된 항-WTA 항체이다. 항-WTA 항체는 하기 문헌에 교시된 방법 및 하기 실시예에 의해 선택되고 제조될 수 있다: US 8283294; Meijer PJ 등 (2006) *J Mol Biol.* 358(3): 764-72; Lantto J, 등 (2011) *J Virol.* 85(4): 1820-33, 및 하기 실시예 3-4.

[0216] 그램-양성 세균의 세포 벽은 세포막을 안정화시킬 뿐만 아니라 다른 분자가 부착될 수 있는 많은부위를 제공하는 두터운 층의 다수 펩티도글리칸(PGN) 쇠스로 이루어진다(도 4). 이를 세포 표면 당단백질의 주요 부류는 테이코산("TA")이고, 이는 많은 글리칸-결합 단백질(GPB) 상에서 발견되는 포스페이트 풍부 분자이다. TA는 2개 유형으로 나눈다: (1) 혈장막에 앵커링되고 세포 표면으로부터 펩티도글리칸 층으로 연장하는 지질 테이코산 ("LTA"); 및 (2) 펩티도글리칸으로 공유적으로 부착되고 세포 벽을 통해 이를 벗어나 연장하는 벽 TA ("WTA") (도 4). WTA는 GPB에서 총 세포벽 매쓰 60%만큼 많이 차지할 수 있다. 결과로서, 이것은 고도로 발현된 세포 표면 항원을 제공한다.

[0217] WTA의 키메라 구조는 유기체 마다 다양하다. 예스. 아우레우스에서, WTA는 N-아세틸글리코사민 (GlcNAc)-1-P 및 N-아세틸만노스아민 (ManNAc)으로 이루어지고 이어서 글리세롤-포스페이트의 약 2개 또는 3개 유닛으로 구성된 디사카라이드를 통해 N-아세틸 무란산(MurNAc)의 6-OH에 공유적으로 연결된다(도 5). 실제 WTA 중합체는 이어서 약 11 내지 40개 리비톨-포스페이트(Rbo-P) 반복 유닛으로 구성된다. WTA의 단계적 합성은 처음에 Tag0로 불리우는 효소에 의해 개시되고, Tag0 유전자가 부재 (유전자 결실에 의해)인 예스. 아우레우스 균주는 임의의 WTA를 제조하지 않는다. 반복 유닛은 C2-OH에서 D-알라닌 (D-Ala) 및/또는 α - (알파) 또는 β - (베타) 글리코시드 연결을 통해 C4-OH 위치에서 N-아세틸글루코사민 (GlcNAc)으로 추가로 조정될 수 있다. 예스. 아우레우스 균주, 또는 세균의 성장 단계에 의존하여, 글리코시드 연결체는 α -, β -, 또는 2개의 어노머의 혼합물일 수 있다. 이를 GlcNAc 당 변형은 2개의 특이적 예스. 아우레우스-유래된 글리코실트랜스퍼라제 (Gtf)에 의해 조정된다: TarM Gtf는 α -글리코시드 연결을 매개하는 반면, TarS Gtf는 β - (베타)글리코시드 연결을 매개한다.

[0218] MRSA의 세포내 저장이 항생제로부터 보호된다는 것이 상당히 입증된 상황에서, 본 발명의 신규치료학적 조성물은 항생제를 세균 상으로 테더링하기 위해 예스. 아우레우스 특이적 항체를 사용하여 세균이 생체내 숙주 세포에 의해 취득되거나 내재화된 경우 항생제가 숙주 세포로 운반되도록 함에 의해 상기 항생제 회피 방법을 차단하기 위해 개발되었다.

[0219] 본 발명의 AAC의 항-WTA 항체는 항-WTA α 또는 항-WTA β 항체일 수 있다. 본원 명세서 전반에 걸쳐 제공된 예시적 항-WTA Ab는 예스. 아우레우스 감염된 환자 기원의 B 세포로부터 클로닝하였다(하기 실시예에 교시된 바와 같이). 하나의 구현예에서, 항-WTA 및 항-스타프 아우레우스(Staph aureus) Ab는 인간 모노클로날 항체이다. 본 발명의 AAC 또는 TAC는 본 발명의 WTA Ab의 CDR을 포함하는 키메라 Ab 및 인간화된 Ab를 포함한다.

[0220] 본 발명의 치료학적 용도를 위해, AAC를 생성하기 위해 항생제에 접합된 WTA Ab는 IgM을 제외하고는 임의의 이 소형일 수 있다. 하나의 구현예에서, WTA Ab는 인간 IgG 이소형이다. 보다 구체적 구현예에서, WTA Ab는 인간 IgG1이다.

[0221] 본원 명세서 및 도면 전반에 걸쳐, 하기 4-자리 숫자로 지정된 Ab (예를 들어, 4497)는 또한 앞에 "S"를 붙여 언급될 수 있고, 예를 들어, S4497이고; 2개 명칭은 항체의 야생형 (WT) 비변형된 서열인 동일한 항체를 언급한다. 항체의 변이체는 항체 번호 뒤에 "v"를 붙여 나타내고, 예를 들어, 4497v8이다. 달리 특정되지 않는 경우 (예를 들어, 변이체 번호에 의해 나타낸 바와 같은), 나타낸 아미노산 서열은 본래의 비변형된/변화되지 않은 서열이다. 이를 Ab는 예를 들어, pK, 안정성, 발현, 제조능 (예를 들어, 하기 실시예에 기재된 바와 같이)을 개선하기 위해 하나 이상의 잔기에서 변화될 수 있지만, 야생형의 비변형된 항체와 비교하여 항원에 대해 거의 동일하거나 개선된 결합 친화성을 실질적으로 유지한다. 보존성 아미노산 치환을 갖는 본 발명의 WTA 항체의 변이체는 본 발명에 의해 포함된다. 하기에서, 달리 특정되지 않는 경우, CDR 넘버링은 카밧에 따르고 불변 도메인

넘버링은 EU 넘버링에 따른다.

[0222] TAC 화합물을 생성하기 위한 접합을 위해, 본 발명의 항-WTA 항체는 하기 교시된 바와같이 링커-항생제 중간체로의 접합을 위해 L 및 H 쇄중 1개 또는 둘다에서 가공된 Cys를 포함할 수 있다.

[0223] 도 11a 및 도 11b는 각각 인간 항-WTA 알파 항체의 경쇄 가변 영역 (VL) 및 중쇄 가변 영역(VH)의 아미노산 서열 정렬을 제공한다. 카밧 넘버링에 따른 CDR 서열 CDR L1, L2, L3 및 CDR H1, H2, H3은 밑줄쳐져 있다.

[0224] 표 1A: 항-WTA α 의 경쇄 CDR 서열.

항-WTA α 의 경쇄 CDR 서열

항체	CDR L1	CDR L2	CDR L3
4461	KSSQSVLSRANNYYVA (서열번호.1)	WASTREF (서열번호.2)	QQYYTSRRT (서열번호.3)
4624	RSNQNLLSSSSNNYLA (서열번호.7)	WASTRES (서열번호.8)	QQYYANPRT (서열번호.9)
4399	KSNQNVLASSNDKNYLA (서열번호.13)	WASIRES (서열번호.14)	QQYYTNPRT (서열번호.15)
6267	KSSQNVLYSSNNKNYLA (서열번호.19)	WASTRES (서열번호.20)	QQYYTSPPYT (서열번호.21)

[0225]

[0226]

표 1B: 항-WTA α 의 중쇄 CDR 서열.항-WTA α 의 중쇄 CDR 서열

항체	CDR H1	CDR H2	CDR H3
4461	DYYMH (서열번호.4)	WINPKSGGTNYAQRFQG (서열번호.5)	DCGSGLRDF (서열번호.6)
4624	DYYIH (서열번호.10)	WINPNTGGTYYAQKFRD (서열번호.11)	DCGRGGLRDI (서열번호.12)
4399	DYYIH (서열번호.16)	WINPNTGGTNYAQKFQG (서열번호.17)	DCGNAGLRDI (서열번호.18)
6267	SYWIG (서열번호.22)	IIHPGDSKTRYSPSFQG (서열번호.23)	LYCSGGSCYSR AFSSLGAGGYYY YGMGV (서열번호.24)

[0227]

[0228]

VL 및 VH의 각각의 쌍의 서열은 다음과 같다:

4461 경쇄 가변 영역

DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSRANNNNYVAWYQHKGQPPKLLIYWASTREFGPDRFSGSGSGTDF
TLTINSLQAEDVAVYYCQQYYTSRRTFGQQGTKVEIK (서열번호 25)

4461 중쇄 가변 영역

QVQLVQSGAEVRKPGASVKVSCKASGYSFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQRFQGRVTMTGDTS
AAYMDLASLTSDDTAVYYCQYANPRTFGQQGTKVEIK (서열번호 26)

4624 경쇄 가변 영역

DIQMTQSPDSLSVSLGERATINCRSNQNLLSSSSNNNYWYQQKPGQPLKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF
LTISSLQAEDVAVYYCQQYYANDPRTFGQQGTKVEIK (서열번호 27)

4624 중쇄 가변 영역

QVQLQQSRVEVKRPGTSVKVSCKTSGYTFSTYIHWVRLAPGQGLEMGWINPNTGGTYYAQKFRDRVTMTRDTS
TAYLEMSSLTSDDTAVYYCAKDCGRGGLRDIWGPGTMVTVSS (서열번호 28)

4399 경쇄 가변 영역

EIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKSNQVLASSNDKNYWFQHKGQPLKLLIYWASIRESVPDRFSGSGSGTDF
TLTISSLRAEDVAVYYCQQYYTNPRTFGQQGTKVEFN (서열번호 29)

4399 중쇄 가변 영역

EVQLVQSGAEVKPGTSVKVSCKASGYTFDYYIHWVRLAPGQGLEMGWINPNTGGTNYAQKFQGRVTMTRDTS
TAYMELSSLTSDDTAVYYCAKDCGNAGLRDIWQQGTVTVSS (서열번호 30)

6267 경쇄 가변 영역

DIQLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQVLYSSNNKNYWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF
TLTISSLQAEDVAVYYCQQYYTSPPYTFGQGTKLEIE (서열번호 31)

6267 중쇄 가변 영역

EVQLVQSGAEVKPGESLKISCKGSGSFTSYWIGWVRQMPGKGLEMGIIHPGDSKTRYSPFQQVTISADKSI
TAYLQWNSLKASDTAMYCARLYCSGGSCDRAFSSLGAGGYYYGMVWQQGTTVTVSS (서열번호 32).

[0229]

[0230] AAC 화합물의 생성을 위해, 본 발명은 경쇄 및 H쇄를 포함하는 벽 테이코산 알파 (WTA α)에 결합하는 단리된 모노클로날 항체를 제공하고 상기 L쇄는 CDR L1, L2, L3을 포함하고 H쇄는 CDR H1, H2, H3을 포함하고, 여기서, 상기 CDR L1, L2, L3 및 H1, H2, H3은 Abs 4461 각각의 CDR의 하기 아미노산 서열을 포함한다(서열번호 1-6), 4624 (서열번호 7-12), 4399 (서열번호 13-18), 및 6267 (서열번호 19-24), 이들 각각은 상기 표 1A 및 표 1B에 나타낸 바와 같음.

- [0232] 또 다른 구현예에서, WTA a에 결합하는 단리된 모노클로날 Ab는 H쇄 가변 영역 (VH) 및 L쇄 가변 영역 (VL)을 포함하고, 여기서, 상기 VH는 각각 항체 4461, 4624, 4399, 및 6267의 VH 영역 서열의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함한다. 또 다른 특정 양상에서, 서열 동일성은 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.
- [0233] 본 발명은 또한 도 12에 예시된 Ab의 목록으로부터 항-WTA 베타 항체를 포함하는 AAC를 제공한다. 하나의 구현 예에서, 단리된 항-WTA 베타 모노클로날 Ab는 도 12에서 13개 Ab 각각의 CDR로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 CDR L1, L2, L3 및 H1, H2, H3을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명은 13개 항체 각각의 V 영역 도메인의 길이를 따라 적어도 95% 서열 동일성을 포함하는 단리된 항-WTA 베타 Ab를 제공한다. 또 다른 특정 양상에서, 서열 동일성은 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.
- [0234] 13개 항-WTA 베타 Ab 중, 6078 및 4497은 i) 링커-항생제 중간체로의 접합을 위해 L 및 H 쇄중 하나 또는 둘다에서 가공된 Cys를 갖고 ii) 여기서, H쇄에서 첫번째 잔기에서 Q가 E (v2)로 변화되거나 첫번째 2개의 잔기 QM 이 EI 또는 EV (v3 및 v4)로 변화된 변이체를 생성하기 위해 변형되었다.
- [0235] 도 13a-1 및 13a-2는 항-WTA 베타 Ab 6078 (비변형된) 및 이의 변이체, v2, v3, v4의 전장 L 쇄의 아미노산 서열을 제공한다. 가공된 Cys를 함유하는 L쇄 변이체는 불변 영역의 말단에서 블랙 박스의 C로 나타낸다(이 경우에, EU 잔기 번호 205). 변이체 지정, 예를 들어, v2LC-Cys는 L 쇄로 가공된 Cys를 함유하는 변이체 2를 의미한다. HCLC-Cys는 항체의 H 및 L쇄 둘다가 가공된 Cys를 함유함을 의미한다. 도 13b-1 내지 13b-4는 항-WTA 베타 Ab 6078 (비변형된), 및 H쇄의 처음 또는 처음 2개의 잔기에서 변화를 갖는 이의 변이체, v2, v3, v4의 전장 H 쇄의 정렬을 보여준다. 가공된 Cys를 함유하는 H쇄 변이체는 불변 영역의 말단에 블랙 박스의 C로 나타낸다(EU 잔기번호 118).
- [0236] 6078 경쇄 가변 영역 (VL)
- [0237] DIVMTQSPSILSASVGDRVTITCRASQTISGWLAWYQQKPAEAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFGIYYCQQYKSYSFNFQGQGT
KVEIK (서열번호 111)
- [0238] 6078 중쇄 가변 영역 (VH)
- [0239] XX₁QLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYTLTSYDINWVRQATGQGPEWMGMNANSQNTGYAQKFQGRVLTGDTISI STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSSI
LVRGALGRYFDLWGRGTLTVSS(서열번호 112) 여기서, X는 Q 또는 E이고; X₁은 M, I 또는 V이다.
- [0240] 6078 경쇄
- [0241] DIVMTQSPSILSASVGDRVTITCRASQTISGWLAWYQQKPAEAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFGIYYCQQYKSYSFNFQGQGT
KVEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC (서열번호 113)
- [0242] 6078 시스테인-가공된 경쇄
- [0243] DIVMTQSPSILSASVGDRVTITCRASQTISGWLAWYQQKPAEAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFGIYYCQQYKSYSFNFQGQGT
KVEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
CTKSFNRGEC(서열번호 115)
- [0244] 6078 WT 전장 중쇄
- [0245] QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYTLTSYDINWVRQATGQGPEWMGMNANSQNTGYAQKFQGRVLTGDTISI STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSSI
LVRGALGRYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYLSLSSVTPSSSLGTQ
YICNVNHPKNSNTVKDKVKEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVSVLTQLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열번호 114)
- [0246] 6078 변이체 (v2, v3, 또는 v4) 전장 중쇄
- [0247] EXQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYTLTSYDINWVRQATGQGPEWMGMNANSQNTGYAQKFQGRVLTGDTISI STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSSI
LVRGALGRYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYLSLSSVTPSSSLGTQ
YICNVNHPKNSNTVKDKVKEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVSVLTQLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(서열번호 116), 여기서, X는 M, I 또는 V일 수 있다.

- [0248] 6078 변이체 (v2, v3 또는 v4), Cys-가공된 중쇄
EXQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYTLTSYDINWVRQATQQGPEWMGMNANSNTGYAQKFQGRVLTGDTISI STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSSIL VRGALGRYFDLWGRGTLVTVSSCSTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVSVLTQLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPQREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(서열번호 117), 여기서, X는 M, I 또는 V이다.
- [0249] 하나의 구현예에서, 본 발명은 중쇄 및 경쇄를 포함하는 단리된 항-WTA 베타 항체를 제공하고, 여기서, 중쇄는 서열번호: 112에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH를 포함한다. 추가의 구현예에서, 상기 항체는 서열번호: 111에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL을 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 항-WTA 베타 항체는 경쇄 및 중쇄를 포함하고, 여기서, 상기 L쇄는 서열번호: 111의 VL을 포함하고, 상기 H 쇄는 서열번호: 112의 VH를 포함한다. 여전히 추가의 특정 구현예에서, 단리된 항-WTA 베타 항체는 서열번호: 113의 L쇄를 포함하고 서열번호: 114의 H쇄를 포함한다.
- [0250] 6078 Cys-가공된 H 및 L쇄 변이체는 하기의 임의의 조합으로 쌍을 이루어 링커-Abx 중간체로의 접합을 위해 완전한 Ab를 형성하여 본 발명의 항-WTA AAC를 생성할 수 있다. 비변형된 L 쇄 (서열번호 113)는 서열번호: 117의 Cys-가공된 H쇄 변이체와 쌍을 형성할 수 있고; 변이체는 X가 M, I 또는 V인 변이체일 수 있다. 서열번호: 115의 Cys-가공된 L 쇄는 서열번호 114의 H 쇄; 서열번호 116의 H 쇄 변이체; 또는 서열번호 117의 Cys-가공된 H쇄 변이체와 쌍을 형성할 수 있다 (상기 버전에서, H 및 L 쇄 둘다는 Cys 가공된다). 특정 구현예에서, 본 발명의 항-WTA 베타 항체 및 항-WTA 베타 AAC는 서열번호: 115의 L쇄 및 서열번호 116의 H쇄를 포함한다.
- [0251] 도 14a-1 및 14a-2는 항-WTA 베타 Ab 4497 (비변형된) 및 이의 v8 변이체의 전장 L쇄를 제공한다. 가공된 Cys를 함유하는 L쇄 변이체는 불변 영역의 말단 부근에서 블랙 박스의 C로 나타낸다(EU 잔기 번호 205에서). 도 14b-1, 14b-2, 14b-3은 항-WTA 베타 Ab 4497 (비변형된) 및 이의 v8 변이체 (가공된 Cys의 존재 또는 부재하에 CDR H3 위치 96번에서 D에서 E로 변화됨)의 전장 H 쇄의 정렬을 보여준다. 가공된 Cys를 함유하는 H 쇄 변이체는 불변 영역 C_H1의 초기에 블랙 박스의 C로 나타낸다(EU 잔기번호 118에서, 이 경우에). 비변형된 CDR H3은 GDGLDD (서열번호 104)이고; 4497v8 CDR H3은 GEGGLDD (서열번호 118)이다.
- [0252] 4497 경쇄 가변 영역
DIQLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSIFRTSRNKNLNNWYQQRPGQPPRLLIHWASTRKSGVPDRFSGSGFGTDFTLTITSLQAEDVAIYYCQQYFSPPY TFGQGTKLEIK (서열번호 119)
- [0253] 4497 중쇄 가변 영역
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFSFNSFWMHWRQVPKGGLVWISFTNNEGTTAYADSVRGRFIISRDNAKNTLYLEMNNLRGEDTAVYYCARGDGG LDDWGQGTLTVTSS (서열번호 120)
- [0254] 4497.v8 중쇄 가변 영역
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFSFNSFWMHWRQVPKGGLVWISFTNNEGTTAYADSVRGRFIISRDNAKNTLYLEMNNLRGEDTAVYYCARGE EGG LDDWGQGTLTVTSS(서열번호 156)
- [0255] 4497 경쇄
DIQLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSIFRTSRNKNLNNWYQQRPGQPPRLLIHWASTRKSGVPDRFSGSGFGTDFTLTITSLQAEDVAIYYCQQYFSPPY TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 121)
- [0256] 4497 v.8 중쇄
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFSFNSFWMHWRQVPKGGLVWISFTNNEGTTAYADSVRGRFIISRDNAKNTLYLEMNNLRGEDTAVYYCARGE EGG LDDWGQGTLTVTSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPQREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(서열번호 122)

- [0264] 4497 -Cys 경쇄
- [0265] DIQLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSIFRTSRNKNLNWYQQRPGQPPRLLIHWASTRKSGVPDRFSGSGFTDFLTITSLQAEDVAIYYCQQYFSPPY TFGQQTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 123)
- [0266] 4497.v8- 중쇄
- [0267] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFSFNSFWMHVWRQVPGKGLVWISFTNNEGTTAYADSVRGRFIISRDNAKNTLYLEMNNLRGEDTAVYYCARGEGL LDDWGQGTLTVVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDVFPEPVTSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(서열번호 157; 서열번호 122와 동일함).
- [0268] 4497.v8 -Cys 중쇄
- [0269] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFSFNSFWMHVWRQVPGKGLVWISFTNNEGTTAYADSVRGRFIISRDNAKNTLYLEMNNLRGEDTAVYYCARGEGL LDDWGQGTLTVVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDVFPEPVTSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(서열번호 124)
- [0270] 본 발명에 의해 제공된 또 다른 단리된 항-WTA 베타 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서, 상기 중쇄는 서열번호: 120에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH를 포함한다. 추가의 구현예에서, 상기 항체는 서열번호: 119에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VL을 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 항-WTA 베타 항체는 경쇄 및 중쇄를 포함하고, 여기서, 상기 L쇄는 서열번호: 119의 VL을 포함하고, H쇄는 서열번호: 120의 VH를 포함한다. 여전히 추가의 특정 구현예에서, 단리된 항-WTA 베타 항체는 서열번호: 121의 L쇄를 포함하고 서열번호: 122의 H쇄를 포함한다.
- [0271] 4497 Cys-가공된 H 및 L쇄 변이체는 하기 임의의 조합으로 쌍을 형성하여 링커-Abx 중간체에 접합을 위한 완전한 Ab를 형성하여 본 발명의 항-WTA AAC를 생성할 수 있다. 비변형된 L쇄 (서열번호 121)는 서열번호: 124의 Cys-가공된 H쇄 변이체와 쌍을 형성할 수 있다. 서열번호: 123의 Cys-가공된 L쇄는 하기와 쌍을 형성할 수 있다: 서열번호 157의 H쇄 변이체; 또는 서열번호 124의 Cys-가공된 H쇄 변이체 (상기 버전에서, H 및 L쇄 둘다는 Cys 가공된다). 특정 구현예에서, 본 발명의 항-WTA 베타 항체 및 항-WTA 베타 AAC는 서열번호: 123의 L쇄를 포함한다.
- [0272] 여전히 또 다른 구현예는 도 11a 및 도 11b의 항-WTA 알파 Ab의 각각과 동일한 에피토프에 결합하는 항체이다. 또한, 도 12, 도 13a 및 13b, 및 도 14a 및 14b의 항-WTA 베타 Ab 각각과 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.
- [0273] 항-WTA 항체의 WTA로의 결합은 WTA 상의 GlcNAc-당 변형의 어노머성 배향에 의해 영향받는다. WTA는 각각 TarM 글리코실트랜스퍼라제 또는 TarS 글리코실트랜스러파제에 의해 α - 또는 β -글리코시드 연결을 통해 C4-OH 위치에서 N-아세틸글루코사민 (GlcNAc) 당 변형에 의해 변형시킨다. 따라서, TarM이 부재이거나 (Δ TarM), TarS이 부재이거나 (Δ TarS), TarM 및 TarS 둘다가 부재인 (Δ TarM/ Δ TarS) 글리코실트랜스퍼라제 돌연변이 균주 기원의 세포벽 제제는 WTA에 대한 항체를 사용하여 면역불로팅 분석에 적용하였다. WTA 상의 α -GlcNAc 변형에 특이적인 WTA 항체(S7574)는 Δ TarM 균주 기원의 세포벽 제제에 결합하지 않는다 (문헌참조: Meijer, P. J., 등 (2006) "Isolation of human antibody repertoires with preservation of the natural heavy and light chain pairing." *Journal of molecular biology* 358, 764-772). 반대로, WTA상의 β -GlcNAc 변형에 특이적인 WTA 항체(S4462)는 Δ TarS 균주 기원의 세포벽 제제에 결합하지 않는다. 예상된 바와 같이, 이를 항체 둘다는 글리코실트랜스퍼라제 둘다가 부재 (Δ TarM/ Δ TarS)인 결실 균주 및 또한 임의의 WTA (δ Tag0)가 부재인 균주 기원의 세포벽 제제에 결합하지 않는다. 상기 분석에 따라, 항체는 도 6a 및 6b에서 표에 열거된 바와 같이 항- α -GlcNAc WTA mAb로서, 또는 항- β -GlcNAc WTA mAb로서 특징화되었다.
- [0274] 시스테인 아미노산은 항체에서 반응성 부위에서 가공될 수 있고 쇄내 또는 분자간 디설파이드연결을 형성하지 않는다(문헌참조: Junutula, 등, 2008b *Nature Biotech.*, 26(8): 925-932; Dornan 등 (2009) *Blood* 114(13): 2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249, Shen 등 (2012) *Nature Biotech.*, 30(2): 184-191;

Junutula 등 (2008) Jour of Immun.Methods 332: 41-52). 가공된 시스테인 티올은 말레이미드 또는 알파-할로아미드와 같은 티올-반응성 친전자성 그룹을 갖는 본 발명의 링커 시약 또는 링커-항생제 중간체와 반응하여 시스테인 가공된 항체 (THIOMABTM 또는 타오Mab) 및 항생제 (abx) 모이어티와 AAC를 형성할 수 있다. 따라서, 항생제 모이어티의 위치는 디자인되고, 제어될 수 있고 공지된 것일 수 있다. 항생제 로딩은 가공된 시스테인 티올 그룹은 전형적으로 고수율로 티올-반응성 링커 시약 또는 링커-항생제 중간체와 반응할 수 있기 때문에 제어될 수 있다. 중쇄 또는 경쇄 상의 단일 부위에서 치환에 의해 시스테인 아미노산을 도입하기 위해 항-WTA 항체를 가공하는 것은 대칭 4량체 항체 상에 2개의 새로운 시스테인을 부여한다. 약 2의 항생제 로딩이 성취될 수 있고 접합 생성물 AAC를 거의 균일하게 할 수 있다.

[0275] 특정 구현예에서, 시스테인 가공된 항-WTA 항체를 생성시키는 것이 요구될 수 있고, 이는 예를 들어, "ThioMab"이고, 여기서, 항체의 하나 이상의 잔기는 시스테인 잔기로 치환된다. 특정 구현예에서, 상기 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에 존재한다. 상기 잔기를 시스테인으로 치환시킴에 의해, 반응성 티올 그룹은 항체의 접근가능한 부위에 위치하고 항체를 다른 모이어티, 예를 들어, 항생제 모이어티 또는 링커-항생제 모이어티에 접합시켜 본원에 추가로 기재된 바와 같은 면역접합체를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 하기의 잔기의 임의의 하나 이상은 시스테인으로 치환될 수 있고, 이는 경쇄의 V205 (카밧 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링)을 포함한다. 항-WTA 항체의 비제한적 예시적 시스테인 가공된 중쇄 A118C (서열번호 149) 및 경쇄 V205C (서열번호 151) 돌연변이를 나타낸다. 시스테인 가공된 항-WTA 항체는 하기 문헌에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다: Junutula, 등, 2008b Nature Biotech., 26(8): 925-932; US 7521541; US-2011/0301334.

[0276] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 AAC를 생성하기 위한 접합을 위해 단리된 항-WTA 항체를 제공하고, 상기 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서, 상기 중쇄는 야생형 중쇄 불변 영역 서열 또는 시스테인 가공된 돌연변이체 (ThioMab)를 포함하고 경쇄는 야생형 경쇄 불변 영역 서열 또는 시스테인-가공된 돌연변이체(ThioMab)를 포함한다. 하나의 양상에서, 중쇄는 하기와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다:

[0277]

[0278] 중쇄 (IgG1) 불변 영역, 야생형

[0279] ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0280] (서열번호 148)

[0281]

[0282] 중쇄 (IgG1) 불변 영역, A118C "ThioMab"

[0283] CSTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0284] (서열번호 149)

[0285]

[0286] 및 경쇄는 하기와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다:

[0287] 경쇄 (카파) 불변 영역, 야생형

[0288] RTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKKVYACEVTHQGLSSPVTKFNRGEC

[0289] (서열번호 150)

[0290]

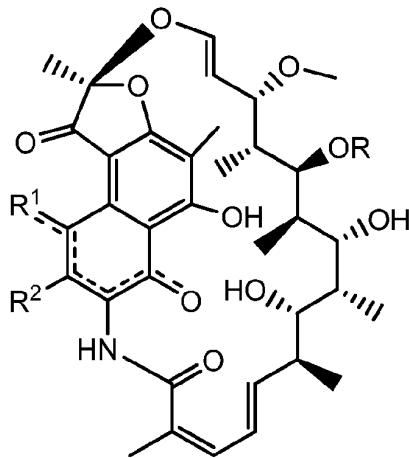
- [0291] 경쇄 (카파) 불변 영역, V205C "ThioMab"
- [0292] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPCTKSF
NRGEC
- [0293] (서열번호 151)
- [0294] 본 발명의 AAC는 시스테인 가공된 항-WTA 항체를 포함하고, 여기서, 야생형 또는 모 항-WTA 항체의 하나 이상의 아미노산은 시스테인 아미노산으로 대체된다. 따라서, 항체의 임의의 형태는 가공되거나, 즉, 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 모 Fab 항체 단편은 본원에서 "티오Fab"로 언급되는 시스테인 가공된 Fab를 형성하기 위해 가공될 수 있다. 유사하게, 모 모노클로날 항체는 "ThioMab"을 형성하기 위해 가공될 수 있다. 단일 부위 돌연변이는 IgG 항체의 2량체 특성으로 인해 ThioMab에서 2개의 가공된 시스테인 잔기를 생성시킨다. 대체된 ("가공된") 시스테인 (Cys) 잔기를 갖는 돌연변이는 새롭게 도입된 가공된 시스테인 티올 그룹의 반응성에 대해 평가된다.
- [0295] 본원에 기재된 항생제는 배양 중에 숙주 세포를 사용하여 생성될 수 있다. 숙주 세포는 본원에 기재된 항체를 암호화하는 하나 이상의 핵산을 포함하는 백터 (발현 또는 클로닝 백터)로 형질전환시킬 수 있다. 세포는 항체를 생성하기 위해 적합한 조건하에서 배양될 수 있고, 세포에 의해 생성된 항체는 추가로 정제될 수 있다. 항체를 생성하기 위해 적합한 세포는 원핵 세포, 효모 또는 고등 진핵 세포(예를 들어, 포유동물)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 포유동물 세포(인간 또는 비-인간 포유동물 세포)가 사용된다. 일부 구현예에서, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포가 사용된다.
- [0296] 포유동물 세포가 배양될 수 있고 배양 (조직 배양) 중 포유동물 세포의 증식은 통상의 과정이 되었다. 포유동물 숙주 세포주의 예는 제한 없이 다음을 포함할 수 있다: SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651)에 의해 형질전환된 봉기 신장 CV1 주; 인간 배아 신장 주(현탁 배양 중 성장을 위해 서브클로닝된 293 또는 293 세포들, Graham 등, *J. Gen Viroi.* 36: 59 (1977)); 베이비 햄스터 신장 신장 세포 (BHK, ATCC CCL 10); 마우스 세르톨리 세포 (TM4, Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)); 봉기 신장 세포 (CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 그린 봉기 신장 세포 (VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 경부 암종 세포 (HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포 (MDCK, ATCC CCL 34); 벼 팔로 래트 간 세포 (BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포 (Hep G2, HB 8065); 마우스 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51); TRI 세포 (Mather 등, *Annals N.Y.Acad.Sci.* 383: 44-68 (1982)); MRC 5 세포; FS4 세포; 및 인간 간암 주 (Hep G2). 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 다음을 참조한다: 예를 들어, Yazaki 및 Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol.248 (B. K.C. Lo, Ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pP. 255-268.
- [0297] 목화, 옥수수, 감자, 대두, 페루니아, 토마토, 좀개구리밥(duckweed) (레니나세아), 알팔파 (엠. 트렁카툴라(M. truncatula)), 및 담배의 식물 세포 배양은 또한 숙주로서 사용될 수 있다.
- [0298] 상기 목적을 위해 적합한 원핵 세포는 다음을 포함한다: 진정세균, 예를 들어, 그람-음성 또는 그람-양성 유기체, 예를 들어, 엔테로박테리아세아, 예를 들어, 에스케리치아, 예를 들어, 이. 콜라이, 엔테로박터, 에르위니아, 클렙시엘라, 프로테우스, 살모넬라, 예를 들어, 살모넬라 티피무리움, 세라티아, 예를 들어, 세라티아 마르세스칸스, 및 쇠겔라, 및 바실리 예를 들어, 비. 서브틸리스 및 비. 리케니포르미스 (예를 들어, 비. 리케니포르미스 41P, 이는 1989년 4월 12일자로 공개된 DD 266,710에 기재됨1989), 슈도모나스 예를 들어, 피. 아에루기노사, 및 스트렙토마이세스. 하나의 바람직한 이. 콜라이 클로닝 숙주는 이. 콜라이 294 (ATCC 31,446)이지만, 이. 콜라이 비, 이. 콜라이 X1776 (ATCC 31,537), 및 이. 콜라이 W3110 (ATCC 27,325)와 같은 다른 균주가 적합하다. 이를 예는 제한 보다는 설명을 위한 것이다.
- [0299] 원핵 세포 뿐만 아니라, 곰팡이 또는 효모와 같은 진핵 세포 미생물은 항체-암호화 백터를 위해 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 사카로마이세스 세레비지에, 또는 통상의 베이커 효모는 하등 진핵 세포 숙주 미생물 중에서 가장 통상적으로 사용된다. 그러나, 다수의 다른 속, 종 및 균주가 통상적으로 사용하고 본원에서 유용하며, 다음과 같은 미생물이 유용하다: 예를 들어, 쉬조사카로마이세스 품종; 클루이베로마이세스 숙주 예를 들어, 케이. 락티스, 케이. 프라길리스 (ATCC 12,424), 케이. 불가리쿠스 (ATCC 16,045), 케이. 와케라미 (ATCC 24,178), 케이. 왈티 (ATCC 56,500), 케이. 드로소필라룸 (ATCC 36,906), 케이. 씨모톨레란스, 및 케이. 마르시아누스; 야로위아 (EP 402,226); 피카야 파스토리스 (EP 183,070); 캔디다; 트리코더마 리시아 (EP 244,234); 뉴로스포라 크라사; 슈와니오마이세스 예를 들어 슈와니오마이세스 옥시덴탈리스; 및 곰팡이, 예를

들어, 뉴로스포라, 페니실리움, 툴리포클라디움, 및 아스퍼질러스 숙주, 예를 들어 에이. 니둘란스 및 에이. 나이거.

[0300] 리파마이신형 항생제 모이어티

본 발명의 항체-항생제 접합체(AAC)의 항생제 모이어티(abx)는 리파마이신형 항생제 또는 세포독성 또는 세포증식억제 효과를 갖는 그룹이다. 리파마이신은 박테리움, 노카디아, 메디테라네이, 아미콜라토프시스 메디테라네이에 의해 천연적으로 또는 인위적으로 수득된 항생제 그룹이다. 이들은 세균 RNA 폴리머라제를 억제하는 보다 큰 암사마이신 계열의 서브클래스이고(문헌참조: Fujii 등 (1995) *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 1489-1492; Feklistov, 등 (2008) *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(39): 14820-5) 그람-양성 및 선택적 그람-음성 세균에 대해 효능을 갖는다. 리파마이신은 특히 마이코박테리아에 대해 효과적이고, 따라서 결핵, 한센병 및 마이코박테리움 아비움 복합체 (MAC) 감염을 치료하기 위해 사용된다. 리파마이신형 그룹은 "전형적" 리파마이신 약물을 포함할 뿐만 아니라, 리파마이신 유도체 리팜피신 (리팜핀, CA 등록 번호 13292-46-1), 리파부틴 (CA 등록 번호 72559-06-9; US 2011/0178001), 리파펜틴 및 리팔라질 (CA 등록 번호 129791-92-0)을 포함한다: Rothstein 등 (2003) *Expert Opin. Investig. Drugs* 12(2): 255-271; Fujii 등 (1994) *Antimicrob. Agents Chemother.* 38: 1118-1122. 많은 리파마이신형 항생제는 내성 발달의 해로운 성질을 공유한다(문헌참조: Wichelhaus 등 (2001) *J. Antimicrob. Chemother.* 47: 153-156). 리파마이신은 처음 1957년에 스트렙토마이세스 메디테라네이의 발효 배양물로부터 단리하였다. 약 7개의 리파마이신이 발견되었고, 리파마이신 A, B, C, D, E, S, 및 SV (US 3150046)로 호칭된다. 리파마이신 B는 처음 상업적으로 도입되었고 1960년에 약물-내성 결핵을 치료하는데 유용하였다. 리파마이신은 많은 질환의 치료를 위해 사용되어 왔고, 가장 중대한 질환은 HIV 관련 결핵이다. 다수의 가능한 유사체 및 유도체로 인해, 리파마이신은 통상적으로 사용되는 항생제에 내성인 병원성 세균의 제거에 광범위하게 사용되어 왔다. 예를 들어, 리팜피신은 이의 강력한 효과 및 약물 내성을 차단하는 능력 때문에 잘 알려져 있다. 이것은 신속-분열하는 바실리 균주를 급속히 사멸시킬 뿐만 아니라 이들이 항생제 활성을 회피하기 위해 가능한 기간 동안 생물학적으로 불활성인 상태로 남아있는 ""퍼시스터" 세포를 사멸시킨다. 추가로, 리파부틴 및 리파펜틴 둘다는 HIV-양성 환자에서 획득된 결핵에 대해 사용되어 왔다.

[0302] 화학식 I의 항체-항생제 접합체의 항생제 모이어티 (abx)는 하기의 구조를 갖는 리파마이신형 모이어티이다:



[0303]

[0304] 여기서:

[0305] 과선은 임의의 결합을 지적하고;

[0306] R은 H, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 C(O)CH₃이고;

[0307] R¹은 OH이고;

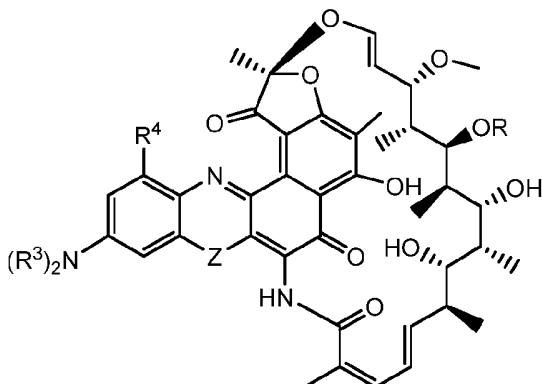
[0308] R²는 CH=N-(헥테로사이클릴)이고, 여기서, 상기 헥테로사이클릴은 임의로 C(O)CH₃, C₁-C₁₂ 알킬, C₁-C₁₂ 헥테로아릴, C₂-C₂₀ 헥테로사이클릴, C₆-C₂₀ 아릴, 및 C₃-C₁₂ 카보사이클릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 그룹으로 치환되거나;

[0309] R¹ 및 R²은 5원 또는 6원 융합된 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴을 형성하고, 임의로 스피로 또는 융합된 6원

헤테로아릴, 헤테로사이클릴, 아릴 또는 카보사이클릴 환을 형성하고, 여기서, 상기 스피로 또는 융합된 6원 헤테로아릴, 헤테로사이클릴, 아릴 또는 카보사이클릴 환은 임의로 H, F, Cl, Br, I, C₁–C₁₂ 알킬, 또는 OH로 치환되고;

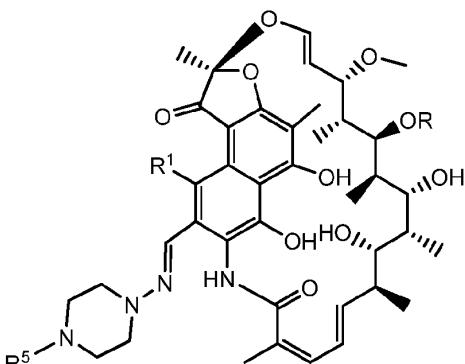
여기서, 상기 비펩타이드 링커 PML은 R^2 에 공유적으로 부착된다.

리파마이신형 모이어티의 구현예는 다음과 같다:



여기서, R^3 은 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 독립적으로 선택되고; R^4 는 H, F, Cl, Br, I, C_1-C_{12} 알킬, 및 OH로부터 선택되고; Z는 NH, N(C_1-C_{12} 알킬), O 및 S로부터 선택되고; 여기서, 상기 비펩타이드 링커 PML은 $N(R^3)_2$ 의 질소원자에 공유적으로 부착된다.

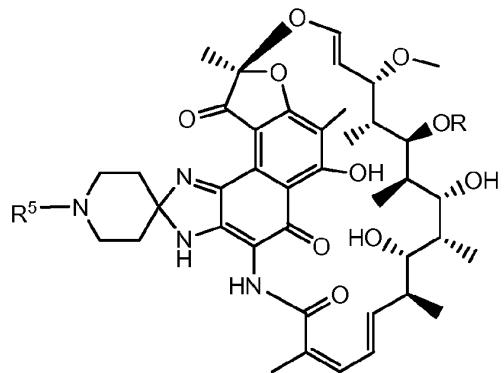
리파마이신형 모이어티의 구현예는 다음과 같다:



여기서,

R^5 는 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 선택되고; 여기서, 비-펩타이드 링커 PML은 NR⁵의 질소 원자에 공유적으로 부착된다.

[0318] 리파부틴형 모이어티의 구현예는 다음과 같다:

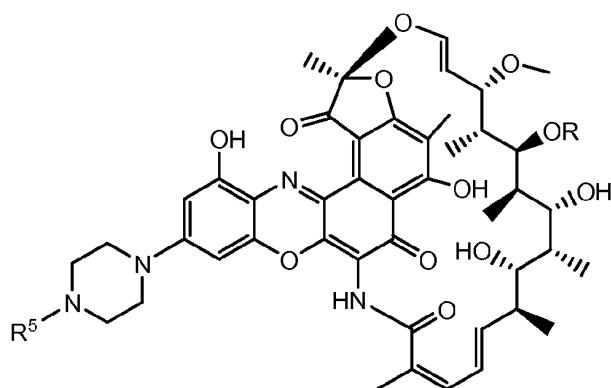


[0319]

[0320] 여기서, R^5 는 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 선택되고; 여기서, 상기 비-펩타이드 링커 PML은 NR^5 의 질소원자에 공유적으로 부착된다.

[0321]

벤족사지노리파마이신형 잔기의 구현예는 다음과 같다:

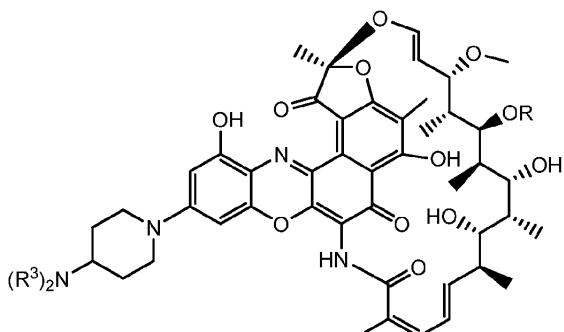


[0322]

[0323] 여기서, R^5 는 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 선택되고; 여기서, 상기 비-펩타이드 링커 PML은 NR^5 의 질소원자에 공유적으로 부착된다.

[0324]

pipBOR로서 본원에 언급된 벤족사지노리파마이신형 모이어티의 구현예는 다음과 같다:

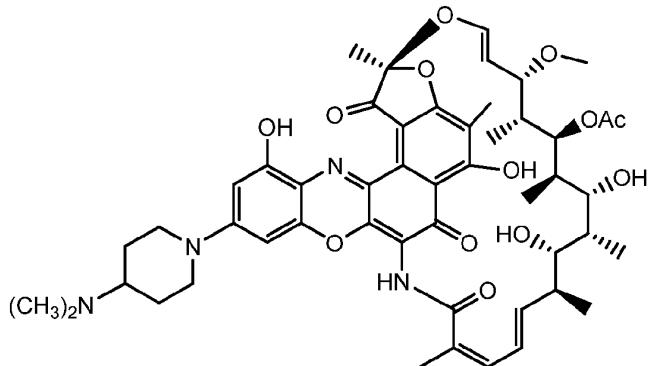


[0325]

[0326] 여기서, R^3 은 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 독립적으로 선택되고; 여기서, 상기 비-펩타이드 링커 PML은 $N(R^3)_2$ 의 질소원자에 공유적으로 부착된다.

[0327]

디메틸pipBOR로서 본원에 언급된 벤족사지노리파마이신 모이어티의 구현예는 다음과 같다:



[0328]

[0329]

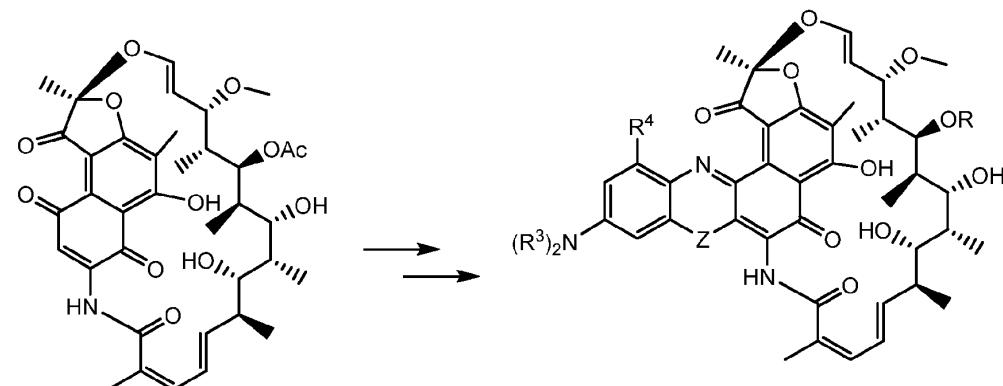
여기서, 상기 비-펩타이드 링커 PML은 디메틸아미노 질소 원자에 공유적으로 부착된다.

[0330]

반-합성 유도체 리파마이신 S 또는 리파마이신 SV로부터 환원된 나트륨 염은 여러 단계에서 리팔라질형 항생제로 전환될 수 있고, 여기서, R은 H, 또는 Ac이고, R³은 H 및 C₁-C₁₂ 알킬로부터 독립적으로 선택되고; R⁴은 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 및 OH로부터 선택되고; Z는 NH, N(C₁-C₁₂ 알킬), O 및 S로부터 선택된다(예를 들어 다음 도면을 참조한다: 도23a 및 b, 및 도25a 및 b, WO 2014/194247에서). 벤족사지노 (Z = O), 벤즈티아지노 (Z = S), 벤즈디아지노 (Z = NH, N(C₁-C₁₂ 알킬) 리파마이신이 제조될 수 있다(US 7271165). 치환체를 함유하는 벤족사지노리파마이신 (BOR), 벤즈티아지노리파마이신 (BTR), 및 벤즈디아지노리파마이신 (BDR) 유사체는 본 목적을 위해 참조로 인용된 문헌[참조: US 7271165]에서 칼럼 28의 화학식 A에 제공된 넘버링 도식에 따라 넘버링 된다. "25-0-데아세틸" 리파마이신은 25-위치에서 아세틸 그룹이 제거된 리파마이신 유사체를 의미한다. 상기 위치가 추가로 유도체화된 유사체는 "25-0-데아세틸-25-(치환체)리파마이신"으로서 언급되고, 여기서, 유도체화 그룹에 대한 명명법은 완전한 화합물명에서 "치환체"를 대체한다.

[0331]

리파마이신형 항생제 모이어티는 다음 문헌에 기재된 것들과 유사한 방법에 의해 합성될 수 있다: US 4610919; US 4983602; US 5786349; US5981522; US 4859661; US 7271165; US 2011/0178001; Seligson, 등, (2001) Anti-Cancer Drugs 12: 305-13; Chem. Pharm. Bull., (1993) 41:148, 및 WO 2014/194247, 이의 각각은 본원에 참조로 인용됨. 리파마이신형 항생제 모이어티는 표준 MIC 시험관내 검정을 사용하여, 최소 억제 농도(MIC)를 측정함에 의해 항미생물 활성에 대해 스크리닝될 수 있다 (문헌참조: Tomioka 등, (1993) Antimicrob. Agents Chemother. 37: 67).



[0332]

리파마이신-S 벤족사지노리파마이신

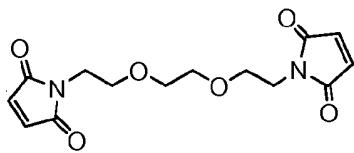
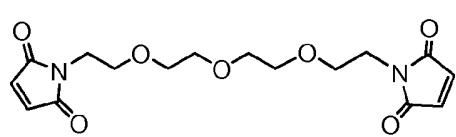
[0333]

프로테아제-절단가능한 비-펩타이드 링커

[0335]

"프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커" (PML)는 이기능성 또는 다기능성 모이어티이고 이는 하나 이상의 항생제 모이어티 (abx) 및 항체 유닛 (Ab)에 공유적으로 부착되어 화학식 I의 항체-항생제 접합체 (AAC)를 형성한다. AAC에서 프로테아제-절단가능한, 비-펩타이드 링커는 리소좀 조건하에서 다음을 포함하는 세포내프로테아제에 의해 절단을 위한 기질이다. 프로테아제는 다양한 카텝신 및 카스파제를 포함한다. 세포 내부에서 AAC의 비-펩타이드 링커의 절단은 항-세균 효과를 갖는 리파마이신형 항생제를 방출시킬 수 있다.

- [0336] 항체-항생제 접합체 (AAC)는 항생제 (abx) 및 항체(Ab)에 결합하기 위한 반응성 기능기를 갖는 링커 시약 또는 링커-항생제 중간체를 사용하여 간편하게 제조될 수 있다. 하나의 예시적 구현예에서, 시스테인 가공된 항체 (Ab)의 시스테인 티올은 링커 시약, 항생제 모이어티 또는 항생제-링커 중간체의 기능성 그룹과 결합을 형성할 수 있다.
- [0337] AAC의 PML 잔기는 하나의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.
- [0338] AAC의 PML 잔기는 펩티도모사체 유닛을 포함한다.
- [0339] 하나의 양상에서, 링커 시약 또는 링커-항생제 중간체는 항체 상에 존재하는 친핵성 시스테인에 반응성인 친전자성 그룹을 갖는 반응성 부위를 갖는다. 항체의 시스테인 티올은 공유 결합을 형성하는 링커 시약 또는 링커-항생제 상의 친전자성 그룹과 반응한다. 유용한 친전자성 그룹은 말레이미드 및 할로아세트아미드 그룹을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0340] 시스테인 가공된 항체는 문헌[참조: Klussman, 등 (2004), *Bioconjugate Chemistry* 15(4): 765-773]의 제766면에서의 접합 방법 및 실시예 19의 프로토콜에 따라 말레이미드 또는 a-할로 카보닐과 같은 친전자성 기능성 그루을 링커 시약 또는 링커-항생제 중간체와 반응한다.
- [0341] 또 다른 구현예에서, 링커 시약 또는 링커-항생제 중간체의 반응성 그룹은 항체의 유리된 시스테인 티올과 결합을 형성할 수 있는 티올-반응성 기능성 그룹을 함유한다. 티올-반응 기능성 그룹의 예는 말레이미드, α -할로아세틸, 활성화된 에스테르, 예를 들어, 숙신이미드 에스테르, 4-니트로페닐 에스테르, 펜타플루오로페닐 에스테르, 테트라플루오로페닐 에스테르, 무수물, 산 클로라이드, 설포닐 클로라이드, 이소시아네이트 및 이소티오시아네이트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0342] 또 다른 구현예에서, 링커 시약 또는 항생제 링커 중간체는 항체 상에 존재하는 친전자성 그룹과 반응성인 친핵성 그룹을 갖는 반응 기능성 그룹을 갖는다. 항체 상의 유용한 친전자성 그룹은 피리딜 디설파이드, 알데하이드 및 케톤 카보닐 그룹을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 링커 시약 또는 항생제 링커 중간체의 친핵성 그룹의 해테로원자는 항체 상의 친전자성 그룹과 반응하고 항체 유닛으로 공유 결합을 형성할 수 있다. 링커 시약 또는 항생제 링커 중간체 상에 유용한 친핵성 그룹은 하이드라지드, 옥심, 아미노, 티올, 하이드라진, 티오세미카바존, 하이드라진 카복실레이트 및 아릴하이드라지드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 항체 상의 친전자성 그룹은 링커 시약 또는 항생제-링커 중간체로의 부착을 위한 간편한 부위를 제공한다.
- [0343] PML 모이어티는 하나 이상의 링커 성분을 포함할 수 있다. 예시적 링커 성분은 단일 아미노산, 예를 들어, 시트룰린 ("cit"), 6-말레이미도카프로일 ("MC"), 말레이미도프로파노일 ("MP"), 및 p-아미노벤질옥시카보닐 ("PAB"), N-숙신이미딜 4-(2-피리딜티오) 펜타노에이트 ("SPP"), 및 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1 카복실레이트 ("MCC")를 포함한다. 다양한 링커 성분은 당업계에 공지되어 있고, 이를 중 일부는 하기에 기재된다.
- [0344] 또 다른 구현예에서, 링커는 용해도 또는 반응성을 조절하는 그룹으로 치환될 수 있다. 예를 들어, 하전된 치환체, 예를 들어, 설포네이트 ($-SO_3^-$) 또는 암모늄은 시약의 수용해도를 증가시킬 수 있고 항체 또는 항생제 모이어티와 링커 시약의 커플링 반응을 촉진시키거나 Ab와 함께 abx 또는 abx-L (항생제-링커 중간체)와 Ab-L (항체-링커 중간체)의 커플링 반응을 촉진시킬 수 있고 이는 AAC를 제조하기 위해 사용되는 합성 경로에 의존한다.
- [0345] 본 발명의 AAC는 표현적으로 링커 시약과 제조되는 것들을 고려하지만 이에 제한되지 않는다: BMPEO, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 설포-EMCS, 설포-GMBS, 설포-KMUS, 설포-MBS, 설포-SIAB, 설포-SMCC, 설포-SMPB, SVSB (숙신이미딜-(4-비닐설폰)벤조에이트), 및 비스-말레이미드 시약, 예를 들어, DTME, BMB, BMDB, BMH, BMOE, BM(PEG)₂, 및 BM(PEG)₃. 비스-말레이미드 시약은 연속적 또는 수렴적 방식으로 시스테인 가공된 항체의 티올 그룹의 티올-함유 항생제 모이어티, 표지 또는 링커 중간체로의 부착을 가능하게 한다. 시스테인 가공된 항체, 항생제 모이어티 또는 링커-항생제 중간체의 티올 그룹과 반응성인 말레이미드 뿐만 아니라 다른 기능성 그룹은 요오도아세트아미드, 브로모아세트아미드, 비닐 피리딘, 디설파이드, 피리딜 디설파이드, 이소시아네이트, 및 이소티오시아네이트를 포함한다.

[0346] BM(PEG)₂BM(PEG)₃

[0347] 유용한 링커 시약은 또한 제조원 (Molecular Biosciences Inc. (Boulder, CO))과 같은 다른 상업적 공급처를 통해 수득될 수 있거나, 다음 문헌에 기재된 과정에 따라 합성될 수 있다: Toki 등 (2002) *J. Org. Chem.* 67: 1866-1872; Dubowchik, 등 (1997) *Tetrahedron Letters*, 38: 5257-60; Walker, M.A. (1995) *J. Org. Chem.* 60: 5352-5355; Frisch 등 (1996) *Bioconjugate Chem.* 7: 180-186; US 6214345; WO 02/088172; US 2003130189; US2003096743; WO 03/026577; WO 03/043583; 및 WO 04/032828.

[0348] 또 다른 구현예에서, AAC의 PML 모이어티는 수지상형 링커를 포함하고, 상기 링커는 브랜칭 다기능성 링커 모이어티를 통한 하나 이상의 항생제 모이어티의 항체로의 공유 부착을 위한 것이다 (문헌참조: Sun 등 (2002) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12: 2213-2215; Sun 등 (2003) *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11:1761-1768). 수지상 링커는 항체에 대한 항생제의 몰비, 즉, AAC의 효능과 관련된 로딩을 증가시킬 수 있다. 따라서, 시스테인 가공된 항체가 단지 하나의 반응성 시스테인 티올 그룹을 갖는 경우, 다수의 항생제 모이어티는 수지상 링커를 통해 부착될 수 있다.

[0349] 화학식 I AAC의 특정 구현예에서, 프로테아제-절단 가능한 비-펩타이드 링커 PML은 하기 화학식을 갖는다:

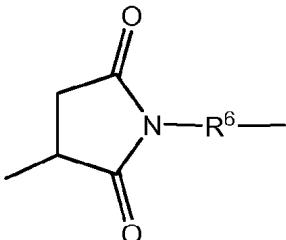
-Str-PM-Y-

[0350] 여기서, Str은 스트레처 유닛이고; PM은 펩티도모사체 유닛이고, Y는 스페이서 유닛이고;

[0352] abx는 리파마이신형 항생제이고;

[0353] p는 1 내지 8의 정수이다.

[0354] 하나의 구현예에서, 스트레처 유닛 "Str"은 하기 화학식을 갖는다:

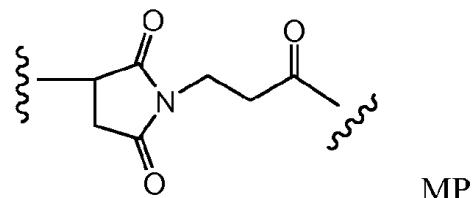
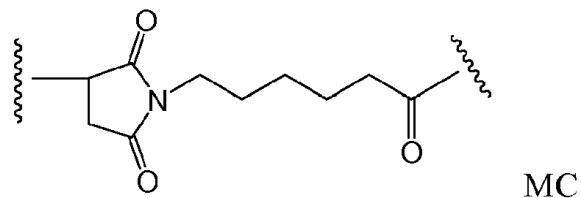


[0355]

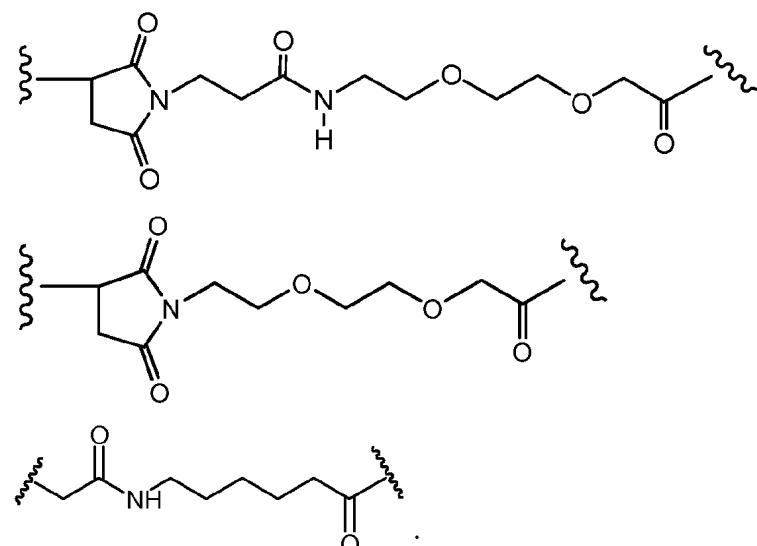
[0356] 여기서, R⁶은 C₁-C₁₂ 알킬렌, C₁-C₁₂ 알킬렌-C(=O), C₁-C₁₂ 알킬렌-NH, (CH₂CH₂O)_r, (CH₂CH₂O)_r-C(=O), (CH₂CH₂O)_r-CH₂, 및 C₁-C₁₂ 알킬렌-NHC(=O)CH₂CH(티오펜-3-일)로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 여기서, r은 1 내지 10 범위의 정수이다.

[0357]

예시적 스트레처 유닛은 하기와 나타낸다(여기서, 물결선은 항체로의 공유 부착 부위를 지적한다):

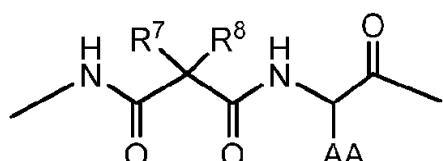


[0358]



[0359]

하나의 구현예에서, PM은 하기 화학식을 갖는다:



[0361]

여기서, R^7 및 R^8 은 함께 C_3-C_7 사이클로알킬 환을 형성하고,

[0363]

AA는 H, $-CH_3$, $-CH_2(C_6H_5)$, $-CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2NHC(NH)NH_2$, $-CHCH(CH_3)CH_3$, 및 $-CH_2CH_2CH_2NHC(O)NH_2$ 로부터 선택되는 아미노산 측쇄이다.

[0364]

하나의 구현예에서, 스페이서 유닛 Y는 파라-아미노벤질 (PAB) 또는 파라-아미노벤질옥시카보닐(PABC)를 포함한다.

[0365]

스페이서 유닛은 별도의 가수분해 단계 없이 항생제 모이어티의 방출을 가능하게 한다. 스페이서 유닛은 "자가-희생(self-immolative)" 또는 "비-자가 희생"일 수 있다. 특정 구현예에서, 링커의 스페이서 유닛 p-아미노벤질 유닛 (PAB)을 포함한다. 하나의 상기 구현예에서, p-아미노벤질 알코올은 p-아미노벤질 그룹과 항생제 모이어티 사이의 아미드 결합, 카바메이트, 메틸카바메이트 또는 카보네이트를 통해 아미노산 유닛에 부착된다 (문헌참조: Hamann 등 (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* (2005) 15: 1087-1103). 하나의 구현예에서, 스페이서 유닛은 p-아미노벤질옥시카보닐 (PAB)이다.

- [0366] 하나의 구현예에서, 항생제는 비-펩타이드 링커 PML의 PAB 스페이서 유닛에 부착되는 경우 디메틸아미노페리딜 그룹과 같은 4급 아민을 형성한다. 상기 4급 아민의 예는 링커-항생제 중간체 (PLA)이고 이는 표 2에 기재된 PLA-1 내지 4이다. 4급 아민 그룹은 AAC의 항세균 효과를 최적화하기 위한 항생제 모이어티의 절단을 조절할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 항생제는 비-펩타이드 링커 PML의 PABC 스페이서 유닛에 연결되어 AAC내카바메이트 기능성 그룹을 형성한다. 상기 카바메이트 기능성 그룹은 또한 AAC의 항세균 효과를 최적화할 수 있다. PABC 카바메이트-항생제 중간체 (PLA)의 예는 표 2에 나타낸 PLA-5 및 PLA-6이다.
- [0367] 자가-희생 스페이서의 다른 예는 2-아미노이미다졸-5-메탄을 유도체와 같은 PAB 그룹과 같은 PAB 그룹과 전기적으로 유사한 방향족 화합물 (문헌참조: US 7375078; Hay 등 (1999) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9: 2237) 및 오르토- 또는 파라-아미노벤질아세탈을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 스페이서가 사용될 수 있고 이는 아미드 결합 가수분해 즉시 폐환되고 예를 들어 치환되고 비치환된 4-아미노부티르산 아미드 (문헌참조: Rodrigues 등 (1995) *Chemistry Biology* 2: 223), 적당히 치환된 바이사이클로 [2.2.1] 및 바이사이클로[2.2.2] 환 시스템 (Storm 등 (1972) *J. Amer. Chem. Soc.* 94: 5815) 및 2-아미노페닐프로파온산 아미드 (문헌참조: Amsberry, 등 (1990) *J. Org. Chem.* 55: 5867)이다. 글라이신에서 치환된 아민 함유 약물의 제거 (Kingsbury 등 (1984) *J. Med. Chem.* 27: 1447)는 또한 AAC에 유용한 자가-희생 스페이서의 예이다.
- [0368] AAC의 절단으로부터 방출된 활성 항생제의 양은 실시예 8의 카스파제 방출 검정에 의해 측정될 수 있다.
- [0369] AAC에 대해 유용한 링커-항생제 중간체
- [0370] 화학식 II 및 표 2의 PML 링커-항생제 중간체 (PLA)는 리파마이신형 항생제 모이어티를 링커 시약과 커플링시킴에 의해 제조된다(실시예 11 내지 21). 링커 시약은 하기 문헌에 기재된 방법으로 제조하였다: WO 2012/113847; US 7659241; US 7498298; US 20090111756; US 2009/0018086; US 6214345; Dubowchik 등 (2002) *Bioconjugate Chem.* 13(4): 855-869

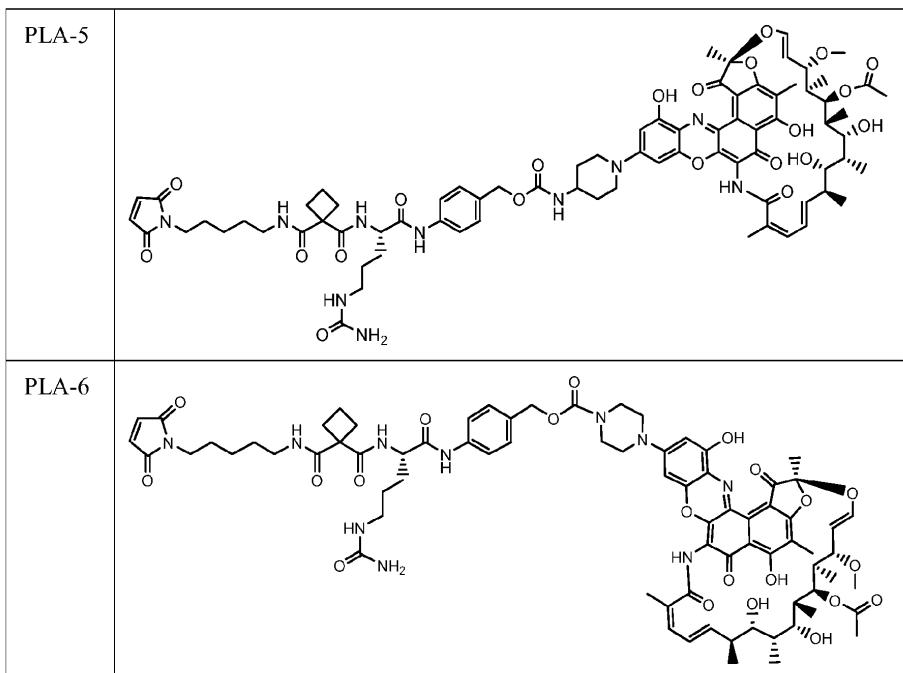
[0371]

표 2

PML 링커-항생제 중간체

LA No.	구조
PLA-1	
PLA-2	
PLA-3	
PLA-4	

[0372]



[0373]

항체-항생제 접합체의 구현예

[0374]

시스테인 가공된, 항-WTA 항체는 유리된 시스테인 티올 그룹을 통해 pipBOR로 호칭되는 리파마이신의 유도체 연결시키고 다른 것은 프로테아제 절단 가능한 비-펩타이드 링커를 통해 연결하여 표 3에서 항체-항생제 접합체 화합물(AAC)을 형성한다. 링커는 카텝신 B, D 등을 포함하는 리소좀 프로테아제에 의해 절단되도록 디자인되고 항생제 및 PML 링커 등으로 이루어진 링커-항생제 중간체의 생성은 실시예 11 내지 21에 상세히 기재되어 있다. 링커는 PAB 모이어티에서 아미드 결합의 절단이 활성 상태의 항생제로부터 항체를 분리하도록 디자인된다.

[0375]

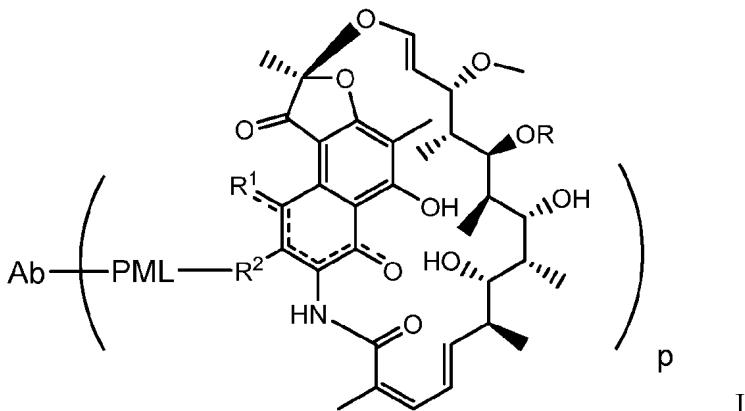
"디메틸pipBOR"으로 호칭되는 AAC는 항생제 상의 디메틸화된 아미노 및 링커 상의 옥시카보닐 그룹을 제외하는 "pipBOR" AAC와 동일하다.

[0376]

도 3은 항체-항생제 접합체 (AAC)에 대해 가능한 약물 활성화 기작을 보여준다. 활성 항생제 (Ab)는 포유동물 세포 내부에 AAC의 내재화 후에만 방출된다. AAC에서 항체의 Fab 부분은 에스. 아우레우스에 결합하는 반면 AAC의 Fc 부분은 호중구 및 대식세포를 포함하는 쟈세포로의 Fc-수용체 매개된 결합에 의해 세균의 취득을 증진시킨다. 파고리소좀으로의 내재화 후, 링커는 파고리소좀 내부에서 활성 항생제를 방출시키는 리소좀 프로테아제에 의해 절단될 수 있다.

[0377]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC) 화합물의 구현예는 화학식 I를 포함한다:



[0378]

여기서:

[0379]

파선은 임의의 결합을 지적하고;

[0382] R은 H, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 C(O)CH₃이고;

[0383] R¹은 OH이고;

[0384] R²는 CH=N-(헥테로사이클릴)이고, 여기서, 상기 헥테로사이클릴은 임의로 C(O)CH₃, C₁-C₁₂ 알킬, C₁-C₁₂ 헥테로아릴, C₂-C₂₀ 헥테로사이클릴, C₆-C₂₀ 아릴, 및 C₃-C₁₂ 카보사이클릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 그룹으로 치환되거나;

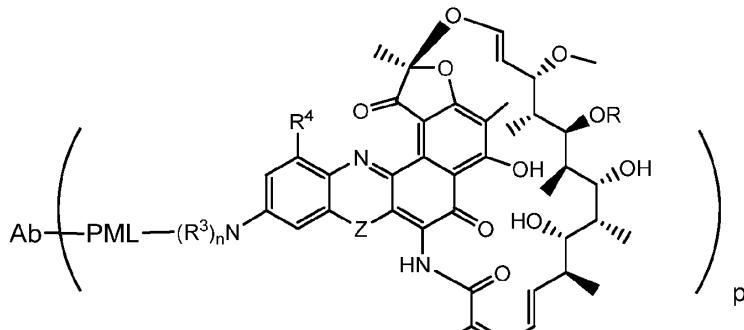
[0385] R¹ 및 R²는 5원 또는 6원 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴을 형성하고, 임의로 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴, 또는 카보사이클릴 환을 형성하고, 여기서, 상기 스피로 또는 융합된 6원 헥테로아릴, 헥테로사이클릴, 아릴 또는 카보사이클릴 환은 임의로 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 OH로 치환되고;

[0386] PML은 R² 또는 R¹ 및 R²에 의해 형성된 융합된 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴에 부착된 프로테아제 절단가능한 비-펩타이드 링커이고;

[0387] Ab는 항-벽 테이코산 (WTA) 항체이고;

[0388] p는 1 내지 8의 정수이다.

[0389] 본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



[0390]

[0391] 여기서,

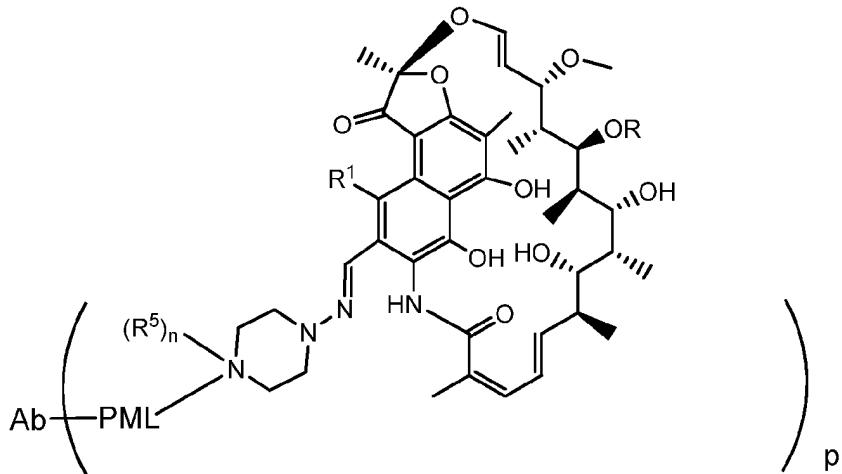
[0392] R³은 H 및 C₁-C₁₂ 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0393] n은 1 또는 2이고;

[0394] R⁴은 H, F, Cl, Br, I, C₁-C₁₂ 알킬, 및 OH로부터 선택되고;

[0395] Z는 NH, N(C₁-C₁₂ 알킬), O 및 S로부터 선택된다.

[0396] 본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현에는 하기 화학식을 포함한다:



[0397]

[0398]

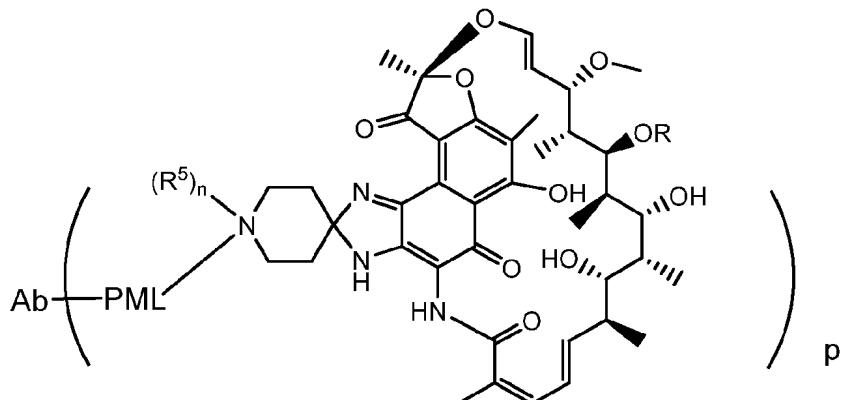
[0399]

여기서,

[0400]

[0401]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현 예는 하기 화학식을 포함한다:



[0402]

[0403]

여기서,

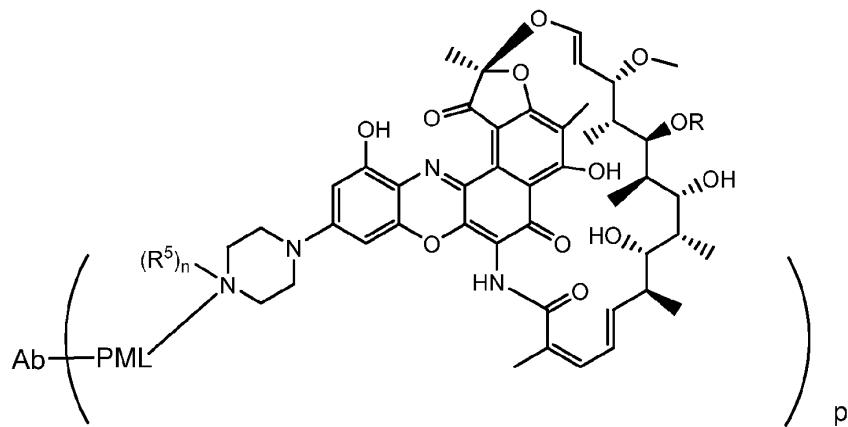
[0404]

\mathbb{R}^5 는 H 및 C_1-C_{12} 약취로 붙여 선택되고:

[0405]

[0406]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



[0407]

[0408]

여기서,

[0409]

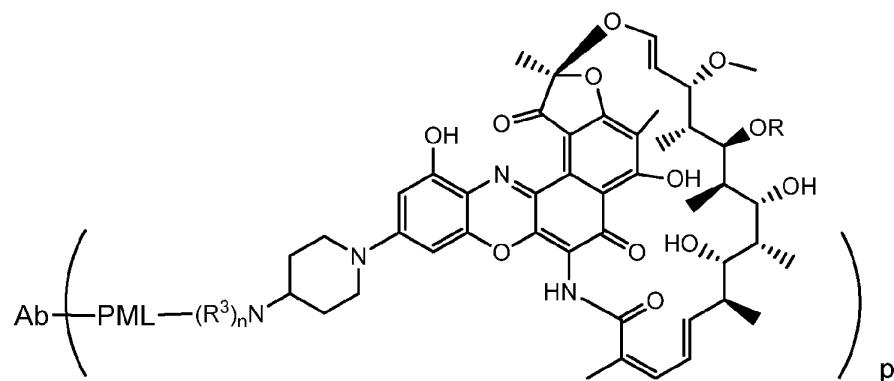
 R^5 는 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0410]

n은 0 또는 1이다.

[0411]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



[0412]

[0413]

여기서,

[0414]

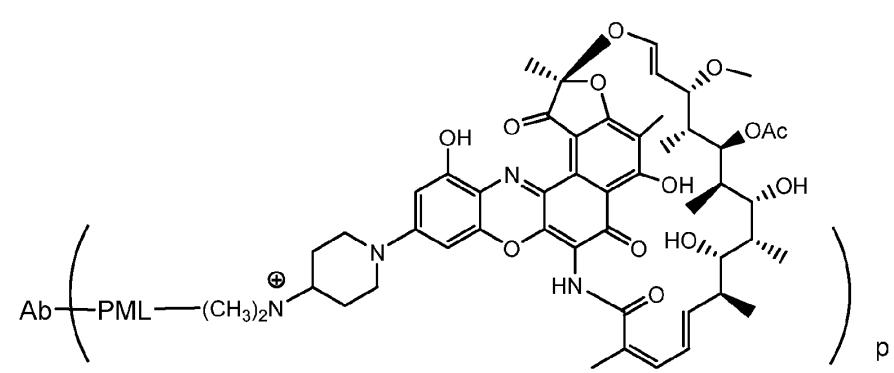
 R^3 은 H 및 C_1-C_{12} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0415]

n은 1 또는 2이다.

[0416]

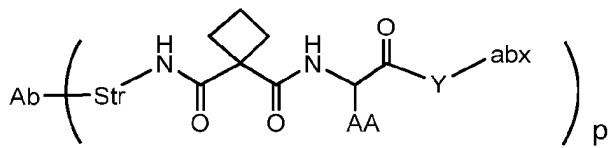
본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



[0417]

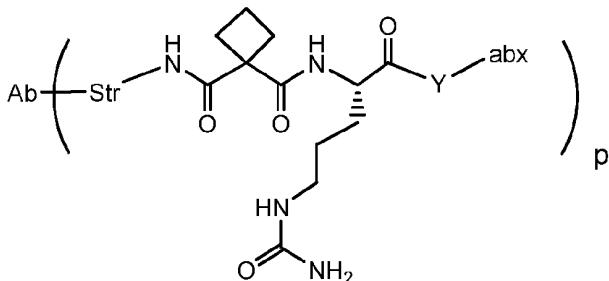
[0418]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



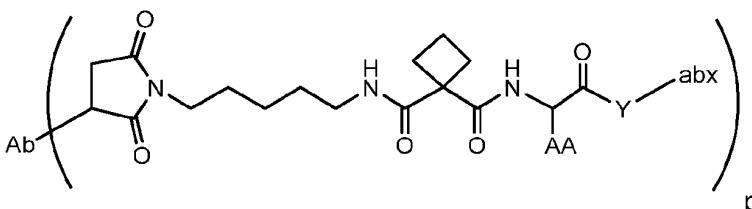
[0419]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



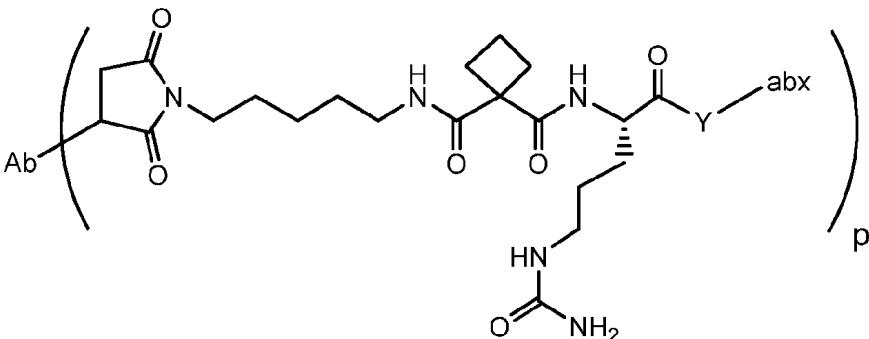
[0421]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



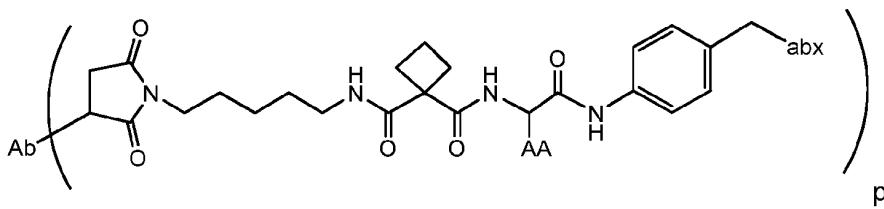
[0423]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



[0425]

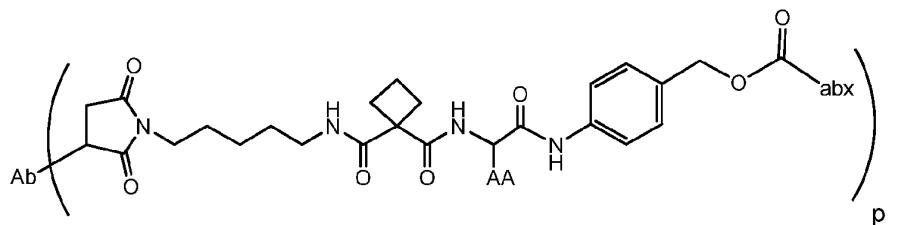
본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC) 화합물의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:



[0427]

[0428]

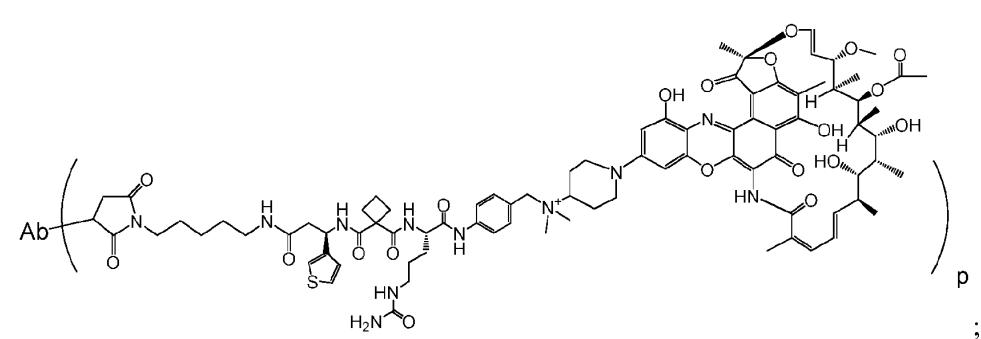
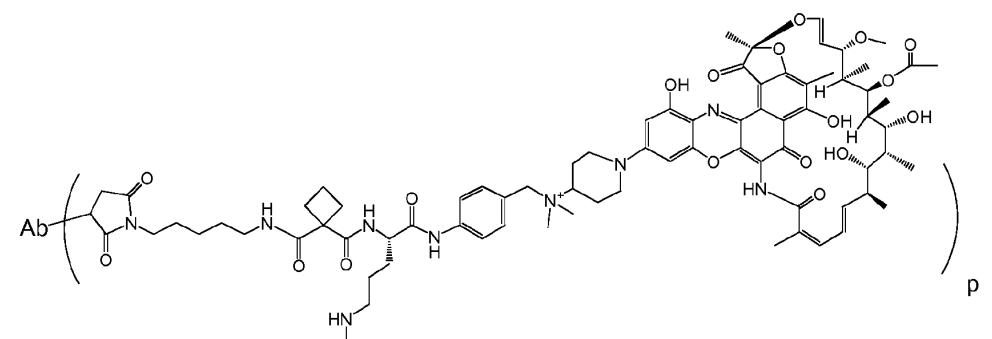
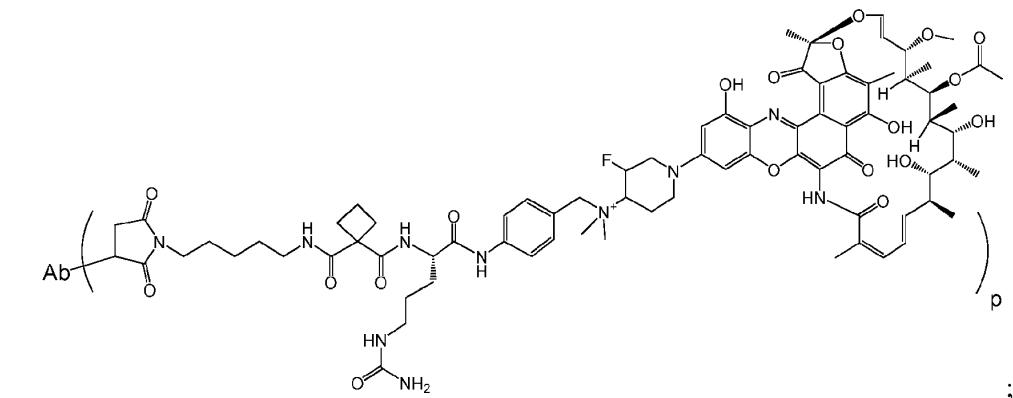
및



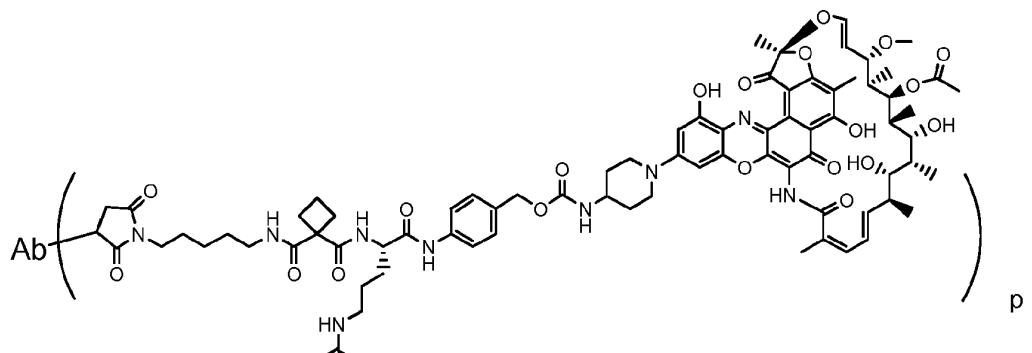
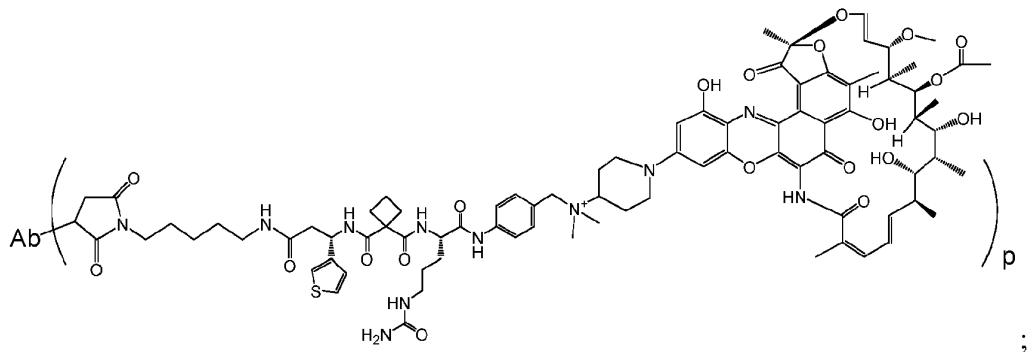
[0429]

[0430]

본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC) 화합물의 또 다른 구현예는 하기 화학식을 포함한다:

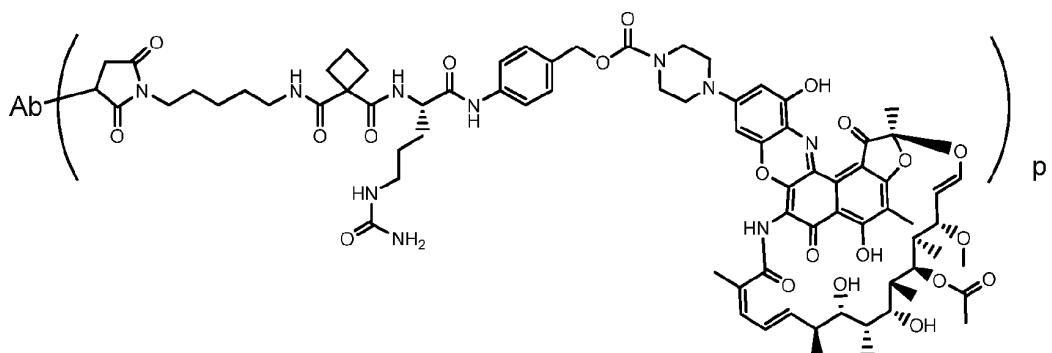


[0431]



[0432]

[0433]



[0434]

AAC의 항생제 로딩

[0436]

항생제 로딩은 화학식 I의 분자에서 항체 당 항생제 (abx) 모이어티의 수인 p 로 나타낸다. 항생제 로딩은 항체 당 1 내지 20개 항생제 모이어티(D) 범위일 수 있다. 화학식 I의 AAC는 1 내지 20개 범위의 항생제 모이어티와 접합된 항체 수거물 또는 풀을 포함한다. 접합 반응으로부터 AAC의 제조에서 항체 당 항생제 모이어티의 평균수는 질량 분광측정기, ELISA 검정 및 HPLC와 같은 통상의 수단을 특징으로 할 수 있다. p 의 관점에서 AAC의 정량적 분포가 또는 결정될 수 있다. 일부 경우에, 다른 항생제 로딩과 함께 p 가 AAC로부터의 특정 값인 균일한 AAC의 분리, 정제, 및 특성 분석은 역설 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 성취될 수 있다.

[0437]

일부 항체-항생제 접합에 대해, p 는 항체 상의 부착 부위 수로 제한될 수 있다. 예를 들어, 부착이 시스테인 티올인 경우, 상기 예시적 구현예에서와 같이, 항체는 단지 1개 또는 수개의 시스테인 티올 그룹을 가질 수 있거나 단지 1개 또는 수개의 충분한 반응성 티올 그룹을 가질 수 있고 이를 통해 링커가 부착될 수 있다. 특정 구현예에서, 보다 높은 항생제 로딩, 예를 들어, $p > 5$ 는 특정 항체-항생제 접합체의 응집, 불용성, 독성 또는 세포 침투성의 상실을 유발할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 AAC에 대한 항생제 로딩은 1 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 약 2 내지 약 4; 또는 약 3 내지 5; 약 4; 또는 약 2의 범위이다.

[0438]

특정 구현 예에서, 항생제 모이어티의 이론적 최대 수 보다 소수가 접합 반응 동안에 항체에 접합된다. 항체는 예를 들어, 하기 예 높아진 바와 같이 항생제-링커 중간체 또는 링커 시약과 반응하지 않는 라이신 잔기를 핵유함

수 있다. 일반적으로, 항체는 많은 유리되고 반응성인 시스테인 티올 그룹을 함유하지 않고 이는 항생제 모이어티에 연결될 수 있고; 항체내 실제로 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디설파이드 브릿지로서 존재한다. 특정 구현예에서, 항체는 부분적 또는 총체적 환원 조건하에서 반응성 시스테인 티올 그룹을 생성하기 위해 디티오프레이톨 (DTT) 또는 트리카보닐에틸포스핀(TCEP)와 같은 환원제로 환원될 수 있다. 특정 구현예에서, 항체는 라이신 또는 시스테인과 같은 반응성 친핵성 그룹을 노출시키기 위한 변성 조건에 적용된다.

[0439] AAC의 로딩 (항생제/항체 비율, "AAR")은 또한 본원에서 약물 대 항체 비율 (DAR)로서 언급될 수 있고, 예를 들어 다음과 같은 상이한 방법에 의해 제어될 수 있다: (i) 항체에 비해 몰 과량의 항생제-링커 중간체 또는 링커 시약을 제한함에 의해, (ii) 접합 반응 시간 또는 온도를 제한함에 의해, 및 (iii) 시스테인 티올 변형을 위한 환원적 조건 부분적으로 제한함에 의해.

[0440] 하나 이상의 친핵성 그룹이 항생제-링커 중간체 또는 링커 시약에 이어서 항생제 모이어티 시약과 반응하는 경우 수득한 생성물은 하나 이상의 항생제 모이어티가 항체에 부착된 AAC 화합물의 혼합물인 것으로 이해되어야만 한다. 항체 당 항생제의 평균 수는 항체에 특이적이고 항생제에 특이적인 이원 ELISA 항체 검정에 의해 혼합물로부터 계산될 수 있다. 개별 AAC 분자들은 질량 분광측정기에 의해 혼합물 중에서 동정될 수 있고 HPLC, 예를 들어, 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다(문현참조: 예를 들어, McDonagh 등 (2006) *Prot. Engr. Design & Selection* 19(7): 299-307; Hamblett 등 (2004) *Clin. Cancer Res.* 10: 7063-7070; Hamblett, K.J., 등 "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No.624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C., 등 "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No.627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004). 특정 구현예에서, 단일 로딩 값을 갖는 균일한 AAC는 전기영동 또는 크로마토그래피에 의해 접합 혼합물로부터 단리될 수 있다. 본 발명의 시스테인-가공된 항체는 항체 상의 반응성 부위가 주로 가공된 시스테인 티올로 제한되기 때문에 보다 균일한 제제를 가능하게 한다. 하나의 구현예에서, 항체 당 항생제 모이어티의 평균 수는 약 1 내지 약 20의 범위에 있다. 일부 구현예에서, 상기 범위는 약 1 내지 4로 선택되고 제어된다.

항체-항생제 접합체의 제조 방법

[0442] 화학식 I의 AAC는 다음을 포함하는 당업자에게 공지된 유기 화학 반응, 조건 및 시약을 사용하는 여러 경로에 의해 제조될 수 있다: (1) 공유 결합을 통해 Ab-L을 형성하기 위한 항체의 친핵성 그룹과 2가 링커 시약의 반응에 이어서 항생제 모이어티 (abx)와의 반응; 및 (2) 공유 결합을 통해 L-abx를 형성하기 위한 항생제 모이어티의 친핵성 그룹과 2가 링커 시약의 반응에 이어서 항체의 친핵성 그룹과의 반응. 후자 경로를 통해 화학식 I의 AAC를 제조하기 위한 예시적 방법은 본원에 참조로서 명백히 인용되는 문현[참조: US 7498298]에 기재되어 있다.

[0443] 항체 상의 친핵성 그룹은 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: (i) N-말단 아민 그룹, (ii) 측쇄 아민 그룹, 예를 들어, 라이신, (iii) 측쇄 티올 그룹, 예를 들어, 시스테인, 및 (iv) 항체가 당화된 당 하이드록실 또는 아미노 그룹. 아민, 티올, 및 하이드록 그룹은 친핵성이고 다음을 포함하는 링커 모이어티와 링커 시약 상에 친전자성 그룹과 공유 결합을 형성하기 위해 반응할 수 있다: (i) 활성 에스테르, 예를 들어, NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트, 및 산 할라이드; (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예를 들어, 할로아세트아미드; (iii) 알데하이드, 케톤, 카복실 및 말레이미드 그룹. 특정 항체는 환원성 쇄간 디설파이드, 즉, 시스테인 브릿지를 갖는다. 항체는 DTT (디티오프레이톨) 또는 트리카보닐에틸포스핀 (TCEP)와 같은 환원제로 처리하여 상체가 완전히 또는 부분적으로 환원되도록 하여 링커 시약과 접합을 위해 반응성이 되도록 할 수 있다. 따라서 각각의 시스테인 브릿지는 이론적으로 2개의 반응성 티올 친핵체를 형성한다. 추가의 친핵성 그룹은 예를 들어, 라이신 잔기를 2-이미노티올란(트라우트 시약)과 반응시켜 아민을 티올로 전환시키는 라이신 잔기의 변형을 통해 항체로 도입될 수 있다. 반응성 티올 그룹은 1개, 2개, 3개, 4개 이상의 시스테인 잔기를 도입함에 의해 (예를 들어, 하나이상의 비-천연 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 변이 항체를 제조함에 의해) 항체로 도입될 수 있다.

[0444] 본 발명의 항체-항생제 접합체는 또한 항체 상의 친전자성 그룹, 예를 들어, 알데하이드 또는 케톤 카보닐 그룹 상의 친전자성 그룹과 링커 시약 또는 항생제 상의 친핵성 그룹과의 반응에 의해 제조될 수 있다. 링커 시약 상의 유용한 친핵성 그룹은 하이드라지드, 옥심, 아미노, 하이드라진, 티오세미카바존, 하이드라진 카복실레이트

및 아릴하이드라지드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 하나의 구현예에서, 항체는 링커 시약 또는 항생제 상의 친핵성 치환체와 반응할 수 있는 친전자성 모이어티를 도입하기 위해 변형시킨다. 또 다른 구현예에서, 당화된 항체의 당은 예를 들어, 페리오데이트 산화 시약으로 산화시켜 링커시약 또는 항생제 모이어티의 아민 그룹과 반응할 수 있는 알데하이드 또는 케톤 그룹을 형성할 수 있다. 수득한 이민 쉬프 염기 그룹은 적합한 연결체를 형성할 수 있거나 예를 들어, 안정한 아민 연결체를 형성하기 위해 수소화붕소 시약에 의해 환원될 수 있다. 하나의 구현예에서, 당화된 항체의 탄수화물 부분과 갈락토스 옥시다제 또는 나트륨 메타-페리오데이트와의 반응은 항생제 상의 적당한 그룹과 반응할 수 있는, 항체 내 카보닐 (알데하이드 또는 케톤) 그룹을 생성시킬 수 있다 (Hermanson, *Bioconjugate Techniques*). 또 다른 구현예에서, N-말단 세린 또는 트레오닌 잔기를 함유하는 항체는 나트륨 메타-페리오데이트와 반응하여 제1 아미노산 위치에 알데하이드를 생성시킨다 (Geoghegan & Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146; US 5362852). 상기 알데하이드는 항생제 모이어티 또는 링커 친핵체와 반응할 수 있다.

[0445] 항생제 모이어티 상의 친핵성 그룹은 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: 다음을 포함하는 링커 모이어티 및 링커 시약 상의 친전자성 그룹과 공유 결합을 형성하기 위해 반응할 수 있는 아민, 티올, 하이드록실, 하이드라지드, 옥심, 하이드라진, 티오세미카바존, 하이드라진 카복실레이트, 및 아릴하이드라지드 그룹: (i) 활성 에스테르, 예를 들어, NHS 에스테르, HOBT 에스테르, 할로포르메이트, 및 산 할라이드; (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예를 들어, 할로아세트아미드; (iii) 알데하이드, 케톤, 카복실 및 말레이미드 그룹.

[0446] 표 3에서 항체-항생제 접합체 (AAC)는 표 2의 기재된 항-WTA 항체 및 링커-항생제 중간체의 접합에 의해 그리고 실시예 7에 기재된 방법에 따라 제조하였다. AAC는 시험관내 대식세포 검정 (실시예 9) 및 생체내 마우스 신장 모델 (실시예 10)에 의해 효능에 대해 시험하였다.

표 3_WTA 항체-PML-항생제 접합체 (AAC)

AAC No.	AAC 조성	링커-abx PLA 번호	AAR *
101	티오-S6060-HC-WT/LC-cys-MC-(CBDK-cit)-PAB-(디 메틸pipBOR)	PLA-2	1.9
102	티오-S4497-LC-cys-MC-(CBDK-cit)-PAB-(디 메틸pipBOR)	PLA-2	1.8
103	티오-S4497-LC-V205C-MC-((R)-티오펜-3-일-CBDK-cit)-PAB-(디 메틸pipBOR)	PLA-3	1.8
104	티오-S4497-LC-V205C-MC-((S)-티오펜-3-일-CBDK-cit)-PAB-(디 메틸pipBOR)	PLA-4	1.5
105	티오-S4497-LC-MC-(CBDK-cit)-PABC-(피페라즈BTR)	PLA-6	-
106	티오-S4497-HC-A118C-MC-(CBDK-cit)-PAB-(디 메틸pipBOR)	PLA-2	1.8
107	티오-S4497-HC-A118C-MC-(CBDK-cit)-PABC-(pipBOR)	PLA-5	2.0

* AAR = 항생제/항체 비율 평균

[0448]

[0449] 야생형 ("WT"), 시스테인 가공된 돌연변이 항체 ("티오"), 경쇄 ("LC"), 중쇄 ("HC"), 6-말레이미도카프로일 ("MC"), 말레이미도프로파노일 ("MP"), 사이클로부틸디케토 ("CBDK"), 시트룰린 ("cit"), 시스테인 ("cys"), p-아미노벤질 ("PAB"), 및 p-아미노벤질옥시카보닐 ("PABC")

[0450] 항체-항생제 접합체를 사용하여 감염을 치료하고 예방하는 방법

본 발명의 항-WTA-AAC는 인간 및 수의학적 스타필로코씨, 예를 들어, 에스. 아우레우스, 에스. 사플피티쿠스 및 에스. 시물란스에 대해 효과적인 항미생물 제제로서 유용하다. 특정 양상에서, 본 발명의 AAC는 에스. 아우레우스 감염을 치료하기 위해 유용하다.

혈류로의 진입 후, 에스. 아우레우스는 거의 모든 임의의 기관에서 전이성 감염을 유발할 수 있다. 2차 감염은 치료요법 개시 전 3분 1의 사례 (문헌참조: Fowler 등, (2003) Arch. Intern. MED. 163: 2066-2072)로 발생하고, 치료요법 개시 후에도 환자의 10% (Khatib 등, (2006) Scand. J. Infect. Dis., 38: 7-14)로 발생한다. 감염의 특징은 다수의 고름, 조직 파괴 및 농양의 형성이다 (이 모두는 대량의 호중구를 함유한다). 환자의 약 40%는 균혈증이 3일 초과 지속하는 경우 합병증을 나타낸다.

AAC의 제안된 작용 기작은 상기 되어 있다(항체-항생제 접합체의 소제목 하에). 본 발명의 항-WTA 항체-항생제 접합체 (AAC)는 세포내 병원체를 치료하기 위해 상당한 치료학적 이점을 갖는다. AAC 링커는 활성 항생제를 방출하는 파고리소좀 효소로의 노출에 의해 절단된다. 한정된 공간 및 비교적 높은 국소적 항생제 농도로 인해 (세균 당 약 10^4), 그 결과는 파고리소좀이 세포내 병원체의 생존을 더 이상 지지하지 않는다는 것이다. AAC는 필수적으로 불활성 프로드럭이기 때문에, 항생제의 치료학적 지수는 유리 (비접합된) 형태에 상대적으로 연장될 수 있다. 상기 항체는 병원체 특이적 표적화를 제공하고, 절단가능한 링커는 병원체의 세포내 위치에 특이적인 조건하에서 절단된다. 상기 효과는 파고리소좀 내 동시에 위치된 다른 병원체 뿐만 아니라 옵소닌화된 병원체 둘다에 대해 직접적일 수 있다. 항생제 내성은 항생제 및 다른 항미생물에 의한 사멸에 저항하는 질환 유발 병원체의 능력이고 기계론적으로 다중 약물 내성과는 구분된다(Lewis K (2007). "Persister cells, dormancy and infectious disease". *Nature Reviews Microbiology* 5 (1): 48-56. doi: 10.1038/nrmicro1557). 차라리 상기 형태의 내성은 퍼시스터로 불리우는 미생물 세포의 작은 서브-집단에 의해 유발된다 (문헌참조: Bigger JW (14 October 1944). "Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization". *Lancet* 244 (6320): 497-500). 이들 세포는 전형적 의미에서 다중약물 내성이 아니지만 이들의 유전학적으로 동일한 시블링을 사멸시킬 수 있는 항생제 치료에 내성인 휴면 세포이다. 이러한 항생제 내성은 분열하지 않거나 극히 느리게 분열하는 생리학적 상태에 의해 유도된다. 항미생물 치료가 이들 퍼시스터 세포를 박멸시키는데 실패하는 경우, 이들은 만성 감염을 재발시키는 저장소가 된다. 본 발명의 항체-항생제 접합체는 이들 퍼시스터 세포를 사멸시키고 다중약물 내성 세균 집단의 출현을 억제하는 고유 성질을 갖는다.

또 다른 구현예에서, 본 발명의 항-WTA-AAC를 사용하여 병원체가 생존하는 세포내 격실과는 상관 없이 감염을 치료하기 위해 사용될 수 있다.

또 다른 구현예에서, 본 발명의 항-WTA-AAC는 또한 플랑크톤 또는 생필름 형태의 스타필로코씨 세균을 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 항체-항생제 접합체 (AAC)로 치료될 수 있는 세균 감염은 에스. 아우레우스 폐렴, 골수염, 재발성 비부비동염, 세균 심내막염, 세균 눈 감염, 예를 들어, 트라코마 및 결막염, 심장, 뇌 또는 피부 감염, 위장관 감염, 예를 들어, 여행자 설사, 울혈성 장염, 과민성 대장 증후군 (IBS), 크론 질환, 및 일반적으로 IBD (염증성 장 질환), 세균 뇌수막염, 및 임의의 기관, 예를 들어, 근육, 간, 뇌막 또는 폐에서의 농양을 치료함을 포함한다. 세균 감염은 뇨관, 혈류, 상처 또는 카테터 삽입 부위와 같은 신체의 다른 부위에 있을 수 있다. 본 발명의 AAC는 생필름, 이식 또는 안식 부위(예를 들어, 골수염 및 보철 관절 감염)를 포함하는 치료하기 어려운 감염 및 높은 치사율의 감염, 예를 들어, 병원 획득 폐렴 및 균혈증에 대해 유용하다. 스타필로코커스 아우레우스 감염을 예방하기 위해 치료받을 수 있는 취약한 환자 그룹은 혈액 투석 환자, 면역-손상된 환자, 중환자실의 환자 및 특정 수술 환자를 포함한다. 또 다른 양상에서, 본 발명은 동물, 바람직하게 포유동물 및 가장 바람직하게 인간에서 미생물을 사멸시키거나 이의 감염을 치료하거나 예방하는 방법을 제공하고 이는 동물에게 항-WTA AAC 또는 본 발명의 AAC의 약제학적 제형을 투여함을 포함한다. 본 발명은 추가로 상기 미생물 감염과 관련되거나 기회적으로 이로부터 비롯되는 질환을 치료하거나 예방함을 특징으로 한다. 상기 치료 또는 예방 방법은 본 발명의 조성물의 경구, 국소, 정맥내, 근육내 또는 피하 투여를 포함할 수 있다. 예를 들어, ICU 케어에서 수술 또는 IV 카테터 삽입 전, 이식 의료에서, 암 화학치료요법과 함께 이후 고위험의 감염을 갖는 다른 활동에서, 본 발명의 AAC는 감염의 개시 또는 퍼짐을 예방하기 위해 투여될 수 있다.

세균 감염은 활동 또는 비활동 형태의 세균에 의해 유발될 수 있고 AAC는 활동 및 비활동, 잡복 형태의 세균 감염 (활동 형태의 세균 감염을 치료하기 위해 요구되는 것 보다 긴 지속 기간이 필요하다) 둘다를 치료하기 위해 충분한 양으로 및 지속 기간 동안 투여된다.

[0457]

다양한 그람+ 세균의 분석은 WTA 베타가 에스. 사프로피티쿠스 및 에스. 시물란스와 같은 스타프 균주 뿐만 아니라 MRSA 및 MSSA 균주를 포함하는 모든 에스. 아우레우스 상에서 발현되는 것으로 밝혀졌다. WTA 알파 (알파-GlcNAc 리비톨 WTA)는 대부분이지만 모두는 아닌 에스. 아우레우스 상에 존재하고 또한 리스테리아 모노사이토네스 상에 존재한다. WTA는 그람- 세균에 존재하지 않는다. 따라서, 본 발명의 하나의 양상은 본 발명의 치료학적 유효량의 항-WTA 베타-AAC를 투여함에 의해 에스. 아우레우스, 에스. 사프로피티쿠스 또는 에스. 시물란스 중 하나 이상으로 감염된 환자를 치료하는 방법이다. 본 발명의 또 다른 양상은 본 발명의 치료학적 유효량의 항-WTA 알파-AAC를 투여함에 의해 에스. 아우레우스 및/또는 리스테리아 모노사이토네스로 감염된 환자를 치료하는 방법이다. 본 발명은 또한 수술, 화상 환자 및 기관 이식과 같은 병원 세팅에서 본 발명의 치료학적 유효량의 항-WTA 베타-AAC를 투여함에 의해 하나 이상의 에스. 아우레우스 또는 에스. 사프로피티쿠스 또는 에스. 시물란스에 의해 감염을 예방하는 방법을 고려한다.

[0458]

당업에 의해 결정된 바와 같은 세균 감염을 위한 치료를 필요로 하는 환자는 환자가 특정 세균으로 이미 감염되었으나 이것으로 진단될 필요는 없다. 세균 감염을 갖는 환자는 매우 신속하게 악화된 상태로 전환될 수 있기 때문에, 시간의 관점에서 병원에 입원 즉시 환자는 반코마이신 또는 시프로프록사신과 같은 케어 Abx의 하나 이상의 표준물과 함께 본 발명의 항-WTA-AAC를 투여받을 수 있다. 진단학적 결과가 사용해지고 예를 들어, 감염에서 에스. 아우레우스의 존재를 지적하는 경우, 환자는 항-WTA AAC로 계속 치료받을 수 있다. 따라서, 세균 감염 또는 특히 에스. 아우레우스 감염을 치료하는 방법의 하나의 구현예에서, 환자는 치료학적 유효량의 항-WTA 베타 AAC을 투여받는다. 본 발명의 치료 또는 예방 방법에서 본 발명의 AAC는 유일한 치료학적 제제로서 또는 하기된 것들과 같은 다른 제제와 함께 투여될 수 있다. 본 발명의 AAC는 예비-임상 모델에서 MRSA의 치료에서 반코마이신에 대해 월등함을 보여준다. AAC와 SOC의 비교는 예를 들어, 치사율 감소에 의해 측정될 수 있다. 치료 받는 환자는 다양한 측정가능한 인자에 의한 AAC 치료에 대한 응답에 대해 평가될 수 있다. 이들의 환자에서 개선을 평가하기 위해 사용할 수 있는 징후 및 증상의 예는 다음을 포함한다: 진단에서 상승되는 경우 백혈구 세포 계수의 정상화, 진단 시점에서 상승(열병)되는 경우 체온의 정상화, 혈액 배양물의 제거, 덜한 홍반 및 고름의 배수를 포함하는 상처에서 가시적 개선, 덜 산소를 요구하는 것과 같은 환기장치 요건에서의 감소 또는 환기된 환자에서 감소된 환기율, 전체적으로 환자가 진단 시점에서 환기되는 경우 환기 장치로부터의 배출, 이들 의료 처치가 진단 시점에서 요구되는 경우 안정한 혈압을 지지하기 위해 덜한 의료 처치의 용도, 이들이 진단 시점에서 비정상적인 경우 상승된 크레아티닌 또는 간 기능 시험과 같은 최종-기관 부전증을 제안하는 연구 비정상의 정상화, 및 방사선학적 이미지화(폐렴을 보여주는 해상도를 이전에 제한한 흉부 x-선)에서의 개선. ICU의 환자에서, 이들 인자들은 적어도 매일 측정될 수 있다. 열병은 "좌측 전환" (활동 감염에 응답하여 증가된 호흡 구 생성을 지적하는 섬유아세포의 출현)이 해결되었다는 증거 뿐만 아니라 절대 호흡 구 계수를 포함하는 백혈구 세포 계수와 같이 세밀하게 모니터링된다.

[0459]

본 발명의 치료 방법과 관련하여, 세균 감염을 갖는 환자는 치료 개시 또는 진단 개시 전 또는 개시 시점에 수치, 징후 또는 증상과 비교하여 적어도 2개 이상의 이전 인자들 중에서 담당의에 의해 평가된 바와 같이 충분히 측정가능한 개선이 있는 경우 치료받는 것으로 고려된다. 일부 구현예에서, 상기된 인자들 중 3, 4, 5, 6개 이상에서 측정가능한 개선이 있다. 일부 구현예에서, 측정된 인자들에서 개선은 치료 전 수치와 비교하여 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100%이다. 전형적으로, 환자는 세균 감염 (예를 들어, 에스. 아우레우스 감염)으로 완전히 치료된 것으로 고려될 수 있는 경우 환자의 측정가능한 개선이 다음을 포함하는 경우이다: i) 본래에 동정된 세균을 성정시키지 않는 반복적 혈액 또는 조직 배양 (전형적으로 수회); ii) 열병이 정상화됨; iii) WBC가 정상화됨; 및 iv) 최종-기관 부전증 (심장, 폐, 간, 신장, 혈관 봉괴)이 환자가 갖는 기준의 동시에 이환율이 주어지는 경우 완전히 또는 부분적으로 해결되었다는 증거.

[0460]

투여 용량

[0461]

임의의 이전의 양상에서, 감염된 환자를 치료하는데 있어서, AAC의 용량은 정상적으로 약 0.001 내지 1000 mg/kg/일이다. 하나의 구현예에서, 세균 감염을 갖는 환자는 약 1 mg/kg 내지 약 150mg/kg, 전형적으로 약 5mg/kg 내지 약 150mg/kg, 보다 구체적으로 약 25mg/kg 내지 125 mg/kg, 50mg/kg 내지 125mg/kg, 보다 더 구체적으로 약 50mg/kg 내지 100mg/kg 범위의 AAC 용량으로 치료된다. AAC는 매일 투여될 수 있거나(예를 들어, 5 내지 50 mg/kg/일의 단일 용량) 또는 덜 빈번하게 투여될 수 있다(예를 들어, 5, 10, 25 또는 50 mg/kg/주의 단일 용량). 하나의 용량은 2일 이상 분할 될 수 있고, 예를 들어, 1일째 25mg/kg 및 다음 날 25mg/kg이다. 환자는 1 내지 8주의 지속 기간 동안 3일마다 1회 (q3D)의 용량, 1주 내지 격주 1회 (qOW)의 용량을 투여받을 수 있다. 하나의 구현예에서, 환자는 2 내지 6주 동안 1주에 1회 staph A 감염과 같은 세균 감염을 치료하기 위해 케어의 표준물(SOC)과 함께 IV를 통해 본 발명의 AAC를 투여받는다. 치료 기간은 환자의 조건 또는 감염 정도에

의해 지시되고 예를 들어, 합병증이 일어나지 않은 균형증에 대해 2주 지속 기간 또는 심내막염과 함께 균형증에 대해 6주의 지속 기간이다.

[0462] 하나의 구현예에서, AAC는 연속적으로 1일 내지 7일 동안 2.5 내지 100 mg/kg의 초기 용량에 이어서 1개월 동안 1일 내지 7일 마다 1회 0.005 내지 10 mg/kg의 유지 용량으로 투여하였다.

[0463] 투여 경로

[0464] 세균 감염을 치료하기 위해, 본 발명의 AAC는 정맥내 (i.v.) 또는 피하내 임의의 이전 용량으로 투여될 수 있다. 하나의 구현예에서, WTA-AAC는 정맥내 투여된다. 특정 구현예에서, i.v.를 통해 투여된 WTA-AAC는 보다 구체적으로 WTA-베타 AAC이고, 여기서, 상기 WTA-베타 항체는 도 12, 도 13a1 및 a2 및 도 13b1-b4, 도 14a1-a2 및 도 14b1-b3, 및 도 15a1-a3 및 도 15b1-b6에 기재된 바와 같은 아미노산 서열과 함께 Ab의 그룹으로부터 선택되는 하니이다.

[0465] 병용 치료요법

[0466] AAC는 담당의에 의해 결정된 바와 같이 적당한 하나 이상의 추가의, 예를 들어, 제2 치료학적 또는 예방학적 제제와 연계하여 투여될 수 있다.

[0467] 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체-항생제 접합체 화합물과 병용하여 투여되는 제2 항생제는 하기의 구조적 부류로부터 선택된다: (i) 아미노글리코사이드; (ii) 베타-락탐; (iii) 마크롤리드/사이클릭 펩타이드; (iv) 테트라사이클린; (v) 플루오로퀴놀린/플루오로퀴놀론; (vi) 및 옥사졸리디논. 다음 문헌을 참조한다: Shaw, K. 및 Barbachyn, M. (2011) Ann.N.Y.Acad.Sci.1241: 48-70; Sutcliffe, J. (2011) Ann.N.Y.Acad.Sci.1241:122-152.

[0468] 하나의 구현예에서, 본 발명의 항체-항생제 접합체 화합물과 병용하여 투여되는 제2 항생제는 클린다마이신, 노보바이오신, 레타파물린, 담토마이신, GSK-2140944, CG-400549, 시타플록사신, 테이코플라닌, 트리클로란, 나프티리돈, 라데졸리드, 독소루비신, 암피실린, 반코마이신, 이미페넴, 도리페넴, 젠시타빈, 달바반신 및 아지트로마이신으로부터 선택된다.

[0469] 이들 추가의 치료학적 또는 예방학적 제제의 추가의 예는 소염제 (예를 들어, 비-스테로이드 소염 약물 (NSAID; 예를 들어, 데토프로펜, 디클로페낙, 디플루니살, 에토돌락, 페노프로펜, 플루르비프로펜, 이부프로펜, 인도메타신, 케토프로펜, 메클로페나메이트, 메페남산, 멜록시캄, 나부메온, 나프록센 나트륨, 옥사프로진, 피록시캄, 설린탁, 툴메틴, 셀레콕시브, 로페콕시브, 아스피린, 콜린 살리실레이트, 살살테, 및 나트륨 및 마그네슘 살리실레이트) 및 스테로이드(예를 들어, 코르티손, 엑사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 프레드니손, 트리암시놀론)), 항세균제(예를 들어, 아지트로마이신, 클라리트로마이신, 에리트로마이신, 가티플록사신, 레보플록사신, 아목시실린, 메트로니다졸, 페니실린 G, 페니실린 V, 메티실린, 옥사실린, 클록사실린, 디클록사실린, 나프실린, 암피실린, 카베니실린, 티카실린, 메즐로실린, 피페라실린, 아즐로실린, 테모실린, 세팔로틴, 세파피린, 세프라딘, 세팔로리딘, 세파졸린, 세파만돌, 세푸록심, 세팔렉신, 세프프로질, 세파로르, 로라카베프, 세폭시틴, 세프마토졸, 세포탁심, 세프티족심, 세프트리악순, 세포페라준, 세프타지덤, 세핀심, 세프포독심, 세프티부텐, 세프디니르, 세프피롬, 세페펩, BAL5788, BAL9141, 이미페넴, 에르타페넴, 메로페넴, 아스트레오남, 클라불라나테, 설박탐, 타졸박탐, 스트렙토마이신, 네오마이신, 가나마이신, 파로마이신, 젠타미신, 토브라마이신, 아미카신, 네틸미신, 스팩티노마이신, 시소미신, 디베칼린, 이세파미신, 테트라사이클린, 클로르테트라사이클린, 테메클로사이클린, 미노사이클린, 옥시테트라사이클린, 메타사이클린, 독시사이클린, 텔트로마이신, ABT-773, 린코마이신, 클린다마이신, 반코마이신, 오리타반신, 달바반신, 테이코플라닌, 퀴누프리스틴 및 달포프리스틴, 설파닐아미드, 파라-아미노벤조산, 설파디아진, 설피속사졸, 설파메톡사졸, 설파탈리딘, 리네졸리드, 날리딕산, 옥솔린산, 노르플록사신, 페르플록사신, 애녹사신, 오플록사신, 시프로플록사신, 테마플록사신, 로메플록사신, 플레록사신, 그레파플록사신, 스팩플록사신, 트로바플록사신, 클리나플록사신, 목시플록사신, 제미플록사신, 시타플록사신, 담토마이신, 가레녹사신, 라모플라닌, 파로페넴, 폴리믹신, 티게사이클린, AZD2563, 또는 트리메토프립), AAC 표적화된 Ag 기원의 동일하거나 상이한 항원에 대한 항체를 포함하는 항세균 항체, 혈소판 응집 억제제 (예를 들어, 아브식시맙, 아스피린, 실로스타졸, 클로피도그렐, 디피리다몰, 에프티피바티드, 티클로피딘, 또는 티로피반), 항응고제 (예를 들어, 달테파린, 다나파로이드, 애녹사파린, 헤파린, 틴자파린, 또는 와파린), 해열제 (예를 들어, 아세트아미노펜), 또는 지질 저하제 (예를 들어, 콜레스티라민, 콜레스티풀, 니코틴산, 제미피브로질, 프로부콜, 애제티미비, 또는 스타틴, 예를 들어, 아토르바스타틴, 로수바스타틴, 로바스타틴, 심바스타틴, 프라바스타틴, 세리바스타틴 및 플루바스타틴)이다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 AAC는 에스. 아우레우스 (메티실린-내성 및 메티실린-민감성 균주를 포함하는) 케어

의 표준물(SOC)과 병용하여 투여된다. MSSA는 일반적으로 전형적으로 나프실린 또는 옥사실린으로 처리되고 MRSA는 전형적으로 반코마이신 또는 세파졸린으로 처리된다.

[0470] 이들 추가의 제제는 AAC 투여 14일 이내, 7일 이내, 1일 이내, 12시간 이내 또는 1시간 이내에 투여되거나 이와 동시에 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료학적 제제는 AAC로서 동일하거나 상이한 약제학적 조성물에 존재할 수 있다. 상이한 약제학적 조성물에 존재하는 경우, 상이한 투여 경로가 사용될 수 있다. 예를 들어, AAC는 정맥내 또는 피하내 투여될 수 있고 제2 제제는 경구적으로 투여될 수 있다.

[0471] 약제학적 제형

[0472] 본 발명은 또한 WTA-AAC를 함유하는 약제학적 조성물을 제공하고, AAC를 함유하는 약제학적 조성물을 사용하여 세균 감염을 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 조성물은 추가로 당엽계에 널리 공지되고 본원에 기재된, 완충제, 산, 염기, 당, 희석제, 활주제, 보존제 등을 포함하는 약제학적으로 허용되는 부형제(담체)와 같은 적합한 부형제를 포함할 수 있다. 본 발명의 방법 및 조성물은 단독으로 또는 감염성 질환을 치료하기 위한 다른 통상의 방법과 병용하여 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 약제학적 제형은 1) 본 발명의 항-WTA β -AAC, 및 2) 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 일부 구현예에서, 약제학적 제형은 1) 본 발명의 AAC 및 임의로 2) 적어도 하나의 추가의 치료학적 제제를 포함한다.

[0473] 본 발명의 AAC를 포함하는 약제학적 제형은 목적하는 순도를 갖는 AAC를 임의의 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합함에 의해 저장용으로 제조되고(*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) 이의 형태는 수용액 또는 동결건조 또는 다른 건조된 제형 형태이다. 적합한 담체, 부형제, 또는 안정화제는 사용되는 용량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고 다음을 포함한다: 포스페이트, 시트레이트, 히스티딘 및 다른 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌 보존제(예를 들어, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드)를 포함하는 항산화제; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 잔기 미만)의 폴리펩타이드; 나트륨 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 모노아카라이드, 디아카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; EDTA와 같은 퀼레이팅제; 슈크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염 형성 역이온; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온 계면활성제, 예를 들어, TWEENTM, PLURONICSTM 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG). 생체내 투여를 위해 사용될 약제학적 제형은 알반적으로 멸균되고 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 성취된다.

[0474] 활성 성분들은 또한 예를 들어, 코아세르베이션 기술에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐에 포집될 수 있고, 예를 들어, 콜로이드성 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포좀, 알부민 미소구, 마이크로에멀젼, 나노-입자 및 나노캡슐) 중에 또는 마크로에멀젼 중에 각각 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐. 상기 기술은 다음 문헌에 기재되어 있다: *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)).

[0475] 지연-방출 제제가 제조될 수 있다. 지연-방출 제제의 적합한 예는 본 발명의 항체 또는 AAC를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 상기 매트릭스는 성형물, 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐 형태이다. 지연-방출 매트릭스의 예는 다음을 포함한다: 폴리에스테르, 하이드로겔(예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드(미국특허 No. 3,773,919), L-글루탐산의 공중합체 및 g-에틸-L-글루타메이트, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예를 들어, LUPRON DEPOTTM(락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사용 미소구), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체가 100일 이상 동안 분자를 방출할 수 있지만, 특정 하이드로겔은 보다 짧은 기간 동안 단백질을 방출한다. 캡슐화된 항체 또는 AAC가 장기간 동안 신체에 잔류하는 경우, 이들은 37 °C에서의 수준 노출 결과로서 변성되거나 응집될 수 있어, 생물학적 활성의 상실 및 면역원성의 가능한 변화를 유도한다. 이상적인 전략은 관여된 기작에 의존한 안정화를 위해 창안될 수 있다. 예를 들어, 응집 기작이 티오-디설파이드 상호교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀진 경우, 안정화는 설프하이드릴 잔기를 변형시키고, 산 용액으로부터 동결건조시키고, 수분 함량을 조절하고, 적당한 첨가제를 사용하고, 특이적 중합체 매트릭스 조성물을 개발함에 의해 성취될 수 있다.

[0476] AAC는 표적 세포/조직으로의 전달을 위해 임의의 적합한 형태로 제형화될 수 있다. 예를 들어, AAC는 약물의 포

유동물로의 전달을 위해 유용한 다양한 유형의 지질, 인지질 및/또는 계면활성제로 구성된 작은 소포체인 리포좀으로서 제형화될 수 있다. 리포좀의 성분은 통상적으로 이중층 형성으로 정렬되고 이는 생물학적 막의 지질 정렬과 유사하다. 항체를 포함하는 리포좀은 다음 문헌에 기재된 바와 같이 당업자에게 공지된 방법에 의해 제조된다: Epstein 등, (1985) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 82: 3688; Hwang 등, (1980) *Proc.Natl Acad.Sci.USA* 77: 4030; US 4485045; US 4544545; WO 97/38731; US 5013556.

[0477] 특히 유용한 리포좀은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화된 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물과 함께 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포좀은 한정된 공극 크기의 필터를 통해 압출하여 목적하는 직경을 갖는 리포좀이 된다.

[0478] 재료 및 방법

[0479] 세균 균주:

[0480] 모든 실험은 달리 지적되지 않는 경우 NARSA (<http://www.narsa.net/control/member/repositories>)로부터 수득된 MRSA-USA300 NRS384로 수행되었다.

[0481] 세포외 세균에 대한 MIC 측정

[0482] 세포외 세균에 대한 MIC는 트립틱 대두 브로쓰 중 항생제의 연속 2배 희석액을 제조함에 의해 결정하였다. 항생제 희석액은 96웰 배양 디쉬에서 4겹으로 제조하였다. MRSA (USA300의 NRS384 균주)는 대수적으로 성장하는 배양물로부터 취득하였고 1×10^4 CFU/mL로 희석하였다. 세균은 37 °C에서 진탕과 함께 18-24시간 동안 항생제의 존재하에 배양하고 세균 성장은 630nm에서 광학 밀도 (OD)를 관찰함에 의해 결정하였다. MIC는 >90%까지 세균 성장을 억제하는 항생제의 용량인 것으로 결정되었다.

[0483] 세포내 세균에 대한 MIC 결정

[0484] 세포내 MIC는 마우스 복막 대식세포 내부에 격리된 세균에 대해 결정하였다(쥐 복막 대식세포의 생성에 대해 하기 참조). 대식세포는 4×10^5 세포/mL의 밀도로 24웰 배양 디쉬에 분주하고 대식세포 당 10 내지 20 세균 비율의 MRSA로 감염시켰다. 대식세포 배양물은 세포외 세균의 성장을 억제하는 50 ug/mL의 젠타마이신 (세포외 세균에 대해서만 활성인 항생제)이 보충된 성장 배지에서 유지시키고 시험 물질은 감염 1일 후 성장 배지에 첨가하였다. 세포내 세균의 생존은 항생제 첨가 24시간 후 평가하였다. 대식세포는 .1% 소 혈청 알부민 및 .1% 트리톤-X가 보충된 행크 완충 식염 용액으로 용해시키고, 용해물의 연속 희석물은 .05% Tween-20을 함유하는 포스페이트 완충 식염 용액 중에서 제조하였다. 생존 세포내 세균의 수는 5% 탈섬유 양 혈액과 함께 트립틱 대두 한천 플레이트 상에 분주함에 의해 결정하였다.

[0485] 복막 대식세포의 단리:

[0486] 복막 대식세포는 6 내지 8주령 Balb/c 마우스 (Charles River Laboratories, Hollister, CA)의 복막으로부터 단리하였다. 대식세포의 수율을 증가시키기 위해, 마우스는 1 mL의 티오클리콜레이트 배지 (Becton Dickinson)를 사용한 복막내 주사에 의해 전처리하였다. 티오클리콜레이트 배지는 물 중에서 4%의 농도로 제조하고 오토클레이빙함에 의해 멸균시키고 사용전에 20일 또는 6개월 동안 숙성시켰다. 복막 대식세포는 복강을 냉 포스페이트 완충 식염수로 세척함에 의해 티오클리콜레이트를 사용한 처리 4일 후 수거하였다. 대식세포는 24웰 배양 디쉬 중 4×10^5 세포/웰의 밀도로 항생제 없이 10% 태아 소 혈청 및 10mM HEPES가 보충된 둘베코 변형 이글 배지 (DMEM)에 분주하였다. 대식세포는 밤새 배양하여 플레이트에 부착되도록 한다. 이러한 검정을 사용하여 비-식세포 유형에서 세포내 사멸을 시험하였다. MG63 (CRL-1427) 및 A549 (CCL185) 세포주는 ATCC로부터 수득하였고 10 mM Hepes 및 10 % 태아 소 혈청 (RPMI-10)이 보충된 RPMI 1640 조직 배양 배지 중에 유지시켰다. HUVEC 세포는 론자(Lonza)로부터 수득하고 EGM 내피 세포 완전 배지 (Lonza, Walkersville, MD)에 유지시켰다.

[0487] 옵소닌화된 MRSA를 사용한 대식세포의 감염:

[0488] MRSA (NRS384)의 USA300 균주는 NARSA 저장소 (Chantilly, Virginia)로부터 수득하였다. 일부 실험은 에스. 아우레우스 (ATCC25904)의 뉴만(Newman) 균주를 사용하였다. 모든 실험에서, 세균은 트립틱 대두 브로쓰 중에서 배양하였다. AAC를 사용한 세포내 사멸을 평가하기 위해, USA300은 대수 성장 배양물로부터 취득하였고 HB (10 mM HEPES 및 0.1% 소 혈청 알부민이 보충된 행크 균염 용액) 중에서 세척하였다. AAC 또는 항체는 HB 중에 희석시키고 1시간 동안 세균으로 항온처리하여 항체가 세균에 결합되게 하고 (옵소닌화) 옵소닌화된 세균을 사용하

여 웰 당 250 μ L의 HB 중에서 대식세포 당 10-20 세균의 비율 (4×10^6 세균)로 대식세포를 감염시켰다. 대식세포는 감염 직전 무혈청 DMEM 배지로 사전 세척하고 5% CO₂의 습화된 조직 배양 항온처리기 중에서 37°C에서 항온처리함에 의해 감염시켜 세균이 식세포작용을 받도록 한다. 2시간 후, 감염 혼합물을 제거하고 10% 태아 소 혈청, 10 mM HEPES가 보충된 정상 성장 배지(DMEM)로 대체하고 젠타마이신을 50 μ g/mL로 첨가하여 세포외 세균의 성장을 차단하였다. 항온처리 기간 말기에, 대식세포는 무혈청 배지로 세척하고 세포는 0.1% 트리톤-X가 보충된 HB에서 용해시켰다(세포내 세균을 손상시키는 것 없이 대식세포를 용해시킨다). 일부 실험에서, 대식세포의 생존능은 LDH 세포독성 검출 키트 (Product 11644793001, Roche Diagnostics Corp, Indianapolis, IN)를 사용하여 배양 상등액내로의 세포질 락테이트 데하이드로게나제 (LDH)의 방출을 검출함에 의해 배양 기간 말기에 평가하였다. 상등액을 수거하고 제조업자의 지침에 따라 즉시 분석하였다. 연속 용해물의 희석물을 0.05% Tween-20 (세균의 응집물을 파괴하기 위해)이 보충된 포스페이트 완충 식염 용액 중에서 제조하고 생존 세포내 세균의 총수는 5% 탈섬유 양 혈액과 함께 트립틱 대두 한천 상에 분주함에 의해 결정하였다.

[0489]

MRSA 감염된 복막 세포의 생성.

[0490]

6 내지 8주령 암컷 A/J 마우스 (JAX™ Mice, Jackson Laboratories)는 복막 주사에 의해 1×10^8 CFU의 USA300의 NRS384 균주로 감염시켰다. 복막 세척액을 감염 1일 후 수거하고, 감염된 복막 세포는 37 °C에서 30분 동안 0.1% BSA (HB 완충액)이 보충된 Hepes 완충액 중에 희석된 50 μ g/mL의 리소스타핀으로 처리하였다. 복막 세포는 이어서 빙냉 HB 완충액에서 2회 세척하였다. 복막 세포는 10 mM Hepes 및 10 % 태아 소 혈청, 및 5 μ g/mL 반코마이신이 보충된 RPMI 1640 조직 배양 배지 중에서 1×10^6 세포/mL으로 희석하였다. 주요 감염으로부터 유리된 MRSA는 호중구 사멸에 적용되지 않은 세포외 세균에 대한 대조군으로서 포스페이트 완충 식염 용액 중에서 4 °C에서 밤새 저장하였다.

[0491]

복막 세포로부터 골아세포로의 감염 전달:

[0492]

MG63 골아세포주는 ATCC (CRL-1427)로부터 수득하였고 10 mM Hepes 및 10 % 태아 소 혈청 (RPMI-10)이 보충된 RPMI 1640 조직 배양물 중에 유지시켰다. 골아세포는 24웰 조직 배양 플레이트 중에 분주하고 컨플루언트 층이 될때까지 배양하였다. 실험 일자 상에, 골아세포는 RPMI (보충 없이) 중에서 1회 세척하였다. MRSA 또는 감염된 복막 세포는 완전 RPMI-10에 희석시키고 반코마이신은 감염 직전 5 μ g/mL으로 첨가하였다. 복막 세포는 1×10^6 복막 세포/mL로 골아세포에 첨가하였다. 세포 샘플은 0.1% 트리톤-X로 용해시켜 감염 시점에 생존 세포내 세균의 실제 농도를 결정하였다. 모든 감염에 대한 실제 역가는 5% 탈섬유 양 혈액과 함께 연속 세균 희석물을 트립틱 대두 한천상에 분주함에 의해 결정하였다.

[0493]

MG63 골아세포는 4웰 유리 챔버 슬라이드에 분주하고 10 mM Hepes 및 10 % 태아 소 혈청 (RPMI-10)이 보충된 RPMI 1640 조직 배양 배지에서 이들이 컨플루언트 층을 형성할 때까지 배양하였다. 감염시키는 날상에, 상기 웰은 무혈청 배지로 세척하고 감염된 복막 세포 혼탁액으로 또는 5 μ g/mL의 반코마이신이 보충된 완전 RPMI-10에서 희석된 MRSA의 USA300 균주로 감염시켰다. 감염 1일 후, 세포는 포스페이트 완충 식염수 (PBS)로 세척하고 2% 과라포름알데하이드를 사용하여 PBS 중에서 실온에서 30분 동안 고정시켰다. 웰은 PBS 중에서 3회 세척하고 실온에서 30분 동안 0.1% 사포닌을 함유한 PBS로 투과성을 갖게하였다.

[0494]

생체내 감염 전달 모델:

[0495]

USA300 스톡은 트립틱 대두 브로쓰에서 활동적으로 성장하는 배양물로부터의 감염을 위해 제조하였다. 세균은 포스페이트 완충 식염수 (PBS) 중에서 3회 세척하고 분취액은 -80 °C에서 PBS 25% 글리세롤 중에서 -80 °C에서 동결시켰다. 세포내 세균 감염: A/J 마우스는 이들이 비교적 낮은 용량의 MRSA (2×10^6 CFU/마우스)로 용이하게 감염되기 때문에 이를 실험을 위해 선택하였다. 7주령 암컷 A/J 마우스는 연구소 (Jackson Lab)로 수득하였고 5×10^7 CFU의 USA300을 사용한 복막내 주사로 감염시켰다. 마우스는 감염 1일 후 희생시키고 복막은 5 mL의 냉 PBS로 세정하였다. 복막 세척물은 테이블 탑 원심분리기에서 4 °C에서 1,000rpm으로 5분 동안 원심분리하였다. 복막 세포를 함유하는 세포 웰렛을 수거하고 세포는 50 μ g/mL의 리소스타핀으로 처리하였고 (Cell Sciences Inc. Canton MA, CRL 309C) 이는 37 °C에서 20분 동안 수행하여 오염 세포외 세균을 사멸시킨다. 복막 세포는 빙냉 PBS에서 3회 세척하여 리소스타핀을 제거하였다. 공여자 마우스로부터의 복막 세포를 모으고 수용자 마우스에 꼬리 정맥으로 정맥내 주사에 의해 각각의 수용자 당 5마리 공여자로부터 유래된 세포를 주사하였다. 세포내 CFU의 수를 결정하기 위해, 복막 세포의 샘플은 0.1% 트리톤-X로 HB (10 mM HEPES 및 0.1% 소 혈청 알부민)에

보충된 헹크 균염 용액) 중에서 용해시키고, 용해물 연속 희석물을 .05% tween-20과 함께 PBS 중에 제조하였다. 유리된 세균 감염: A/J 마우스는 복막 주사를 위해 사용되는 글리세롤 스톡의 새로운 분취액을 사용하여 다양한 용량의 유리된 세균을 사용하여 감염시켰다. 실제 감염 용량은 CFU 플레이팅에 의해 확인하였다. 도 1a에 나타낸 데이터에 대해, 세포내 세균에 대한 실제 감염 용량은 1.8×10^6 CFU/마우스이고, 유리된 세균에 대한 실제 감염 용량은 2.9×10^6 CFU/마우스였다. 선택된 마우스는 감염 직후 정맥내 주사에 의해 단일 용량의 100 mg/Kg의 반코마이신으로 처리하였다.

[0496]

비-식세포로의 시험관내 감염 전달.

[0497]

MRSA 감염된 복막 세포의 생성: 6 내지 8 주령 암컷 A/J 마우스 (Jackson Lab)는 복막 주사에 의해 1×10^8 CFU의 USA300의 NRS384 균주로 감염시켰다. 복막 세척액은 감염 1일 후 수거하고 감염된 복막 세포는 37 °C에서 30분 동안 .1% BSA (HB 완충액)이 보충된 Hepes 완충액 중에 희석된 50 ug/mL의 리소스타핀으로 처리하였다. 복막 세포는 이어서 빙냉 HB 완충액에서 2회 세척하였다. 복막 세포는 10 mM Hepes 및 10 % 태아 소 혈청, 및 5 ug/mL 반코마이신이 보충된 RPMI 1640 조직 배양 배지 중에서 1×10^6 세포/mL로 희석하였다. 주요 감염으로부터 유리된 MRSA는 호중구 사멸에 적용되지 않는 세포외 세균에 대한 대조군으로서 포스페이트 완충 식염수 용액 중에 4 °C에서 밤새 저장하였다.

[0498]

골아세포 또는 HBMEC의 감염: MG63 세포주는 ATCC (CRL-1427)로부터 수득하고 10 mM Hepes 및 10 % 태아 소 혈청 (RPMI-10)이 보충된 RPMI 1640 조직 배양 배지 중에 유지시켰다. HBMEC 세포 (카탈로그 #1000) 및 ECM 배지 (카탈로그# 1001)는 연구소(SciencCell Research Labs (Carlsbad, CA))로부터 수득하였다. 세포는 24웰 조직 배양 플레이트에 분주하고 컨플루언트 층이 될때까지 배양하였다. 실험 날 상에, 세포는 RPMI (보충물 없이)에서 1회 세척하였다. MRSA 또는 감염된 복막 세포는 완전한 RPMI-10에서 희석시키고 반코마이신은 감염 직전에 5 ug/mL로 첨가하였다. 복막 세포는 1×10^6 복막 세포/mL로 골아세포에 첨가하였다. 세포 샘플은 .1% 트리تون-X로 용해시켜 감염 시점에 세포내 세균의 실제 농도를 결정하였다. 모든 감염에 대한 실제 역가는 5% 탈섬유 양 혈액과 함께 연속 세균 희석물을 트립틱 대두 한천상에 분주함에 의해 결정하였다.

[0499]

항-에스. 아우레우스 항체의 생성.

[0500]

항-베타-GlcNAc WTA mAb에 대한 인간 IgG 항체는 항체 중쇄 및 경쇄의 동족 쌍형성을 보존하는 모노클로날 항체 발견 기술을 사용하여 에스. 아우레우스 감염 후 환자 기원의 말초 B 세포로부터 클로닝하였다³⁸. 개별 항체 클론은 포유동물 세포의 형질감염에 의해 발현시켰다(문헌참조: Meijer, P. J., Nielsen, L.S., Lantto, J. & Jensen, A. (2009) Human antibody repertoires. *Methods Mol Biol* 525, 261-277, xiv; Meijer, P. J., 등 (2006) "Isolation of human antibody repertoires with preservation of the natural heavy and light chain pairing." *Journal of molecular biology* 358, 764-772). 전장 IgG1 항체를 함유하는 상등액은 7일 후 수거하고 이를 사용하여 ELISA에 의한 항원 결합을스크리닝한다. 이들 항체는 USA300으로부터의 세포벽 제제에 결합하는 것에 대해 양성이다. 후속적으로 항체는 200-ml 일시적 형질감염에서 생성되었고 추가의 시험을 위해 단백질 A 크로마토그래피 (MabSelect SuRe, GE Life Sciences, Piscataway, NJ)로 정제하였다. 이들 항체의 단리 및 용도는 지역 윤리 검토부에 의해 승인되었다.

[0501]

링커 약물의 항체로의 접합.

[0502]

항-WTA 항체 (Ab)의 ThioMab 변이체의 구성 및 생성은 다음과 같이 수행하였다. 시스테인 잔기는 항-WTA Ab 경쇄의 Val 205 위치에서 가공하여 이의 ThioMab™ 시스테인-가공된 항체 변이체를 생성하였다. 상기 티오 항-WTA는 표 2에 개시된 PML 링커-항생제 중간체에 접합시켰다. 상기 항체는 밤새 50배 몰 과량의 DTT의 존재하에 환원시켰다. 환원제 및 시스테인 및 글루타티온 블록은 HiTrap SP-HP 칼럼 (GE Healthcare)을 사용하여 정제 제거하였다. 항체는 2.5시간 동안 15배 몰 과량의 데하이드로아스코르브산 (MP Biomedical)의 존재하에 재산화시켰다. 쇄 상호 디설파이드 결합의 형성은 LC/MS에 의해 모니터링하였다. 단백질에 대해 3배 몰 과량의 PML 링커 항생제 중간체는 1시간 동안 ThioMab과 항온처리하였다. 항체 약물 접합체는 0.2 um SFCA 필터 (Millipore)를 통해 여과하여 정제하였다. 과량의 유리된 링커 약물은 여과에 의해 제거하였다. 접합체는 투석에 의해 20 mM 헤스티딘 아세테이트 pH 5.5 / 240 mM 슈크로스로 완충 교환하였다. mAb 당 접합된 리파마이신형 항생제의 수는 항생제/항체 비율 (AAR)로서 LC/MS 분석에 의해 정량하였다. 순도는 또한 크기 배척 크로마토그래피에 의해 평가하였다.

[0503]

질량 분광측정 분석

[0504]

LC/MS 분석은 6530 정밀-질량 사중극자 타임-오브-플라이트 (Q-TOF) LC/MS (Agilent Technologies) 상에서 수행하였다. 샘플은 80 °C로 가열된 PRLP-S 칼럼, 1000 Å, 8 μm (50 mm × 2.1 mm, Agilent Technologies) 상에서 크로마토그래피하였다. 4.3분에서 30 내지 60% B로부터의 선형 농도 구배 (물 중 용매 A, 0.05% TFA; 아세토니트릴 중 용매 B, 0.04% TFA)를 사용하고 용출물은 전기분무 공급원을 사용하여 직접 이온화시켰다. 데이터를 수집하고 아질런트 질량 헌터 정성 분석 소프트웨어(Agilent Mass Hunter qualitative analysis software)를 사용하여 디콘볼루션한다. LC/MS 분석 전에, 항체 약물 접합체는 1:100 w/w 효소 대 항체 비율, pH 8.0, 및 37 °C에서 30분 동안 라이실 엔도펩티다제 (Wako)로 처리하여 분석의 용이함을 위해 Fab 및 Fc 부분을 생성하였다. 항생제 대 항체 비율 (AAR) (본원에서 약물 대 항체 비율 (DAR)과 상호교환적으로 사용됨)은 매쓰헌터 (MassHunter) 소프트웨어에 의해 계산된 풍부한 Fab 및 Fab+1을 사용하여 계산하였다.

[0505]

감염된 마우스로부터 단리된 세균 분석: Balb/c 마우스는 정맥내 주사에 의해 1×10^7 CFU의 MRSA (USA300)로 감염시키고 신장은 감염 후 3일째 상에 수거하였다. 신장은 M-튜브 및 프로그램 RNA01.01을 사용하여 2개의 신장 당 5ml 용적에서 GentleMACS 분해자를 사용하여 균질화시켰다 (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). 균질화 완충액은 다음과 같다: PBS + 0.1% Triton-X100, 10 ug/mL의 DNAase (소 체장 등급 II, Roche) 및 프로테아제 억제제 (완전한 프로테아제 억제제 칵테일, Roche 11-836-153001). 균질화 후, 샘플은 실온에서 10분 동안 항온처리하고 이어서 냉장 PBS로 희석하고 40 uM 세포 스트레이너를 통해 여과하였다. 조직 균질물을 냉장 PBS에서 2회 세척하였고 이어서 HB 완충액 (10 mM HEPES 및 .1% 소 혈청 알부민이 보충된 헹크 균염 용액)에서 2개 신장 당 0.5mL의 용적에서 혼탁시켰다. 세포 혼탁액은 다시 여과하고 25 uL의 세균 혼탁액은 각각의 염색 반응을 위해 취득하였다.

[0506]

항-MRSA 항체의 발현을 비교하기 위한 유동 세포측정: 유동 세포측정 세균 (1×10^7 의 시험관내 성장된 세균, 또는 상기된 25 uL의 조직 균질물)에 대한 항체 염색은 HB (상기)에 혼탁시키고 1시간 동안 400 μg/mL (밀리미터 당 마이크로그램)의 마우스 IgG (SIGMA, I5381)과 항온처리하여 차단하였다. 형광성으로 표지된 항체는 차단 반응에 직접 첨가하였고 추가로 10 내지 20분 동안 실온에서 항온처리하였다. 세균은 HB 완충액에서 3회 세척하고 이어서 FACS 분석 전 PBS 2% 파라포름알데하이드에 고정시켰다. 시험 항체 (항-β WTA: 4497, 항-α WTA: 7578 또는 이소형 대조군: gD)은 아민 반응성 시약 (Invitrogen, succinimidyl-ester of Alexa Fluor 488, NHS-A488)을 사용하여 Alexa-488과 접합시켰다. 50 mM 인산나트륨 중에 항체는 실온에서 2 내지 3시간 동안 암실에서 5-10배 몰 과량의 NHS-A488과 반응시켰다. 표지화 혼합물을 PBS 중에서 평형화된 GE 세파로스 S200 칼럼에 적용하여 접합된 항체로부터 과량의 반응물을 제거하였다. A488 분자/항체의 수는 제조업자에 의해 기재된 바와 같은 UV 방법을 사용하여 결정하였다.

[0507]

조직 균질물에서 세균 분석을 위해, 비-경쟁 항-에스. 아우레우스 항체 (rF1- Hazenbos, W.L., 등 (2013) 신규 스타필로코커스 글리코실트랜스퍼라제 SdgA 및 SdgB는 독성-관련 세포벽 단백질의 면역원성 및 보호를 매개한다. *PLoS Pathog* 9, e1003653은 에스. 아우레우스가 유사 크기의 입자와 구분되도록 Alexa-647에 접합시켰다. 시험 항체는 80 ng/mL 내지 50 ug/mL의 용량 범위에서 조사하였다. 유동 세포측정은 벡톤 딕슨(Beckton Dickson) FACS ARIA (BD Biosciences, San Jose CA)를 사용하여 수행하였고 분석은 플로우조 분석 소프트웨어 (Flow Jo LLC, Ashland OR)를 사용하여 수행하였다.

[0508]

비-복제 세균에 대한 유리된 항생제의 사멸 시간: 에스. 아우레우스 (USA300)는 밤새 정지상 배양물로부터 취득하였고 포스페이트 완충 식염수 (PBS) 중에서 1회 세척하고 50mL 폴리프로필렌 원심분리 튜브에서 10mL의 용적으로 어떠한 항생제를 갖지 않거나 1×10^{-6} M의 항생제를 갖는 PBS 중에서 1×10^7 CFU/mL로 혼탁시켰다. 세균은 진탕과 함께 37 °C에서 밤새 배양하였다. 각각의 시점에서, 3개의 1 mL 샘플은 각각의 배양물로부터 제거하였고 원심분리하여 세균을 수거하였다. 세균은 PBS로 1회 세척하여 항생제를 제거하고 생존 세균의 총 수는 연속 세균 희석물을 플레이트 상에 분주함에 의해 결정하였다.

[0509]

유리된 항생제에 의한 퍼시스터 세포의 사멸: 에스. 아우레우스 (USA300)는 밤새 정지상 배양물로부터 취득하였고, 트립틱 대두 브로쓰(TSB)에서 1회 세척하고 이어서 10mL의 총 용적의 TSB 또는 시프로플록시신 (0.05 mM)을 갖는 TSB 중에서 1×10^7 CFU/mL의 최종 농도로 조정하였다. 배양물은 6시간 동안 37 °C에서 진탕시키면서 배양하였고 이어서 제2 항생제인 리팜피신 (1 ug/mL) 또는 또 다른 리팜피신형 항생제 (1 ug/mL)를 첨가하였다. 지정된 시간에, 샘플은 각각의 배양물로부터 제거하고 PBS로 1회 세척하여 항생제를 제거하고 PBS 중에 재혼탁시켰

다. 생존 세균의 총 수는 세균의 연속 희석물을 한천 플레이트 상에 분주함에 의해 결정하였다. 최종 시점에서, 각각의 배양물의 나머지는 수거하고 분주하였다.

[0510] AAC에 대한 카데신 방출 검정: 카데신 B를 사용한 처리 후 AAC로부터 방출된 활성 항생제의 양을 정량하기 위해, AAC는 카데신 완충액 (20 mM 나트륨 아세테이트, 1 mM EDTA, 5 mM L-시스테인 pH 5) 중에서 200 ug/mL로 희석하였다. 카데신 B (소 비장으로부터, SIGMA C7800)는 10 ug/mL으로 첨가하고 샘플은 37 °C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 대조군으로서, AAC는 단독의 완충액에서 항온처리하였다. 상기 반응은 9 용적의 세균 성장 배지, 트립티 대두 브로쓰 pH 7.4 (TSB)를 첨가하여 정지시켰다. 활성 항생제의 총 방출을 평가하기 위해, 반응 혼합물을 연속 희석물을 96웰 플레이트에서 TSB 중 4겹으로 제조하고 MRSA (USA300)는 2×10^3 CFU/mL의 최종 밀도로 각각의 웰에 첨가하였다. 상기 배양물은 진탕과 함께 37 °C에서 밤새 배양하고 세균 성장은 플레이트 판독 기를 사용하여 630nm에서의 흡광도를 판독함에 의해 측정하였다.

[0511] 파고리소좀 프로세싱을 위한 S4497 항체 FRET 접합체의 합성.

[0512] 말레이미드 FRET 웨타이드를 합성하고 S4497 시스테인-가공된, ThioMab™ 항체에 접합시켰다. FRET 쌍은 테트라메틸로다민 (TAMRA) 및 플루오레세인 (Fischer, R., 등 (2010) *Bioconjug Chem* 21, 64-73)을 사용하였다. 말레이미드 FRET 웨타이드는 PS3 웨타이드 합성기 (Protein Technologies, Inc)를 사용하는 표준 Fmoc 고체상 화학에 의해 합성하였다. 간략하게, 0.1 mmol의 링크 아미드 수지를 사용하여 C-말단 카복스아미드를 생성하였다. N- 및 C-말단 잔기에서 Fmoc-Lys(Mtt)-OH를 사용하여 수지 상에서 Mtt (모노메톡시트리틸) 그룹을 제거하고 TAMRA 및 플루오레세인을 부착시키기 위해 추가의 측쇄 화학을 수행하였다. CBDK-cit 웨티도모사체 유닛은 카데신-절단가능한 스페이서로서 PRET 쌍 사이에 첨가하였다. 수지로부터 절단 제거된 조 말레이미드 FRET 웨타이드 또는 말레이미도카프로일-K(TAMRA)-G-CBDK-cit -K(플루오레세인)를 Jupiter 5 μm C4 칼럼 (5 μm, 10 mm x 250 mm, Phenomenex)을 갖는 역상 HPLC로 추가로 정제하였다. 본원 발명자의 FRET 프로브는 항체 접합체의 세포내 트래픽킹 뿐만 아니라 파고리소좀에서 링커의 프로세싱의 모니터링을 가능하게 한다. 온전한 항체 접합체는 공여자로부터 형광성 공명 에너지 전달로 인해 적색으로 형광 발색한다. 그러나, 파고리소좀에서 FRET 웨타이드의 기질 절단시, 공여자로부터의 녹색 형광이 나타날 것으로 예상된다.

[0513] 대식세포 내부에서 링커의 절단을 검출하기 위한 비데오 현미경

[0514] 쥐 복막 대식세포는 대식세포 세포내 사멸 검정을 위해 기재된 바와 같이 완전한 배지 중 챔버 슬라이드 (Ibidi, Verona, WI. 카탈로그 80826)상에 분주하였다. USA300은 37 °C에서 30분 동안 항온처리함에 의해 PBS 1% BSA에서 100ug/mL의 세포 트랙커 바이올렛(Invitrogen C10094)으로 표지시켰다. 상기 표지된 세균은 HB 완충액 중에서 1시간 동안 항온처리함에 의해 4497-FRET 프로브로 옵소닌화하였다. 대식세포는 옵소닌화된 세균의 첨가 직전에 1회 세척하고 세균은 1×10^7 세균 /mL로 세포에 첨가하였다. 비-식세포작용 조절을 위해, 대식세포는 식세포작용 전 30분 동안 및 식세포 작용 동안에 60 nM 라트룬콜린 A (Calbiochem)로 전처리하였다. 슬라이드는 세포로의 세균 첨가 직후 현미경상에 위치시키고 CO_2 및 온도 조절기 (Ludin)를 갖는 환경 챔버가 장착된 레이카(Leica) SP5 공초점 현미경으로 동영상을 획득하였다. 상기 이미지는 30분의 총 시간 동안 다음 기구를 사용하여 매분마다 포착하였다: Plan APO CS 40X, N. A: 1.25, 오일 이미전 렌즈, 및 각각 알렉사 488 및 TAMRA를 여기시키기 위한 488nm 및 543nm 레이저 라인. 상 이미지는 또한 543 nm 레이저 라인을 사용하여 기록하였다.

[0515] 질량 분광측정기에 의한 대식세포 내부 방출된 항생제의 정량.

[0516] 쥐 복막 대식세포는 HB 중 100 ug/mL의 AAC로 옵소닌화된 MRSA를 사용한 세포내 사멸 검정을 위해 하기된 바와 같은 24웰 조직 배양 디쉬에서 감염시켰다. 식세포 작용이 완료된 후, 세포를 세척하고 250uL의 완전한 배지 + 젠타마이신을 웰에 첨가하고 세포는 1시간 또는 3시간 동안 배양하였다. 각각의 시점에서, 상등액 및 세포 분획물을 수거하고 아세토니트릴 (ACN)은 75% 최종 농도로 첨가하고 30분 동안 항온처리하였다. 세포 및 상등액 추출물은 N2(TurboVap) 하에 증발시킴에 의해 동결건조시키고 100 uL의 50% CAN 중에서 재구성하고, 여과하고 Ab Sciex QTRAP 6500 LC/MS/MS 시스템 상에서 분석하였다.

[0517] 시험관내 세포내 사멸 검정.

[0518] 비-식세포 유형: MG63 (CRL-1427) 및 A549 (CCL185) 세포주는 ATCC로부터 수득하였고 10 mM Hepes 및 10 %胎아 소 혈청 (RPMI-10)이 보충된 RPMI 1640 조직 배양 배지 중에 유지시켰다. HUVEC 세포는 롤자(Lonza)로부터 수득하고 EGM 내피 세포 완전 배지 (Lonza, Walkersville, MD)에 유지시켰다. HBMEC 세포 (카탈로그 #1000) 및

ECM 배지 (카탈로그# 1001)는 연구소(SciencCell Research Labs (Carlsbad, CA))로부터 수득하였다.

[0519] 쥐 대식세포: 복막 대식세포는 6 대지 8주령 Balb/c 마우스 (Charles River Laboratories, Hollister, CA)의 복막으로부터 단리하였다. 대식세포의 수율을 증가시키기 위해, 마우스는 1 mL의 티오글리콜레이트 배지 (Becton Dickinson)를 사용한 복막내 주사에 의해 전처리하였다. 티오글리콜레이트 배지는 물 중에서 4%의 농도로 제조하고 오토클레이빙함에 의해 멸균시키고 사용전에 20일 또는 6개월 동안 숙성시켰다. 복막 대식세포는 복강을 냉 포스페이트 완충 식염수로 세척함에 의해 티오글리콜레이트를 사용한 처리 4일 후 수거하였다. 대식세포는 24웰 배양 디쉬 중 4×10^5 세포/웰의 밀도로 항생제 없이 10% 태아 소 혈청 및 10mM HEPES가 보충된 둘째 코 변형 이글 배지 (DMEM)에 분주하였다. 대식세포는 밤새 배양하여 플레이트에 부착되도록 한다.

[0520] 인간 M2 대식세포: CD14⁺ 단핵구는 단핵구 단리 키트 II (Miltenyi, Cat 130-091-153)를 사용하여 정상 인간 혈액으로부터 정제하고 태아 소 혈청 (FCS)로 미리 피복된 조직 상에 1.5×10^5 세포/cm²로 분주하고 20% FCS + 100 ng/mL rhM-CSF를 갖는 RPMI 1640 배지 중에서 배양하였다. 배지는 1일 및 7일째에 재생하고 배지는 5% 혈청 + 20 ng/mL IL-4로 변화시켰다. 대식세포는 18시간 후에 사용하였다.

[0521] 검정 프로토콜: 모든 실험에서, 세균은 트립틱 대두 브로쓰 중에서 배양하였다. 항체 항생제 접합체 (AAC)를 사용한 세포내 사멸을 평가하기 위해, USA300은 대수 성장 배양물로부터 취득하였고 HB (10 mM HEPES 및 .1% 소 혈청 알부민이 보충된 행크(Hank) 균염 용액) 중에서 세척하였다. AAC 또는 항체는 HB에서 희석하고 1시간 동안 세균으로 항온처리하여 항체가 세균에 결합되게하고(옵소닌화) 옵소닌화된 세균을 사용하여 대식세포 당 10 대지 20 세균 비율로 (웰당 250 uL의 HB에서 4×10^6 세균) 대식세포를 감염시켰다. 대식세포는 감염 직전에 무혈청 DMEM으로 미리 세척하고 5% CO₂를 갖는 습화된 조직 배양 항온처리기에서 37 °C에서 항온처리함에 의해 감염시켜 세균이 식세포작용을 받도록 한다. 2시간 후, 감염 혼합물을 제거하고 정상 성장 배지 (10% 태아 소 혈청, 10 mM HEPES가 보충된 DMEM)로 대체하고 젠타마이신은 50ug/ml으로 첨가하여 세포외 세균의 성장을 차단하였다. 배양 기간 말기에, 대식세포는 무혈청 배지로 세척하고 세포는 .1% triton-X100이 보충된 HB 중에 용해시켰다(세포내 세균을 손상시키는 것 없이 대식세포를 용해시킨다). 용해물의 연속 희석물은 .05% Tween-20이 보충된 포스페이트 완충 식염 용액 중에 제조하고 (세균의 응집물을 과피하기 위해) 생존 세포내 세균의 총수는 5% 탈선후 양 혈액과 함께 트립틱 대두 한천 상에 분주함에 의해 결정하였다.

실시예

[0523] 실시예 1 세포내 MRSA는 통상의 항생제로부터 보호된다

[0524] 포유 동물 세포가 항생제 치료요법의 존재하에 애스. 아우레우스에 대한 보호 틈새를 제공한다는 가설을 확인하기 위해, 효능은 세포외 플랑크톤 세균 대 쥐 대식세포 내 격리된 세균에 대항하여 공격적 MRSA 감염에 대한 케어의 표준물(SOC)로서 현재 사용되는 3개의 주요 항생제 (반코마이신, 담토마이신 및 리네졸리드)를 비교하였다 (표 4).

[0525] 세포외 세균에 대해, MRSA는 트립틱 대두 브로쓰에서 밤새 배양하고, MIC는 성장을 차단하는 최소 항생제 용량인 것으로 결정되었다. 세포내 세균에 대해, 쥐 복막 대식세포는 MRSA로 감염시키고 젠타마이신의 존재하에 배양하여 세포외 세균을 사멸시킨다. 시험 항생제는 감염 1일 후 배양 배지에 첨가하고 생존 세포내 세균의 총 수는 24시간 후 결정하였다. 임상적으로 관련된 항생제에 대한 예상된 혈청 농도는 다음 문헌에 보고되었다: Antimicrobial Agents, Andre Bryskier. ASM Press, Washington DC (2005).

[0526] 표 4: 액체 배양에서 성장한 세포외 세균 대. 쥐 대식세포 내부에 격리된 세포내 세균에 대한 여러 항생제의 최소 억제 농도(MIC).

항생제 (Abx)	세포외 MRSA MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	세포내 MRSA MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	혈청 Cmax ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
반코마이신	1	>100	50
답토마이신	4	>100	60
리네졸리드	0.3	>20	20
리팜피신	0.004	50	20

[0527]

[0528]

고도의 독성 군집-획득된 MRSA 균주 USA300을 사용한 상기 분석은 세포외 MRSA가 액체 배양중에 낮은 농도의 반코마이신, 답토마이신 및 리네졸리드에 의한 성장 억제에 고도로 민감하지만 모든 3개의 항생제는 임상적으로 성취가능한 농도의 항생제에 노출된 대식세포 내에 격리된 동일한 균주의 MRSA를 사멸시키는데 실패하였다. 세포내 병원체를 제거하는데 비교적 효과적인 것으로 사료된 리팜피신 (문헌참조: Vandenbroek, P. V. (1989) *Antimicrobial Drugs, Microorganisms, and Phagocytes. Reviews of Infectious Diseases* 11, 213-245)도, 플랑크톤 세균의 성을 억제하는데 요구되는 용량 (MIC)과 비교하여 세포내 MRSA를 제거하는데 6,000-배 높은 용량을 요구하였고(표 1), 이는 대다수의 기준의 항생제가 시험관내 및 생체내 둘다에서 세포내 에스. 아우레우스를 사멸시키는데 비효율적임을 보여주는 다른 연구와 일치하였다 (문헌참조: Sandberg, A., Hessler, J. H., Skov, R. L., Blom, J. & Frimodt-Møller, N. (2009) "Intracellular activity of antibiotics against *Staphylococcus aureus* in a mouse peritonitis model" *Antimicrob Agents Chemother* 53, 1874-1883).

[0529]

실시예 2 세포내 MRSA와 함께 감염의 전파

[0530]

이들 실험은 세포내 세균 대 동등한 용량의 유리된 생존 플랑크톤 세균의 독성을 비교하고 상기 세포내 세균이 생체내 반코마이신의 존재하에 감염을 확립할 수 있는지를 결정하였다. 마우스의 4개의 코호트는 브로쓰 배양 또는 공여자 마우스의 복막 감염에 의해 생성된 숙주 대식세포 및 호중구 내부에 격리된 브로쓰 배양 또는 세포내 세균 (1.8×10^6)으로부터 직접 취해진 대략 동등한 용량의 에스. 아우레우스 생존 유리된 세균 (2.9×10^6)을 사용한 정맥내 주사에 의해 감염시키고 (도1a) 및 선택된 그룹은 감염 직후 및 이어서 하루 1회 반코마이신으로 처리하였다. 마우스는 마우스내 에스. 아우레우스에 의해 일정하게 군집화된 기관인 신장에서 세균 군집화에 대해 감염 4일 후 조사하였다. 3개의 독립적 실험에서, 동등한 용량의 플랑크톤 세균으로 감염된 것들과 비교하여 세포내 세균으로 감염된 마우스의 신장에서 동량 또는 보다 높은 세균 부하를 관찰하였다(도1b). 놀랍게도, 세포내 세균을 사용한 감염이 본 모델에서 플랑크톤 세균을 사용한 감염 후 효율적으로 군집화되지 않는 기관인 뇌의 보다 일관된 군집화를 유도하는 것으로 밝혀졌다(도1c). 추가로, 플랑크톤 세균이 아닌 세포내 세균은 본 모델에서 반코마이신 치료요법에서의 감염을 확립할 수 있었다 (도1b, Fig.1c)

[0531]

시험관내 추가의 분석은 세포내 생존이 항생제 침입을 촉진시키는 정도를 보다 정량적으로 해결하였다. 이러한 목적을 위해, MG63 골아세포는 반코마이신의 존재하에 플랑크톤 MRSA 또는 세포내 MRSA로 감염시켰다.

[0532]

골아세포 또는 HBMEC의 감염. MG63 세포주는 ATCC (CRL-1427)로부터 수득하고 10 mM Hepes 및 10 % 태아 소 혈청 (RPMI-10)이 보충된 RPMI 1640 조직 배양 배지 중에 유지시켰다. HBMEC 세포 (카탈로그 #1000) 및 ECM 배지 (카탈로그# 1001)는 연구소(SciencCell Research Labs (Carlsbad, CA))로부터 수득하였다. 세포는 24웰 조직 배양 플레이트에 분주하고 컨플루언트 층이 될때까지 배양하였다. 실험 날 상에, 세포는 RPMI (보충물 없이)에서 1회 세척하였다. MRSA 또는 감염된 복막 세포는 완전한 RPMI-10에서 희석시키고 반코마이신은 감염 직전에 5 ug/mL로 첨가하였다. 복막 세포는 1×10^6 복막 세포/mL로 골아세포에 첨가하였다. 세포 샘플은 .1% 트리톤-X로 용해시켜 감염 시점에 세포내 세균의 실제 농도를 결정하였다. 모든 감염에 대한 실제 역가는 5% 탈섬유 양 혈액과 함께 연속 세균 희석물을 트립틱 대두 한천상에 분주함에 의해 결정하였다.

- [0533] MRSA (유리된 세균)는 배지, 배지 + 반코마이신, 또는 배지 + 반코마이신에 씨딩하고 MG63 골아세포 (도 1e) 또는 인간 뇌 미세혈관 내피 세포 (HBMVEC, 도 1f)의 단일충상에 분주하였다. 플레이트는 세균과 단일충의 접촉을 촉진시키기 위해 원심분리하였다. 각각의 시점에서, 배양 상등액을 수거하여 세포와 세균을 회수하거나 접착 세포를 용해시켜 세포내 세균을 방출시킨다.
- [0534] 단독의 반코마이신에 노출된 플랑크톤 세균은 효율적으로 사멸되었다. 생존 세균은 배양 중 1일 후 회수되지 않았다 (도1d). 유사한 수의 플랑크톤 세균이 MG63 골아세포 상에 분주되는 경우, 감염 후 1일째 골아세포의 공격에 의해 반코마이신으로부터 보호된 MG63 세포와 관련된 소수의 생존 세균 (입력의 대략 0.06%)을 회수하였다.
- [0535] 복막 세포 내부에 격리된 MRSA는 반코마이신의 존재하에 생존 및 감염 효율을 둘다에서 급격한 증가를 보여주었다. 백혈구에서 세포내 MRSA의 약 15%는 반코마이신이 플라크톤 세균의 배양을 안정화시키는 동일한 조건하에서 생존하였다. 세포내 세균은 또한 반코마이신으로 노출 후 1일째 회수된 세균을 배가시키는, 반코마이신의 존재하에 MG63 골아세포의 단일충을 보다 우수하게 감염시킬 수 있다(도1d). 더욱이, 세포내 에스. 아우레우스는 하기의 세포에서 24시간 동안 거의 10배까지 증가할 수 있었고, 상기 세포는 MG63 세포(도1e), 주요 인간 뇌 내피 세포 (도1f), 및 A549 기관지 상피 세포 (나타내지 않음)이고 이는 유리된 생존 세균을 사멸시키는 반코마이신의 농도에 대한 일정한 노출하에서 수행된다. 항생제 사멸로부터 보호되지만, 세균 성장은 감염된 복막 대식세포 및 호중구의 배양에 존재하지않았다 (나타내지 않음). 함께 이를 데이터는 골수 세포 중 MRSA의 세포내 저장소가 심지어 활성 항생제 치료의 존재하에서도 새로운 부위로의 감염의 전파를 촉진시킬 수 있고 세포내 성장이 일정한 항생제 치료요법의 조건하에서도 내피 및 상피 세포에 존재할 수 있음을 지지한다.
- [0536] 세포내 에스. 아우레우스를 특이적으로 사멸시키는 시약을 개발하기 위해, 항체 및 항생제 성분은 주의깊게 선택되고 최대 효능을 위해 최적화시킨다. 하기 실시예는 항-벽-테이코산 베타 (항-WTA β) 항체의 선택 및 AAC를 형성하기 위해 접합된 특정 리파마이신형 항생제를 유도하는 실험 및 결과를 보여준다.
- [0537] 실시예 3 항-에스.아우레우스 모노클로날 항체의 선택
- [0538] AAC에 의해 전달되는 항생제의 양 및 따라서 이의 궁극적 효능은 세균 표면상에 항체 결합 부위의 수에 의해 제한된다. 따라서, 생체내 감염의 모든 단계 동안에 MRSA 상에 안정하게 발현되는 고도의 풍부한 항원에 결합하는 항체를 선택하는 것이 필수적이었다. 초기 단계로서, 40개 초기의 항-에스. 아우레우스 항체의 패널은 다양한 에스. 아우레우스 감염으로부터 회수하는 환자의 말초 혈액으로부터 유래된 B 세포로부터 클로닝하고 정제하고 감염된 마우스의 신장으로 직접 단리된 MRSA에 결합하는 것에 대해 스크리닝하였다.
- [0539] 항체 생성, 스크리닝 및 선택
- [0540] 약어: MRSA (메티실린-내성 에스. 아우레우스); MSSA (메티실린-민감성 에스. 아우레우스); VISA (반코마이신 중간체-내성 에스. 아우레우스); LTA (리포테이코산); TSB (트립틱 대우 브로쓰); CWP (세포 벽 제조).
- [0541] 인간 IgG 항체는 하기 문헌에 기재된 바와 같이 항체 중쇄 및 경쇄의 동족 쌍형성을 보존하는 심플렉스™ 기술 (Symphogen, Lyngby, Denmark)을 사용한 에스. 아우레우스 감염 후 환자 기원의 말초 B 세포로부터 클로닝하였다: US 8,283,294: "Method for cloning cognate antibodies"; Meijer PJ 등 Journal of Molecular Biology 358: 764-772 (2006); 및 Lantto J 등 J Virol. 85(4): 1820-33 (Feb 2011); 혈장 및 기억 세포는 재조합 전장 IgG 레퍼토리에 대한 유전학적 공급원으로서 사용하였다. 개별 항체 클론은 하기 문헌에 기재된 바와 같이 포유동물 세포의 형질감염에 의해 발현되었다: Meijer PJ, 등 Methods in Molecular Biology 525: 261-277, xiv. (2009). 전장 IgG1 항체를 함유하는 상등액은 7일 후 수거하고 이를 사용하여 주요 스크리닝에서 간접적 ELISA에 의한 항원 결합을 스크리닝하였다. USA300 또는 Wood46 균주 에스. 아우레우스 균주 기원의 세포벽 제제에 결합하는 양성 ELISA를 보여주는 mAb의 라이브러리를 생성하였다. 후속적으로 항체는 200-ml 일시적 형질감염에서 생성되었고 추가의 시험을 위해 단백질 A 크로마토그래피 (MabSelect SuRe, GE Life Sciences, Piscataway, NJ)로 정제하였다. 대규모 항체 생성을 위해, 항체는 CHO 세포에서 생성하였다. VL 및 VH를 암호화하는 벡터는 CHO 세포로 형질감염시키고 IgG는 단백질 A 친화성 크로마토그래피를 사용하여 세포 배양 배지로부터 정제하였다.

[0542]

표 5: Ab를 단리하기 위해 사용되는 항원의 목록

Ag	기재	판매인/공급처	코팅
WTA	스타프 에이로부터 벽 테이코산 (WTA). Cat. No. R84500 (2 mg/바이알), 로트 번호 5E14909.	Meridian Life Sciences	2 μ g/ml
PGN	스타필로코커스 아우레우스로부터의 펩티도글리칸; Cat no. 77140, 로트 번호 1396845	Sigma	2 μ g/ml
CW #1	CW USA300, RPMI, 철 고갈. 정지상	Genentech, 100x	
CW #3	CW USA300, TSB. 정지상	Genentech, 500X	
CW #4	CW Wood46, TSB. 정지상	Genentech, 500X	

[0543]

[0544] CW#1 및 CW#3은 항상 ELISA 코팅을 제조하는데 함께 혼합되었다:

[0545]

도 6은 ELISA에 의한 항체의 1차 스크리닝을 요약한다. 모두(4569를 제외하고)는 USA300 세포 벽 제제 혼합물(철 고갈된: 96: 4 비율에서 TSB)로 스크리닝되는 경우 단리되었다. 모든 GlcNAc 베타(6259를 제외하고는), SDR, 및 PGN (4479) mAb는 또한 1차 스크리닝에서 PGN 및 WTA에 대해 양성이었다. 모든 GlcNAc 알파는 전적으로 USA300 CW 혼합물과의 결합을 위해 스크리닝함에 의해 발견되었다. 4569 (LTA 특이적)은 Wood46 CWP 상에 스크리닝함에 의해 발견되었다.

[0546]

최고 수준의 항체 결합은 WTA 상에 β -O-연결된 GlcNAc 당 변형을 인지하는 인간 IgG1와 함께 발견되었다 (표 6). 덜한 결합은 α -O-연결된 GlcNAc를 인지하는 모노클로날 항체로 성취되었고; 사이토메갈로바이러스 (CMV) gD 단백질에 대한 이소형 대조군 항체는 생체내 유래된 애스. 아우레우스 상에 발현된 단백질 A로 인한 일부 최소 반응성을 보여주었다(도 7a). 항체의 항원 특이성은 유전학적 수단에 의해 결정하였고, WTA 상에 α - 또는 β -GlcNAcs 당 변형에 대한 항체가 이를 각각의 글리코실트랜스퍼라제 (도 7b에 예시된 바와 같이)가 없는 애스. 아우레우스 균주와 결합하는데 실패하였다. 생체내 유래된 MRSA에 결합하는 항체 정도와 일치하여, 항- β -GlcNAc WTA 항체와 함께 제조된 AAC는 항- α -GlcNAc WTA 항체와 함께 제조된 것들 보다 우수한 효능을 보여주었다.

[0547]

생체외 유동 세포측정을 사용하여 라이브러리로부터 항-WTA mAb의 선택

[0548]

상기 라이브러리 내 각각의 mAb는 3개의 선별 기준에 따라 제작되었다: (1) 높은 항생제 전달을 선호하는 상응하는 동족 항원의 고발현의 징후로서 MRSA 표면에 결합하는 mAb의 상대적 강도; (2) 감염 동안에 생체내 MRSA 표면에서 동족 항원의 안정한 발현의 징후로서 다양한 감염된 조직으로부터 단리된 MRSA에 결합하는 mAb의 일관성; 및 (3) 동족 표면 항원 발현의 보존의 징후로서 임상적 애스. 아우레우스 균주의 패널로의 mAb 결합 능력. 상기 목적을 위해, 유동 세포측정을 사용하여 다양한 감염된 조직으로부터 기원하는 애스. 아우레우스 및 상이한 애스. 아우레우스 균주와의 반응성에 대한 라이브러리에서 mAb의 이를 사전 선택된 모든 배양 상등액을 시험하였다.

[0549]

라이브러리에서 모든 mAb는 MRSA USA300로 감염된 마우스 기원의 감염된 신장, 비장, 간 및 폐로부터; 및 토끼 심내막염 모델에서 USA300 COL로 감염된 토끼 기원의 심장 또는 신장 내에서 MRSA에 결합하는 이들의 능력에 대해 분석하였다. 다양한 감염된 조직으로부터 애스. 아우레우스를 인지하는 항체의 능력은 애스. 아우레우스와의 다양한 상이한 임상적 감염에서 활성인 치료학적 항체의 가능성을 상승시킨다. 세균은 즉, 계대배양 없이 시험관내 배양 조건에 의해 유발된 표현형 변화를 차단하기 위해 기관의 수거 즉시 분석하였다. 시험관내 배양 동안에 발현되는 여러 애스. 아우레우스 표면 항원은 감염된 조직에서 발현을 상실하였다. 상기 항원에 대해 지시된 항체는 감염을 치료하기 위해 유용하지 않다. 다양한 감염된 조직에 대한 상기 mAb 라이브러리의 분석 동안에,

상기 관찰은 상당수의 항체에 대해 확인되었고 상기 항체는 배양물로부터의 에스. 아우레우스 세균에 상당히 결합함을 보여주었지만 모든 시험된 감염된 조직 기원의 세균에 결합하지 않음을 보여주었다. 일부 항체는 모든 시험된 감염된 조직은 아니지만 일부 기원의 세균에는 결합하였다. 따라서, 시험된 모든 감염 조건 기원의 세균을 인지할 수 있는 항체가 선택되었다. 평가된 파라미터는 (1)항원 풍부함에 대한 척도로서 상대적 형광 강도; (2) 항원 발현의 안정성에 대한 척도로서 양성으로 염색된 기관의 수; 및 (3) 동족 표면 항원의 발현의 보존의 정후로서 임상적 에스. 아우레우스 균주의 패널에 대한 mAb 결합 능력. 시험 항체의 형광 강도는 비-관련 항원 예를 들어, IgG1 mAb 항-herpes 바이러스 gD: 5237 (하기에 표준화된)에 대해 지시된 이소형 대조군 항체에 상대적인 것으로서 결정되었다. WTA-베타에 대한 mAb는 최고 항원 풍부성을 보여줄 뿐만 아니라 모든 감염된 시험된 조직으로부터 기원하고 상기 특정된 MRSA에 대해 매우 일정한 결합을 보여주었다.

[0550] 추가로, mAb가 하기의 에스. 아우레우스 균주에 결합하는 능력이 평가되었고 이들은 TSB 중에서 시험관내 배양 하였다: USA300 (MRSA), USA400 (MRSA), COL (MRSA), MRSA252 (MRSA), Wood46 (MSSA), Rosenbach (MSSA), Newman (MSSA), 및 Mu50 (VISA). 항-WTA 알파 mAb가 아니라 항-WTA 베타 mAb는 이들 모든 균주와 반응성인 것으로 밝혀졌다. 상이한 균주에 결합하는 분석은 WTA 베타가 WTA 알파 보다 더 보존적이고 따라 AAC를 위해 보다 적합함을 지적하였다.

[0551] 실시예 4 Abs의 WTA 특이성을 확인하는 벽 테이코산에 대해 특이성을 갖는 항체의 특성 분석

[0552] 에스. 아우레우스 야생형 (WT) 균주, 및 WTA가 없는 에스. 아우레우스 돌연변이체 균주 (δ Tag0; WTA-무효 균주)로부터의 세포 벽 제제(CWP)는 40 mg의 펠렛화된 에스. 아우레우스 균주를, 30% 라피노스, 100 μ g/mL의 리소스스타핀 (Cell Sciences, Canton, MA), 및 EDTA-부재 프로테아제 억제제 칙테일이 보충된 1 mL의 10 mM Tris-HCl (pH 7.4) (Roche, Pleasanton, CA)와 37 °C에서 30분 동안 항온처리함에 의해 생성하였다. 용해물은 5분 동안 11,600 x g에서 원심분리하고, 세포 벽 성분을 함유하는 상등액을 수거하였다. 면역블롯 분석을 위해, 단백질은 4-12% 트리스-글라이신 겔 상에서 분리하고, 니트로셀룰로스 막 (Invitrogen, Carlsbad, CA)으로 전달함에 이어서, WTA에 대한 시험 항체 또는 PGN 및 LTA에 대한 대조군 항체로 블로팅하였다.

[0553] 면역블로팅은 WTA에 대한 항체가 WTA가 없는 δ Tag0 균주로부터의 세포 벽 제제에 대해서는 아니지만 WT 에스. 아우레우스 기원의 WT 세포 벽 제제에는 결합함을 보여준다. 웨티도 글리캔 (항-PGN) 및 리포테이코산 (항-LTA)에 대한 대조군 항체는 세포벽 제제 둘다에 양호하게 결합한다. 이를 데이터는 WTA에 대한 시험 항체의 특이성을 지적한다.

[0554] i)MRSA 표면으로의 mAb 결합 정도를 결정하기 위한 유동 세포측정기

[0555] 감염된 조직 기원의 전체 세균 상의 표면 항원 발현은 하기의 프로토콜을 사용한 유동 세포측정기에 의해 분석하였다. 감염된 마우스 조직 기원의 세균의 항체 염색을 위해, 6 내지 8주령의 암컷 C57B1/6 마우스 (Charles River, Wilmington, MA)는 PBS 중 10^8 CFU 의 로그 상-성장된 USA 300으로 정맥내 주사하였다. 마우스 기관은 감염 2일 후 수거하였다. 토끼 감염성 심내막염 (IE)은 이전의 문헌에 기재된 바와 같이 확립하였다: Tattevin P. 등 Antimicrobial agents and chemotherapy 54: 610-613 (2010). 토끼는 5×10^7 CFU의 정지상 성장한 MRSA 균주 COL로 정맥내 주사하고, 심장 성장부를 18시간 후에 수거하였다. 30 mg/kg의 반코마이신을 사용한 처리는 정맥내 b.i.d로 수행하였다. 7×10^7 CFU 정지상을 갖는 감염 후 18시간

[0556] 마우스 또는 토끼 세포를 용해시키기 위해, 조직은 약한 MACS 세포 분해자 (Miltenyi)를 사용한 M 튜브 (Miltenyi, Auburn, CA)에서 균질화시킴에 이어서, 0.1% Triton-X100 (Thermo), 10 μ g/mL의 DNaseI (Roche) 및 완전한 소형 프로테아제 억제제 칙테일 (Roche)을 함유하는 PBS 중 RT에서 10분 동안 항온처리하였다. 혼탁액은 40마이크론 필터(BD)에 통과시키고 0.1% IgG 유리된 BSA (Sigma) 및 10 mM Hepes, pH 7.4 (HB 완충액)이 보충된 페놀 레드 없이 HBSS로 세척하였다. 이어서 세균 혼탁액은 비특이적 IgG 결합을 차단하기 위해 실온(RT)에서 1시간 동안 HB 완충액중에서 300 μ g/mL의 토끼 IgG (Sigma)로 항온처리하였다. 세균은 하기를 포함하는 2 μ g/mL의 1차 항체로 염색시켰다: rF1 또는 이소형 대조군 IgG1 mAb 항-herpes 바이러스 gD: 5237 (Nakamura GR 등, J Virol 67: 6179-6191 (1993)), 및 이어서 형광성 항-인간 IgG 2차 항체 (Jackson Immunoresearch, West Grove, PA). 마우스 또는 토끼 기관 파편으로부터 세균의 분화를 가능하게 하기 위해, 20 μ g/mL의 마우스 mAb 702 항-에스. 아우레우스 웨티도글리칸 (Abcam, Cambridge, MA) 및 형광단 표지된 항-마우스 IgG 2차 항체 (Jackson Immunoresearch)를 사용하여 이중 염색을 수행하였다. 세균은 세척하고 FACSCalibur (BD)로 분석하였다. 유동 세포측정 분석 동안에, 세균은 이중 형광 플로트로부터 mAb 702로 양성 염색시키기 위해

계이팅하였다.

[0557] *ii) 에스. 아우레우스에 대한 결합 친화성 및 MRSA 상의 항원 밀도의 측정*

[0558] 표 6은 뉴만(Newman)-Δ SPA 균주에 결합하는 MRSA 항체의 평형 결합 분석 및 세균 상의 항원 밀도를 보여준다.

[0559] 표 6

MRSA 항체	특이성	aveK _D ,nM (n=2)	항원 밀도, ave부위/세균
4497	b-WTA	2.5	50,000
4462	b-WTA	3.1	43,000
6263	b-WTA	1.4	22,000
6297	b-WTA	1.1	21,000
7578	a-WTA	0.4	16,000
rF1	SDR-글리코	0.3	1600

[0560]

[0561] K_D 및 항원 밀도는 하기의 조건하에 방사선리간드 세포 결합 측정을 사용하여 유래하였다: DMEM + 2.5% 마우스 혈청 결합 완충액; 실온(RT)에서 2시간 동안 용액 결합; 및 400,000 세균/웰을 사용함.

[0562]

Ab 6263은 서열이 매우 유사하다는 점에서 6078형이다. CDR H3 중에서 제2 잔기 (R 대 G)를 제외하고, 모든 다른 L 및 H쇄 CDR 서열은 동일하다.

[0563]

실시예 5 항-WTA 항체의 아미노산 변형

[0564]

요약하면, IgG1으로서 Ab를 발현하기 위해 항-WTA 베타 Ab 각각의 VH 영역은 클로닝하고 H쇄 감마1 불변 영역에 연결되고 VL은 카파불변 영역에 연결된다. 야생형 서열은 특정 위치에서 변경하여 하기된 바와 같은 항원 결합을 유지하면서 항체 안정성을 개선시킨다. 이어서 시스테인 가공된 Ab (ThioMabs, 또한 THIOMABTM로서 언급된)를 생성하였다.

[0565]

i. 가변 영역의 불변 영역으로의 연결

[0566]

상기 인간 항체 라이브러리로부터 동정된 WTA 베타 Ab의 VH 영역은 인간 γ1 불변 영역에 연결하여 전장 IgG1 Ab를 제조하였다. L쇄는 카파 L 쇄이다.

[0567]

ii. 안정성 변이체의 생성

[0568]

도 12에서 WTA Ab (특히, 도 13a, 13b, 14a, 14b 참조)는 특정 성질을 개선시키기 위해 (탈이미드화, 아스파르트산 이성체화, 산화 또는 N-연결된 당화를 회피하기 위해) 가공하고 아미노산 대체 후 화학적 안정성 뿐만 아니라 항원의 보유에 대해 시험하였다. 중쇄 또는 경쇄를 암호화하는 클론의 단일 가닥의 DNA는 QIAprep 스픈(Spin) M13 키트 (Qiagen)를 사용하여 *ii. 콜라이* CJ236 세포에서 성장한 M13K07 과아지 입자로부터 정제하였다. 하기의 서열을 갖는 5' 인산화된 합성 올리고뉴클레오타이드:

[0569]

5'- CCCAGACTGCACCAGCTGGATCTCTGAATGTACTCCAGTTGC- 3' (서열번호 152)

[0570]

5'- CCAGACTGCACCAGCTGCACCTCTGAATGTACTCCAGTTGC- 3' (서열번호 153)

[0571]

5'CCAGGGTTCCCTGGCCCCAWTMGTCAAGTCCASCWKCACCTCTTGACAGTAATAGACAGC- 3' (서열번호 154); 및

[0572]

5'- CCTGGCCCCAGTCGTCAAGTCCTCCTCACCTCTTGACAGTAATAGACAGC- 3' (서열번호 155) (IUPAC 코드)

[0573]

를 사용하여 하기 문헌에 기재된 바와 같은 방법에 따른 부위-특이적 돌연변이 유발에 기재된 바와 같이 올리고뉴클레오타이드-지시된 부위 돌연변이 유발에 의해 항체를 암호화하는 클론을 돌연변이시켰다: Kunkel, T.A. (1985). 표현형 선택 없이 신속하고 효율적인 부위-특이적 돌연변이 유발. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 82(2): 488-492. 돌연변이 유발된 DNA를 사용하여 *ii. 콜라이* XL1-블루 세포 (Agilent

Technologies)를 형질전환시키고 50 $\mu\text{g/ml}$ 카베니실린을 함유하는 루리아 플레이트 상에 분주하였다. 콜로니는 개별적으로 꽉킹하고 50 $\mu\text{g/ml}$ 카베니실린을 함유하는 액체 루리아 브로쓰 배지에서 성장시켰다. 미니프렙 DNA는 서열분석하여 돌연변이의 존재를 확인하였다.

[0574] Ab 6078에 대해, VH에서 2번째 아미노산인 met (met-2)는 산화되는 경향이 있다. 따라서, met-2는 Ile 또는 Val로 돌연변이시켜 잔기의 산화를 회피하였다. Met-2의 변경은 결합 친화성에 영향을 미칠 수 있기 때문에, 돌연변이는 ELISA에 의해 *Staph CWP*에 결합하는 것에 대해 시험하였다.

[0575] CDR H3 "DG" 또는 "DD" 모티프는 이소-아스파르트산으로 형질전환되는 경향이 있는 것으로 밝혀졌다. Ab 4497은 CDR H3 위치 96 및 97에서 DG를 함유하고(도 16 참조) 안정성을 위해 변경하였다. CDR H3은 일반적으로 항원 결합에 중요하기 때문에 여러 돌연변이는 항원 결합 및 화학적 안정성에 대해 시험하였다. 돌연변이체 D96E (v8)은 야생형 Ab 4497와 유사한 항원으로의 결합을 보유하고 (도 16), 안정하며 이소-아스파르트산을 형성하지 않는다.

[0576] *Staph CWP ELISA*

[0577] 6078 항체 돌연변이체의 분석을 위해, 1×10^9 베그/ml로 이루어진 리소스타핀-처리된 USA300 Δ SPA 에스. 아우레우스 세포 벽 제제(WT)를 0.05 탄산나트륨 pH 9.6 중에서 1/100으로 희석하고 4 °C에서 밤새 항온처리 동안에 384-웰 ELISA 플레이트(Nunc; Neptune, NJ) 상으로 피복하였다. 플레이트는 PBS + 0.05% Tween-20으로 세척하고 PBS + 0.5% 소 혈청 알부민 (BSA)과의 2시간 항온처리 동안에 차단하였다. 상기 및 모든 후속적 항온처리는 약한 진탕과 함께 실온에서 수행하였다. 항체 샘플은 샘플/표준 희석 완충액 (PBS, 0.5% BSA, 0.05% Tween 20, 0.25% CHAPS, 5 mM EDTA, 0.35M NaCl, 15 ppm 프로플린, (pH 7.4)) 중에서 희석하고, 세척된 플레이트에 첨가하고 1.5 내지 2시간 동안 항온처리하였다. 플레이트-결합된 항-에스. 아우레우스 항체는 검정 완충액 (PBS, 0.5% BSA, 15 ppm 프로클린, 0.05% Tween 20) 중에서 40ng/ml로 희석된 퍼옥시다제-접합된 염소 항-인간 IgG(Fc) F(ab')2 단편(Jackson ImmunoResearch; West Grove, PA)과의 1시간 항온처리 동안에 검출하였다. 최종 세척 후, 테트라메틸 벤지딘 (KPL, Gaithersburg, MD)을 첨가하고 5 내지 10분 동안 발색시키고 반응은 1M 인산으로 종료시켰다. 플레이트는 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 620nm 표준물과 함께 450nm에서 판독하였다.

[0578] *iii. Cys 가공된 돌연변이체의 생성 (ThioMabs)*

[0579] 전장 ThioMab는 이전에 교시되고 하기에 기재된 바와 같이 미리 결정된 위치에서 시스테인을 H 쇄(CH1 중에) 또는 L 쇄 (C_κ)로 도입하여 항체를 링커-항생제 중간체에 접합시켜 제조하였다(시스테인 아미노산은 항체의 중쇄 (HC) 또는 경쇄(LC) 내 반응성 부위 및 쇄간 또는 분자간 디설파이드 연결체를 형성하지 않는 반응성 부위에서 가공될 수 있다) (문현참조: Junutula, 등, 2008b *Nature Biotech.*, 26(8): 925-932; Dornan 등 (2009) *Blood* 114(13): 2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO 2011/156328; WO2009/052249, Shen 등 (2012) *Nature Biotech.*, 30(2): 184-191; Junutula 등 (2008) *Jour of Immun.Methods* 332: 41-52). 이어서 H 및 L 쇄는 이들이 발현되고 온전한 Ab로 어셈블리되는 293 세포로 동시에 형질감염된 별도의 플라스미드 및 H 및 L 암호화 플라스미드로 클로닝하였다. H 및 L 쇄 둘다는 또한 동일한 발현 플라스미드로 클로닝될 수 있다. H 쇄 각각에서 1개인 2개의 가공된 Cys; 또는 L 쇄의 각각에서 1개인 2개의 가공된 Cys; 또는 항체 4량체 당 4개의 가공된 Cys를 유도하는 H 및 L 쇄 각각에서 가공된 Cys의 조합 (HCLCCys)을 갖는 IgG1은 cys 돌연변이 쇄 및 야생형 쇄의 목적하는 조합을 발현시킴에 의해 생성하였다.

[0580] 도 13a 및 13b는 6078 WT, 및 HC Cys 및 LC Cys의 조합을 갖는 돌연변이체 Ab를 보여준다. 6078 돌연변이체는 또한 밤새 배양으로부터 단백질 A 결핍 USA300 *Staph A*에 결합하는 이들의 능력에 대해 시험하였다. FACS 분석의 결과로부터 (데이터는 나타내지 않음), 돌연변이체 Ab는 6078 WT (비변형된) 항체와 유사하게 USA300에 결합하였고; 상기 돌연변이체 내 아미노산 변경은 *Staph A*로의 결합을 손상시키지 않았다. gD는 비-특이적 음성 대조군 항체로서 사용하였다.

[0581] 실시예 6: 항생제의 선택

[0582] 리파마이신형 항생제는 높은 효능, 낮은 파고리소좀성 pH에서 비변형된 살균 활성, 세포내 약조건을 견디는 능력 및 이들이 항-WTA 항체로의 접합을 위해 적합한 프로테아제-절단가능한 비-펩타이드(PML) 링커 시약으로 커플링될 수 있는 용이함에 대해 선택하였다. 식세포내 세균은 기껏해야 느리게 복제하기 때문에, 항생제의 최적화는 또한 이것이 AAC로부터 방출되는 경우 비-복제 MRSA를 사멸시킬 수 있도록 하기 위해 요구된다.

[0583] MRSA는 정지상 배양으로부터 수거하고 항생제를 함유하지 않거나 1×10^{-6} M의 리팜핀 또는 리파마이신-유도체

(Rifalog)를 함유하는 포스페이트 완충 식염수에 혼탁시키고 37 °C에서 항온처리하였다. 지정된 시간에, 배양 샘플을 수거하고 원심분리하여 항생제를 제거하고 생존 세균의 총수는 분주함에 의해 결정하였다.

[0584] 흥미롭게도, 라팜피신이 아니라 리팜마이신형 (리팔로그) 항생제의 첨가는 최소 포스페이트-식염 완충액 (PBS) 중에서 밤새 항온처리한 후 생존하지만 비-복제 세균의 수를 1,000 배 초과로 감소시켰다 (도8 참조). 유사하게, 리파마이신형 항생제는 성장하는 배양물의 항생제 처리(예를 들어, 시프로플록사신)에서 생존하기 위해 추축컨대 잠복 상태로 진입하는 세균인 전형적으로 한정된 퍼시스터 세포를 사멸시키는 능력에 대한 것이다 (데이터는 나타내지 않음). 리팜피신의 첨가는 이전의 관찰과 일치하여 이들의 생존능에 어떠한 효과를 갖지 않았다(문헌참조: Conlon, B. P., 등 (2013) *Nature* 503, 365-370). 대조적으로, 리파마이신형 항생제 (리팔로그)의 첨가는 검출 한계치 미만으로 퍼시스터 세포의 박멸을 유도하였다. 이들 결과는 리파마이신형 항생제가 잠복기의 비-분열 세포를 사멸시키는 현저한 능력을 가짐을 시사한다.

실시예 7: 항-WTA 항체-항생제 접합체의 제조

[0586] 항-벽 테이코산 항체-항생제 접합체 (AAC) 표 3은 표 2의 것들을 포함하는 PML 링커-항생제 중간체에 항-WTA 항체를 접합시킴에 의해 제조하였다. 접합 전에, 항-WTA 항체는 하기 문헌에 기재된 방법에 따른 표준 방법을 사용하여 TCEP로 부분적으로 환원시켰다:

[0587] WO 2004/010957, 이의 교시는 상기 목적을 위해 참조로 인용됨. 부분적으로 환원된 항체는 예를 들어 하기 문헌에 기재된 방법에 따른 방법을 사용하여 링커-항생제 중간체에 접합시켰다: Doronina 등 (2003) *Nat. Biotechnol.* 21: 778-784 및 US 2005/0238649 A1. 간략하게, 부분적으로 환원된 항체는 링커-항생제 중간체와 조합하여 링커-항생제 중간체가 항체의 환원된 시스테인 잔기로 접합되도록 하였다. 접합 반응은 켄칭시키고 AAC를 정제하였다. 각각의 AAC에 대한 항생제 로드 (항체당 항생제 모이어티의 평균수)를 결정하고 단일 시스테인 돌연변이체 부위로 가공된 항-벽 테이코산 항체에 대해 약 1 내지 2이다.

[0588] 접합을 위한 *ThioMab*의 환원/산화: 전장의 시스테인 가공된 모노클로날 항체 (*ThioMabs* - Junutula, 등, 2008b *Nature Biotech.*, 26(8): 925-932; Dornan 등 (2009) *Blood* 114(13): 2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249, Shen 등 (2012) *Nature Biotech.*, 30(2): 184-191; Junutula 등 (2008) *Jour of Immun. Methods* 332: 41-52)는 CHO 세포에서 발현되고 37 °C에서 3시간 동안 또는 실온에서 밤새 동안 50 mM Tris pH 7.5, 2 mM EDTA 중에서 약 20 내지 40배 과량의 TCEP (트리스(2-카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드 또는 DTT (디티오토레이톨)으로 환원시켰다. (문헌참조: Getz 등 (1999) *Anal. BioChem.* Vol 273: 73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA). 환원된 *ThioMab*을 희석시키고 10 mM 나트륨 아세테이트, pH 5에서 HiTrap S 칼럼상으로 로딩하고, 0.3M 염화나트륨을 함유하는 PBS로 용출시켰다. 대안적으로, 항체는 10% 아세트산의 20 분의 용적을 첨가하여 산성화시키고, 10 mM 숙시네이트 pH 5로 희석하고, 칼럼 상으로 로딩하고 이어서 숙시네이트 완충액의 10 칼럼 용적으로 세척하였다. 칼럼을, 50 mM Tris pH7.5, 2 mM EDTA를 사용하여 용출시켰다.

[0589] 용출된 환원된 *ThioMab*은 15배 몰 과량의 DHAA (데하이드로아스코르브산) 또는 200 nM 수성 황산구리 ($CuSO_4$)로 처리하였다. 쇄간 디설파이드 결합의 산화는 약 3시간 이상 후 완료하였다. 주위 공기 산화는 또한 효과적이었다. 재산화된 항체는 20 mM 나트륨 숙시네이트 pH 5, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA로 투석하고 -20 °C에서 동결 저장하였다.

[0590] 링커-항생제 중간체와 티오-Mab의 접합: 탈차단되고, 재산화된 티오-항체 (*ThioMab*)를 반응이 반응 혼합물의 LC-MS 분석에 의한 측정시 완료 (16-24시간)될때까지 50mM Tris, pH 8에서 표 2의 6 내지 8배 몰 과량의 링커-항생제 중간체 (20mM의 농도에서 DMSO 스톡으로부터)와 반응시켰다.

[0591] 조 항체-항생제 접합체(AAC)는 이어서 20mM 나트륨 숙시네이트, pH 5로 희석한 후 양이온 교환칼럼에 적용하였다. 상기 칼럼을 적어도 10칼럼 용적의 20mM 나트륨 숙시네이트, pH 5로 세척하고 항체는 PBS로 용출시켰다. AAC는 젤 여과 칼럼을 사용하여 240mM 슈크로스와 함께 20 mM His/아세테이트, pH 5로 제형화하였다. AAC는 라이신 C 엔도펩티다제를 사용한 처리 전후 단백질 농도를 결정하기 위해 UV 분광측정기로 특성 분석하고, 응집 분석을 위한 분석적 SEC (크기-배척 크로마토그래피)로 특성 분석하고 LC-MS에 의해 특성 분석하였다.

[0592] 크기 배척 크로마토그래피는 0.75 mL/분의 유속으로 0.25mM 염화칼륨 및 15% IPA와 함께 0.2M 인산칼륨 pH 6.2 중에서 Shodex KW802.5 칼럼을 사용하여 수행하였다. AAC의 응집 상태는 280nm에서 흡광도의 용출된 피크 면적의 적분에 의해 결정하였다.

[0593] LC-MS 분석은 아질런트 QTOF 6520 ESI 기구를 사용하여 수행하였다. 일례로서, 상기 화학 방법을 사용하여 생성

된 AAC는 37 °C에서 30분 동안 Tris, pH 7.5 중에서 1: 500 w/w 엔도프로테이나제 Lys C (Promega)로 처리하였다. 수득한 절단 단편은 80 °C로 가열된 1000A, 8 μm PLRP-S 칼럼상으로 로딩하고 5분 후 30% B 내지 40% B의 농도구배로 용출시켰다. 이동상 A: 0.05% TFA와 함께 H₂O. 이동상 B: 0.04% TFA를 사용한 아세토니트릴. 유속: 0.5ml/분. 단백질 용출은 전기분무 이온화 및 MS 분석 전에 280nm에서 UV 흡광도 검출에 의해 모니터링하였다. 비접합된 Fc 단편, 잔류 비접합된 Fab 및 항생제-Fab의 크로마토그래피 분리능이 일반적으로 성취되었다. 상기 수득된 m/z 스펙트럼은 Mass Hunter™ 소프트웨어 (Agilent Technologies)를 사용하여 디컨볼루션하여 질량 단편의 질량을 계산하였다.

[0594] 실시예8: 항생제의 절단 및 방출

리파마이신형 항생제는 AAC 포맷으로 항-β WTA mAb에 연결되는 경우 세포외 세균을 직접 사멸시키는 능력에 대해 시험하였다. AAC는 단독의 완충액 중에서 항온처리하거나 카텝신 B로 처리하였다. 수득한 반응의 연속 희석물을 트립틱 대두 브로쓰 중에서 MRSA를 함유하는 웰에 첨가하고 밤새 배양하여 성장을 차단하기 위해 충분한 활성 항생제를 함유하는 웰을 동정하였다.

[0596] 예측된 바와 같이, 성장하는 플랑크톤성 세균은 AAC가 카텝신 B로 전처리되어 활성 항생제를 방출하지 않는다면 온전한 항-MRSA AAC와의 밤새 항온처리에 의해 손상되지 않았다(도 9). 카텝신 B를 사용한 AAC의 전처리는 .006 ug/mL의 항생제를 함유하는 것으로 예측되는, .6 ug/mL의 AAC에서 세균 성장을 차단하기에 충분한 항생제 활성을 나타내었다.

[0597] 항생제가 AAC-옵소닌화된 세균의 세포로의 내재화 후에만 AAC로부터 방출되는지를 시험하기 위해, 상기 링커의 절단은 AAC에서와 동일한 링커를 사용하여, 2개의 염료 분자에 접합된 동일한 항-MRSA 항체로 이루어진 형광 공명 에너지 전달(FRET) 기반 프로브로 조사될 수 있다. MRSA는 FRET 접합체로 옵소닌화하고 대식세포 배양물에 첨가하였다. 세균의 취득 및 프로브의 절단은 비디오 현미경으로 모니터링한다. 상기 링커는 AAC 상의 리파마이신형 항생제의 방출과 유사하게, A488 프로브의 방출에 의해 가시된 바와 같이, 대식세포에 의한 세균의 취득 후 수분 이해에 절단된다. 한편, 세균이 식세포작용의 억제제인 라트룬콜린 A를 사용한 대식세포의 처리로 인해 내재화되지 않는 경우 링커는 온전한 상태로 남아있다. 질량 분광측정 분석은 또한 유리된 항생제가 실제 AAC로 피복된 MRSA의 취득 후 대식세포 내부에서 실제로 방출되는지를 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0598] 실시예 9 항-WTAβ PML AAC 시험관내효능

[0599] 항-WTAβ-CBDK AAC는 1차 인간 및 마우스 대식세포 및 여러 인간 세포주에 의해 시험관내 내재화되는 경우 에스. 아우레우스를 효과적으로 사멸시킨다.

[0600] 시험관내 대식세포 검정.

[0601] 에스. 아우레우스 (USA300 NRS384 균주)는 다양한 용량 (100 u/mL, 10 ug/mL, 1 ug/mL 또는 0.1 ug/mL)의 항-WTAβ 항체 4497, 항체 (DAR2) 당 2개 항생제 분자가 로딩된 Ab4497-CBDK-디메틸pipB0R AAC 또는 항체 당 4개의 항생제 분자(DAR4)가 로딩된 항-WTA-CBDK-디메틸pipB0R AAC와 1시간 동안 항온처리하여 항체가 세균에 결합하도록 한다. 수득한 옵소닌화된 세균은 쥐 대식세포로 공급하고 37 °C에서 항온처리하여 식세포작용하도록 한다. 2시간 후, 감염 혼합물을 제거하고 50 ug/mL의 젠타마이신이 보충된 정상 성장 배지로 대체하여 임의의 잔류하는 세포외 세균을 사멸시켰다. 생존 세포내 세균의 총수는 대식세포 용해물의 연속 희석물을 트립틱 대두 플레이트 상에 분주함에 의해 2일 후 결정하였다.

[0602] 실시예 10 항-WTAβ-PML AAC의 생체내 효능

[0603] 마우스에서 에스. 아우레우스 감염의 치료는 여러 정도로 기관에서 세균로드를 감소시킨다.

[0604] 세포내 에스. 아우레우스에 구체적으로 지시된 치료제가 감염 동안에 효능을 갖는지를 결정하기 위해, WTA-PML AAC는 마우스 정맥내 감염 모델에서 시험하였다. 본 실시예는 WTA-PML AAC가 쥐 정맥내 감염모델에서 세포내 에스. 아우레우스 감염을 크게 감소시키거나 박멸시키는데 효과적이었음을 입증한다.

[0605] 복막염 모델. 7주령 암컷 A/J 마우스(Jackson Laboratories)는 5x10⁷ CFU의 USA300으로 복강내 주사하여 감염시킨다. 마우스는 감염 2일 후에 희생시키고 복막은 5 mL의 냉각 포스페이트 완충 식염 용액 (PBS)으로 세정하였다. 신장은 정맥내 감염 모델을 위해 하기된 바와 같은 5mL의 PBS 중에서 균질화시켰다. 복막 세척물은 테이블 탑 원심분리기에서 4 °C에서 1,000rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 상등액은 세포외 세균으로서 수거하고 복막 세포를 함유하는 세포 펠렛을 세포내 분획으로서 수거한다. 세포는 37°C에서 20분 동안 50 μg/mL의 리소스

타핀으로 처리하여 오염 세포외 세균을 사멸시켰다. 복막 세포는 빙냉 PBS에서 3회 세척하여 분석 전 리소스타핀을 제거하였다. 세포내 CFU의 수를 계수하기 위해, 복막 세포는 HB (10 mM HEPES 및 .1% 소 혈청 알부민이 보충된 헤크 균염 용액) 중에서 0.1% Triton-X로 용해시키고, 용해물의 일련의 희석물은 0.05% Tween-20와 함께 PBS 중에서 제조하였다.

[0606] **쥐 정맥내 감염 모델**

[0607] 임상적으로 관련되게 하기 위해, AAC는 이미 확립된 세포내 감염을 제거할 수 있을 필요가 있다. 이를 평가하기 위해, 치료는 반코마이신 처리가 최소로 효과적인 시점인 균혈증 개시 후 24시간째까지 지연시켰다. 호중구에서 세포내 감염은 신속하게 확립되고; 균혈증의 적어도 하나의 모델에서, 혈중 세균의 95%는 15분⁷ 내에 호중구 내부에 있고, 이는 추측컨대 반코마이신의 감소된 효능을 설명한다. 이들 조건 하에, 단일 용량의 AAC를 사용한 치료는 효과적이고 균등한 용량의 유리된 리파마이신형 항생제 보다 우수한 것으로 입증되었다.

[0608] 에스. 아우레우스는 인간 피부 및 점막 표면의 통상의 군집화 대상이다. 약 10,000 인간으로부터의 모든 면역글로불린 제제인 IGIV-감마가드를 포함하는 인간 혈청의 다중 공급원의 예비 분석은 인간 혈청이 대략 300 ug/mL의 항-에스. 아우레우스 항체를 함유하고, 상기 항체의 약 70%는 WTA의 GlcNAc 변형 쪽으로 지시됨을 입증하였다. 마우스 혈청은 어떠한 감지할만한 수준의 항-에스 아우레우스 항체를 갖지 않는다. 정상 인간 혈청에서 발견된 내인성 항-WTA 항체가 AAC와 결합하는 것에 대해 경쟁할 수 있는지를 결정하기 위해, CB17.SCID 마우스 (Charles River Laboratories, Hollister, CA)는 혈청 중 적어도 10 mg/mL의 인간 IgG의 일정 혈청 수준을 성취하기 위해 최적화된 투여 용법을 사용하여 감마가드 S/D IGIV 면역 글로불린 (ASD Healthcare, Brooks KY)으로 재구성하였다. IGIV는 마우스 당 30mg의 초기 정맥내 용량으로 투여함에 이어서 6시간 후 복강내 (i.P.) 주사에 의한 15mg/마우스의 제2 용량에 이어서 후속적으로 3일 연속 동안 복강내 주사에 의해 마우스 당 15mg의 매일 용량으로 투여하였다. 이들 마우스는 비처리된 대조군과 비교하여 MRSA와의 감염에 균등하게 민감하였다.

[0609] 마우스(항체 또는 AAC 각각에 대해 n=8)는 정맥내 주사에 의해 포스페이트 완충 식염수에 희석된 1x10⁷ CFU의 MRSA (USA300 NRS384 균주)와 함께 IGIV의 제1 용량 투여 4시간 후 감염시켰다. 감염된 마우스는 표 3으로부터의 50 mg/kg of S4497 누출된 항체 또는 S4497 AAC로 처리하였다. 정맥내 주사에 의해 감염 24시간 후 단일 용량의 AAC를 마우스에 투여하고 감염 후 4일째에 희생시키고, 신장 및 심장은 5ml의 포스페이트 완충 식염수에서 수거하였다. 조직 샘플은 GentleMACS Dissociator™ (Miltenyi Biotec, Auburn, CA)을 사용하여 균질화시켰다. 기관 당 회수된 세균의 총수는 5% 탈섬유화된 양 혈액과 함께 PBS.05% Tween 중 조직 균질물의 연속 희석물을 트립틱 대두 한천상에 분주함에 의해 결정하였다.

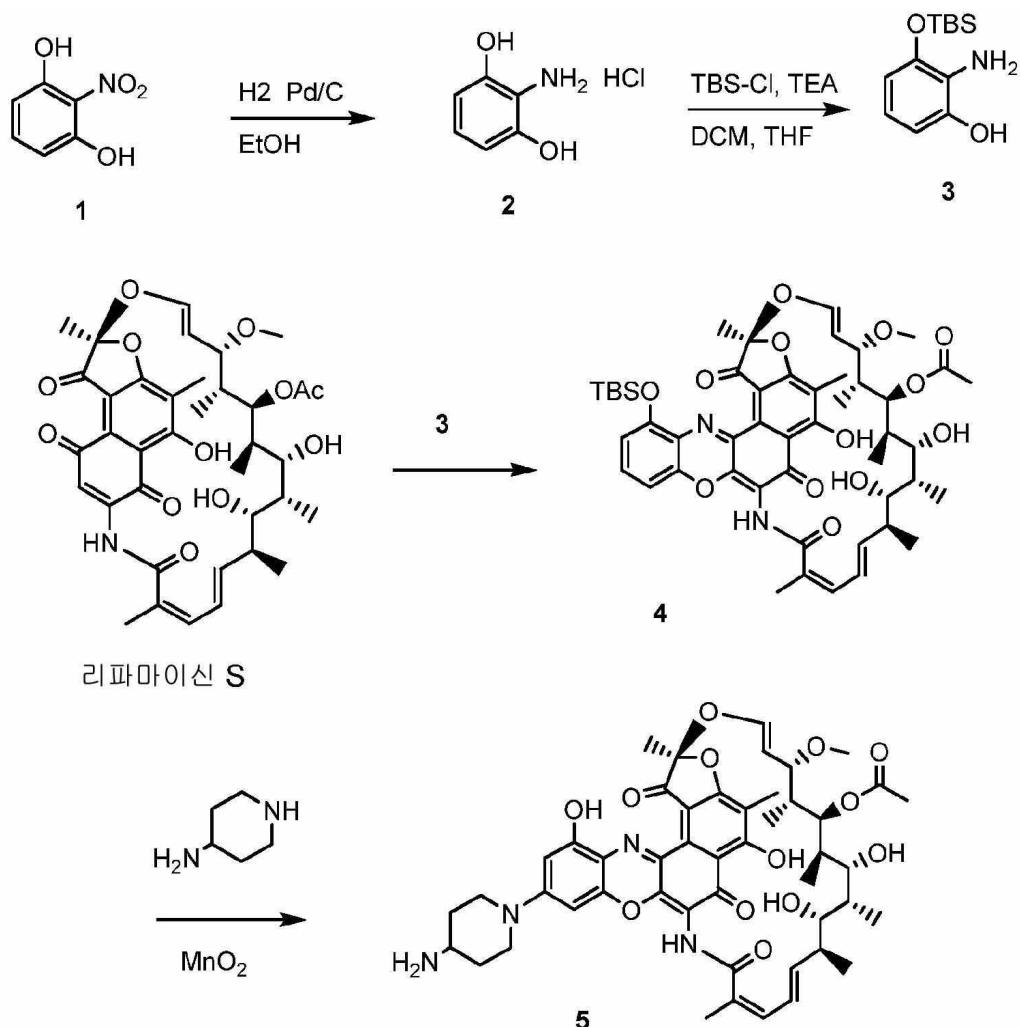
[0610] 도 10에서의 결과가 나타낸 바와 같이, 잠재적으로 경쟁하는 항체의 존재에도 불구하고, 단일 용량의 항-β-GlcNAc WTA AAC (S4497-AAC)는 누출된 항체와 비교하여 감염된 기관에서 세균 수를 크게 감소시키거나 박멸시켰다. 도 10b는 AAC (DAR2)를 사용한 처리가 신장에서의 세균 로드를 대략 7,000-배까지 감소시킴을 보여준다. 도 10c는 표 3으로부터의 AAC (DAR2)를 사용한 처리가 심장에서 세균 과증을 대략 500배까지 감소시킴을 보여준다. 생체내 감염 모델에서 누출된 항생제인 단독의 디메틸pipB0R을 사용한 처리(AAC 중 디메틸pipB0R과 균등한 몰 농도에서)는 AAC로서 항-WTA 항체에 접합된 디메틸pipB0R과 비교하여 효과적이지 않았다.

[0611] 비접합된 (유리된) 항-WTA 항체는 생체내에서 효과적이지 않다

[0612] 도 17은 50 mg/kg의 유리된 항체를 사용한 전처리가 정맥내 감염 모델에서 효과적이지 않음을 보여준다. Balb/c 마우스에 2x10⁷ CFU의 USA300으로의 감염 30분 전 정맥내 주사에 의해 단일 용량의 비히를 대조군(PBS) 또는 50 mg/Kg의 항체를 투여하였다. 처리 그룹은 에스. 아우레우스 (gD)에 결합하지 않는 이소형 대조군 항체, 벽 테이코산 (4497)의 베타 변형에 대해 지시된 항체 또는 벽 테이코산 (7578)의 알파 변형에 대해 지시된 항체를 포함하였다. 대조군 마우스에는 복강내 주사 (Vanco)에 의해 110mg/kg의 반코마이신으로 매일 2회 처리를 제공하였다.

[0613]

실시예 11 피페리딜 벤족사지노 리파마이신 (pipBOR) 5



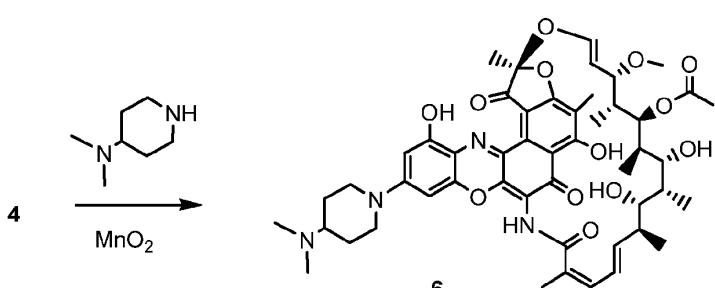
[0614]

[0615]

2-나트로벤젠-1,3-디올 1을 에탄올 용매 중 팔라듐/탄소 촉매와 함께 질소 가스하에 수소화시켜 염화수소 염으로서 단리된 2-아미노벤젠-1,3-디올 2을 수득하였다. 디클로로메탄/테트라하이드로푸린 중 3급-부틸디메틸실릴 클로라이드 및 트리에틸아민을 사용한 2의 단일 보호로 2-아미노-3-(3급-부틸디메틸실릴옥시)페놀 3을 수득하였다. 리파마이신 S (ChemShuttle Inc., Fremont, CA, US 7342011; US 7271165; US 7547692)는 실온에서 톨루엔 중에서 산화망간 또는 산소 가스와 산화 농축에 의해 3과 반응시켜 TBS-보호된 벤족사지노 리파마이신 4를 수득하였다. LCMS (ESI): $\text{M}+\text{H}^+ = 915.41$. 4와 피페리딘-4-아민 및 산화 망간의 반응으로 피페리딜 벤족사지노 리파마이신 (pipBOR) 5를 수득하였다. LCMS (ESI): $\text{M}+\text{H}^+ = 899.40$

[0616]

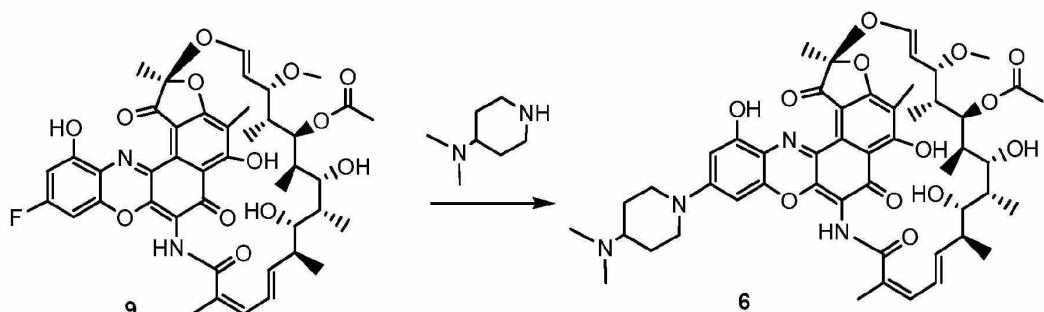
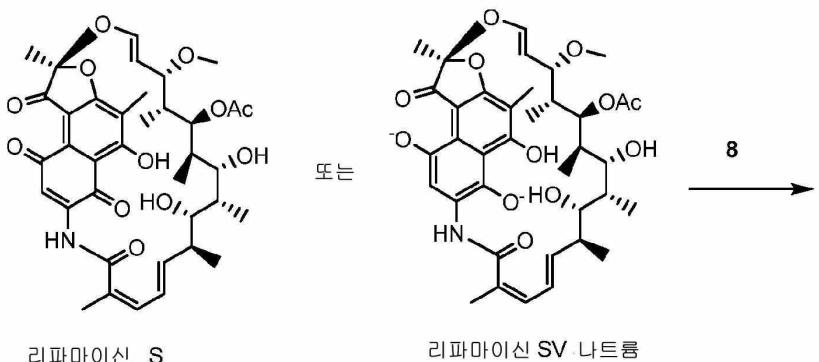
실시예 12 디메틸 pipBOR 6



[0617]

[0618]

N,N -디메틸피페리딘-4-아민과 TBS-보호된 벤족사지노 리파마이신 4의 반응으로 디메틸피페리딜 벤족사지노 리파마이신(디메틸 pipBOR) 6을 수득하였다.



[0619]

[0620]

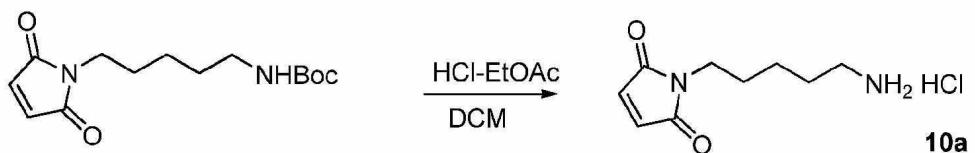
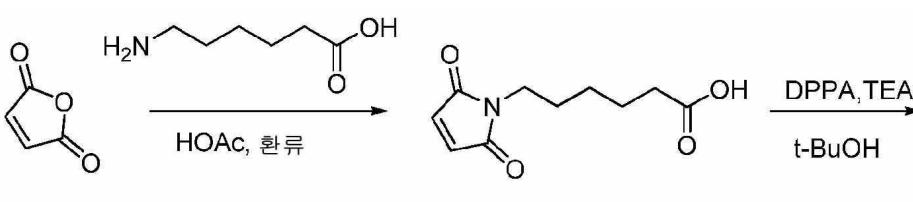
대안적으로, (5-플루오로-2-나트로-1,3-페닐렌)비스(옥시)비스(메틸렌)디벤젠 7은 테트라하이드로푸란/메탄올 용매 중 팔라듐/탄소 촉매와 함께 수소 가스하에 수소화시켜 벤질 그룹을 제거하여 2-아미노-5-플루오로벤젠-1,3-디올 8을 수득하였다. LCMS (ESI): $M+H^+$ = 144.04. 시판되는 리파マイ신 S 또는 리파マイ신 SV 나트륨 염 (ChemShuttle Inc., Fremont, CA)은 60 °C에서 에틸 아세테이트 중 공기 또는 시안화철칼륨에서 산화 농축에 의해 2-아미노-5-플루오로벤젠-1,3-디올 8과 반응시켜 플루오로 벤족사지노 리파マイ신 9을 수득하였다. 플루오로를 N,N-디메틸피페리딘-4-아민으로 대체하여 디메틸pipBor 6을 수득하였다. LCMS (ESI): $M+H^+$ = 927.43

[0621]

실시예 13 (S)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파롤-1-일)펜틸)-N-(1-(4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 10

[0622]

단계 1: 1-(5-아미노펜틸)-1H-파롤-2,5-디온 하이드로클로라이드 10a의 제조



[0623]

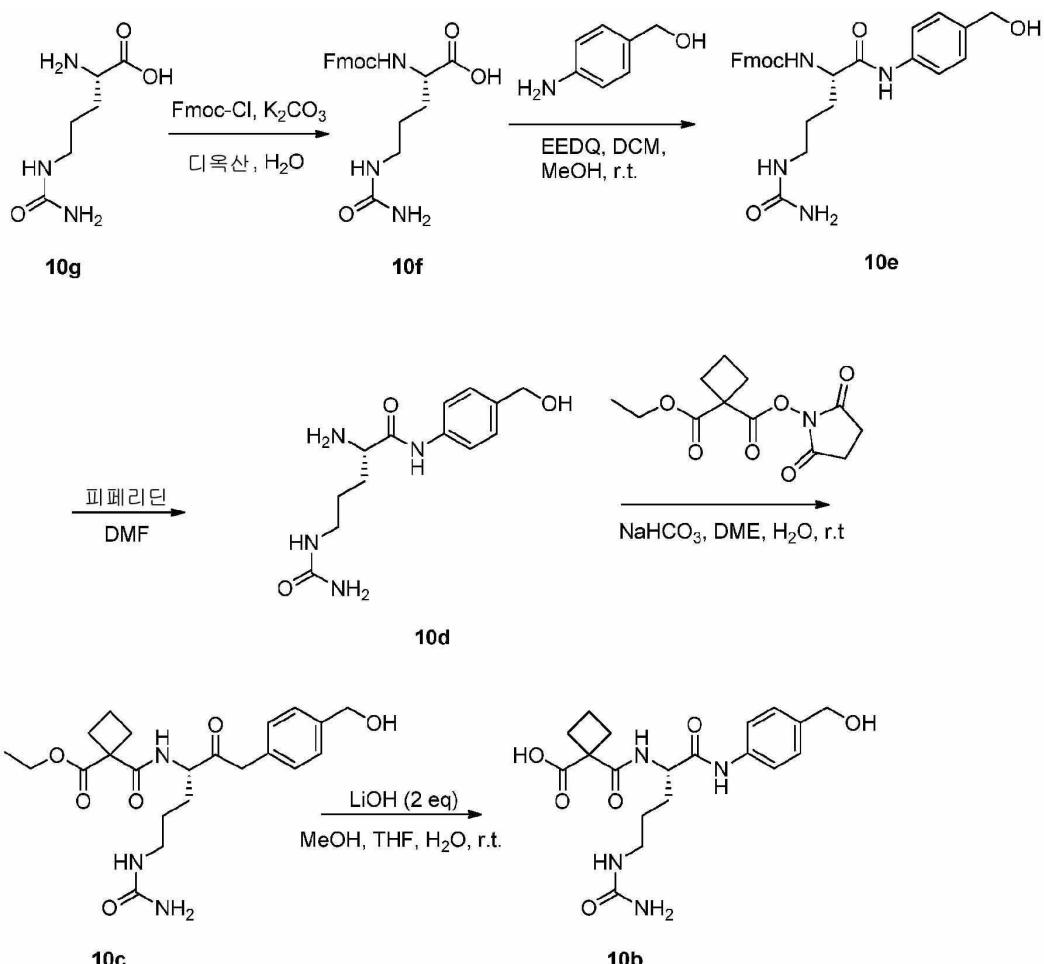
[0624]

말레산 무수물, 푸란-2,5-디온 (150 g, 1.53 mol)을 HOAc (1000 mL) 중 6-아미노헥사노산 (201 g, 1.53 mol)의 교반 용액으로 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후, 8시간 동안 환류하에 가열하였다. 유기 용매는 감압하에 제거하고 잔사를 EtOAc (500 mL × 3)로 추출하고, H₂O로 세척하였다. 배합된 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 농축시켜 조생성물을 수득하였다. 석유 에테르와 세척하여 백색 고체 (250 g, 77.4 %)로서 6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파롤-1-일)헥사노산을 수득하였다. DPPA (130 g, 473 mmol) 및 TEA (47.9 g, 473 mmol)를 t-BuOH (200 mL) 중의 6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파롤-1-일)헥사노산 (100 g, 473 mmol)의

용액에 첨가하였다. 상기 혼합물을 N_2 하에 8시간 동안 환류하여 가열하였다. 상기 혼합물을 농축시키고, 잔사는 실리카 겔 (PE: EtOAc=3:1) 상에서 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 3급-부틸 5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸카바메이트 (13 g, 10 %)를 수득하였다. 무수 EtOAc (30mL) 중 3급-부틸 5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸카바메이트 (28 g, 992 mmol)의 용액에 HCl/EtOAc (50 mL)를 적가하였다. 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반시킨 후, 여과시키고 고체를 건조하여 1-(5-아미노펜틸)-1H-페롤-2,5-디온 하이드로클로라이드 **10a** (16 g, 73.7 %)를 수득하였다. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.02 (s, 2H), 6.99 (s, 2H), 3.37-3.34 (m, 2H), 2.71-2.64 (m, 2H), 1.56-1.43 (m, 4H), 1.23-1.20 (m, 2H).

[0625]

단계 2: (S)-1-(1-(4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일카바모일)사이클로부탄카복실산 **10b**의 제조



[0626]

[0627] 디옥산과 H_2O (50 mL / 75 mL)의 혼합물 중 (S)-2-아미노-5-우레이도펜타노산 **10g** (17.50 g, 0.10 mol)의 혼합물에 K_2CO_3 (34.55 g, 0.25 mol)를 첨가하였다. Fmoc-Cl (30.96 g, 0.12 mol)을 0 °C에서 서서히 첨가하였다. 반응 혼합물은 2시간 이상 실온으로 가온시켰다. 유기 용매는 감압하에 제거하고 물 슬러리를 6M HCl 용액을 사용하여 pH=3으로 조정하고 EtOAc (100 mL × 3)로 추출하였다. 유기층은 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 감압하에 농축시켜 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카보닐)아미노)-5-우레이도펜타노산 **10f** (38.0 g, 95.6 %)을 수득하였다. **10f**는 시판되고 있다.

[0628]

DCM 및 MeOH (100 mL / 50 mL)의 혼합물 중 **10f** (4 g, 10 mmol)의 용액에 (4-아미노페닐)메탄올 (1.6 g, 13 mmol, 1.3 eq) 및 2-에톡시-1-에톡시카보닐-1,2-디하이드로퀴놀린, EEDQ, Sigma-Aldrich CAS Reg. No. 16357-59-8 (3.2 g, 13 mmol, 1.3 eq)을 첨가하였다. 혼합물이 N_2 하에 16시간 동안 실온에서 교반한 후, 농축시켜 갈색 고체를 수득하였다. MTBE (200 mL)를 첨가하고 2시간 동안 15 °C에서 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수거하고 MTBE (50 mL × 2)으로 세척하여 오렌지 고체 (4.2 g, 84%)로서 (S)-(9H-플루오렌-9-일)메틸 (1-((4-(하이드록시메틸)페닐)아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)카바메이트 **10e**를 수득하였다. LCMS (ESI): m/z 503.0

[M+1].

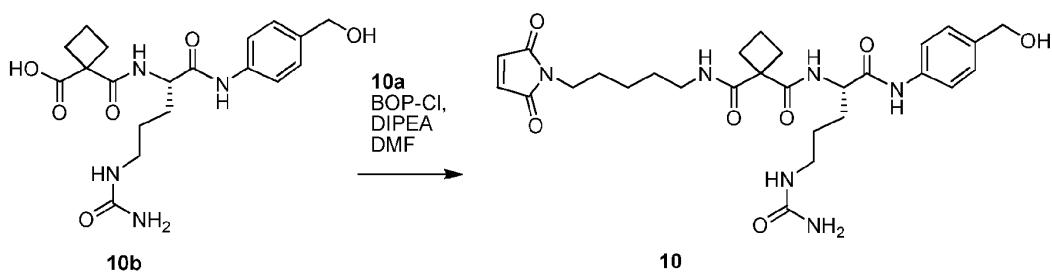
[0629] 무수 DMF (20mL) 중 **10e** (4.2 g, 8.3 mmol)의 교반 용액에 실온에서 피페리딘 (1.65 mL, 17 mmol, 2 eq)을 적가하였다. 혼합물을 30분 동안 실온에서 교반하고 고체 침전물을 형성하였다. 무수 DCM (50 mL)을 첨가하고 혼합물을 즉시 투명해졌다. 혼합물을 또 다른 30분 동안 실온에서 교반시키고, LCMS는 **10e**가 소모됨을 보여주었다. 감압하에 건조 농축시키고 (어떠한 피페리딘이 잔류하지 않도록 확실히 한다) 잔사는 EtOAc와 H₂O (50 mL / 20 mL) 사이에서 분할하였다. 수성상을 EtOAc (50 mL × 2)로 세척하고 농축시켜 오일성 잔사 (2.2 g, 94%) (소량의 DMF를 함유하였다)로서 (S)-2-아미노-N-(4-(하이드록시메틸)페닐)-5-우레이도펜탄아미드 **10d**를 수득하였다.

[0630] 시판되는 1,1-사이클로부탄디카복실산, 1,1-디에틸 에스테르 (CAS Reg.No.3779-29-1)는 수성 염기를 사용한 제한된 비누화에 의해 절반 산/에스테르 1,1-사이클로부탄디카복실산, 1-에틸 에스테르 (CAS Reg No.54450-84-9)로 전환시키고 하기와 같이 불리우는 TBTU (*O*-(벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트와 같은 커플링 시약을 사용하여 활성화시킨다: N,N,N',N' -테트라메틸-*O*-(벤조트리아졸-1-일)우로늄 테트라플루오로보레이트, CAS No.125700-67-6, Sigma-Aldrich B-2903), 및 N-하이드록시숙신이미드를 NHS 에스테르, 1-(2,5-디옥소페리딘-1-일) 1-에틸 사이클로부탄-1,1-디카복실레이트로 전환시킨다.

[0631] DME (50mL) 중 1-(2,5-디옥소페리딘-1-일) 1-에틸 사이클로부탄-1,1-디카복실레이트 (8 g, 29.7 mmol)의 용액에 물(30mL) 중 **10d** (6.0 g, 21.4 mmol) 및 NaHCO₃ (7.48 g, 89.0 mmol)에 첨가하였다. 혼합물을 16시간 동안 실온에서 교반시킨 후, 감압하에 건조 농축시키고 잔사를 칼럼 크로마토그래피 (DCM: MeOH = 10:1)로 정제하여 백색 고체 (6.4 g, 68.7%)로서 (S)-에틸 1-((1-(4-(하이드록시메틸)페닐)-2-옥소-6-우레이도헥산-3-일)카바모일)사이클로부탄카복실레이트 **10c**를 수득하였다. LCMS (ESI): m/z 435.0 [M+1]

[0632] THF 및 MeOH (20 mL / 10 mL)의 혼합물 중 **10c** (6.4 g, 14.7 mmol)의 교반 용액에 실온에서 H₂O (20 mL) 중 LiOH · H₂O (1.2 g, 28.6 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 16시간 동안 실온에서 교반시킨 후, 용매를 감압하에 제거하고, 수득된 잔사를 prep-HPLC로 정제하여 (S)-1-((1-(4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일카바모일)사이클로부탄카복실산 **10b** (3.5 g, 수율: 58.5%)을 수득하였다. LCMS (ESI): m/z 406.9 [M+1]. ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-*d*₄) δ 8.86 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 8.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 5.88 - 5.85 (m, 1 H), 5.78 (s, 2 H), 4.54 - 4.49 (m, 3 H), 4.38 - 4.32 (m, 1 H), 3.86 - 3.75 (m, 1 H), 3.84 - 3.80 (m, 2 H), 3.28 - 3.21 (m, 1 H), 3.30 - 3.24 (m, 1 H), 3.00 - 2.80 (m, 1 H), 2.37 - 2.28 (m, 2 H).

[0633] 단계 3: S)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)페닐)-N-(1-(4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 **10**의 제조

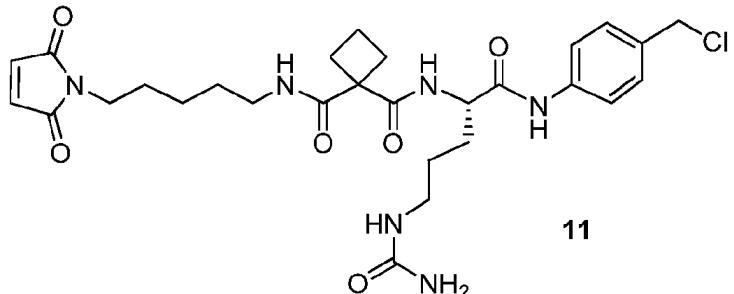


[0634]

[0635] 디이소프로필에틸아민, DIPEA (1.59 g, 12.3 mmol) 및 비스(2-옥소-3-옥사졸리디닐)포스핀 클로라이드, BOP-Cl (CAS Reg.No.68641-49-6, Sigma-Aldrich, 692 mg, 2.71 mmol)을 0 °C에서 DMF (10mL) 중 (S)-1-((4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일카바모일)사이클로부탄카복실산 **10b** (1 g, 2.46 mmol)의 용액에 첨가하고 이어서 1-(5-아미노페닐)-1H-페롤-2,5-디온 하이드로클로라이드 **10a** (592 mg, 2.71 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 0.5 시간 동안 0 °C에서 교반하였다. 반응 혼합물을 시트르산 용액 (10mL)으로 켄칭하고, DCM/MeOH (10:1)로 추출하였다. 유기층을 건조시키고 농축시키고 잔사는 실리카겔 (DCM: MeOH = 10:1)상에서 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 S)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)페닐)-N-(1-(4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 **10** (1.0 g, 71 %)를 수득하였고, 이는 또한 MC-CBDK-cit-PAB-OH로서 언급된다. LCMS (ESI): M+H⁺ = 571.28. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.00 (s, 1H), 7.82-7.77 (m, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 7.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 6.96 (s, 2H),

5.95 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 5.08 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.40-4.35 (m, 3H), 4.09 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 3.01 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 3.05-2.72 (m, 4H), 2.68-2.58 (m, 3H), 2.40-2.36 (m, 4H), 1.72-1.70 (m, 3H), 1.44-1.42 (m, 1H), 1.40-1.23 (m, 6H), 1.21-1.16 (m, 4H).

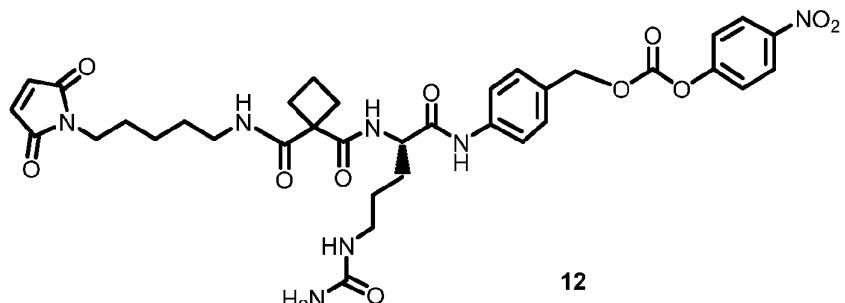
[0636] 실시예 14 (S)-N-(1-(4-(클로로메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)페닐)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 11



[0637]

[0638] N,N-디메틸포름아미드, DMF 또는 N-메틸페롤리돈, NMP (50 mL) 중 (S)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)페닐)-N-(1-(4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 10 (2.0 g, 3.5 mmol)의 용액을 티오닐 클로라이드, SOCl_2 (1.25 g, 10.5 mmol)에 0 °C에서 분획으로 적가하였다. 반응은 황색으로 남아있다. 반응은 >90% 전환을 지적하는 LC/MS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 30분 또는 수시간 동안 20 °C에서 교반시킨 후, 물(50mL)로 희석시키고 EtOAc (50 mL x 3)로 추출하였다. 유기층을 건조시키고, 농축시키고 섬광 칼럼에 의해 정제하여 (DCM : MeOH = 20 : 1) 11을 형성하고, 이는 또한 회색 고체로서 MC-CBDK-cit-PAB-C1로 언급된다. LCMS: (5-95, AB, 1.5 min), 0.696 min, m/z = 589.0 $[\text{M}+1]^+$.

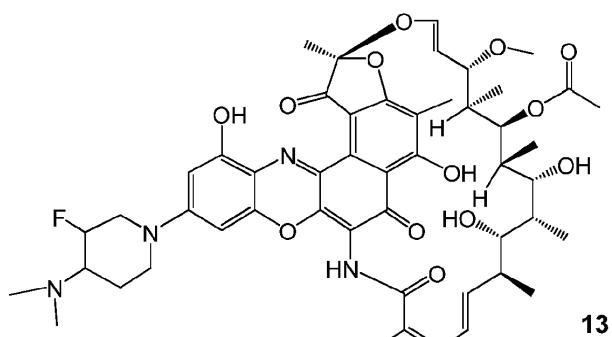
[0639] 실시예 15 (S)-4-(2-(1-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)페닐카바모일)사이클로부탄카복스아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질 4-니트로페닐 카보네이트 12



[0640]

[0641] 무수 DMF 중 (S)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)페닐)-N-(1-(4-(하이드록시메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드의 10 용액에 디이소프로필에틸아민 (DIEA)에 이어서 PNP 카보네이트 (비스(4-니트로페닐) 카보네이트)를 첨가하였다. 반응 용액은 4시간 동안 실온(r.t.)에서 교반시키고 혼합물은 프렙-HPLC로 정제하여 12를 수득하였다. LCMS (ESI): $\text{M}+\text{H}^+$ = 736.29.

[0642] 실시예 16 MC-(CBDK-cit)-PAB-(디메틸, 플루오로pipBor) - PLA-1의 제조



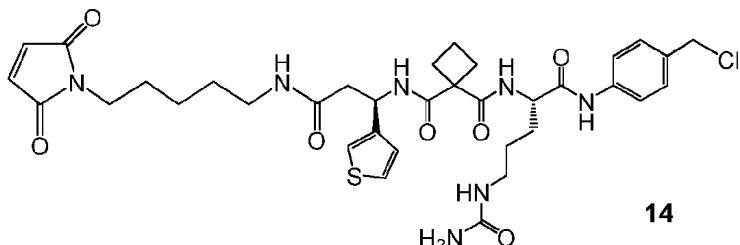
[0643]

[0644] PLA-2에 대한 과정 후, (S)-N-(1-(4-(클로로메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 **11** 및 불소화된 리파마이신-유도체, 디메틸플루오로pipBOR **13** (LCMS (ESI): $M+H^+ = 945.43$)을 반응시켜 MC-(CBDK-cit)-PAB-(디메틸, 플루오로pipBOR) - PLA-1를 형성하였다. 표 2.LCMS (ESI): $M+H^+ = 1499.7$

[0645] 실시예 17 MC-(CBDK-cit)-PAB-(디메틸pipBOR) - PLA-2의 제조

[0646] DMF 중 (S)-N-(1-(4-(클로로메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)-N-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 **11** (0.035 mmol)를 0 °C로 냉각시키고 디메틸pipBOR **6**, (10 mg, 0.011 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물은 또 다른 0.5mL의 DMF로 희석시켰다. 30분 동안 공기에 개방 교반하였다. N,N-디이소프로필에틸아민 (DIEA, 10 μ L, 0.05 mmol)을 첨가하고 반응물을 밤새 공기에 개방하여 교반시켰다. LC/MS란, 목적하는 생성물의 50%는 관찰되었다. 추가의 0.2 eq의 N,N-디이소프로필에틸아민 염기를 첨가하고 반응물을 반응이 진행을 종료하는 것으로 나타날 때까지 또 다른 6시간 동안 공기에 개방하여 교반시켰다. 반응 혼합물은 DMF로 희석시키고 H_2O 중 HPLC (20-60% ACN/HCOOH 상에서 정제하여 MC-(CBDK-cit)-PAB-(디메틸pipBOR) - PLA-2를 수득하였다. 표 2.LCMS (ESI): $M+H^+ = 1481.8$, 수율 31%.

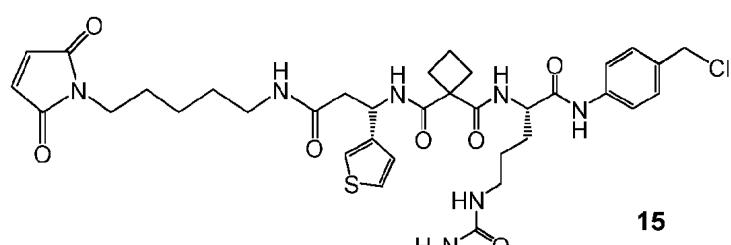
[0647] 실시예 18 MC-((R)-티오펜-3-일-CBDK-cit)-PAB-(디메틸pipBOR) (PLA-3)의 제조



[0648]

[0649] PLA-2에 대한 과정 후, (N-((S)-1-(4-(클로로메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)-N-((R)-3-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸아미노)-3-옥소-1-(티오펜-3-일)프로필)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 **14** (LCMS (ESI): $M+H^+ = 742.3$) 및 디메틸pipBOR **6**을 반응시켜 MC-((R)-티오펜-3-일-CBDK-cit)-PAB-(디메틸pipBOR) (PLA-3, 표 2)를 수득하였다. LCMS (ESI): $M+H^+ = 1633.9$

[0650] 실시예 19 MC-((S)-티오펜-3-일-CBDK-cit)-PAB-(디메틸pipBOR) (PLA-4)의 제조



[0651]

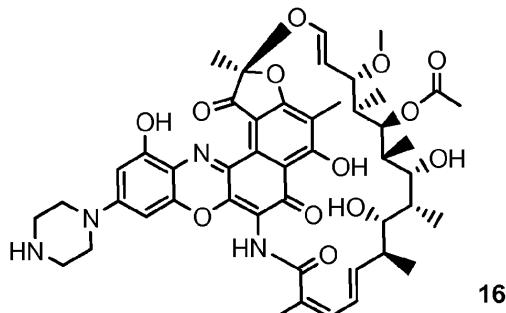
[0652] PLA-2에 대한 과정 후, (N-((R)-1-(4-(클로로메틸)페닐아미노)-1-옥소-5-우레이도펜탄-2-일)-N-((R)-3-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸아미노)-3-옥소-1-(티오펜-3-일)프로필)사이클로부탄-1,1-디카복스아미드 **15** (LCMS (ESI): $M+H^+ = 742.3$) 및 디메틸pipBOR **6**을 반응시켜 MC-((R)-티오펜-3-일-CBDK-cit)-PAB-(디메틸pipBOR) (PLA-4, 표 2)를 수득하였다. LCMS (ESI): $M+H^+ = 1633.9$

[0653] 실시예 20 MC-(CBDK-cit)-PABC-(pipBOR) (PLA-5)의 제조

[0654] 피페리딜 벤족사지노 리파마이신 (pipBOR) **5** (15 mg, 0.0167 mmol), 및 이어서 (S)-4-(2-(1-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸카바모일)사이클로부탄카복스아미도)-5-우레이도펜탄아미도)벤질 4-니트로페닐 카보네이트 **12** (12 mg, 0.0167 mmol)를 칭량하여 바이엘에 첨가하였다. 디메틸포름아미드, DMF (0.3 mL)을 첨가하고 이어서 디이소프로필에틸아민, DIEA (0.006 mL, 0.0334 mmol)을 첨가하고, 반응물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 용액은 HPLC (30 내지 70% MeCN/물 + 1% 포름산)에 의해 직접 정제하여 MC-(CBDK-cit)-

PABC-(pipBOR) (PLA-5, 표 2)를 수득하였다. LCMS (ESI): $M+H^+$ = 1496.5

[0655] 실시예 21 MC-(CBDK-cit)-PABC-(피페라즈BTR) (PLA-6)의 제조



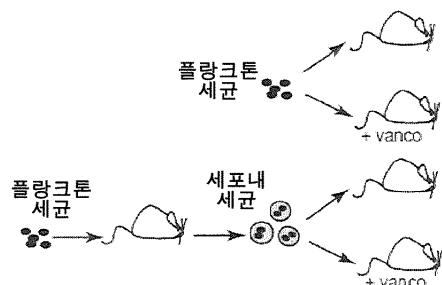
[0656]

[0657] PLA-5에 대한 과정 후, 피페리딘 리파마이신 유도체, 피페라즈BOR 16 (LCMS (ESI): $M+H^+$ = 885.4) 및 (S)-4-(2-(1-(5-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)펜틸카바모일)사이클로부탄카복스아미도)-5-우레이도펜탄아미도 벤질 4-나트로페닐 카보네이트 12를 반응시켜 MC-(CBDK-cit)-PABC-(피페라즈BTR) (PLA-6, 표 2)를 수득하였다. LCMS (ESI): $M+H^+$ = 1482.5

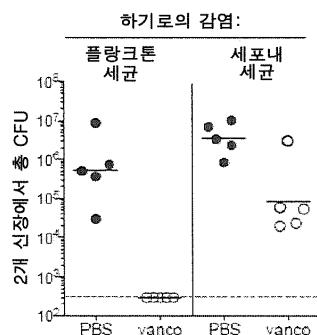
[0658] 이전에 기재된 발명은 이해를 명백히 할 목적으로 설명하고 예시를 위해 일부 상세하게 기재되었지만 상기 개시 내용과 실시예는 본 발명의 범위를 제한하는 것으로서 해석되지 말아야 한다. 본원 명세서 전반에 걸쳐 인용된 모든 특허, 특히 출원 및 참조문헌은 본원에 참조로 인용된다.

도면

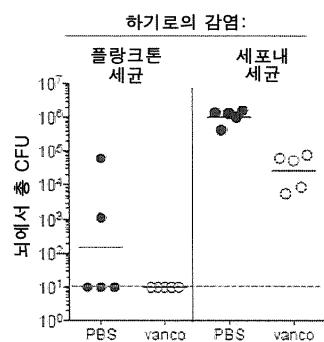
도면 1a



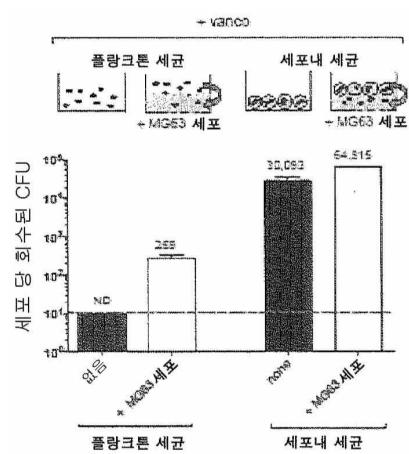
도면 1b



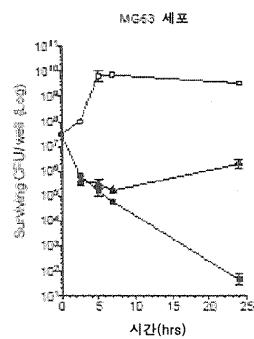
도면1c



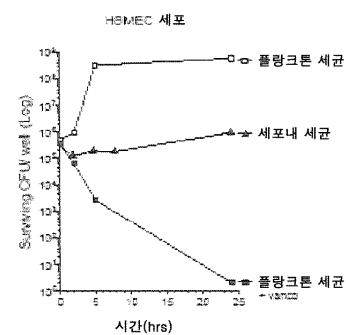
도면1d



도면1e



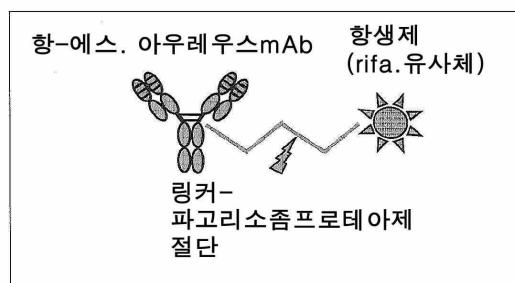
도면1f



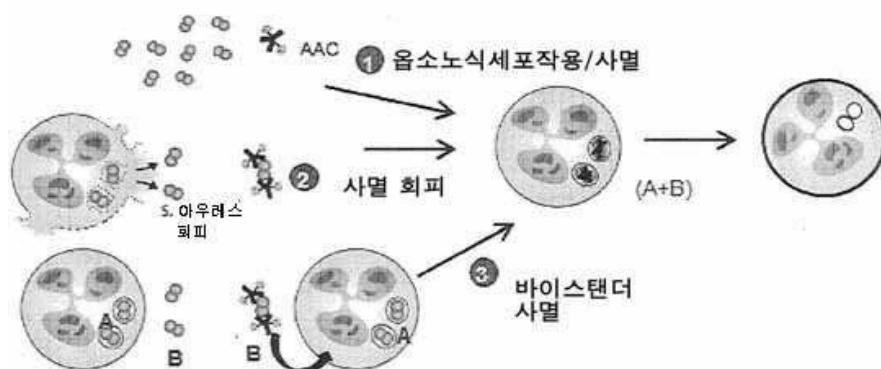
도면2

• TAC의 개념:

항생제는 파고리소좀프로테아제에 의해 TAC로부터 방출된다

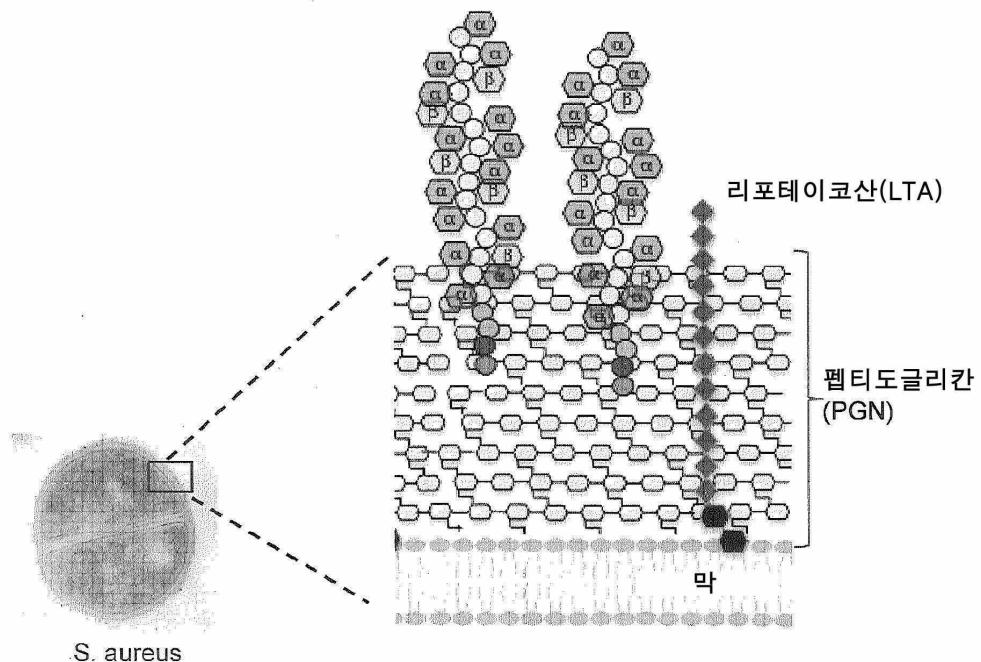


도면3

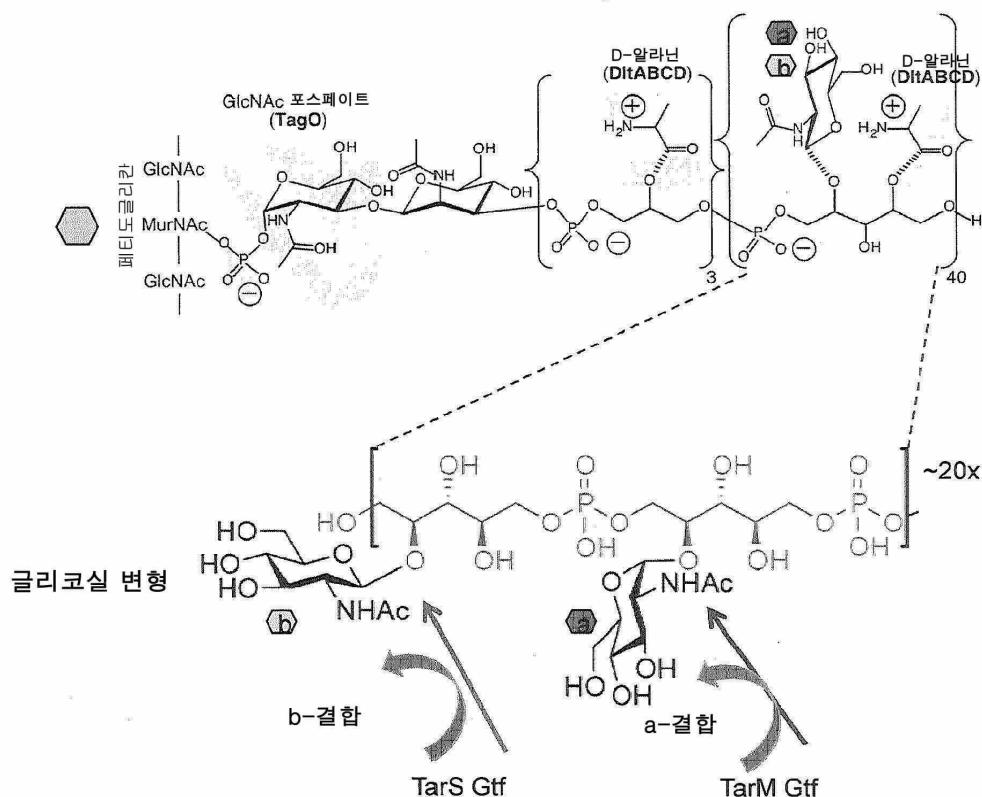


도면4

벽 테이코산(WTA)



도면5



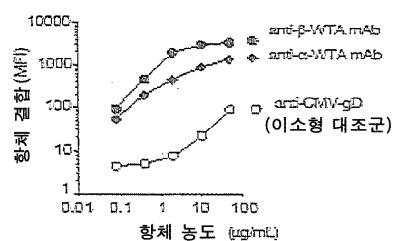
도면6a

항체	항원	GlcNAc	KD(nM)	항원 밀도 Ave. 부위 세균	공여자	공급 세포	1차 스크리닝 Ag에서 코팅물(들)로의 결합(ELISA)
4497	WTA	베타	2.5	50	327	PB/PC	WTA; PGN; CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
4462	WTA	베타	3.1	43	326	sMBC	WTA; PGN; CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
4450	WTA	베타			326	sMBC	WTA; PGN; CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
4487	WTA	베타			327	PB/PC	WTA; PGN; CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6078	WTA	베타			349	sMBC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6263	WTA	베타	1.4	22,000	350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6297	WTA	베타	1.1	21,000	350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6239	WTA	베타			350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6292	WTA	베타			350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6232	WTA	베타			350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6259	WTA	베타			350	PB/PC	CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6253	WTA	베타			350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)
6265	WTA	베타			350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron depl:TSB in 96:4비율)

도면6b

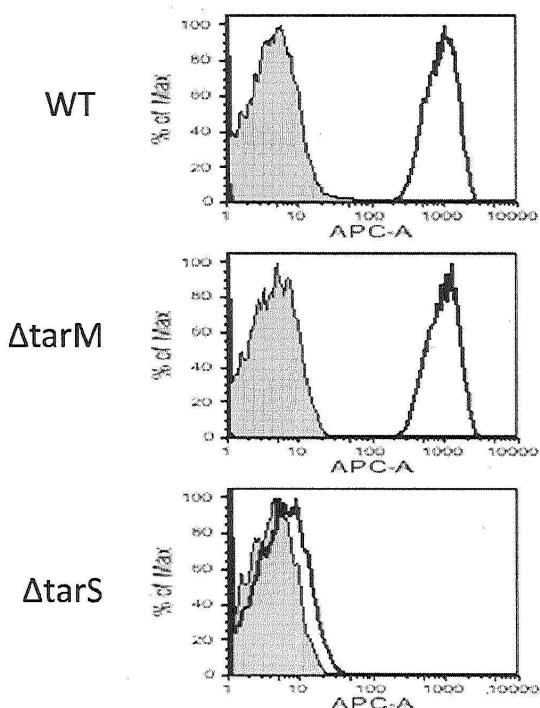
4461(7574)	WTA	알파			326	sMBC	CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)
4624(7578)	WTA	알파	0.4	16	326	sMBC	CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)
4399	WTA	알파			326	sMBC	CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)
6267	WTA	알파			350	PB/PC	CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)
rF1	SDR- 단백질	?	0.3	1600			
4516(7577)	SDR- 단백질	?			327	PB/PC	WTA; PGN; CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)
6234	SDR- 단백질	?			350	PB/PC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)
6060	SDR- 단백질	?			349	sMBC	PGN+WTA (1:1); CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)
4569	LTA	?			327	PB/PC	CW Wood46 stat TSB
4479	PGN				327	PB/PC	WTA; PGN; CW USA300 stat (iron dep:TSB in 96:4비율)

도면7a

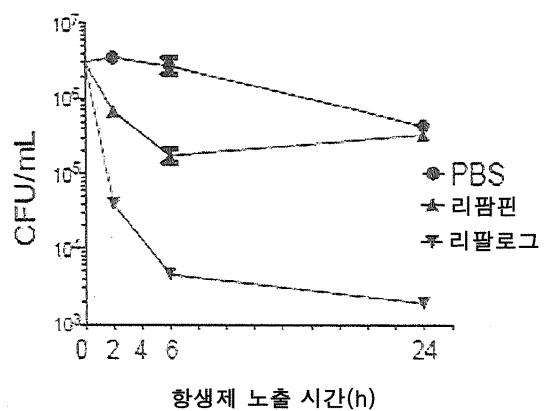


도면7b

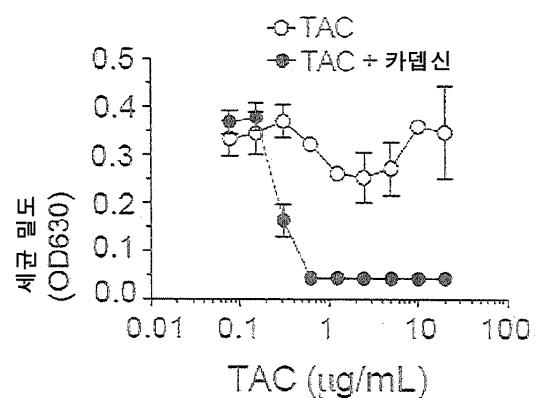
4497 (0.5ug/ml)



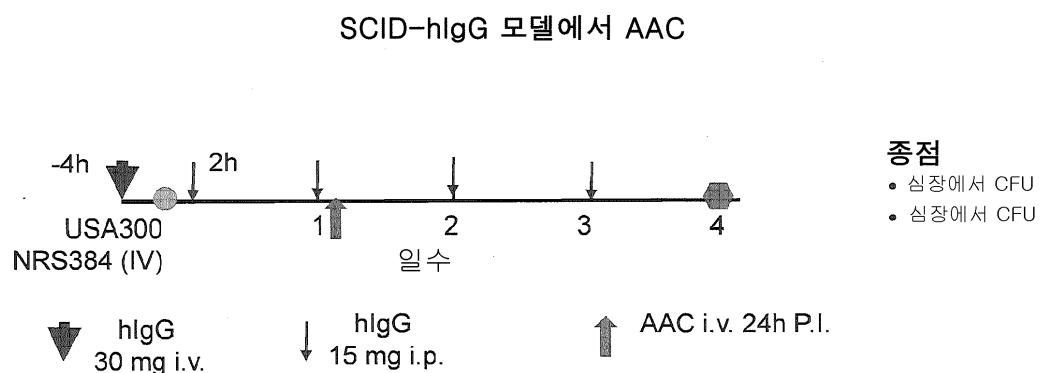
도면8



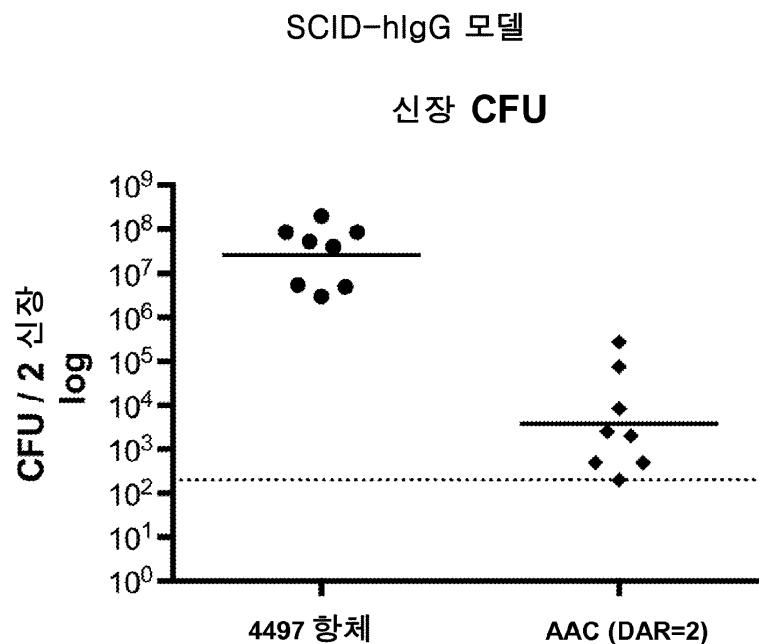
도면9



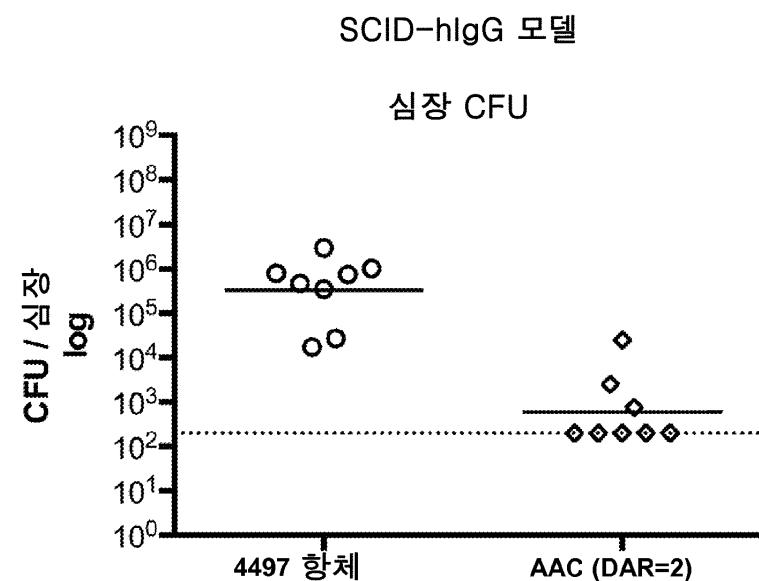
도면10a



도면10b



도면10c



도면11a

캐벳 정의에 따른 CDR 서열은 밑줄쳐져 있다

경쇠 가변 영역

개별 번호	CDR L1- 접촉										CDR L1- 개별																														
	D 1	I 2	Q 3	M 4	T 5	D 6	S 7	P 8	D 9	S 10	L 11	A 12	V 13	S 14	L 15	G 16	E 17	R 18	A 19	T 20	I 21	N 22	C 23	K 24	S 25	S 26	Q 27	S 28a	V 29	L 29c	S 27d	S 27e	R 28	A 28	N 29	N 30	Y 31	Y 32	V 33	W 34	Y 35
4461	D	I	Q	M	T	D	S	P	D	S	L	A	V	S	L	G	E	R	A	T	I	N	C	K	S	S	Q	N	L	S	S	R	A	N	Y	Y	V	W	Y		
4624	D	I	Q	M	T	D	S	P	D	S	L	A	V	S	L	G	E	R	A	T	I	N	C	K	S	S	Q	N	L	S	S	R	A	N	Y	Y	V	W	Y		
4399	E	I	V	L	T	Q	S	P	D	S	L	A	V	S	L	G	E	R	A	T	I	N	C	K	S	S	Q	N	L	S	S	R	A	N	Y	Y	V	W	Y		
6267	D	I	Q	L	T	Q	S	P	D	S	L	A	V	S	L	G	E	R	A	T	I	N	C	K	S	S	Q	N	V	L	Y	S	S	N	N	Y	Y	V	W	Y	

도면11b

캐벳 정의에 따른 CDR 서열은 밀줄쳐져 있다

경쇄 가변 영역

캐럿 번호	CDR H1-접촉										CDR H1-캐럿																																
	Q 1	V 2	V 3	Q 4	L 5	V 6	S 7	G 8	E 9	A 10	V 11	R 12	K 13	P 14	G 15	G 16	S 17	V 18	V 19	K 20	S 21	C 22	C 23	K 24	S 25	G 26	G 27	S 28	F 29	T 30	D 31	Y 32	Y 33	M 34	H 35	W 36	V 37	R 38	Q 39	A 40	P 41	G 42	
4461																																											
4624	Q	V	V	Q	V	Q	S	R	V	E	V	K	R	P	G	T	S	V	K	V	S	C	K	T	S	G	Y	T	F	S	D	Y	Y	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	
4399	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	V	K	K	P	G	T	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	Y	Y	I	H	W	V	R	L	A	P	G
6267	F	E	V	O	I	V	O	S	G	A	E	V	V	K	K	P	G	E	S	I	K	S	C	K	G	S	G	Y	S	F	T	S	Y	W	I	G	W	V	R	Q	M	P	G

캐벗 번호	CDR H2 - 접촉												CDR H2 - 카페																																																																						
	접촉						카페						접촉						카페																																																																
4461	Q	43	G	44	L	45	E	46	W	M	47	G	48	W	49	G	50	W	51	M	52	K	53	Q	54	G	55	S	56	G	57	T	58	N	59	Y	60	A	61	Q	62	R	63	F	64	G	65	R	66	V	67	T	68	M	69	T	70	M	71	G	72	D	73	T	74	S	75	I	76	S	77	A	78	A	79	Y	80	M	81	D	82	L	83
4624	Q	G	G	L	E	L	M	M	G	W	W	I	N	P	N	T	T	G	G	T	Y	Y	A	Q	K	F	R	D	R	V	T	M	T	R	D	T	S	I	A	T	A	Y	L	E	M	S																																					
4399	Q	G	G	L	E	L	M	M	G	W	W	I	N	P	N	T	T	G	G	T	Y	Y	A	Q	K	F	R	D	R	V	T	M	T	R	D	T	S	I	A	T	A	Y	M	E	L	S																																					
2237	K	G	G	E	W	M	W	M	G	W	W	I	P	N	N	T	T	G	G	T	Y	Y	A	Q	K	F	R	D	R	V	T	M	T	R	D	T	S	I	A	T	A	Y	L	W	S																																						

캐빈 번호	102
4461	F W G P G G T
4624	I W G P G T M V
4399	I W G Q G T V V
6267	V W G Q G T V V

도면12

형체	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
6078	RASQUTISGWL A (서열번호:33)	KASTLES (서열번호:34)	QQYKSYSFN (서열번호:35)	SYDIN (서열번호:36)	WMNANSNTGYAQKFQG (서열번호:37)	SSJIVRGALGRYFDL (서열번호:33)
6263	RASQUTISGWL A (서열번호:39)	KASTLES (서열번호:40)	QQYKSYSFN (서열번호:41)	SYDIN (서열번호:42)	WMNANSNTGYAQKFQG (서열번호:43)	SSJIVRGALGRYFDL (서열번호:44)
4450	RASQFVSRSLA (서열번호:45)	ETSSRAT (서열번호:46)	HKY(GSGPRT (서열번호:47)	NYDFI (서열번호:48)	WMNPNSYNTGYGQKFQG (서열번호:49)	AVTRGQOLSEY (서열번호:50)
6239	RASQSVSSSYLA (서열번호:51)	DASSRAT (서열번호:52)	OKYGSTPRP (서열번호:53)	SYDIN (서열번호:54)	WMNPNSGNTNYAQRFRQG (서열번호:55)	ERWSKDTGHYYYY GMDV (서열번호:56)
6232	RASQSVNGAYLA (서열번호:63)	GVSNRAT (서열번호:64)	QIYTSSRALT (서열번호:65)	AYAMN (서열번호:66)	SITKNSDSLYYADSWKG (서열번호:67)	LAARIMADY (서열번호:68)
6259	RASQGIRNGLG (서열번호:69)	PASTLES (서열번호:70)	LQDHNPPT (서열번호:71)	YYSMI (서열번호:72)	SIDSSSRVILYYADSWKG (서열번호:73)	DGDDILSVYRGSSGR (서열번호:74)
6292	RASQGIRNGLG (서열번호:75)	PASTLES (서열번호:76)	LQDHNPPT (서열번호:77)	YYSMI (서열번호:78)	SIDSSSRVRYYYADSWKG (서열번호:79)	DGDDILSVYQGSSGR (서열번호:80)
4462	RASQSVRTNVA (서열번호:81)	GASTRAS (서열번호:82)	LOYNTWPT (서열번호:83)	TNDMS (서열번호:84)	TIGIDDTTHYADSVRG (서열번호:85)	NSGJYSF (서열번호:86)
6265	RASODIGSSLA (서열번호:87)	ATSTLQS (서열번호:88)	QOJNNTVHS (서열번호:89)	DYAMG (서열번호:90)	VVTGHHSYRTHYADSVKG (서열번호:91)	RJWWSYGDSDFDV (서열번호:92)
6253	RASQSGDRLA (서열번호:93)	WASNLQS (서열번호:94)	QQYKSQWS (서열번호:95)	SYAMN (서열번호:96)	YISSTETYYADSVKG (서열번호:97)	DRLYDPLSSNS (서열번호:98)
4497	KASSOSIFRTSRNKN LLN (서열번호:99)	WASTRKS (서열번호:100)	QQYNSPPYT (서열번호:101)	SFWMH (서열번호:102)	FTNNEGITTAYADSVRG (서열번호:103)	GDDGLDD (서열번호:104)
4487	RASQFTNHYLN (서열번호:105)	VASNLQS (서열번호:106)	QOSRTTPYT (서열번호:107)	SGYYN (서열번호:108)	YILSGAHTTDIKASLGS (서열번호:109)	SGVNSKSYSLDV (서열번호:110)

6263은 6078과 동일한 CDR 서열을 갖는다

도면13aa

캐벗 정의에 따른 CDR 서열은 밀줄쳐져 있다
경쇠

캐 벗 번 호	CDR L1-조티아			CDR L1-질죽		
	CDR L1-캐벗			CDR L1-조티아		
6078.1	I	V	M	I	S	G
6078.2	I	V	M	I	S	G
6078.3	I	V	M	I	S	G
6078.4	I	V	M	I	S	G
6078.5	I	V	M	I	S	G
6078.6	I	V	M	I	S	G
6078.7	I	V	M	I	S	G
6078.8	I	V	M	I	S	G
6078.9	I	V	M	I	S	G
6078.10	I	V	M	I	S	G
6078.11	I	V	M	I	S	G
6078.12	I	V	M	I	S	G
6078.13	I	V	M	I	S	G
6078.14	I	V	M	I	S	G
6078.15	I	V	M	I	S	G
6078.16	I	V	M	I	S	G
6078.17	I	V	M	I	S	G
6078.18	I	V	M	I	S	G
6078.19	I	V	M	I	S	G
6078.20	I	V	M	I	S	G
6078.21	I	V	M	I	S	G
6078.22	I	V	M	I	S	G
6078.23	I	V	M	I	S	G
6078.24	I	V	M	I	S	G
6078.25	I	V	M	I	S	G
6078.26	I	V	M	I	S	G
6078.27	I	V	M	I	S	G
6078.28	I	V	M	I	S	G
6078.29	I	V	M	I	S	G
6078.30	I	V	M	I	S	G
6078.31	I	V	M	I	S	G
6078.32	I	V	M	I	S	G
6078.33	I	V	M	I	S	G
6078.34	I	V	M	I	S	G
6078.35	I	V	M	I	S	G
6078.36	I	V	M	I	S	G
6078.37	I	V	M	I	S	G
6078.38	I	V	M	I	S	G
6078.39	I	V	M	I	S	G
6078.40	I	V	M	I	S	G
6078.41	I	V	M	I	S	G
6078.42	I	V	M	I	S	G
6078.43	I	V	M	I	S	G
6078.44	I	V	M	I	S	G
6078.45	I	V	M	I	S	G
6078.46	I	V	M	I	S	G
6078.47	I	V	M	I	S	G
6078.48	I	V	M	I	S	G
6078.49	I	V	M	I	S	G
6078.50	I	V	M	I	S	G
6078.51	I	V	M	I	S	G
6078.52	I	V	M	I	S	G
6078.53	I	V	M	I	S	G
6078.54	I	V	M	I	S	G
6078.55	I	V	M	I	S	G
6078.56	I	V	M	I	S	G
6078.57	I	V	M	I	S	G
6078.58	I	V	M	I	S	G
6078.59	I	V	M	I	S	G
6078.60	I	V	M	I	S	G
6078.61	I	V	M	I	S	G
6078.62	I	V	M	I	S	G
6078.63	I	V	M	I	S	G
6078.64	I	V	M	I	S	G
6078.65	I	V	M	I	S	G
6078.66	I	V	M	I	S	G
6078.67	I	V	M	I	S	G
6078.68	I	V	M	I	S	G
6078.69	I	V	M	I	S	G
6078.70	I	V	M	I	S	G
6078.71	I	V	M	I	S	G
6078.72	I	V	M	I	S	G
6078.73	I	V	M	I	S	G
6078.74	I	V	M	I	S	G
6078.75	I	V	M	I	S	G
6078.76	I	V	M	I	S	G
6078.77	I	V	M	I	S	G
6078.78	I	V	M	I	S	G
6078.79	I	V	M	I	S	G
6078.80	I	V	M	I	S	G
6078.81	I	V	M	I	S	G
6078.82	I	V	M	I	S	G
6078.83	I	V	M	I	S	G
6078.84	I	V	M	I	S	G
6078.85	I	V	M	I	S	G
6078.86	I	V	M	I	S	G
6078.87	I	V	M	I	S	G
6078.88	I	V	M	I	S	G
6078.89	I	V	M	I	S	G
6078.90	I	V	M	I	S	G
6078.91	I	V	M	I	S	G
6078.92	I	V	M	I	S	G
6078.93	I	V	M	I	S	G
6078.94	I	V	M	I	S	G
6078.95	I	V	M	I	S	G
6078.96	I	V	M	I	S	G
6078.97	I	V	M	I	S	G
6078.98	I	V	M	I	S	G
6078.99	I	V	M	I	S	G
6078.100	I	V	M	I	S	G
6078.101	I	V	M	I	S	G
6078.102	I	V	M	I	S	G
6078.103	I	V	M	I	S	G
6078.104	I	V	M	I	S	G
6078.105	I	V	M	I	S	G
6078.106	I	V	M	I	S	G
6078.107	I	V	M	I	S	G
6078.108	I	V	M	I	S	G
6078.109	I	V	M	I	S	G
6078.110	I	V	M	I	S	G
6078.111	I	V	M	I	S	G
6078.112	I	V	M	I	S	G
6078.113	I	V	M	I	S	G
6078.114	I	V	M	I	S	G
6078.115	I	V	M	I	S	G
6078.116	I	V	M	I	S	G
6078.117	I	V	M	I	S	G
6078.118	I	V	M	I	S	G
6078.119	I	V	M	I	S	G
6078.120	I	V	M	I	S	G
6078.121	I	V	M	I	S	G
6078.122	I	V	M	I	S	G
6078.123	I	V	M	I	S	G
6078.124	I	V	M	I	S	G
6078.125	I	V	M	I	S	G
6078.126	I	V	M	I	S	G

도면13ab

도면 13ba

도면 13bb

도면13bc

Eu 번호		204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245
6078.12HC-Cys		I	A	P	S	N	I	K	T	D	A	K	V	E	P	K	S	C	D	K	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.12LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14HCLC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
Eu 번호		246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287		
6078.12		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.12HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.12LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14HCLC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
Eu 번호		288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329
6078.12		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.12HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.12LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.13LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14HC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14LC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		
6078.14HCLC-Cys		I	R	P	S	N	I	K	V	D	K	V	E	P	K	S	C	D	K	T	P	H	T	C	P	P	C	P	A	P	E	L	G	G	P	S	V	F	L	P	P		

도면13bd

Eu 번호		330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371
6078.v4HC-Cys		A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	D	P	A	P	Q	T	I	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	M	Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	
6078.v4LC-Cys		A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	D	P	R	P	Q	V	I	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	M	Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	
6078.v3HC-Cys		A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	D	P	R	P	Q	V	I	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	M	Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	
6078.v4LC-Cys		A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	D	P	R	P	Q	V	I	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	M	Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	
6078.v4LC-Cys		A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	D	P	R	P	Q	V	I	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	M	Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	
6078.v4HCLC-Cys		A	P	I	E	K	T	I	S	K	A	K	G	D	P	R	P	Q	V	I	T	L	P	P	S	R	E	E	M	T	K	M	Q	V	S	L	T	C	L	V	K	G	
Eu 번호		372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413
6078.v4HC-Cys		T	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	I	D	S	D	G	S	E	P	L	S	K	L	T	V	D		
6078.v4LC-Cys		T	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	I	D	S	D	G	S	E	P	L	S	K	L	T	V	D		
6078.v3HC-Cys		T	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	I	D	S	D	G	S	E	P	L	S	K	L	T	V	D		
6078.v3LC-Cys		T	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	I	D	S	D	G	S	E	P	L	S	K	L	T	V	D		
6078.v4HC-Cys		T	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	I	D	S	D	G	S	E	P	L	S	K	L	T	V	D		
6078.v4LC-Cys		T	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	I	D	S	D	G	S	E	P	L	S	K	L	T	V	D		
6078.v4HCLC-Cys		T	P	S	D	I	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	T	P	P	V	I	D	S	D	G	S	E	P	L	S	K	L	T	V	D		

도면14aa

경쇠 캐럿 정의에 따를 CDR 서열은 밀출쳐져 있다

도면 14ab

도면 14ba

Heavy Chain

도면14bb

도면 14bc

Eu 번호	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421
4497- ¹⁸ HC-Cys	E	R	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	T	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	F	F	L	I	S	K	L	T	D	X	S	W	Q	G	N				
4497- ¹⁸ LC-Cys	E	R	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	T	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	F	F	L	I	S	K	L	T	D	X	S	W	Q	G	N				
4497- ¹⁸ HC-LC-Cys	E	R	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	T	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	F	F	L	I	S	K	L	T	D	X	S	W	Q	G	N				
4497- ¹⁸ HC-LC-Cys	E	R	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	T	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	F	F	L	I	S	K	L	T	D	X	S	W	Q	G	N				
4497- ¹⁸ HC-LC-Cys	E	R	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	T	K	T	T	P	P	V	L	D	S	D	G	F	F	L	I	S	K	L	T	D	X	S	W	Q	G	N				

도면15aa

캐벗 정의에 따른 CDR 서열은 밀줄쳐져 있다
경쇠

캐벗 번호	CDR L1- 캐벗																																										
	CDR L1- 총티아																																										
6078	D	I	V	M	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
6263	D	I	Q	L	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
4450	E	I	V	I	T	O	S	P	G	T	I	S	I	S	P	G	E	R	A	T	I	S	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
6297	E	I	V	I	T	O	S	P	G	T	I	S	I	S	P	G	E	R	A	T	I	S	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
6239	D	V	V	M	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
6232	E	I	V	M	T	O	S	P	G	T	I	S	I	S	P	G	E	R	A	T	I	S	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
6259	E	I	V	I	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
6292	D	I	Q	A	T	O	S	P	A	T	I	S	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36	
4462	D	I	Q	A	T	O	S	P	A	T	I	S	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36	
6265	D	V	V	M	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
6253	E	I	V	I	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
4497	D	I	Q	A	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36
4487	D	I	Q	A	T	O	S	P	S	I	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	0	27a	27b	27c	27d	27e	27f	28	29	30	31	32	33	34	35	36

CDR L2- 접촉

CDR L2- 총티아

CDR L2- 캐벗

도면 15ab

CDR L3-접속		CDR L3-개별		Eu 번호, 불법 영역	
개별 번호	CDR L3-접속	개별 번호	CDR L3-개별	Eu 번호	불법 영역
6078	P	79	P	100	
6263	P	80	P	101	
4450	P	81	P	102	
6297	P	82	P	103	
6239	P	83	P	104	
6232	P	84	P	105	
6259	P	85	P	106	
6292	P	86	P	107	
6265	P	87	P	108	
6253	P	88	P	109	
4497	P	89	P	110	
4487	P	90	P	111	
P	S	91	P	112	
S	D	92	P	113	
E	E	93	P	114	
U	S	94	P	115	
L	D	95	P	116	
R	B	96	P	117	
G	T	97	P	118	
T	A	98	P	119	
V	S	99	P	120	
C	C	100	P	121	
I	L	101	P	122	
N	N	102	P	123	
F	N	103	P	124	
P	P	104	P	125	
R	R	105	P	126	
E	E	106	P	127	
A	A	107	P	128	
T	T	108	P	129	
S	S	109	P	130	
V	V	110	P	131	
C	C	111	P	132	
I	I	112	P	133	
L	L	113	P	134	
N	N	114	P	135	
P	P	115	P	136	
R	R	116	P	137	
E	E	117	P	138	
A	A	118	P	139	
T	T	119	P	140	
S	S	120	P	141	
V	V	121	P	142	
C	C	122	P	143	
I	I	123	P	144	
L	L	124	P	145	
N	N	125	P	146	
P	P	126	P	147	
R	R	127	P	148	
E	E	128	P	149	
A	A	129	P	150	
T	T	130	P	151	
S	S	131	P	152	
V	V	132	P	153	
C	C	133	P	154	
I	I	134	P	155	
L	L	135	P	156	
N	N	136	P	157	
P	P	137	P	158	
R	R	138	P	159	
E	E	139	P	160	
A	A	140	P	161	
T	T	141	P	162	
S	S	142	P	163	
V	V	143	P	164	
C	C	144	P	165	
I	I	145	P	166	
L	L	146	P	167	
N	N	147	P	168	
P	P	148	P	169	
R	R	149	P	170	
E	E	150	P	171	
A	A	151	P	172	
T	T	152	P	173	
S	S	153	P	174	
V	V	154	P	175	
C	C	155	P	176	
I	I	156	P	177	
L	L	157	P	178	
N	N	158	P	179	
P	P	159	P	180	
R	R	160	P	181	
E	E	161	P	182	
A	A	162	P	183	
T	T	163	P	184	
S	S	164	P	185	
V	V	165	P	186	
C	C	166	P	187	
I	I	167	P	188	
L	L	168	P	189	
N	N	169	P	190	
P	P	170	P	191	
R	R	171	P	192	
E	E	172	P	193	
A	A	173	P	194	
T	T	174	P	195	
S	S	175	P	196	
V	V	176	P	197	
C	C	177	P	198	
I	I	178	P	199	
L	L	179	P	200	
N	N	180	P	201	
P	P	181	P	202	
R	R	182	P	203	
E	E	183	P	204	
A	A	184	P	205	
T	T	185	P	206	
S	S	186	P	207	
V	V	187	P	208	
C	C	188	P	209	
I	I	189	P	210	
L	L	190	P	211	
N	N	191	P	212	
P	P	192	P	213	
R	R	193	P	214	
E	E	194	P	215	
A	A	195	P	216	
T	T	196	P	217	
S	S	197	P	218	
V	V	198	P	219	
C	C	199	P	220	
I	I	200	P	221	
L	L	201	P	222	
N	N	202	P	223	
P	P	203	P	224	
R	R	204	P	225	
E	E	205	P	226	
A	A	206	P	227	
T	T	207	P	228	
S	S	208	P	229	
V	V	209	P	230	
C	C	210	P	231	
I	I	211	P	232	
L	L	212	P	233	
N	N	213	P	234	
P	P	214	P	235	
R	R	215	P	236	
E	E	216	P	237	
A	A	217	P	238	
T	T	218	P	239	
S	S	219	P	240	
V	V	220	P	241	
C	C	221	P	242	
I	I	222	P	243	
L	L	223	P	244	
N	N	224	P	245	
P	P	225	P	246	
R	R	226	P	247	
E	E	227	P	248	
A	A	228	P	249	
T	T	229	P	250	
S	S	230	P	251	
V	V	231	P	252	
C	C	232	P	253	
I	I	233	P	254	
L	L	234	P	255	
N	N	235	P	256	
P	P	236	P	257	
R	R	237	P	258	
E	E	238	P	259	
A	A	239	P	260	
T	T	240	P	261	
S	S	241	P	262	
V	V	242	P	263	
C	C	243	P	264	
I	I	244	P	265	
L	L	245	P	266	
N	N	246	P	267	
P	P	247	P	268	
R	R	248	P	269	
E	E	249	P	270	
A	A	250	P	271	
T	T	251	P	272	
S	S	252	P	273	
V	V	253	P	274	
C	C	254	P	275	
I	I	255	P	276	
L	L	256	P	277	
N	N	257	P	278	
P	P	258	P	279	
R	R	259	P	280	
E	E	260	P	281	
A	A	261	P	282	
T	T	262	P	283	
S	S	263	P	284	
V	V	264	P	285	
C	C	265	P	286	
I	I	266	P	287	
L	L	267	P	288	
N	N	268	P	289	
P	P	269	P	290	
R	R	270	P	291	
E	E	271	P	292	
A	A	272	P	293	
T	T	273	P	294	
S	S	274	P	295	
V	V	275	P	296	
C	C	276	P	297	
I	I	277	P	298	
L	L	278	P	299	
N	N	279	P	300	
P	P	280	P	301	
R	R	281	P	302	
E	E	282	P	303	
A	A	283	P	304	
T	T	284	P	305	
S	S	285	P	306	
V	V	286	P	307	
C	C	287	P	308	
I	I	288	P	309	
L	L	289	P	310	
N	N	290	P	311	
P	P	291	P	312	
R	R	292	P	313	
E	E	293	P	314	
A	A	294	P	315	
T	T	295	P	316	
S	S	296	P	317	
V	V	297	P	318	
C	C	298	P	319	
I	I	299	P	320	
L	L	300	P	321	
N	N	301	P	322	
P	P	302	P	323	
R	R	303	P	324	
E	E	304	P	325	
A	A	305	P	326	
T	T	306	P	327	
S	S	307	P	328	
V	V	308	P	329	
C	C	309	P	330	
I	I	310	P	331	
L	L	311	P	332	
N	N	312	P	333	
P	P	313	P	334	
R	R	314	P	335	
E	E	315	P	336	
A	A	316	P	337	
T	T	317	P	338	
S	S	318	P	339	
V	V	319	P	340	
C	C	320	P	341	
I	I	321	P	342	
L	L	322	P	343	
N	N	323	P	344	
P	P	324	P	345	
R	R	325	P	346	
E	E	326	P	347	
A	A	327	P	348	
T	T	328	P	349	
S	S	329	P	350	
V	V	330	P	351	
C	C	331	P	352	
I	I	332	P	353	
L	L	333	P	354	
N	N	334	P	355	
P	P	335	P	356	
R	R	336	P	357	
E	E	337	P	358	
A	A	338	P	359	
T	T	339	P	360	
S	S	340	P	361	
V	V	341	P	362	
C	C	342	P	363	
I	I	343	P	364	
L	L	344	P	365	
N	N	345	P	366	
P	P	346	P	367	
R	R	347	P	368	
E	E	348	P	369	
A	A	349	P	370	
T	T	350	P	371	
S	S	351	P	372	
V	V	352	P	373	
C	C	353	P	374	
I	I	354	P	375	
L	L	355	P	376	
N	N	356	P	377	
P	P	357	P	378	
R	R	358	P	379	
E	E	359	P	380	
A	A	360	P	381	
T	T	361	P	382	
S	S	362	P	383	
V	V	363	P	384	
C	C	364	P	385	
I	I	365	P	386	
L	L	366	P	387	
N	N	367	P	388	
P	P	368	P	389	
R	R	369	P	390	
E	E	370	P	391	
A	A	371	P	392	
T	T	372	P	393	
S	S	373	P	394	
V	V	374	P	395	
C	C	375	P	396	
I	I	376	P	397	
L	L	377	P	398	
N	N	378	P	399	
P	P	379	P	400	
R	R	380	P	401	
E	E	381	P	402	
A	A	382	P	403	
T					

도면15ac

Eu 번호	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124
Eu 번호	6078	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6263	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	4450	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6297	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6239	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6232	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6259	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6292	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	4462	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6265	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	6253	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	4497	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											
	4487	S	V	T	I	S	F	N	R	G	E	C											

* 별표로 표시된 경색Eu 위치는 약물 접합을 위해 Cys로 변환시킬 수 있다

도면15ba

캐벳 번호	Heavy Chain		CDR H1 - 캐벳		CDR H1 - 접촉	
	CDR H2 - 접촉		CDR H2 - 캐벳		CDR H2 - 접촉	
6078	Q	G	P	E	W	M
6263	Q	G	P	E	W	M
4450	E	V	Q	E	W	M
6297	Q	V	Q	I	Q	S
6239	Q	V	Q	I	Q	S
6232	Q	I	T	I	K	S
6259	E	V	Q	I	K	S
6292	Q	V	Q	I	K	S
4462	Q	V	Q	I	K	S
6265	E	V	Q	I	K	S
6253	E	V	Q	I	K	S
4497	E	V	Q	I	K	S
4487	Q	V	Q	I	K	S
43	44	45	46	47	48	49
50	51	52	52a	53	54	55
55	56	57	58	59	60	61
62	63	64	65	66	67	68
69	70	71	72	73	74	75
76	77	78	79	80	81	82
82a						

도면 15bb

도면15bc

Eu 번호	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242
6078	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I				
6263	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
4450	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
6297	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
6239	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
6232	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
6259	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
6292	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
4462	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
6265	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
6253	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
4497	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				
4487	I	S	S	G	A	I	T	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G				

도면 15bd

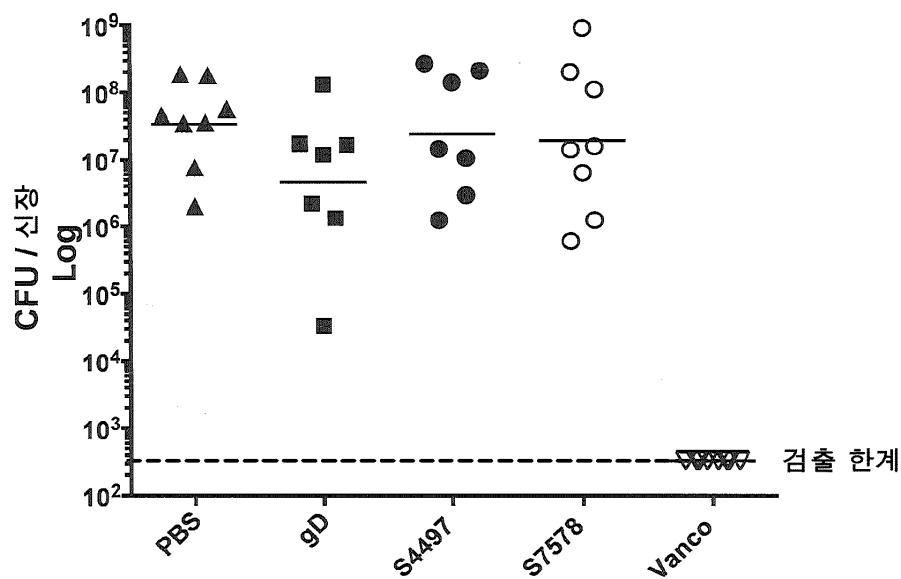
도면 15be

도면 15bf

도면16

	93	94	95	96	97	98	99	101	102	ELISA
WT (v1)	A	R	G	D	G	G	L	D	D	+++
v7				D	G				E	+
v2				D	G				Y	+
v4				D	A				D	+
v19				D	A				E	+/-
v8				E	G				D	+++
v20				E	G				E	+/-
v5				A	G				D	++
v11				A	G				E	+
v18				A	G				Y	+

도면17



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC. ET AL.

<120> ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS ANTIBODY RIFAMYCIN CONJUGATES AND USES

THEREOF

<130> P32433-W0

<140><141><150> 62/087,184

<151> 2014-12-03

<160> 180

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 1

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Arg Ala Asn Asn Asn Tyr Tyr Val

Ala

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 2

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Phe

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 3

Gln Gln Tyr Tyr Thr Ser Arg Arg Thr

1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 4

Asp Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 5

Trp Ile Asn Pro Lys Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 6

Asp Cys Gly Ser Gly Gly Leu Arg Asp Phe

1 5 10

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 7

Arg Ser Asn Gln Asn Leu Leu Ser Ser Ser Asn Asn Asn Tyr Leu Ala

1 5 10 15

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 8

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 9

Gln Gln Tyr Tyr Ala Asn Pro Arg Thr

1 5

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 10

Asp Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 11

Trp Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe Arg

1 5 10 15

Asp

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 12

Asp Cys Gly Arg Gly Gly Leu Arg Asp Ile

1 5 10

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 13

Lys Ser Asn Gln Asn Val Leu Ala Ser Ser Asn Asp Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210

> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 14

Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser

1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 15

Gln Gln Tyr Tyr Thr Asn Pro Arg Thr

1 5

<210> 16

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 16

Asp Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 17

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

1 5 10 15

Gly

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 18

Asp Cys Gly Asn Ala Gly Leu Arg Asp Ile

1 5 10

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 19

Lys Ser Ser Gln Asn Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210

> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 20

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 21

Gln Gln Tyr Tyr Thr Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5 10

<210> 22

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 22

Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 23

Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Lys Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 24

<211>

> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 24

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

1 5 10 15

Leu Gly Ala Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Gly Val

20 25

<210> 25

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 25

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Arg

20 25 30

Ala Asn Asn Asn Tyr Tyr Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Phe Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Asn Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Thr Ser Arg Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 26

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 26

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser 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 Asn Pro Lys Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Lys Asp Cys Gly Ser Gly Gly Leu Arg Asp Phe Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 27

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Asn Gln Asn Leu Leu Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Leu Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr

85 90 95

Tyr Ala Asn Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 28

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50	55	60	
Arg Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ala Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Leu Glu Met Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Lys Asp Cys Gly Arg Gly Leu Arg Asp Ile Trp Gly Pro Gly			
100	105	110	
Thr Met Val Thr Val Ser Ser			
115			

<210> 29

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 29

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

Pro Leu Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val			
50	55	60	

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

Asn

<210> 30

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Cys Gly Asn Ala Gly Leu Arg Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 31

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Tyr Thr Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu

100 105 110

Ile Glu

<210> 32

<211> 138

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 32

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Lys Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser Leu Gly Ala Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Gly Val Trp

115 120 125

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 33

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 34

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400>

> 35

Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe Asn

1 5

<210> 36

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 36

Ser Tyr Asp Ile Asn

1 5

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 37

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

1 5 10 15

Gly

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 38

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

1 5 10 15

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 39

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 40

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400

> 41

Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe Asn

1 5

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 42

Ser Tyr Asp Ile Asn

1 5

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 43

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

1 5 10 15

Gly

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 44

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

1 5 10 15

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 45

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

1 5 10

<210> 46

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 46

Glu Thr Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 47

His Lys Tyr Gly Ser Gly Pro Arg Thr

1 5

<210> 48

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 48

Asn Tyr Asp Phe Ile

1 5

<210> 49

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 49

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

1 5 10 15

Gly

<210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 50

Ala Val Arg Gly Gln Leu Leu Ser Glu Tyr

1 5 10

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 51

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 52

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 53

Gln Lys Tyr Gly Ser Thr Pro Arg Pro

1 5

<210> 54

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 54

Ser Tyr Asp Ile Asn

1 5

<210> 55

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 55

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 56

Glu Arg Trp Ser Lys Asp Thr Gly His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 57

Arg Ala Ser Leu Asp Ile Thr Asn His Leu Ala

1 5 10

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 58

Glu Ala Ser Ile Leu Gln Ser

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 59

Glu Lys Cys Asn Ser Thr Pro Arg Thr

1 5

<210> 60

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 60

Asn Tyr Asp Ile Asn

1 5

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 61

Trp Met Asn Pro Ser Ser Gly Arg Thr Gly Tyr Ala Pro Lys Phe Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 62

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 62

Gly Gly Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Asn Tyr His Ile Ser Gly Leu

1 5 10 15

Asp Val

<210> 63

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 63

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

1 5 10

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 64

Gly Val Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 65

Gln Leu Tyr Thr Ser Ser Arg Ala Leu Thr

1 5 10

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 66

Ala Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 67

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 67

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

1 5 10 15

Gly

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 68

Leu Ala Ala Arg Ile Met Ala Thr Asp Tyr

1 5 10

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 69

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Gly Leu Gly

1 5 10

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 70

Pro Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 71

Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 72

<211> 5

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 72

Tyr Tyr Ser Met Ile

1 5

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 73

Ser Ile Asp Ser Ser Ser Arg Tyr Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 74

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 74

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

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Gly Leu Gly

1 5 10

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 76

Pro Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 77

Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro Ser

1 5

<210> 78

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 78

Tyr Tyr Ser Met Ile

1 5

<210> 79

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 79

Ser Ile Asp Ser Ser Ser Arg Tyr Arg Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 80

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 80

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

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 81

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 82

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 83

Leu Gln Tyr Asn Thr Trp Pro Arg Thr

1 5

<210> 84

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 84

Thr Asn Asp Met Ser

1 5

<210> 85

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 85

Thr Ile Ile Gly Ile Asp Asp Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 86

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 86

Asn Ser Gly Ile Tyr Ser Phe

1 5

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 87

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Ser Leu Ala

1 5 10

<210>

88

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 88

Ala Thr Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 89

Gln Gln Leu Asn Asn Tyr Val His Ser

1 5

<210> 90

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 90

Asp Tyr Ala Met Gly

1 5

<210> 91

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 91

Val Val Thr Gly His Ser Tyr Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 92

Arg Ile Trp Ser Tyr Gly Asp Asp Ser Phe Asp Val

1 5 10

<210> 93

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 93

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asp Arg Leu Ala

1 5 10

<210> 94

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 94

Trp Ala Ser Asn Leu Glu Gly

1 5

<210> 95

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 95

Gln Gln Tyr Lys Ser Gln Trp Ser

1 5

<210> 96

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 96

Ser Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 97

Tyr Ile Ser Ser Ile Glu Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 98

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 98

Asp Arg Leu Val Asp Val Pro Leu Ser Ser Pro Asn Ser

1 5 10

<210> 99

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 99

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

1 5 10 15

Asn

<210> 100

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 100

Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser

1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 101

Gln Gln Tyr Phe Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 102

Ser Phe Trp Met His

1 5

<210> 103

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 103

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

1 5 10 15

Gly

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 104

Gly Asp Gly Gly Leu Asp Asp

1 5

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 105

Arg Ala Ser Gln Phe Thr Asn His Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 106

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 106

Val Ala Ser Asn Leu Gln Ser

1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 107

Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 108

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 108

Ser Gly Tyr Tyr Asn

1 5

<210> 109

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 109

Tyr Ile Leu Ser Gly Ala His Thr Asp Ile Lys Ala Ser Leu Gly Ser

1 5 10 15

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 110

Ser Gly Val Tyr Ser Lys Tyr Ser Leu Asp Val

1 5 10

<210> 111

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 111

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe

85 90 95

Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 112

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Glu"

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Ile" or "Val"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(124)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 112

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

1 5 10 15

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

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

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
 100 105 110

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

115 120

<210> 113

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 113

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe

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

115	120	125	
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
130	135	140	
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
145	150	155	160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
165	170	175	
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			

180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		

210		
<210> 114		
<211> 453		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><221> source		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic		
polypeptide"		

<400> 114			
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15

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

50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp		
100	105	110
Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys		
115	120	125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly		
130	135	140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro		
145	150	155
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr		
165	170	175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val		
180	185	190
Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn		
195	200	205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro		
210	215	220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
225	230	235
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
245	250	255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
260	265	270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
275	280	285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
290	295	300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 305 310 315 320
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 325 330 335

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

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445
 Ser Leu Ser Pro Gly
 450

<210> 115

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 115

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 116

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Ile" or "Val"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(453)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 116

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

115 120 125

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

130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

165 170 175

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 117

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Ile" or "Val"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(453)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 117

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100	105	110
Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys		
115	120	125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly		
130	135	140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro		
145	150	155
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr		
165	170	175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val		
180	185	190
Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn		
195	200	205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro		
210	215	220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
225	230	235
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
245	250	255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
260	265	270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
275	280	285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
290	295	300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
305	310	315
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
325	330	335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
340	345	350

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

355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385 390 395 400

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

405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 118

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 118

Gly Glu Gly Gly Leu Asp Asp

1 5

<210> 119

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 119

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

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

<210> 120

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 120

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

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Asp Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 121
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 121
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr
 20 25 30
 Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Arg Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
 50 55 60

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

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

180 185 190
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 122

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 122

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

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

65 70 75 80
 Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 <210> 123
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221>
 > source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 123
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr
 20 25 30
 Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Arg Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val

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

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

115	120	125	
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn			
130	135	140	
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu			
145	150	155	160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp			
165	170	175	
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr			

180	185	190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
195	200	205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	220

<210> 124
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 124
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

50	55	60
Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Glu Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
100	105	110
Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala		
115	120	125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu		
130	135	140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly		
145	150	155
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser		
165	170	175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu		
180	185	190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr		
195	200	205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr		
210	215	220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe		
225	230	235
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro		
245	250	255
Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val		
260	265	270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr		
275	280	285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
290	295	300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440
 <210> 125
 <400> 125
 000
 <210> 126
 <400> 126
 000
 <210> 127
 <211> 448

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 127

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445
<210> 128		
<400> 128		
000		
<210> 129		
<400> 129		
000		
<210> 130		

<400> 130
 000
 <210> 131
 <400> 131
 000
 <210> 132
 <400> 132
 000
 <210> 133
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 133
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

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

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

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly
 450
 <210> 134
 <211> 450
 <212
 > PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 134
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
145	150	155
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
225	230	235
Gly Pro Ser Val Phe Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
340	345	350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 135

<400> 135

000

<210> 136

<400> 136

000

<210> 137

<400> 137

000

<210> 138

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 138

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

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe			
20	25	30	
Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile			
35	40	45	
Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Gly Asp Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
100	105	110	
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala			
115	120	125	
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu			
130	135	140	
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly			
145	150	155	160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser			
165	170	175	
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu			
180	185	190	
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr			
195	200	205	
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr			
210	215	220	
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe			
225	230	235	240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro			
245	250	255	

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

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

435 440 445

<210> 139

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 139

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

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

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
 100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys
 115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 195 200 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 210 215 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

340 345 350

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

355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385 390 395 400

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

405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 140

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 140

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

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

100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
195 200 205Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

340 345 350

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

355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385 390 395 400

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

405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 141

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 141

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
100 105 110Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys
115 120 125Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

290

295

300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

325

330

335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

340

345

350

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

355

360

365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370

375

380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385 390 395 400

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

405

410

415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420

425

430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435

440

445

Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 142

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 142

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

115 120 125

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

130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

340 345 350

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

355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385 390 395 400

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

405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420 425 430
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

 435 440 445
 Ser Leu Ser Pro Gly
 450
 <210> 143
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 143
 Glu 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 Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

 Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
 100 105 110
 Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys
 115 120 125
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

290	295	300
-----	-----	-----

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

325	330	335
-----	-----	-----

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

340	345	350
-----	-----	-----

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

355	360	365
-----	-----	-----

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370	375	380
-----	-----	-----

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

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

405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 144

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 144

Glu 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 Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

115 120 125

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

130	135	140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro		
145	150	155
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr		
165	170	175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val		
180	185	190
Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn		
195	200	205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro		
210	215	220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
225	230	235
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
245	250	255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
260	265	270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
275	280	285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
290	295	300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
305	310	315
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
325	330	335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
340	345	350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn		
355	360	365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		

370 375 380
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

 385 390 395 400
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445
 Ser Leu Ser Pro Gly
 450
<210
> 145
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 145
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr
20 25 30
Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

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

100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Pro Cys Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215 220

<210> 146

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 146

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

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

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

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

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

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

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355	360	365
-----	-----	-----

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

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

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

405	410	415
-----	-----	-----

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420	425	430
-----	-----	-----

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

435	440	445
-----	-----	-----

<210> 147

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 147

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290	295	300	
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys			
305	310	315	320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser			
325	330	335	
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro			
340	345	350	
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val			
355	360	365	
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly			
370	375	380	
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp			
385	390	395	400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp			
405	410	415	
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His			
420	425	430	
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	
<210> 148			
<211> 330			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><221> source			
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"			
<400> 148			
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 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 Glu Glu

225 230 235 240

Met 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

325

330

<210> 149

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 149

Cys 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 Glu Glu
 225 230 235 240
 Met 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
 325 330
 <210> 150
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 151

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

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

<210> 152

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 152

cccagactgc accagctgga tctctgaatg tactccagtt gc 42

<210> 153

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 153

ccagactgca ccagctgcac ctctgaatgt actccagttt c 41

<210> 154

<211> 61

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 154

ccagggttcc ctggcccaaw tmgtcaagtc cascwkccacc tcttgacag taatagacag 60

c 61

<210> 155

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 155

cctggccca gtcgtaagt ctccttcac ctctgcaca gtaatagaca gc 52

<210> 156

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 156

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 157

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 157

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420	425	430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445
<210> 158		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><221> source		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400> 158		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp		
20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe		
85	90	95
Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		

165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 159
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 159
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Ser Arg Thr
 20 25 30

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

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

130	135	140	
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser			
145	150	155	160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu			
165	170	175	
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val			
180	185	190	
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys			
195	200	205	
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215		
<210> 160			
<211> 215			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			

<220><221> source			
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic			
polypeptide"			
<400> 160			
Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser			
20	25	30	
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Val Leu			
35	40	45	

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 161

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 161

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Leu Asp Ile Thr Asn His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Glu Lys Cys Asn Ser Thr Pro Arg

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 162

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 162

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ala Ile

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Glu Pro Gly Arg Ala Pro Thr Leu Leu

35 40 45

Phe Tyr Gly Val Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Cys Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Leu Tyr Thr Ser Ser Arg

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 163

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 163

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Gly

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Pro Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 164

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 164

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

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

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

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro85 90 95
Ser Phe Ser Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

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

130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

195

200

205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 165

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 165

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

1

5

10

15

Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Thr Asn

20

25

30

Val Ala Trp Tyr Arg His Lys Ala Gly Gln Ala Pro Met Ile Leu Val

35

40

45

Ser Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Ala Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Ser

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Thr Trp Pro Arg

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210
 <210> 166
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 166
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 167
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 167
 Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

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

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

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

 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 168
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 168
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Phe Thr Asn His Tyr
 20 25 30

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Ser Arg Leu Glu Met Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 169

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 169

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190
 Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 195 200 205
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 210 215 220
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 245 250 255
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 260 265 270
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

340 345 350

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

355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385 390 395 400

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

405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly

450

<210> 170

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 170

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Ile Ile Asn Tyr

20 25 30

Asp Phe Ile Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ala Val Arg Gly Gln Leu Leu Ser Glu Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

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

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

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

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 171

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 171

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Leu Thr Met Thr Lys Asn Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Glu Arg Trp Ser Lys Asp Thr Gly His Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

450 455

<210> 172

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 172

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Met Asn Pro Ser Ser Gly Arg Thr Gly Tyr Ala Pro Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Asn Tyr His Ile Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230 235 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 260 265 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 275 280 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 290 295 300

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 325 330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 340 345 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 355 360 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 370 375 380

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 420 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 450 455

<210> 173

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 173

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

1 5 10 15

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195

200

205

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

210

215

220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

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

290

295

300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325

330

335

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

340

345

350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355

360

365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370

375

380

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

385 390 395 400

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

405

410

415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420

425

430

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

435

440

445

<210> 174

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 174

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Asp Ser Ser Arg Tyr Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

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

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

435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

450 455

<210> 175

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 175

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Asn Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Tyr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Asp Ser Ser Arg Tyr Arg Tyr Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

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

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

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

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

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

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

355	360	365
-----	-----	-----

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

370	375	380
-----	-----	-----

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

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

450 455

<210> 176

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 176

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Asn

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Gln Trp Val

35 40 45

Ser Thr Ile Ile Gly Ile Asp Asp Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Met Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Lys Asn Ser Gly Ile Tyr Ser Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115

120

125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130

135

140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165

170

175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180

185

190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195

200

205

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

210

215

220

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

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

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

290

295

300

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

305 310 315 320

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

325

330

335

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

340

345

350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355

360

365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

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

435 440 445

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 177

Ala Arg Gly Asp Gly Gly Leu

1 5

<210> 178

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 178

Ala Arg Gly Asp Ala Gly Leu

1 5

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 179

Ala Arg Gly Glu Gly Gly Leu

1 5

<210> 180

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 180

Ala Arg Gly Ala Gly Gly Leu

1 5