(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0053000
(43) 공개일자 2022년04월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2896 (2013.01)
A61P 31/18 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7010200
(22) 출원일자(국제) 2020년08월28일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년03월28일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/074049
(87) 국제공개번호 WO 2021/038023
국제공개일자 2021년03월04일
(30) 우선권주장
1912437.9 2019년08월30일 영국(GB)

(71) 출원인
글락소스미스클라인 인털렉츄얼 프로퍼티 디벨로프먼트 리미티드
영국 미들섹스 브렌트포드 그레이트 웨스트 로드 980 (우: 티더블유8 9지에스)
(72) 발명자
베일리, 제임스 매튜
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬스 우드 로드 글락소스미스클라인 내
보우마, 거번
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬스 우드 로드 글락소스미스클라인
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 오승현

전체 청구항 수 : 총 92 항

(54) 발명의 명칭 **CR2 결합 단백질 및 의료 요법에서의 그의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질, 상기 CR2 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물, 및 자가면역 및/또는 염증성 상태, 감염성 질환 및 엡스타인-바르 바이러스 (EBV)와 연관된 악성종양의 치료 또는 예방에서의 그의 용도; 및 백신 아주반트/항원 담체로서의 그의 용도를 제공한다.

(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자
버든, 마이클 닐
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
디메치, 캐롤린 제이
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
딕슨, 데이비드
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
도스 산토스 크루즈 데 만토스, 가브리엘라
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
엘슨, 크리스티안
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
후크, 로라 제이
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
키친, 셈라
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
레코바, 엘레오노라
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
마두라, 에밀리
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인 내
니스탈라, 키란
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인
장, 지엔
영국 에스지1 2엔와이 허트포드셔 스티버니지 건넬 스 우드 로드 글락소스미스클라인

명 세 서

청구범위

청구항 1

인간 CR2에 결합하며, 인간 CR2의 2개의 짧은 보체 반복 도메인 사이의 링커 내 및/또는 C-말단 근처의 1개 이상의 잔기에 결합하는 CR2 결합 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열식별번호: 2 및/또는 서열식별번호: 71 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질.

청구항 3

제2항에 있어서, 서열식별번호: 2 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질.

청구항 4

제2항에 있어서, 서열식별번호: 71 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질.

청구항 5

HDX-MS 분석에서 CR2의 잔기 66 내지 70 (서열식별번호: 2)을 중수소 교환으로부터 보호하는 CR2 결합 단백질.

청구항 6

HDX-MS 분석에서 CR2의 잔기 66 내지 70 (서열식별번호: 2) 및/또는 잔기 104-127 (서열식별번호: 71)을 중수소 교환으로부터 보호하는 CR2 결합 단백질.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항체인 CR2 결합 단백질.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체인 CR2 결합 단백질.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 모노클로날 항체가 IgG1 또는 IgG4인 CR2 결합 단백질.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 모노클로날 항체가 IgG1인 CR2 결합 단백질.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 감소된 ADCC 및/또는 보체 활성화 또는 이펙터 기능성을 갖도록 불변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 12

제11항에 있어서, 불변 영역이 위치 235 및 237 (EU 인덱스 넘버링)에서 알라닌 잔기로의 치환을 포함하는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 13

제11항에 있어서, 불변 영역이 위치 234 및 235 (EU 인덱스 넘버링)에서 알라닌 잔기로의 치환을 포함하는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 인간, 인간화 또는 키메라 CR2 결합 단백질인 CR2 결합 단백질.

청구항 15

제14항에 있어서, 인간 CR2 결합 단백질인 CR2 결합 단백질.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 CDR: 서열식별번호: 5로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 6으로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, CR2 결합 단백질의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 18

제17항에 있어서, CR2 결합 단백질의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, CR2 결합 단백질의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 20

제19항에 있어서, CR2 결합 단백질의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 6에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 5에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 4에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 24

제1항 내지 제12항 및 제14항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 3에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 25

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 CDR: 서열식별번호: 17로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 18로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 26

제1항 내지 제15항 및 제25항 중 어느 한 항에 있어서, CR2 결합 단백질의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 27

제26항에 있어서, CR2 결합 단백질의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 28

제1항 내지 제15항 및 제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, CR2 결합 단백질의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 29

제28항에 있어서, CR2 결합 단백질의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 30

제1항 내지 제15항 및 제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 18에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 31

제1항 내지 제15항 및 제25항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 17에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 32

제1항 내지 제15항 및 제25항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 16에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 33

제1항 내지 제12항, 제14항, 제15항 및 제25항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 15에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 34

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 CDR: 서열식별번호: 29로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 30으로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 35

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, CR2 결합 단백질의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 36에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서

CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 36

제35항에 있어서, CR2 결합 단백질의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 36에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 37

제1항 내지 제15항 및 제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, CR2 결합 단백질의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 38

제37항에 있어서, CR2 결합 단백질의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 39

제1항 내지 제15항 및 제34항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 30에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 40

제1항 내지 제15항 및 제34항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 29에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 41

제1항 내지 제15항 및 제34항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 28에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 CR2 결합 단백질.

청구항 42

제1항 내지 제12항, 제14항, 제15항 및 제34항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 서열식별번호: 27에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 것인 CR2 결합 단백질.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 단백질-CR2 상호작용의 평형 해리 상수 (KD)가 0.1 내지 1 nM인 CR2 결합 단백질.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질과 CR2에의 결합에 대해 경쟁하는 CR2 결합 단백질.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, C3d/g-코팅된 복합체와의 상호작용을 차단하는 CR2 결합 단백질.

청구항 46

제45항에 있어서, BCR:CR2 공동-라이게이션 하류의 신호전달, 활성화 및 항체 생산을 차단하고, 또한 FDC에 대한 C3d/g 항원 결합을 방지하는 CR2 결합 단백질.

청구항 47

항체의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항체.

청구항 48

제47항에 있어서, 항체의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항체.

청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서, 서열식별번호: 6에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 50

제47항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 5에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 51

제47항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 4에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 52

제47항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 3에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질을 코딩하는 핵산 분자.

청구항 54

제53항에 있어서, 서열이 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 13 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 14를 포함하는 것인 핵산 분자.

청구항 55

제53항에 있어서, 서열이 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 25 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 26을 포함하는 것인 핵산 분자.

청구항 56

제53항에 있어서, 서열이 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 37 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 38을 포함하는 것인 핵산 분자.

청구항 57

제53항 내지 제56항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.

청구항 58

제57항에 정의된 바와 같은 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포.

청구항 59

제58항에 정의된 바와 같은 재조합 숙주 세포에 의해 발현된 CR2 결합 단백질.

청구항 60

제58항에 따른 재조합 숙주 세포를 배지에서 배양하여 CR2 결합 단백질을 생산하는 단계, 및 CR2 결합 단백질을 단리 또는 정제하는 단계를 포함하는, CR2 결합 단백질을 생산하는 방법.

청구항 61

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질 및 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 62

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 요법에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질.

청구항 63

자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서의 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 쇼그렌 증후군인 치료 방법.

청구항 65

제63항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 류마티스 관절염인 치료 방법.

청구항 66

제63항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 전신 홍반성 루푸스인 치료 방법.

청구항 67

제63항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 혈관염인 치료 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 혈관염이 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염인 치료 방법.

청구항 69

감염성 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서의 감염성 질환의 치료 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 감염성 질환이 HIV인 치료 방법.

청구항 71

면역화에 대한 면역 반응의 증폭을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서의 면역화에 대한 면역 반응의 증폭 방법.

청구항 72

EBV와 연관된 악성종양의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서의 EBV와 연관된 악성종양의 치료 방법.

청구항 73

자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료를 위한 의약의 제조에서의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질의 용도.

청구항 74

제73항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 쇼그렌 증후군인 용도.

청구항 75

제73항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 류마티스 관절염인 용도.

청구항 76

제73항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 전신 홍반성 루푸스인 용도.

청구항 77

제73항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 혈관염인 용도.

청구항 78

제77항에 있어서, 혈관염이 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염인 용도.

청구항 79

감염성 질환의 치료를 위한 의약의 제조에서의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질의 용도.

청구항 80

제79항에 있어서, 감염성 질환이 HIV인 용도.

청구항 81

면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키기 위한 백신의 제조에서의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질의 용도.

청구항 82

EBV와 연관된 악성종양의 치료를 위한 의약의 제조에서의 제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 CR2 결합 단백질의 용도.

청구항 83

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질.

청구항 84

제83항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 쇼그렌 증후군인 CR2 결합 단백질.

청구항 85

제83항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 류마티스 관절염인 CR2 결합 단백질.

청구항 86

제83항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 전신 홍반성 루푸스인 CR2 결합 단백질.

청구항 87

제83항에 있어서, 자가면역 및/또는 염증성 상태가 혈관염인 CR2 결합 단백질.

청구항 88

제87항에 있어서, 혈관염이 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염인 CR2 결합 단백질.

청구항 89

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 감염성 질환의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질.

청구항 90

제89항에 있어서, 감염성 질환이 HIV인 CR2 결합 단백질.

청구항 91

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, EBV와 연관된 악성종양의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질.

청구항 92

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키는데 사용하기 위한 CR2 결합 단백질.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 보체 수용체 2 (CR2 또는 CD21)에 결합하여 이를 중화시키는 CR2 결합 단백질에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 CR2 결합 단백질을 사용하여 질환 또는 장애를 치료하는 방법 및 CR2 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 다른 측면은 하기 설명으로부터 명백할 것이다.

배 경 기 술

[0002] 보체계는 침입 병원체에 대한 선천성 면역 반응의 일부인, 진화상 보존된 혈장 단백질의 세트이다. 보체의 단백질분해 활성화는 활성화 표면 상에서 발생하여, 적응 면역 반응의 조정을 포함한 다양한 이펙터 기능을 갖는 활성 보체 성분의 침착을 유발한다. CD21로도 공지된 보체 수용체 2 (CR2)는 B 림프구 및 여포성 수지상 세포 (FDC) 상에서 우세하게 발현되는 145 kDa의 막 결합 당단백질이며, 선천성 면역과 적응성 면역 사이의 가교로서 작용한다. CR2는 가장 작은 공유 결합된 보체 성분 3 (C3) 단편인 C3dg 및 C3d (함께 C3d/g로 지칭됨)에 대한 수용체이고, iC3b에 대해 보다 약한 결합을 갖는다. 인터페론 알파, 이중-가닥 DNA 및 엡스타인-바르 바이러스 gp350/220이 또한 CR2에 대한 리간드로서 기재되어 있다.

[0003] CR2는 적응 면역 반응에서 1) 옵소닌화된 항원에 결합하고, 이를 림프성 조직으로 수송하여 그에 유지시키고, 2) B 세포 활성화의 역치를 감소시키고, 3) B 세포 - FDC 크로스 토크를 통해 친화도 성숙 및 배 중심 형성을 유도함으로써 3가지의 중추적 역할을 한다. 인간에서의 이들 메카니즘의 중요성은 CR2 결핍의 드문 사례에 의해 확인되며; 환자는 유의하게 더 적은 기억 B 세포를 갖고, 감소된 항체 다양성 및 혈청 이뮤노글로불린 수준을 갖는다.

[0004] 배 중심 (GC), 및 자가면역과 관련하여, 1차 및 2차 림프성 기관 외부에서 형성되는 이소성 림프성 구조 (ELS)는 자가면역 반응에 중추적이다. GC 및 ELS 형성, 유지 및 생산성에서의 CR2의 역할은 수-배이다 (도 1 참조):

[0005] 1) 순환계의 비-동족 B 세포 상 및 GC 및 ELS 내 C3d/g-옵소닌화된 항원의 운반;

[0006] 2) GC/ELS 내 C3d/g-옵소닌화된 항원에 의한 B 세포 활성화의 역치 저하;

[0007] 3) CR2/BCR 공동-라이게이션 하류의 B 세포 산출물, 예를 들어 항체 생산의 자극;

[0008] 4) B 세포에 제시하기 위한 FDC 저장소 내 C3d/g-옵소닌화된 항원의 보유; 및

[0009] 5) FDC 기능, 예를 들어 시토카인 생산의 활성화.

[0010] 이들 CR2-의존성 메카니즘의 파괴는 항원 이용가능성의 감소, FDC:B 세포 상호작용의 파괴, 항원-특이적 항체의

감소, 및 B 세포와의 T 여포성 헬퍼 (Tfh) 세포 크로스토크의 파괴를 포함하여, GC/ELS에 대해 주요 영향을 갖는 것으로 예측된다.

[0011] 많은 자가면역 및/또는 염증성 상태는 높은 수준의 자가항체를 특징으로 하며, 이는 면역 관용의 실패 및 B 세포 활성화의 조절이상을 시사한다. 자가면역 질환, 예컨대 쇼그렌 증후군, 전신 홍반성 루푸스 (SLE) 또는 류마티스 관절염 (RA)의 경우, CR2-차단 분자로 보체 C3d/g-CR2 상호작용을 차단하는 것은 B 세포에 대한 활성화 역치를 증가시키고, 자기-항원에 반응한 자가항체 생산 B 세포의 활성화 및 확장을 방지할 것이다.

[0012] 바이러스성 질환, 예를 들어 HIV는 FDC 및 림프 조직 내의 장기-생존 바이러스 저장소의 지속성으로 인해 치료하기 어려울 수 있다. 항원 결합, 1년 초과의 보유, 및 제시는 C3 단편-코팅된 항원의 CR2-의존성 포획에 크게 의존적이다. C3d/g-옵소닌화된 항원이 변연부 (MZ) B 세포로부터 FDC로 전달되면, 무손상 항원은 작은 비-분해 엔도솜 소포에 의해 신속하게 내재화된다. 이어서, 이들 소포는 세포 표면으로 주기적으로 재순환되고, 여기서 무손상 항원 및 다른 FDC 표면 단백질이 동족 B 세포에 의해 인식되고 획득될 수 있다. 유사하게, C3d/g-옵소닌화된 HIV 비리온도 포획되어, 장기-생존 바이러스 저장소를 대표하는 이들 비-분해 엔도솜에서 장기간 유지된다.

[0013] CR2에 결합하는 분자는 면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키기 위한 아주반트/항원 담체로서 사용될 수 있다. 항-CR2 항체에 커플링된 저용량의 항원은 마우스 및 시노몰구스 원숭이에서 신속하고 지속적인 IgG 면역 반응을 유도하는 것으로 밝혀졌다 (Whipple, E.C. et al., Mol. Immunol., 2007. 44(4): p. 377-388). 요약하면, 자가면역 및/또는 염증성 상태, 감염성 질환, 및 B 세포 활성화 또는 FDC 저장소 내 C3d 또는 C3dg 옵소닌화된 항원의 보유가 연루된 다른 장애 또는 상태의 치료에 대한 필요가 남아있다. 또한, 대안적인 백신 아주반트 및 항원 담체에 대한 필요가 남아있다.

발명의 내용

[0014] 본 발명은 CR2의 신규 에피토프에 결합하고 CR2 수용체에 대한 리간드 결합을 방지하는 CR2 결합 단백질을 제공하며, 이는 이하 "CR2 결합 단백질"로 지칭된다.

[0015] 본 발명은 또한 인간 CR2의 2개의 짧은 보체 반복 도메인 사이의 링커 내 및/또는 C-말단 근처의 1개 이상의 잔기에 결합하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호(SEQ ID NO): 2 및/또는 서열식별번호: 71 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 2 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 71 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 HDX-MS 분석에서 CR2의 잔기 66 내지 70 (서열식별번호: 2)을 중수소 교환으로부터 보호한다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 HDX-MS 분석에서 CR2의 잔기 66 내지 70 (서열식별번호: 2) 및/또는 잔기 104-127 (서열식별번호: 71)을 중수소 교환으로부터 보호한다.

[0016] 본 발명은 또한 항체인 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 모노클로날 항체는 IgG1 또는 IgG4이다. 또 다른 실시양태에서, 모노클로날 항체는 IgG1이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 그의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 그의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 6에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 5에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 4에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 3에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 4에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 3에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0017] 본 발명은 또한 CR2 결합 단백질이 감소된 ADCC 및/또는 보체 활성화 또는 이펙터 기능을 갖도록 불변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질 불변 영역은 위치 235 및 237 (EU 인덱스 넘버링)에서 알라닌 잔기로의 치환을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질 불변 영역은 위치 234 및 235 (EU 인덱스 넘버링)에서 알라닌 잔기로의 치환을 포함한다.

[0018] 본 발명은 또한 인간, 인간화 또는 키메라인 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질

은 인간 CR2 결합 단백질이다.

[0019] 본 발명은 또한 하기 CDR: 서열식별번호: 5로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 6으로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 6에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 5에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 6에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 5에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 4에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 3에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 4에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 3에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0020] 본 발명은 또한 하기 CDR: 서열식별번호: 17로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 18로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 18에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 17에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 18에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 17에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 16에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 15에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 16에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 15에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0021] 본 발명은 또한 하기 CDR: 서열식별번호: 29로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 30으로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 36에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 경쇄 가변 영역에 서열식별번호: 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 35에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호:

36에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3, 또는 이들 CDR 중 하나 또는 모두의 변이체를 포함하고, 여기서 CDR 변이체는 1, 2 또는 3개의 아미노산 변형을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 그의 중쇄 가변 영역에 서열식별번호: 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열식별번호: 32에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열식별번호: 33에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 30에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 29에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 30에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 29에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 28에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 27에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 28에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 27에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0022] 본 발명은 또한 항원 결합 단백질-CR2 상호작용의 평형 해리 상수 (KD)가 0.1 내지 1 nM인 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0023] 본 발명은 또한 CR2에의 결합에 대해 CR2 결합 단백질 중 어느 하나와 경쟁하는 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0024] 본 발명은 또한 CR2 결합 단백질 중 어느 하나를 코딩하는 핵산 분자를 제공한다. 한 실시양태에서, 핵산 분자 서열은 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 13 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 14를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 핵산 분자 서열은 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 25 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 26을 포함한다. 추가 실시양태에서, 핵산 분자 서열은 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 37 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 38을 포함한다.

[0025] 본 발명은 또한 CR2 결합 단백질 중 어느 하나를 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터를 제공한다. 한 실시양태에서, 발현 벡터는 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 13 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 14를 포함하는 핵산 분자 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 발현 벡터는 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 25 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 26을 포함하는 핵산 분자 서열을 포함한다. 추가 실시양태에서, 발현 벡터는 중쇄를 코딩하는 서열식별번호: 37 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열식별번호: 38을 포함하는 핵산 분자 서열을 포함한다.

[0026] 본 발명은 또한 CR2 결합 단백질 중 어느 하나를 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를 제공한다.

[0027] 본 발명은 또한 CR2 결합 단백질 중 어느 하나를 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포에 의해 발현된 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0028] 본 발명은 또한 재조합 숙주 세포를 배지에서 배양하여 CR2 결합 단백질을 생산하는 단계, 및 CR2 결합 단백질을 단리 또는 정제하는 단계를 포함하는, CR2 결합 단백질의 생산 방법을 제공한다.

[0029] 본 발명은 또한 CR2 결합 단백질 및 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0030] 본 발명은 또한 C3d/g-코팅된 복합체와의 상호작용을 차단하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 BCR:CR2 공동-라이게이션 하류의 신호전달, 활성화 및 항체 생산을 차단하고, 또한 FDC에 대한 C3d/g 항원 결합을 방지하는 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0031] 본 발명은 또한 요법에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0032] 본 발명은 또한 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 및/또는 염증성 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 쇼그렌 증후군의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 쇼그렌 증후군을 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 류마티스 관절염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 류마티스 관절염을 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 전신 홍반성 루푸스의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 전신 홍반성

루푸스를 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 혈관염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 혈관염을 치료하는 방법이 제공된다. 추가 실시양태에서, 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 ANCA-연관 혈관염을 치료하는 방법이 제공된다.

[0033] 본 발명은 또한 감염성 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 감염성 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, HIV의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 HIV를 치료하는 방법이 제공된다.

[0034] 본 발명은 또한 면역화에 대한 면역 반응의 증폭을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키는 방법을 제공한다.

[0035] 본 발명은 또한 EBV와 연관된 악성종양의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 EBV와 연관된 악성종양을 치료하는 방법을 제공한다.

[0036] 본 발명은 또한 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 쇼그렌 증후군의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 류마티스 관절염의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 전신 홍반성 루푸스의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 혈관염의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 추가 실시양태에서, 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다.

[0037] 본 발명은 또한 감염성 질환의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, HIV의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다.

[0038] 본 발명은 또한 면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키기 위한 백신의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0039] 본 발명은 또한 EBV와 연관된 악성종양의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0040] 본 발명은 또한 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, 쇼그렌 증후군의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 류마티스 관절염의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 전신 홍반성 루푸스의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 혈관염의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 추가 실시양태에서, 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다.

[0041] 본 발명은 또한 감염성 질환의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, HIV의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다.

[0042] 본 발명은 또한 EBV와 연관된 악성종양의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0043] 본 발명은 또한 면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키는데 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0044] 본 발명의 다른 측면 및 실시양태는 하기 상세한 설명으로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1은 GC/ELS 형성 및 생산성에서의 CR2의 역할을 보여준다. CR2-의존성 과정이 제시된다.

도 2는 mAb 1053의 부재 및 존재 하의 샘플 사이에서의 CR2 펩티드의 HDX-MS 유래 차등 중수소화를 보여준다. 도 2a는 펩티드당 Da 단위의 평균 차등 흡수를 보여주고; 도 2b는 잔기당 1 Da의 최대 차등 중수소화의 백분율로서, 펩티드 잔기당 정규화된 평균 차등 흡수를 보여준다 (n개의 비-프롤린 잔기를 갖는 펩티드가 측정가능한 양성자 교환에 의해 n-2개의 아미드를 갖는다고 가정함). 각각의 펩티드는 사용된 CR2 구축물에서의 그의 위치 및 그의 서열과 함께 제시된다. 막대는 중수소화 완충제에 대한 노출 시간별로 착색된다 (0.5분 = 회색; 5분 = 흑색).

도 3: C3dg-옵소닌화된 항원에 의한 BCR 및 CR2의 공동-라이게이션을 통한 B 세포의 상승작용적 활성화를 예시한다. CR2 리간드 C3d/g에 의해 옵소닌화된 항원은 BCR 및 CR2를 공동-라이게이션시킨다. BCR은 그의 동족 항원에 결합하고, CR2는 항원 (Ag)에 공유 결합된 C3d/g에 결합한다. BCR 및 CR2의 공동-라이게이션은 CD79 (BCR과의 복합체) 및 CD19 (B 세포 보조-수용체 복합체의 일부) 둘 다를 통해 증대된 신호전달로 이어지며, 이는 하류 신호전달 및 상승작용적 B 세포 활성화로 이어진다 (문헌 [Carroll and Isenman, 2012, Immunity, 37 (2). 119-207]로부터 적합화됨).

도 4: mAb 1053과의 사전-인큐베이션이 1차 인간 비-동족 B 세포에 대한 모델 C3dg-옵소닌화된 리간드의 결합을 용량-의존성 방식으로 방지한다는 것을 입증한다.

도 5: mAb 1053과의 사전-인큐베이션이 1차 인간 비-동족 B 세포에 대한 혈청-옵소닌화된 PnPS14의 결합을 용량-의존성 방식으로 방지한다는 것을 입증한다.

도 6: mAb 1053이 1차 인간 비-동족 B 세포로부터 사전-결합된 모델 C3dg-옵소닌화된 리간드와 신속하게 경쟁한다는 것을 입증한다.

도 7: mAb 1053이 1차 인간 B 세포에서 CR2-매개된 세포내 칼슘 유동을 용량-의존성 방식으로 억제한다는 것을 입증한다.

도 8a 및 8b: mAb 1053이 1차 인간 B 세포에서 CR2-매개된 인-단백질 신호전달을 용량-의존성 방식으로 억제한다는 것을 입증한다.

도 9: mAb 1053이 1차 인간 B 세포에서 CR2-매개된 CD69 상향조절을 용량-의존성 방식으로 억제한다는 것을 입증한다.

도 10: mAb 996, mAb 999 및 mAb 1053이 1차 인간 B 세포로부터의 C3dg-의존성 이뮤노글로불린 분비를 용량-의존성 방식으로 억제한다는 것을 입증한다.

도 11: 1차 인간 편도 FDC에 대한 mAb 1053의 표적 결속을 입증한다.

도 12: mAb 1053에 의한 1차 인간 편도 FDC에 대한 모델 C3dg-옵소닌화된 리간드 결합의 용량-의존성 억제를 입증한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] 본원에 사용된 용어 "항원 결합 단백질"은 CR2에 결합할 수 있는 항체 및 다른 단백질 구축물, 예컨대 도메인을 지칭한다. 용어 "CR2 결합 단백질" 및 "항원 결합 단백질" 및 "항-CR2 항원 결합 단백질"은 본원에서 상호교환 가능하게 사용된다.

[0047] 용어 "항체"는 본원에서 가장 넓은 의미로 이뮤노글로불린-유사 도메인 (예를 들어 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE)을 갖는 분자를 지칭하는데 사용되고, 모노클로날, 재조합, 폴리클로날, 키메라, 인간, 인간화, 이중특이적 항체를 포함한 다중특이적 항체, 및 이종접합체 항체; 단일 가변 도메인 (예를 들어, 도메인 항체 (DAB)), 항원 결합 항체 단편, Fab, $F(ab')_2$, Fv, 디술피드 연결된 Fv, 단일 쇄 Fv, 디술피드-연결된 scFv, 디아바디, TANDABS 등, 및 상기 중 임의의 것의 변형된 버전을 포함한다 (대안적 "항체" 포맷의 개요에 대해, 문헌 [Holliger and Hudson, Nature Biotechnology, 2005, Vol 23, No. 9, 1126-1136] 참조).

[0048] 대안적 항체 포맷은 항원 결합 단백질의 1개 이상의 CDR이 적합한 비-이뮤노글로불린 단백질 스캐폴드 또는 골격 상에 배열될 수 있는 대안적 스캐폴드, 예컨대 아피바디, SpA 스캐폴드, LDL 수용체 부류 A 도메인, 아비머 (예를 들어, 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0053973, 2005/0089932, 2005/0164301 참조) 또는 EGF 도메인을 포함한다.

[0049] 용어 "도메인"은 폴리펩티드의 나머지와 독립적으로 그의 3차 구조를 보유하는 폴딩된 폴리펩티드 구조를 지칭한다. 일반적으로, 도메인은 폴리펩티드의 별개의 기능적 특성을 담당하고, 많은 경우에 나머지 단백질 및/또는 도메인의 기능 상실 없이 부가되거나, 제거되거나, 또는 다른 폴리펩티드에 전달될 수 있다.

[0050] 용어 "단일 가변 도메인"은 항체 가변 도메인의 서열 특징을 포함하는 폴딩된 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 따라서, 이는 완전한 항체 가변 도메인, 예컨대 VH, VHH 및 VL, 및 예를 들어 1개 이상의 루프가 항체 가변 도메인의 특징이 아닌 서열에 의해 대체된 변형된 항체 가변 도메인, 또는 말단절단되거나 N- 또는 C-말단 연장을 포함하는 항체 가변 도메인, 뿐만 아니라 적어도 전장 도메인의 결합 활성 및 특이성을 보유하는 가변 도메인의

폴딩된 단편을 포함한다. 단일 가변 도메인은 상이한 가변 영역 또는 도메인과 독립적으로 항원 또는 에피토프에 결합할 수 있다. "도메인 항체" 또는 "DAB"는 "단일 가변 도메인"과 동일한 것으로 간주될 수 있다. 단일 가변 도메인은 인간 단일 가변 도메인일 수 있지만, 또한 다른 종, 예컨대 설치류 (예를 들어, WO 00/29004 A1에 개시된 바와 같음), 너스 상어 및 낙타류 VHH DAB로부터의 단일 가변 도메인을 포함한다. 낙타류 VHH는 낙타, 라마, 알파카, 단봉낙타, 및 구아나코를 비롯한 종으로부터 유래된 이뮤노글로불린 단일 가변 도메인 폴리펩티드이며, 이는 자연적으로 경쇄가 결여된 중쇄 항체를 생산한다. 이러한 VHH 도메인은 관련 기술분야에서 이용가능한 표준 기술에 따라 인간화될 수 있고, 이러한 도메인은 "단일 가변 도메인"으로 간주된다. 본원에 사용된 VH는 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0051] 항원 결합 단편은 비-항체 단백질 스캐폴드 상의 1개 이상의 CDR의 배열에 의해 제공될 수 있다. 본원에 사용된 "단백질 스캐폴드"는 이뮤노글로불린 (Ig) 스캐폴드, 예를 들어 IgG 스캐폴드를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 이는 4쇄 또는 2쇄 항체일 수 있거나, 또는 항체의 Fc 영역만을 포함할 수 있거나, 또는 항체로부터의 1개 이상의 불변 영역을 포함할 수 있고, 불변 영역은 인간 또는 영장류 기원의 것일 수 있거나, 또는 인간 및 영장류 불변 영역의 인공 키메라일 수 있다.

[0052] 단백질 스캐폴드는 Ig 스캐폴드, 예를 들어 IgG, 또는 IgA 스캐폴드일 수 있다. IgG 스캐폴드는 항체의 도메인의 일부 또는 모두 (즉, CH1, CH2, CH3, VH, VL)를 포함할 수 있다. 항원 결합 단백질은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 IgG4PE로부터 선택된 IgG 스캐폴드를 포함할 수 있다. 예를 들어, 스캐폴드는 IgG1일 수 있다. 스캐폴드는 항체의 Fc 영역으로 이루어지거나 또는 이를 포함할 수 있거나, 또는 그의 일부이다.

[0053] 단백질 스캐폴드는 CTLA-4, 리포칼린, 단백질 A 유래 분자, 예컨대 단백질 A의 Z-도메인 (아피바디, SpA), A-도메인 (아비머/맥시바디); 열 쇼크 단백질, 예컨대 GroEl 및 GroES; 트랜스페린 (트랜스-바디); 안키린 반복 단백질 (DARPin); 펩티드 압타머; C-유형 렉틴 도메인 (테트라넥틴); 인간 γ-크리스탈린 및 인간 유비퀴틴 (아필린); PDZ 도메인; 인간 프로테아제 억제제의 전갈 독소 쿠니츠 유형 도메인; 및 피브로넥틴/애드넥틴으로 이루어진 군으로부터 선택된 스캐폴드의 유도체일 수 있고; 이는 천연 리간드 이외의 항원, 예컨대 <항원>에 대한 결합을 수득하기 위해 단백질 조작에 적용되었다.

[0054] 항원 결합 부위는 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 항원 결합 단백질 상의 부위를 지칭하며, 이는 단일 가변 도메인일 수 있거나, 또는 표준 항체 상에서 발견될 수 있는 바와 같은 쌍형성된 VH/VL 도메인일 수 있다. 단일-쇄 Fv (ScFv) 도메인은 또한 항원-결합 부위를 제공할 수 있다.

[0055] 본원에 사용된 용어 "키메라 항원 수용체" ("CAR")는 세포외 항원 결합 도메인 (통상적으로 모노클로날 항체 또는 그의 단편으로부터 유래됨, 예를 들어 scFv 형태의 VH 도메인 및 VL 도메인), 임의로 스페이서 영역, 막횡단 영역, 및 1개 이상의 세포내 이펙터 도메인으로 이루어진 조작된 수용체를 지칭한다. CAR은 또한 키메라 T 세포 수용체 또는 키메라 면역수용체 (CIR)로 지칭되었다. CAR은 목적하는 세포-표면 항원에 대한 T 세포 특이성을 재지시하기 위해 조혈 세포, 예컨대 T 세포 내로 유전자 도입되어, CAR-T 치료제를 생성한다.

[0056] 본원에 사용된 용어 "스페이서 영역"은 막횡단 도메인을 표적 결합 도메인에 연결하는 기능을 하는 올리고- 또는 폴리펩티드를 지칭한다. 이 영역은 또한 "힌지 영역" 또는 "줄기 영역"으로도 지칭될 수 있다. 스페이서의 크기는 CAR:표적 결합 시 설정 거리 (예를 들어 14 nm)를 유지하기 위해 표적 에피토프의 위치에 따라 달라질 수 있다.

[0057] 본원에 사용된 용어 "막횡단 도메인"은 세포 막을 횡단하는 CAR 분자의 부분을 지칭한다.

[0058] 본원에 사용된 용어 "세포내 이펙터 도메인" (또한 "신호전달 도메인"으로도 지칭됨)은 표적에의 항원 결합 도메인의 결합 후에 세포내 신호전달을 담당하는 CAR 내의 도메인을 지칭한다. 세포내 이펙터 도메인은 CAR이 발현되는 면역 세포의 정상 이펙터 기능 중 적어도 1종의 활성화를 담당한다. 예를 들어, T 세포의 이펙터 기능은 시토카인의 분비를 포함한 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다.

[0059] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 개시된 VH 및/또는 VL 도메인이, 예를 들어 scFv의 형태로 CAR-T 치료제 내로 혼입될 수 있다는 것을 인지할 것이다.

[0060] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 CR2 결합 단백질은 인간 CR2와 또 다른 종, 예컨대 시노몰구스 마카크 CR2로부터의 CR2 사이에서 교차-반응성을 나타낸다. 한 실시양태에서, 본 발명의 CR2 결합 단백질은 인간 및 시노몰구스 마카크 CR2에 특이적으로 결합한다. 약물 개발은 전형적으로 약물을 인간에서 시험하기 전에 동물계에서 선도 약물 후보를 시험하는 것을 필요로 하기 때문에, 이는 특히 유용하다. 인간 및 원숭이 종에 결합할 수 있는 약물의 제공은 이들 시스템에서 결과를 시험하고 동일한 약물을 사용하여 데이터를 병렬 비교하는 것을 가능하

게 한다. 이는 동물 CR2에 대해 작용하는 약물 및 인간 CR2에 대해 작용하는 별개의 약물을 발견해야 하는 필요의 복잡성을 피하고, 또한 비-동일한 약물을 사용하여 인간 및 동물에서 결과를 비교해야 하는 필요를 피한다. 질환 모델에서 사용되는 다른 종, 예컨대 개 또는 마우스 사이의 교차 반응성이 또한 고려된다.

[0061] 임의로, 적어도 시노몰구스 마카크 CR2에 대한 항원 결합 단백질의 결합 친화도 및 인간 CR2에 대한 결합 친화도는 2 또는 5배 이하로 상이하다.

[0062] "결합 친화도"로도 지칭되는 친화도는 단일 상호작용 부위에서의, 즉 한 분자, 예를 들어 본 발명의 CR2 결합 단백질의 또 다른 분자, 예를 들어 그의 표적 항원에 대한 단일 결합 부위에서의 결합의 강도이다. 항원 결합 단백질의 그의 표적에 대한 결합 친화도는 평형 방법 (예를 들어 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA) 또는 방사성면역검정 (RIA)), 또는 동역학 (예를 들어 비아코어 분석)에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 실시예 3에 기재된 비아코어 방법을 사용하여 결합 친화도를 측정할 수 있다.

[0063] 기능적 친화도로도 지칭되는 결합력은 다중 상호작용 부위에서의 결합의 누적 강도, 예를 들어 상호작용의 원자가를 고려한, 예를 들어 다중 부위에서의 2개의 분자 (또는 예를 들어 이중특이적 또는 다중특이적 분자의 경우에 그 초과)의 서로에 대한 결합의 강도의 총 합계이다.

[0064] 한 실시양태에서, 항원 결합 단백질-CR2 상호작용의 평형 해리 상수 (KD)는 1 nM 이하이다. 또 다른 실시양태에서, 항원 결합 단백질-CR2 상호작용의 평형 해리 상수 (KD)는 0.5 nM 이하이다. 대안적으로, KD는 0.1 내지 1 nM; 또는 0.2 내지 0.5 nM일 수 있다. 통상의 기술자는 KD 수치가 작을수록 결합이 더 강하다는 것을 인지할 것이다. KD의 역수 (즉, 1/KD)는 단위 M^{-1}을 갖는 평형 회합 상수 (KA)이다. 통상의 기술자는 KA 수치가 클수록 결합이 더 강하다는 것을 인지할 것이다.

[0065] 해리율 상수 (kd) 또는 "오프-레이트"는 항원 결합 단백질-CR2 복합체의 안정성, 즉 초당 붕괴되는 복합체의 분율을 기재한다. 예를 들어, 0.01 s^{-1}의 kd는 초당 1%의 복합체 붕괴와 동등하다. 한 실시양태에서, 해리 속도 상수 (kd)는 $1x10^{-4}$ s^{-1} 이하, $1x10^{-5}$ s^{-1} 이하, 또는 $1x10^{-6}$ s^{-1} 이하이다. kd는 $1x10^{-5}$ s^{-1} 내지 $1x10^{-4}$ s^{-1}; 또는 $1x10^{-4}$ s^{-1} 내지 $1x10^{-3}$ s^{-1}일 수 있다.

[0066] 회합률 상수 (ka) 또는 "온-레이트"는 항원 결합 단백질-CR2 복합체 형성률을 기재한다. 한 실시양태에서, 회합률 상수 (ka)는 1×10^{8} $M^{-1}s^{-1}$ 이하이다. 또 다른 실시양태에서, Ka는 1×10^{7} 내지 1×10^{8} $M^{-1}s^{-1}$일 수 있다.

[0067] 본 명세서 전반에 걸쳐 사용된 용어 "중화하다"는 CR2의 생물학적 활성이 시험관내 또는 생체내에서 항원 결합 단백질의 부재 하의 CR2의 활성과 비교하여 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 단백질의 존재 하에 감소되거나 차단된다는 것을 의미한다. 중화는 CR2가 그의 리간드 (즉, C3d/g)에 결합하는 것을 차단하는 것, CR2가 활성화되는 것을 방지하는 것, CR2를 하향 조절하는 것, 또는 이펙터 기능성에 영향을 미치는 것 중 1개 이상에 기인할 수 있다. 예를 들어, 실시예 2, 실시예 4 및 실시예 6 내지 11에 기재된 방법을 사용하여 CR2 결합 단백질의 중화 능력을 평가할 수 있다.

[0068] 생물학적 활성의 감소 또는 억제는 부분적이거나 전체적일 수 있다. 중화 항원 결합 단백질은 B 세포 활성화에 대한 역치를 항원 결합 단백질의 부재 하의 CR2 활성에 비해 적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 82%, 84%, 86%, 88%, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 저하시킴으로써 CR2의 활성을 중화시킬 수 있다.

[0069] 중화는 통상의 기술자에게 공지된 또는 본원에 기재된 바와 같은 1종 이상의 검정을 사용하여 결정 또는 측정될 수 있다.

[0070] "CDR"은 항원 결합 단백질의 상보성 결정 영역 아미노산 서열로서 정의된다. 이들은 이뮤노글로불린 중쇄 및 경쇄의 초가변 영역이다. 이뮤노글로불린의 가변 부분에는 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR (또는 CDR 영역)이 존재한다. 따라서, 본원에 사용된 "CDR"은 모든 3개의 중쇄 CDR, 모든 3개의 경쇄 CDR, 모든 중쇄 및 경쇄 CDR, 또는 적어도 2개의 CDR을 지칭한다.

[0071] 본 명세서 전반에 걸쳐, 전장 항원 결합 서열 내의, 예를 들어 항체 중쇄 서열 또는 항체 경쇄 서열 내의 가변 도메인 서열 및 가변 도메인 영역의 아미노산 잔기는 카바트(Kabat) 넘버링 규정에 따라 넘버링된다. 유사하게, 실시예에 사용된 용어 "CDR", "CDRL1", "CDRL2", "CDRL3", "CDRH1", "CDRH2", "CDRH3"도 카바트 넘

버링 규정을 따른다. 추가의 정보에 대해서는, 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987)]을 참조한다.

[0072] 가변 도메인 서열 및 전장 항체 서열의 아미노산 잔기에 대해 대안적 넘버링 규정이 존재한다는 것은 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. CDR 서열에 대한 대안적 넘버링 규정, 예를 들어 문헌 [Chothia et al., (1989) Nature 342: 877-883]에 제시된 것이 또한 존재한다. 항원 결합 단백질의 구조 및 단백질 폴딩은 다른 잔기가 CDR 서열의 일부로 간주된다는 것을 의미할 수 있고, 통상의 기술자에 의해 그렇게 이해될 것이다.

[0073] 통상의 기술자에게 이용가능한 CDR 서열에 대한 다른 넘버링 규정은 "AbM" (유니버시티 오브 배쓰) 및 "접촉" (유니버시티 칼리지 런던) 방법을 포함한다. 카바트, 코티아(Chothia), AbM 및 접촉 방법 중 적어도 2종을 사용하여 최소 중첩 영역을 결정하여 "최소 결합 단위"를 제공할 수 있다. 최소 결합 단위는 CDR의 하위 부분일 수 있다.

[0074] 하기 표 1은 각각의 CDR 또는 결합 단위에 대한 각각의 넘버링 규정을 사용한 하나의 정의를 나타낸다. 가변 도메인 아미노산 서열을 넘버링하기 위해 카바트 넘버링 스킴이 표 1에 사용된다. CDR 정의 중 일부는 사용된 개별 공개물에 따라 달라질 수 있음을 주목해야 한다.

[0075]

	카바트 CDR	코티아 CDR	AbM CDR	접촉 CDR	최소 결합 단위
H1	31-35/35A/ 35B	26-32/33/34	26-35/35A/35B	30-35/35A/35B	31-32
H2	50-65	52-56	50-58	47-58	52-56
H3	95-102	95-102	95-102	93-101	95-101
L1	24-34	24-34	24-34	30-36	30-34
L2	50-56	50-56	50-56	46-55	50-55
L3	89-97	89-97	89-97	89-96	89-96

[0076] 표 1

[0077] 따라서, 하기 CDR: 서열식별번호: 5로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 6으로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 항원 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 하기 CDR: 서열식별번호: 17로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 18로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 항원 결합 단백질이 제공된다. 추가 실시양태에서, 하기 CDR: 서열식별번호: 29로부터의 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 서열식별번호: 30으로부터의 CDRL1, CDRL2, CDRL3 중 어느 하나 또는 그의 조합을 포함하는 항원 결합 단백질이 제공된다.

[0078] CDR 또는 최소 결합 단위는 적어도 1개의 아미노산 치환, 결실 또는 부가에 의해 변형될 수 있고, 여기서 변이체 항원 결합 단백질은 비변형된 단백질의 생물학적 특징, 예컨대 CR2에 대한 결합을 실질적으로 보유한다.

[0079] 각각의 CDR H1, H2, H3, L1, L2, L3은 단독으로 또는 임의의 다른 CDR과 조합되어, 임의의 순열 또는 조합으로 변형될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 한 실시양태에서, CDR은 최대 3개의 아미노산, 예를 들어 1 또는 2개의 아미노산, 예를 들어 1개의 아미노산의 치환, 결실 또는 부가에 의해 변형된다. 전형적으로, 변형은 치환, 특히 예를 들어 하기 표 2에 제시된 바와 같은 보존적 치환이다.

[0080]

측쇄	구성원
소수성	Met, Ala, Val, Leu, Ile
중성 친수성	Cys, Ser, Thr
산성	Asp, Glu
염기성	Asn, Gln, His, Lys, Arg
쇄 배향에 영향을 미치는 잔기	Gly, Pro
방향족	Trp, Tyr, Phe

[0081] 표 2

[0082] 예를 들어, 변이체 CDR에서, 최소 결합 단위의 아미노산 잔기는 동일하게 유지될 수 있지만, 카바트 또는 코티아 정의(들)의 일부로서 CDR을 포함하는 플랭킹 잔기는 보존적 아미노산 잔기로 치환될 수 있다.

[0083] 상기 기재된 바와 같은 변형된 CDR 또는 최소 결합 단위를 포함하는 이러한 항원 결합 단백질은 본원에서 "기능적 CDR 변이체" 또는 "기능적 결합 단위 변이체"로 지칭될 수 있다.

[0084] 본원에 사용된 용어 "에피토프"는 항원 결합 단백질의 특정한 결합 도메인과 접촉하는 항원의 부분을 지칭한다. 에피토프는 선형 또는 입체형태적/불연속적일 수 있다. 입체형태적 또는 불연속적 에피토프는 다른 서열에 의해 분리된, 즉 항원의 1차 서열에서 연속적 서열이 아닌 아미노산 잔기를 포함한다. 에피토프 내에 포함된 특정한 잔기는 컴퓨터 모델링 프로그램을 통해 또는 관련 기술분야에 공지된 방법, 예컨대 X선 결정학을 통해 수득된 3차원 구조를 통해 결정될 수 있다.

[0085] 본 발명의 한 측면에서, 서열식별번호: 2 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 인간 CR2의 2개의 SCR 도메인 사이의 링커 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 71 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 본 발명의 추가 실시양태에서, 서열식별번호: 2 및/또는 서열식별번호: 71 내의 1개 이상의 아미노산 잔기에서 인간 CR2에 결합하는 CR2 결합 단백질이 제공된다.

[0086] 본 발명의 또 다른 측면에서, 예를 들어 실시예 1에 기재된 바와 같이, HDX-MS 분석에서 중수소 교환으로부터 CR2의 잔기 66 내지 70 (서열식별번호: 2)을 보호하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 본 발명의 추가 실시양태에서, 예를 들어 실시예 1에 기재된 바와 같이, HDX-MS 분석에서 중수소 교환으로부터 CR2의 잔기 66 내지 70 (서열식별번호: 2) 및/또는 잔기 104-127 (서열식별번호: 71)을 보호하는 CR2 결합 단백질이 제공된다.

[0087] 본 발명의 항원 결합 단백질과 참조 항원 결합 단백질, 예를 들어 참조 항체 사이의 경쟁은 경쟁 ELISA, FMAT 또는 비아코어에 의해 결정될 수 있다. 이러한 경쟁에 대한 여러 가능한 이유가 존재한다: 2종의 단백질이 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합할 수 있거나, 결합의 입체적 억제가 존재할 수 있거나, 또는 제1 단백질의 결합이 제2 단백질의 결합을 방지하거나 감소시키는 항원의 입체형태적 변화를 유도할 수 있다.

[0088] 본 발명은 CR2의 신규 에피토프에 결합하여 그의 활성화를 방지하는 CR2 결합 단백질의 확인에 기초한다. CR2의 활성화를 방지하는 것은 B 세포에 대한 활성화 역치를 조정하고, 자기-항원에 반응한 자가항체 생산 B 세포의 활성화 및 확장 (자가면역 및/또는 염증성 상태에 연루된 메카니즘)을 방지할 것이고; FDC 저장소 내 C3d/g 옵소닌화된 항원의 보유 (바이러스 질환, 예컨대 HIV 및 자가항체의 생성에 연루된 중요한 메카니즘)는 감소될 것이다.

[0089] 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 비-동족 B 세포에 대한 C3d/g-옵소닌화된 복합체의 결합을 방지하여, 배 중심 내의 FDC로의 복합체의 운반 및 전달을 방지한다.

[0090] 인간 불변 영역의 일부 이소형, 특히 IgG4 및 IgG2 이소형은 본질적으로 a) 전형적 경로에 의한 보체의 활성화; 및 b) 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC)의 기능이 결여되어 있다. 항원 결합 단백질의 중쇄 불변 영역에 대한 다양한 변형을 수행하여 목적하는 이펙터 특성에 따라 이펙터 기능을 변경시킬 수 있다. Fc 수용체에 대한 결합을 감소시키고 이펙터 기능, 예컨대 ADCC 및 CDC를 감소시키는 특이적 돌연변이를 함유하는 IgG1 불변 영역이 기재되어 있다 (Duncan et al., Nature 1988, 332; 563-564; Lund et al., J. Immunol. 1991, 147; 2657-2662; Chappel et al., PNAS 1991, 88; 9036-9040; Burton and Woof, Adv. Immunol. 1992, 51;1-84; Morgan et al., Immunology 1995, 86; 319-324; Hezareh et al., J. Virol. 2001, 75 (24); 12161-12168).

[0091] 본 발명의 한 실시양태에서, 항원 결합 단백질이 감소된 이펙터 기능, 예컨대 감소된 ADCC 및/또는 보체 의존성 세포독성 활성 (CDC)을 갖도록 불변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 하나의 이러한 실시양태에서, 중쇄 불변 영역은 IgG2 또는 IgG4 이소형의 자연적으로 불능화된 불변 영역 또는 돌연변이된 IgG1 불변 영역을 포함할 수 있다. 적합한 변형의 예는 EP 0307434에 기재되어 있다. 한 예는 위치 235 및 237 (EU 인덱스 넘버링)에서의 알라닌으로의 치환, 즉 L235A 및 G237A (통상적으로 "LAGA" 돌연변이로 지칭됨)를 포함한다. 또 다른 예는 위치 234 및 235 (EU 인덱스 넘버링)에서의 알라닌으로의 치환, 즉 L234A 및 L235A (통상적으로 "LALA" 돌연변이로 지칭됨)를 포함한다.

[0092] 이펙터 기능을 감소시키기 위한 추가의 변경 및 돌연변이는 다음을 포함한다: (달리 나타내지 않는 한 IgG1 참조): 비-글리코실화된 N297A 또는 N297Q 또는 N297G; L235E; IgG4:F234A/L235A; 및 키메라 IgG2/IgG4. IgG2: H268Q/V309L/A330S/P331S, 및 IgG2: V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S는 FcɣR 및 C1q 결합을 감소시킬 수 있다 (Wang et al., 2018 및 US 8,961,967).

[0093] 이펙터 기능을 감소시키는 다른 돌연변이는 L234F/L235E/P331S; 인간 IgG2로부터의 CH1 및 힌지 영역 및 인간 IgG4로부터의 CH2 및 CH3 영역을 사용하여 생성된 키메라 항체; IgG4로부터 유래된 4개의 주요 아미노산 잔기 변화 (H268Q, V309L, A330S 및 P331S)를 갖는 IgG2 이소형에 기초한 IgG2m4; Fcɣ 수용체 및 C1q 보체 단백질

에 대한 친화도를 제거하기 위한 V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S 치환을 함유하는 IgG2σ; IgG2m4 (H268Q/V309L/A330S/P331S, IgG4로 변화); IgG4 (S228P/L234A/L235A); huIgG1 L234A/L235A (AA); huIgG4 S228P/L234A/L235A; IgG1σ (L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S); IgG4σ1 (S228P/F234A/L235A/G237A/P238S); 및 IgG4σ2 (S228P/F234A/L235A/ΔG236/G237A/P238S, 여기서 Δ는 결실을 나타냄)를 포함한다 (Tam et al., Antibodies 2017, 6(3)).

[0094] 본 발명은 또한 인간, 인간화 또는 키메라인 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 인간 CR2 결합 단백질이다.

[0095] 본 발명은 또한 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 8의 중쇄 CDR2 및 서열식별번호: 7의 중쇄 CDR1을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 10의 경쇄 CDR1, 서열식별번호: 11의 CDR2 및 서열식별번호: 12의 CDR3 중 1, 2 또는 3개를 추가로 포함할 수 있다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 7의 중쇄 CDR1, 서열식별번호: 8의 중쇄 CDR2, 서열식별번호: 9의 중쇄 CDR3, 서열식별번호: 10의 경쇄 CDR1, 서열식별번호: 11의 경쇄 CDR2 및 서열식별번호: 12의 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0096] 본 발명은 또한 서열식별번호: 5의 중쇄 가변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 6의 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 5의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 6의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0097] 본 발명은 또한 서열식별번호: 5의 아미노산 서열에 대해 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 동일성 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로부터 선택된 중쇄 가변 영역, 및 서열식별번호: 6의 아미노산 서열에 대해 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로부터 선택된 경쇄 가변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 5의 아미노산 서열에 대해 98% 이상의 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 6의 아미노산 서열에 대해 98% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 3의 중쇄 및 서열식별번호: 4의 경쇄를 포함한다 (mAb 1053, 달리 언급되지 않는 한 CHO-발현된 물질임).

[0098] 본 발명은 또한 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 20의 중쇄 CDR2 및 서열식별번호: 19의 중쇄 CDR1을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 22의 경쇄 CDR1, 서열식별번호: 23의 CDR2 및 서열식별번호: 24의 CDR3 중 1, 2 또는 3개를 추가로 포함할 수 있다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 19의 중쇄 CDR1, 서열식별번호: 20의 중쇄 CDR2, 서열식별번호: 21의 중쇄 CDR3, 서열식별번호: 22의 경쇄 CDR1, 서열식별번호: 23의 경쇄 CDR2 및 서열식별번호: 24의 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0099] 본 발명은 또한 서열식별번호: 17의 중쇄 가변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 18의 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 17의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 18의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0100] 본 발명은 또한 서열식별번호: 17의 아미노산 서열에 대해 75% 이상, 80% 이상, 85%이 상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 동일성 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로부터 선택된 중쇄 가변 영역, 및 서열식별번호: 18의 아미노산 서열에 대해 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로부터 선택된 경쇄 가변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 17의 아미노산 서열에 대해 98% 이상의 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 18의 아미노산 서열에 대해 98% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질의 실시양태는 서열식별번호: 15의 중쇄 및 서열식별번호: 16의 경쇄를 포함한다 (mAb 996, 달리 언급되지 않는 한 CHO-발현된 물질임).

[0101] 본 발명은 또한 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 CDR3을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 32의 중쇄 CDR2 및 서열식별번호: 31의 중쇄 CDR1을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 34의 경쇄 CDR1, 서열식별번호: 35의 CDR2 및 서열식별번호: 36의 CDR3 중 1, 2 또는 3개를 추가로 포함할 수 있다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 31의 중쇄 CDR1, 서열식별번호: 32의 중쇄 CDR2, 서열식별번호: 33의 중쇄 CDR3, 서

열식별번호: 34의 경쇄 CDR1, 서열식별번호: 35의 경쇄 CDR2 및 서열식별번호: 36의 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0102] 본 발명은 또한 서열식별번호: 29의 중쇄 가변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 30의 경쇄 가변 영역을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 서열식별번호: 29의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 30의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0103] 본 발명은 또한 서열식별번호: 29의 아미노산 서열에 대해 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 동일성 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로부터 선택된 중쇄 가변 영역, 및 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로부터 선택된 경쇄 가변 영역을 포함하는 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 29의 아미노산 서열에 대해 98% 이상의 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 30의 아미노산 서열에 대해 98% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 추가 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 서열식별번호: 27의 중쇄 및 서열식별번호: 28의 경쇄를 포함한다 (mAb 999, 달리 언급되지 않는 한 CHO-발현된 물질임).

[0104] 본원의 개시내용은 이러한 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 임의의 및 모든 조합을 포함하는 CR2 결합 단백질을 고려한다.

[0105] 본 발명은 또한 CR2 결합 단백질을 코딩하는 핵산 분자를 제공한다. 한 실시양태에서, 서열식별번호: 13의 핵산 서열이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 14의 핵산 서열이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 25의 핵산 서열이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 26의 핵산 서열이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 37의 핵산 서열이 제공된다. 추가 실시양태에서, 서열식별번호: 38의 핵산 서열이 제공된다.

[0106] 본 발명은 또한 본원에 기재된 CR2 결합 단백질의 중쇄 및/또는 경쇄를 코딩하는 본원에 기재된 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터를 제공한다. 한 실시양태에서, 동일한 벡터가 중쇄 및 경쇄의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 별개의 벡터가 중쇄 및 경쇄의 핵산 서열을 포함하며, 즉 하나의 벡터는 중쇄를 코딩하고 또 다른 벡터는 경쇄를 코딩한다. 한 실시양태에서, 서열식별번호: 13의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 14의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 25의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 26의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 37의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 추가 실시양태에서, 서열식별번호: 38의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터가 제공된다.

[0107] 추가로, 본 발명은 이러한 발현 벡터(들)를 함유하고 상기 CR2 결합 단백질을 발현할 수 있는 재조합 숙주 세포를 제공한다. 한 실시양태에서, 서열식별번호: 13의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터를 함유하는 재조합 숙주 세포가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 14의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터를 함유하는 재조합 숙주 세포가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 25의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터를 함유하는 재조합 숙주 세포가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 26의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터를 함유하는 재조합 숙주 세포가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 서열식별번호: 37의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터를 함유하는 재조합 숙주 세포가 제공된다. 추가 실시양태에서, 서열식별번호: 38의 핵산 서열을 포함하는 발현 벡터를 함유하는 재조합 숙주 세포가 제공된다.

[0108] 본 발명은 또한 본원에 기재된 바와 같은 재조합 숙주 세포에 의해 발현된 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0109] 개시된 서열, 서열식별번호: 1 내지 74는 달리 언급되지 않는 한 카바트에 따라 정의된다.

[0110] 하기 실시예는 인간 생물학에 대한 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 영향을 이해하기 위해 개발된 1차 인간 B 세포에 대한 다양한 검정을 기재한다. 집합적으로, 이들 데이터는 본 발명의 CR2 결합 단백질이 B 세포에 대한 자가면역의 CR2-의존성 메카니즘을 효과적으로 억제한다는 것을 지지하는 실험적 증거를 제공한다.

[0111] 본 발명의 한 실시양태에서, 사전-결합 옵소닌화된 복합체의 결합을 방지함으로써 비-접합체 B 세포 상의 옵소닌화된 자가항원 운반을 억제하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 사전-결합 옵소닌화된 복합체와의 경쟁에 의해 비-접합체 B 세포 상의 옵소닌화된 자가항원 운반을 억제하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 옵소닌화된 자가항원에 의한 B 세포 활성화를 방지하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 인간 B 세포에서 칼슘 유동을 억제하는 CR2 결

합 단백질이 제공된다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 인간 B 세포에서 인단백질 신호전달을 억제하는 CR2 결합 단백질이 제공된다. 추가 실시양태에서, 인간 B 세포에서 CR2-의존성 CD69 상향조절을 억제하는 CR2 결합 단백질이 제공된다.

[0112] 용도의 진술

[0113] 따라서, 본 발명은 요법에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다. 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질은 CR2 억제제가 지시되는 질환 또는 상태의 치료에 사용될 수 있다.

[0114] 한 실시양태에서, B 세포 활성화가 연루된 질환의 치료에서 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, B 세포 활성화가 연루된 질환의 치료에서 사용하기 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 추가 실시양태에서, B 세포 활성화가 연루된 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 B 세포 활성화가 연루된 질환을 치료하는 방법이 제공된다.

[0115] 한 실시양태에서, FDC 저장소 내 C3d 또는 C3dg 옵소닌화된 항원의 보유와 연관된 질환의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, FDC 저장소 내 C3d 또는 C3dg 옵소닌화된 항원의 보유와 연관된 질환의 치료에 사용하기 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 추가 실시양태에서, FDC 저장소 내 C3d 또는 C3dg 옵소닌화된 항원의 보유와 연관된 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 FDC 저장소 내 C3d 또는 C3dg 옵소닌화된 항원의 보유와 연관된 질환을 치료하는 방법이 제공된다.

[0116] 자가면역 및/또는 염증성 상태

[0117] 배 중심 반응의 생성/유지에서의 CR2의 역할로 인해, 이러한 메카니즘의 차단은 자가면역 및/또는 염증성 상태, 예컨대 쇼그렌 증후군, 전신 홍반성 루푸스 및 류마티스 관절염의 치료에 효과적일 것으로 예상된다. 또한, 쇼그렌 증후군, 전신 홍반성 루푸스 또는 류마티스 관절염을 갖는 환자는 C3b/iC3b 또는 C3d를 보유하는 순환 면역 복합체를 함유하는 것으로 밝혀졌다.

[0118] CR2가 B 세포 활성화에 대한 역치를 감소시키고, 항체 생산을 촉진하는데 있어서 중요한 역할을 한다는 것을 고려하면, CR2 차단은 B 세포 매개된 병리상태를 재설정하기 위한 탁월한 기회를 제공한다.

[0119] 쇼그렌 증후군은 조직의 림프구성 침윤이 외분비선 분비 기능장애 및 다계통 염증으로 이어지는 자가면역 류마티스성 질환이다. 질환 중증도는 B 세포 활성화, 순환 자가항체 및 외분비 조직에서의 높은 빈도의 배 중심 병소와 밀접하게 연관된다. 높은 질환 활성 및 광범위한 자가항체 생산을 갖는 쇼그렌 증후군 환자의 하위군은 낮은 수준의 보체 C3을 가지며, 이는 쇼그렌 증후군에서 병원성에 기여할 수 있는 증가된 보체 활성화를 통한 소모를 시사한다.

[0120] SLE는 만성 자가면역 질환이고, 그의 발병기전은 공지되어 있지 않다. SLE에 대한 치유법은 존재하지 않고, 치료는 급성악화를 예방하고, 발생시 그의 중증도 및 지속기간을 감소시키는 것을 수반한다. 치료는 코르티코스테로이드, 세포독성 약물, 예컨대 시클로포스파미드, 히드록시클로로퀸 및 벨리무맙을 포함한다.

[0121] CR2는 SLE의 발병기전에 연루되어 왔고, 다수의 보고는 CR2가 숙주-면역 반응 동안 외래 DNA의 인식에서 중추적 역할을 한다는 것을 시사하였다. 이러한 인식 기능은 SLE에서 DNA에 대한 자가면역의 발생에 영향을 미치는 메카니즘일 수 있다.

[0122] RA에서 보체 캐스케이드의 상이한 부분의 활성화는 오랫동안 공지되어 왔다. 예를 들어, CR2 리간드, C3d/g의 수준은 RA 환자의 활액에서 상승된다. 연구는 또한 류마티스 관절염 (RA)을 갖는 환자의 염증발생 활막에서 섬유모세포-유사 활막세포 (FLS) 상에서의 CR2의 존재를 입증하였다.

[0123] CR2 결합 단백질은 류마티스 관절염 (RA), 쇼그렌 증후군, 전신 홍반성 루푸스 (SLE, 예를 들어 루푸스 신염), 혈관염 (예를 들어 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염, 전신 괴사성 혈관염, 결절성 다발동맥염, 알레르기성 혈관염 및 육아종증, 다발혈관염, 베게너 육아종증, 림프종성 육아종증, 거대 세포 동맥염, 점막피부성 림프절 증후군 (MLNS 또는 가와사키병), 고립성 CNS 혈관염, 베체트병, 폐쇄성 혈전혈관염 (버거병) 및 피부 괴사성 세정맥염), 특발성 막성 사구체신염, 중증 근무력증, 천포창, 경피증, 전신 경화증, 항-사구체 기저막 질환, 수포성 유천포창, 다발성 경화증, 시신경척수염, 수막염; 뇌염, 혈우병 억제제, 효소 대체 요법에 대한 항체, IgA 신병증, 다발근염, 피부근염, 그레이브스병 (예를 들어, 자가면역 갑상선염 및 하시모토병), 항인지질 증후군, 제1형 당뇨병, 자가면역 용혈성 빈혈, 특발성 혈소판감소성 자반증, 실질 기관 이식, 자가면역 폐포

단백증, 포도막염; 골관절염, 자가면역 용혈성 빈혈 (예를 들어 자가면역 용혈성 빈혈, 면역 범혈구감소증 및 발작성 야간 혈색소뇨), 자가면역 만성 활성 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 육아종성 간염, 경화성 담관염 및 항원-항체 복합체 매개 질환 (예를 들어 폐의 염증, 흉막염, 폐포염, 혈관염, 폐렴, 만성 기관지염, 기관지확장증, 미만성 범세기관지염, 과민성 폐장염 및 특발성 폐 섬유증 (IPF))을 포함하나 이에 제한되지는 않는 매우 다양한 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료에 유용할 수 있다.

[0124] 한 실시양태에서, 자가면역 및/또는 염증성 상태는 류마티스 관절염 (RA), 쇼그렌 증후군, 전신 홍반성 루푸스 (SLE) 및 혈관염으로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 자가면역 및/또는 염증성 상태는 류마티스 관절염 (RA)이다. 또 다른 실시양태에서 자가면역 및/또는 염증성 상태는 쇼그렌 증후군이다. 또 다른 실시양태에서, 자가면역 및/또는 염증성 상태는 전신 홍반성 루푸스 (SLE)이다. 또 다른 실시양태에서, 자가면역 및/또는 염증성 상태는 혈관염이다. 추가 실시양태에서, 자가면역 및/또는 염증성 상태는 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염이다.

[0125] 한 실시양태에서, 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료에서 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 류마티스 관절염 (RA)의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 쇼그렌 증후군의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 전신 홍반성 루푸스 (SLE)의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 혈관염의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다.

[0126] 한 실시양태에서, 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 류마티스 관절염 (RA)의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 쇼그렌 증후군의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 전신 홍반성 루푸스 (SLE)의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 혈관염의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염의 치료를 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다.

[0127] 또한 자가면역 및/또는 염증성 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 및/또는 염증성 상태를 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 류마티스 관절염 (RA)의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 류마티스 관절염을 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 쇼그렌 증후군의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 쇼그렌 증후군을 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 전신 홍반성 루푸스 (SLE)의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 전신 홍반성 루푸스를 치료하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 혈관염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 혈관염을 치료하는 방법이 제공된다. 추가 실시양태에서, 항-호중구성 세포질 항체 (ANCA)-연관 혈관염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 ANCA-연관 혈관염을 치료하는 방법이 제공된다. 적합하게는 이를 필요로 하는 대상체는 포유동물, 특히 인간이다.

[0128] 감염성 질환

[0129] 많은 바이러스성 질환, 예를 들어 HIV는 림프 조직 내의 예컨대 FDC 내의 장기-생존 바이러스 저장소의 지속성으로 인해 치료하기 어렵다. 항원 결합, 1년 초과의 보유, 및 제시는 C3 단편-코팅된 항원의 CR2-의존성 포획에 크게 의존적이다. C3d/g-옵소닌화된 HIV 비리온은 포획되어, 장기-생존 바이러스 저장소를 대표하는 비-분해 엔도솜에서 장기간 유지된다.

[0130] 조합 항레트로바이러스 요법 (cART)에 의하는 현행 HIV 치료는 바이러스 확산 및 HIV 질환을 효과적으로 예방하지만, 장기-생존 바이러스 저장소 포함 잠재성 HIV-감염된 세포 및 수년 동안 지속될 수 있는 복제 적격 바이러스를 보유할 수 있는 해부학적 또는 생리학적 부위의 지속성으로 인해 바이러스 근절로 이어지지 않는다.

[0131] FDC에 의해 포획된 바이러스는 림프성 조직 내에, cART의 중지 후 새로운 라운드의 감염 및 바이러스 재발을 유발하여 장기간의 바이러스 완화 및 HIV 치유를 막을 수 있는 감염성 바이러스의 지속적인 공급원을 생성함으로써, 저장소의 보충에 대한 중추적 메카니즘을 나타낸다.

[0132] CR2 결합 단백질은 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 간염 (A, B, C, D 및 E형) 및 엡스타인-바르 바이러스 (EBV)), 박테리아 감염, 진균 감염, 원충 감염 및 기생충 감염을 포함하나 이에 제한되지는 않는 감염성 질환의 치료, 예방 또는 재활성화에 유용할 수 있다.

[0133] 한 실시양태에서, 감염성 질환의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 바이러스 감염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, HIV의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, AIDS의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, A형 간염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, B형 간염의 치료에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, C형 간염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, D형 간염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, E형 간염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 박테리아 감염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 진균 감염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 원충 감염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 추가 실시양태에서, 기생충 감염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다.

[0134] 한 실시양태에서, 감염성 질환의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 바이러스 감염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, HIV의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, AIDs의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, A형 간염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, B형 간염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, C형 간염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, D형 간염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, E형 간염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 박테리아 감염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 진균 감염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 원충 감염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 추가 실시양태에서, 기생충 감염의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다.

[0135] 또한, 감염성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 감염성 질환을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 바이러스성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 바이러스성 질환을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, HIV의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 HIV를 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, AIDs의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 AIDs를 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, A형 간염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 A형 간염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, B형 간염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 B형 간염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, C형 간염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 C형 간염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, D형 간염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 D형 간염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, E형 간염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 E형 간염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 박테리아 감염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 박테리아 감염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 진균 감염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 진균 감염을

치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 원충 감염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 원충 감염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 추가 실시양태에서, 기생충 감염의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 기생충 감염을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 적합하게는 이를 필요로 하는 대상체는 포유동물, 특히 인간이다.

[0136] 백신 아주반트로서의 용도

[0137] 항-CR2 항체에 커플링된 저용량의 항원은 마우스 및 시노몰구스 원숭이에서 신속하고 지속적인 IgG 면역 반응을 유도하는 것으로 밝혀졌다 (Whipple, E.C. et al., Mol. Immunol., 2007. 44(4): 377-388). 한 실시양태에서, 면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키기 위한 아주반트/항원 담체로서 사용하기 위한 CR2 결합 단백질이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 면역화에 대한 면역 반응의 증폭을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도가 제공된다. 추가 실시양태에서, 면역화에 대한 면역 반응의 증폭을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 면역화에 대한 면역 반응을 증폭시키는 방법이 제공된다. 적합하게는 이를 필요로 하는 대상체는 포유동물, 특히 인간이다.

[0138] 엡스타인-바르 바이러스 (EBV)와 연관된 악성종양

[0139] CR2는 엡스타인-바르 바이러스 감염에 대한 주요 보조-수용체로서 확인되었고, 따라서 EBV 구동된 림프증식성 질환의 개시에서 역할을 할 수 있다 (N. Neparidze et al.; Clinical Advances in Hematology & Oncology, 12(6); June 2014: 358-371).

[0140] 본 발명은 EBV와 연관된 악성종양의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다. 본 발명은 또한 EBV와 연관된 악성종양의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다. 본 발명은 또한 EBV와 연관된 악성종양의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 EBV와 연관된 악성종양을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

[0141] 본 발명은 또한 B-세포 림프증식성 장애, T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애 및 상피 악성종양으로부터 선택된 EBV와 연관된 악성종양의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0142] 한 실시양태에서, 본 발명은 B-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 FDC 육종, 버킷 림프종, 호지킨 림프종, 이식후 림프증식성 장애, HIV-연관 비-호지킨 림프종, 미만성 대 B-세포 림프종, 면역모세포-형질세포양, 중심모세포성, 버킷 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종 및 그의 고형 변이체, 구강 유형의 형질모구성 림프종, 고령의 EBV-양성 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 림프종성 육아종증 및 만성 염증과 연관된 DLBCL로부터 선택된 B-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0143] 한 실시양태에서, 본 발명은 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 림프절외 비강-유형 NK/T-세포 림프종, 공격성 NK-세포 백혈병/림프종, 혈관면역모세포성 T-세포 림프종, 장병증-유형 T-세포 림프종, EBV-연관 피부 T-세포 림프증식성 장애, γδ T-세포 림프종 (간비장 및 비-간비장), 말초 T-세포 림프종 및 만성 EBV 감염 후의 T-세포 림프증식성 장애로부터 선택된 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0144] 한 실시양태에서, 본 발명은 상피 악성종양의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 비인두 암종 및 위암으로부터 선택된 상피 악성종양의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 CR2 결합 단백질을 제공한다.

[0145] 본 발명은 또한 B-세포 림프증식성 장애, T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애 및 상피 악성종양으로부터 선택된 EBV와 연관된 악성종양의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0146] 한 실시양태에서, 본 발명은 B-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 FDC 육종, 버킷 림프종, 호지킨 림프종, 이식후 림프증식성 장애, HIV-연관 비-호지킨 림프종, 미만성 대 B-세포 림프종, 면역모세포-형질세포양, 중심모세포성, 버킷 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종 및 그의 고형 변이체, 구강 유형의 형질모구성 림프종, 고령의 EBV-양성 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 림프종성 육아종증 및 만성 염증과 연관된 DLBCL로

부터 선택된 B-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0147] 한 실시양태에서, 본 발명은 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 림프절외 비강-유형 NK/T-세포 림프종, 공격성 NK-세포 백혈병/림프종, 혈관면역모세포성 T-세포 림프종, 장병증-유형 T-세포 림프종, EBV-연관 피부 T-세포 림프증식성 장애, γδ T-세포 림프종 (간비장 및 비-간비장), 말초 T-세포 림프종 및 만성 EBV 감염 후의 T-세포 림프증식성 장애로부터 선택된 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0148] 한 실시양태에서, 본 발명은 상피 악성종양의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 비인두 암종 및 위암으로부터 선택된 상피 악성종양의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서의 CR2 결합 단백질의 용도를 제공한다.

[0149] 본 발명은 또한 B-세포 림프증식성 장애, T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애 및 상피 악성종양으로부터 선택된 EBV와 연관된 악성종양의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 EBV와 연관된 악성종양을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

[0150] 한 실시양태에서, 본 발명은 B-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 B-세포 림프증식성 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 FDC 육종, 버킷 림프종, 호지킨 림프종, 이식후 림프증식성 장애, HIV-연관 비-호지킨 림프종, 미만성 대 B-세포 림프종, 면역모세포-형질세포양, 중심모세포성, 버킷 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종 및 그의 고형 변이체, 구강 유형의 형질모구성 림프종, 고령의 EBV-양성 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 림프종성 육아종증 및 만성 염증과 연관된 DLBCL로부터 선택된 B-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 B-세포 림프증식성 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

[0151] 한 실시양태에서, 본 발명은 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 림프절외 비강-유형 NK/T-세포 림프종, 공격성 NK-세포 백혈병/림프종, 혈관면역모세포성 T-세포 림프종, 장병증-유형 T-세포 림프종, EBV-연관 피부 T-세포 림프증식성 장애, γδ T-세포 림프종 (간비장 및 비-간비장), 말초 T-세포 림프종 및 만성 EBV 감염 후의 T-세포 림프증식성 장애로부터 선택된 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 T/자연 킬러-세포 림프증식성 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

[0152] 한 실시양태에서, 본 발명은 상피 악성종양의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 상피 악성종양을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 비인두 암종 및 위암으로부터 선택된 상피 악성종양의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 CR2 결합 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 상피 악성종양을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

[0153] 적합하게는 이를 필요로 하는 대상체는 포유동물, 특히 인간이다.

[0154] 제약 조성물/투여 경로/투여량

[0155] 본 발명의 제약 조성물은 치료 또는 예방 용도로 사용될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, CR2 결합 단백질 및 그의 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 1-500 mg의 CR2 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 20-300 mg의 CR2 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 50-200 mg의 CR2 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물이 제공된다. 추가 실시양태에서, 서열식별번호: 4에 제시된 바와 같은 경쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 3에 제시된 바와 같은 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체인 CR2 결합 단백질 50-200 mg을 포함하는 제약 조성물이 제공된다.

[0156] 바람직한 실시양태에서, 제약 조성물은 비경구, 경피, 관강내, 동맥내, 척수강내 및/또는 비강내 투여를 위한, 또는 조직 내로의 직접 주사에 의하는 조성물을 포함한다. 상기 제약 조성물이 주입 또는 주사를 통해 환자에

게 투여되는 것이 고려된다. 적합한 조성물의 투여는 상이한 방식에 의해, 예를 들어 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 국소 또는 피내 투여에 의해 이루어질 수 있다. 한 실시양태에서, 정맥내 투여를 위한 CR2 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 피하 투여를 위한 CR2 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물이 제공된다.

[0157] 이들 제약 조성물은 대상체에게 적합한 용량으로 투여될 수 있다. 투여 요법은 담당 의사 및 임상 인자에 의해 결정될 것이다. 의학 기술분야에 널리 공지되어 있는 바와 같이, 어느 하나의 환자에 대한 투여량은 환자의 크기, 체표면적, 연령, 투여될 화합물, 성별, 투여 시간 및 경로, 전반적 건강, 및 공동으로 투여되는 다른 약물을 포함한 많은 인자에 좌우된다.

[0158] 실시예

[0159] 약어

ADCC	항체-의존성 세포독성
Ag	항원
Akt	단백질 키나제 B
ANCA	항-호중구성 세포질 항체
APC	알로피코시아닌
BCR	B 세포 수용체
cART	조합 항레트로바이러스 요법
CDC	보체 의존성 세포독성
CDR	상보성 결정 영역
CD20	B-림프구 항원 CD20
CHO	차이니즈 햄스터 난소 세포
cIEF	모세관 등전 포커싱
CL	클리어런스
CR1	보체 수용체 1
CR2	보체 수용체 2
CO_2	이산화탄소
CTL	세포독성 T 림프구
시노	시노몰구스 마카크
DLS	동적 광 산란
DMARD	질환 조절 항류마티스 약물
DME	약물 대사 효소
DP	약물 제품
DNA	데옥시리보핵산
EBV	엡스타인-바르 바이러스
ELS	이소성 림프성 구조
ERKs	세포외 신호-조절 키나제
FDC	여포성 수지상 세포
FITC	플루오레세인 이소티오시아네이트
FLS	섬유모세포-유사 활막세포
GC	배 중심
hCD2	인간화 CR2
HEK	인간 배아 신장 세포
HDX	수소 중수소 교환
HDMS	고정의 질량 분광측정법
HIV	인간 면역결핍 바이러스
HPLC	고성능 액체 크로마토그래피
IgG	이뮤노글로불린 G
IgM	이뮤노글로불린 M
IV	정맥내
KO	녹아웃
LC-MS	액체 크로마토그래프 질량 분광측정법
mAb	모노클로날 항체
MFI	평균 형광 강도

[0160]

Mg/Kg	킬로그램당 밀리그램
MRT	평균 체류 시간
MS	질량 분광측정법
MSD	메소 스케일 디스커버리
MSX	메티오닌 술폭사민
MW	분자량
MZ	변연부
NaCl	염화나트륨
NaOH	수산화나트륨
NB	결합 없음
ng/mL	밀리리터당 나노 그램
NHL	비-호지킨 B-세포 림프종
NHS	정상 인간 혈청
PBS	포스페이트 완충 염수
PBMC	인간 말초 단핵 세포
PBPK	생리학상 기반 약동학
PLGS	프로테인링스 글로벌 서버
PMA	포르볼 미리스테이트 아세테이트
PnPS14	폐렴구균 폴리사카라이드 14
RA	류마티스 관절염
S/C	피하
SAD	단일 상승 용량
SCR	짧은 컨센서스 반복부
sCR2	가용성 CR2
SCS	피막하 부비동
SEC-HPLC	크기 배제 크로마토그래피-고성능 액체 크로마토그래피
SEM	평균의 표준 오차
SLE	전신 홍반성 루푸스
SPR	표면 플라즈몬 공명
t½	반감기
TA	표적 결속
TCEP	트리스(2-카르복시에틸)포스핀
TCR	조직 교차 반응성
TFA	트리플루오로아세트산
TFF	접선 흐름 여과
Tfh	T 여포성 헬퍼
Th	T 헬퍼
TLR	톨 유사 수용체
TMDD	표적 매개 약물 배치
Tox	독성학
UPLC	초고성능 액체 크로마토그래피

[0161]

[0162] 실시예 1 HDX 에피토프 맵핑 - CR2 대 mAb 1053

[0163] HDX-MS 분석을 수행하여 mAb 1053 (CHO-발현됨)의 존재 및 부재 하에서의 CR2 (SCR1 & 2 도메인)의 차등 중수소화를 조사하였다.

[0164] 기기:

[0165] 워터스 시냅트(Waters SYNAPT) G2-Si HDMS

[0166] 액퀴티(ACQUITY) M 부류 UPLC

[0167] LEAP H/D-X PAL 로봇

[0168] 용액

[0169] 켄칭 용액: 400 mM 인산칼륨, 6 M 구아니딘 히드로클로라이드, 0.5 M TCEP pH 2.5

[0170] (샘플과 1:1 혼합 후 - 혼합 시 이러한 pH를 수득하기 위해 NaOH로 pH-조정된 켄칭 용액).

[0171] 희석 완충제: 물 중 50mM 인산나트륨 100 mM 염화나트륨, pH 7.0.

[0172] 단백질

[0173] "CR2" = 인간 CR2 항원 (21-153), 태그부착되지 않음; PBS 중 135 uM.

[0174] "1053" = mAb; PBS 중 80.7 uM.

[0175] HDX

[0176] 초기 시험을 위해, CR2를 단일 실행으로 시험하여 소화 품질 및 신호 강도를 체크하였다. 단백질을 희석 완충제 중에 10 uM로 희석하고, 표준 1:20 희석 및 켄칭 프로토콜을 사용하여 실행하였다.

[0177] 사용된 CR2 mAb 구축물 및 펩신 서열의 데이터베이스에 대한 PLGS를 사용한 검색은 단백질이 탁월한 단백질 적용범위에 충분한 신호를 제공함을 보여주었다. CR2 샘플을 유사한 조건 하에 추가로 2회 재실행하여 펩티드 확인을 위한 삼중 소화 데이터를 수득하였다.

[0178] HDX 실험을 위해, 하기 2개의 샘플을 제조하였다:

[0179] 아포 (대조군 샘플): 7.4 ul CR2, 10 ul PBS, pH 7.4 (mAb 완충제에 매칭시키기 위함), 82.6 ul 희석 완충제.

[0180] + mAb: 7.4 ul CR2, 10 ul mAb 1053, 82.6 ul 희석 완충제 (10 uM CR2, 8 uM mAb 제공).

[0181] HPLC 용매 A는 0.2% 포름산 + 물 중 0.03% TFA였고, 용매 B는 아세토니트릴 + 0.2% 포름산이었다. 모든 크로마토그래피 단계는 0℃에서 수행하였다.

[0182] 각각의 단백질을 0, 30 및 300초의 인큐베이션 시간을 사용하여 주위 온도 (25℃)에서, 및 20℃에서 저장된 중수소화 희석 완충제 중에 20-배 희석하였다 (0 시점은 비-중수소화 완충제 중에 희석됨). 인큐베이션 후, 샘플을 0℃에서 1 부피의 켄칭 용액으로 켄칭하였다. 1분 후, 샘플을 15℃에서 유지되고 HPLC 완충제 A (워터스 엔지메이트(ENZYMATE) BEH, 2.1 mm X 30mm, 파트 번호: 186007233) 중에서 평형화된 고정된 펩신 소화 칼럼 상에 주입하였고, 0℃에서 유지된 C18 가드 칼럼 (2.1x5 mm 워터스 반가드(VANGUARD) BEH C18 1.8 um 130Å 가드 칼럼, 파트 번호 186003975) 상에서 4분 포획 시간을 사용하여 용리 펩티드를 포획하였다. 이어서, 포획된 펩티드를 또한 0℃에서 가드 칼럼으로부터 분석용 C18 칼럼 (1.0 x 100 mm UPLC BEH C18, 파트 번호 186002346)으로 40 ul/분의 유량으로 용리시키고, 증가하는 농도의 용매 B를 사용하여 하기 구배에 따라 분리하였다:

시간 (분)	% 용매 B
0.00	12
8.00	36
9.00	95
10.00	95
10.50	12
11.50	95
13.00	95
13.50	12
15.00	12

[0183]

[0184] 이 단계 동안, 펩신 칼럼을 오프라인으로 하고, 2 M 구아니딘 히드로클로라이드, 0.8 % 포름산, 5% 아세토니트릴, 5% 프로판-2-올, pH 2.5의 2 x 100 ul 주사액으로 세척하였다.

[0185] 용리된 펩티드를 전기분무 공급원, 및 내부 질량 보정을 위해 0.2% 포름산, 50% 아세토니트릴 중 [Glu1]-피브리노펩티드 B를 도입하는 2차 락스프레이가 장착된 워터스 시냅트(SYNAPT) G2-Si 질량 분광계에 도입하였다. m/z 범위 260 내지 2000에 걸쳐 양성 이온화를 사용하는 "분해" 모드를 사용하여 연속체 데이터를 획득하였다. 초기 펩티드 확인 샘플에 대해, MS^e 획득을 사용하였고, 여기서 스캔은 저에너지 및 고에너지 충돌 전지 조건에서 교대로 획득하여 각각 무손상 및 단편화된 펩티드 데이터를 생성하였다. 중수소화 샘플을 5회 (30초 및 300초

시점의 경우) 또는 2회 (0 중수소화 샘플의 경우) 반복하여 데이터의 신뢰도를 증가시켰다.

[0186] MS^e에 대한 초기 CR2 특징화 데이터를 사용하여, 사용된 CR2 구축물의 서열을 함유하는 데이터베이스에 대해 검색하는 프로테인링스 글로벌 서버 (v3.0.2)를 사용하여 펩티드 검색 목록을 생성하였다. 이들 펩티드 목록은, 다이남엑스(DynamX) v3.0에서 모든 시점으로부터의 샘플에서 펩티드 및 그의 중수소화 정도를 확인하기 위해 낮은 신뢰도로 확인된 펩티드를 제거하기 위해 필터링하면서 사용하였다. 펩티드 및 이온 할당을 필요한 경우에 수동으로 체크하고 정밀화하였다.

[0187] 펩티드-수준 차등 (Apo - mAb 복합체) 중수소화 데이터를 팁코 스포트파이어(TIBCO SPOTFIRE) v.7.0 (상태 데이터로부터)에 재플롯팅하였고, 도 2a 및 2b를 참조한다.

[0188] 결과

[0189] 2종의 밀접하게 관련된 펩티드는 mAb 1053의 존재 하에 일관되게 보다 낮은 중수소화 수준을 나타내었다:

[0190] FNKYSSCPEPIVPGGYKIRGSTPYRHGDSVT (사용된 구축물의 잔기 66-96, 서열식별번호: 58)

[0191] FNKYSSCPEPIVPGGYKIRGSTPYRHGDSVTF (사용된 구축물의 잔기 66-97, 서열식별번호: 59)

[0192] 이들 펩티드 중 더 긴 것은 중첩 이온으로부터의 간섭으로 인해 중수소화의 계산에서 더 높은 오차를 나타낸 반면, 이들 펩티드 중 더 짧은 것은 훨씬 더 깨끗한 데이터를 나타내어, apo 및 mAb 1053 샘플 사이의 중수소화의 차이가 통계적으로 유의하다. 펩티드 SSCPEPIVPGGYKIRGSTPYRHGDSVT (사용된 구축물의 잔기 70-96, 서열식별번호: 60)는 단지 처음 4개의 잔기 누락에서만 상이하였고, 차등 신호가 거의 부재함을 보여주었다. 이러한 차이에 대한 가장 가능한 이유는 mAb-유도된 보호가 주로 펩티드의 N-말단 5개 아미드에 국재화된다는 것이다 [66-96]. 잔기 66-70 (서열 FNKYS, 서열식별번호: 2)은 2개의 SCR 도메인 사이의 링커에 상응한다. 이 영역은 mAb 1053의 에피토프로 가장 가능한 후보이다.

[0193] 이들 펩티드 차이에 더하여, 잔기 104-127 (SMNGNKSVWCQANNMWGPTRLPTC, 서열식별번호: 71)에 걸친 펩티드에 상응하는 C-말단 근처에서 보다 낮은 보호 (그러나 보다 짧은 펩티드)를 나타내는 추가의 영역이 존재하였다.

[0194] B 세포 상의 C3d/g-옵소닌화된 리간드 결합에 대한 mAb 1053의 영향

[0195] 실시예 2: C3dg 리간드 결합에 대한 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0196] 본 실험은 비-동족 B 세포에 대한 C3dg:스트렙타비딘-APC 복합체의 결합을 방지하는 mAb 1053의 능력을 결정하였다. 스트렙타비딘 및 비오틴-C3dg (재조합)의 형광-표지된 복합체를 인간 PBMC와 함께 인큐베이션하고, 복합체 결합을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[0197] 절차

[0198] 비오티닐화된 C3dg 및 스트렙타비딘-APC를 사용하여 C3dg의 형광 표지된 사량체를 생성하였다. 비오티닐화된 C3dg를 스트렙타비딘-APC와 함께 4:1 비로 인큐베이션함으로써 복합체를 생성하였다.

[0199] PBMC를 인간 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 단리하였다. PBMC를 가습 분위기 하에 37℃, 5% CO_2에서 30분 동안 표시된 농도의 CHO-발현된 mAb 1053, 이소형 대조군 항체와 함께 또는 항체 없이 인큐베이션하였다. 이어서, PBMC를 C3dg:스트렙타비딘-APC 복합체와 함께 추가로 30분 동안 인큐베이션하였다.

[0200] 후속 염색을 통해 표면 상의 리간드를 보존하기 위해 세포를 고정시켰다. 고정된 세포를 항-CD20-PE와 함께 인큐베이션하여 PBMC 집단 내의 B 세포를 확인하였다. 염색된 PBMC를 유동 세포측정법에 의한 CD20+ B 세포 상의 리간드 결합 (APC 형광)의 정량화 전에 고정시켰다.

[0201] 결과

[0202] mAb 1053과의 사전-인큐베이션은 복합체 결합을 용량-의존성 방식으로 11.9 pM의 IC_{50}으로 방지한 반면 (N=4 공여자, 2개의 독립적 실험, 평균 정규화된 MFI ± SEM, 평균 데이터에 대해 단일 곡선 피트 및 단일 IC_{50}이 결정됨), 이소형 대조군 항체는 어떠한 효과도 없었다 (도 4 참조).

[0203] 이들 데이터는 mAb 1053이 B 세포에 대한 C3d/g-옵소닌화된 항원의 결합을 방지함으로써 FDC로의 그의 CR2-의존성 트래픽킹을 저해할 수 있음을 입증한다.

[0204] 실시예 3: 25℃에서의 인간 및 시노몰구스 마카크 CR2에 대한 항-CR2 항체의 친화도

[0205] 절차

[0206] 재조합 가용성 인간 및 시노몰구스 마카크 (시노) CR2에 대한 결합을 비아코어(BIACORE) T200 (지이 헬스케어(GE Healthcare)) 표면 플라즈몬 공명 기기를 사용하여 평가하였다. 단백질 A를 1급 아민 커플링에 의해 CM5 바이오센서 칩 상에 고정시켰다. 시험 항체 (HEK-발현됨)를 5㎍/mL로 희석하고, 단백질 A 표면 상에서 120초 동안 포획한 후, 10㎕/분으로의 60초 해리 시간이 이어졌다. 267 RU를 달성하기 위한 포획 시간은 각각의 유동 세포에 대한 각각의 항체와의 결합 안정성 보고 지점을 사용하여 계산하였다. 인간 및 시노 CR2 항원을 22nM의 최고 농도로부터, 8-포인트, 1/3 연속 희석으로 적정하고, 포획된 항체 상에 600초 동안 3㎕/분의 유량으로 통과시켰다. 0nM (즉, 완충제 단독) 주사를 사용하여 결합 곡선을 이중 참조하였다. CR2 적정의 각각의 사이클 사이에 50mM 수산화나트륨의 2회의 30초 주입을 사용하여 단백질 A 표면을 재생시켰다. 구동 완충제로서 HBS-EP를 사용하여 25℃에서 구동을 수행하였다. KD 값의 계산을 위해 전반적인 R-max를 설정하고 비아코어 분석 소프트웨어에 고유한 평형 모델을 사용하여 데이터를 분석하였다. 결과를 표 3에 제시한다.

[0207]

항체	인간 **CR2**에 대한 **KD (nM)**	시노 **CR2**에 대한 **KD (nM)**
1053	0.257	0.287
996	0.301	0.430
999	0.319	0.437

[0208] 표 3: 인간 및 시노 CR2에 대한 HEK-발현된 항-CR2 항체의 친화도

[0209] 실시예 4: 혈청-옵소닌화된 PnPS14 결합에 대한 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0210] 본 실험은 비-동족 B 세포에 대한 '자연-옵소닌화된' 리간드의 결합을 방지하는 mAb 1053의 능력을 결정하였다. 사용된 리간드는 정상 인간 혈청에 의해 옵소닌화된 폐렴구균 폴리사카라이드 유형 14 (PnPS14; 스트렙토코쿠스 뉴모니아에(Streptococcus pneumoniae)에 의해 발현된 폴리사카라이드 항원)였다. 옵소닌화된 PnPS14를 인간 PBMC와 함께 인큐베이션하고, 결합을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[0211] 절차

[0212] PnPS14를 100% NHS 중에서 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하여 C3dg를 비롯한 옵소닌 C3 단편의 공유 침착을 발생시켰다.

[0213] PBMC를 인간 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 단리하였다. PBMC를 가습 분위기 하에 37℃, 5% CO2에서 30분 동안 표시된 농도의 CHO-발현된 mAb 1053, 이소형 대조군 항체와 함께 또는 항체 없이 인큐베이션하였다. 이어서, PBMC를 혈청-옵소닌화된 PnPS14와 함께 추가로 30분 동안 인큐베이션하였다.

[0214] 후속 염색을 통해 표면 상의 리간드를 보존하기 위해 세포를 고정시켰다. 고정된 세포를 항-CD20-PE와 함께 인큐베이션하여 PBMC 집단 내의 B 세포를 확인하였다. 결합된 PnPS14를 PnPS14 항-혈청으로 검출하고, 이어서 항-토끼 IgG-FITC로 염색하였다. 염색된 PBMC를 유동 세포측정법에 의한 CD20+ B 세포 상의 리간드 결합 (FITC 형광)의 정량화 전에 고정시켰다.

[0215] 결과

[0216] mAb 1053과의 사전-인큐베이션은 비-동족 B 세포에 대한 혈청-옵소닌화된 PnPS14의 결합을 농도-의존성 방식으로 37.9 pM의 IC_{50}으로 방지한 반면 (N=4 공여자, 2개의 독립적 실험, 평균 정규화된 MFI ± SEM, 평균 데이터에 대해 단일 곡선 피트 및 단일 IC_{50}이 결정됨), 이소형 대조군 항체는 결합을 방지하지 않았다 (도 5 참조).

[0217] 이들 데이터는 mAb 1053이 B 세포에 대한 C3d/g-옵소닌화된 항원의 결합을 방지함으로써 FDC로의 그의 CR2-의존성 트래픽킹을 저해할 수 있음을 입증한다.

[0218] 실시예 5: 사전-결합된 C3dg 리간드 결합에 대한 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0219] 본 실험은 mAb 1053이 자가항원 치환 모델로서 비-동족 B 세포로부터 사전-결합된 리간드와 경쟁할 수 있는지를 결정하였다. 형광 스트렙타비딘:C3dg-복합체를 PBMC와 함께 인큐베이션하고, 미결합 리간드를 세척

제거하였다. mAb 1053 또는 이소형 대조군 항체를 세포에 첨가하고, 결합된 리간드의 양을 유동 세포측정법에 의해 시간 경과에 따라 추적하였다.

[0220] 절차

[0221] 비오티닐화된 C3dg 및 스트렙타비딘-APC를 사용하여 C3dg의 형광 표지된 사량체를 생성하였다. 비오티닐화된 C3dg를 스트렙타비딘-APC와 함께 4:1 비로 인큐베이션함으로써 복합체를 생성하였다.

[0222] PBMC를 인간 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 단리하였다. PBMC를 가습 분위기 하에 37℃, 5% CO_2에서 30분 동안 C3dg:스트렙타비딘-APC 복합체와 함께 인큐베이션하였다. 미결합 C3dg:스트렙타비딘-APC 복합체를 세척 제거하였다. 이어서, PBMC를 10nM CHO-발현 mAb 1053, 이소형 대조군 항체와 함께 또는 항체 없이 0.5, 2 또는 18.5시간 동안 인큐베이션하였다.

[0223] 후속 염색을 통해 표면 상의 리간드를 보존하기 위해 세포를 고정시켰다. 고정된 세포를 항-CD20-PE와 함께 인큐베이션하여 PBMC 집단 내의 B 세포를 확인하였다. 염색된 PBMC를 유동 세포측정법에 의한 CD20+ B 세포 상의 리간드 결합 (APC 형광)의 정량화 전에 고정시켰다.

[0224] 결과

[0225] mAb 1053은 비-동족 B 세포로부터 사전-결합된 C3dg:스트렙타비딘-APC 복합체와 신속하게 경쟁한 반면, 이소형 대조군 항체는 어떠한 영향도 미치지 않았다. 대부분의 이러한 영향은 첨가 2시간 내에 발생하였다. 이소형 대조군 항체는 항체가 없는 것과 비교하여 결합을 감소시키지 않았다 (N=4 공여자, 2개의 독립적 실험, 평균 정규화된 MFI ± SEM) (도 6 참조).

[0226] 이들 데이터는 mAb 1053이 CR2-발현 세포로부터 사전-결합된 C3dg-옵소닌화된 항원과 신속하고 강력하게 경쟁할 수 있음을 입증한다.

[0227] 실시예 6 내지 9: B 세포 활성화에 대한 mAb 1053의 영향

[0228] C3d/g-옵소닌화된 항원에 의한 CR2와 항원-특이적 BCR의 공동-라이게이션은 B 세포 활성화에 대한 역치를 낮춘다. 이를 비-동족 B 세포로 모델링하기 위해, C3dg-옵소닌화된 항원에 대한 대용물로서 작용하는 다량체 복합체를 생성하였다. 비오티닐화된 항-BCR 시약 (λ 쇄 또는 IgM을 인식함)을 사용하여 BCR과의 항원 상호작용을 모방하고, 비오티닐화된 재조합 C3dg를 CR2 리간드로서 사용하였다. 이들 성분을 뉴트라비딘과 공동-인큐베이션하여, 항-BCR 및 C3dg 둘 다를 함유하는 복합체; 항-BCR:C3dg 복합체를 생성하였다.

[0229] 시스템에서 CR2의 주요 역할은 BCR 활성화에 대한 역치를 낮추는 것이기 때문에, 신호를 거의 또는 전혀 유도하지 않는 수준으로 항-BCR 시약을 적정함으로써 검정을 최적화하였다. 복합체에 C3dg를 포함시키면, CR2의 공동-라이게이션은 B 세포 활성화에 대한 역치를 저하시켜, C3dg-의존성 활성화 윈도우를 생성하였다.

[0230] 실시예 6: 1차 인간 B 세포에서 칼슘 유동 및 인단백질 신호전달에 대한 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0231] CR2-의존성 BCR 활성화 하류의 신호전달 사건을 차단하는 mAb 1053의 능력을 평가하기 위해, 항-BCR:C3dg 복합체로 PBMC를 자극한 후에 유동 세포측정법에 의해 B 세포에서 세포내 칼슘 유동을 모니터링하였다.

[0232] 절차

[0233] PBMC를 인간 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 단리하였다. PBMC에 칼슘 반응성 염료 플루오-4를 로딩하고, B 세포를 항-CD19 BV421로 확인하였다. 기준선에서의 및 자극 후의 플루오-4 형광을 유동 세포측정법에 의해 실시간으로 모니터링하였다. 세포를 항-BCR:C3dg 복합체로 자극하여 BCR 하류의 세포내 칼슘의 CR2-의존성 방출을 도출하였다. 자극은 표시된 농도의 CHO-발현된 mAb 1053과의 실온에서의 30분 사전-인큐베이션 후에 수행하였다. mAb 1053 부재 하에서의 피크 C3dg-의존성 반응의 시간을 외삽하여 mAb 1053을 함유하는 샘플에서 그 시점에서의 등가의 반응 값을 산출하였다. 각각의 데이터세트에서의 최대 반응 = 100%가 되도록 반응을 정규화하였다. N=4개체, 평균 ± SD.

[0234] 결과

[0235] mAb 1053에 의해 칼슘 유동 신호에서 용량-의존성 감소가 관찰되었고, 9.0 pM의 IC_{50}이 생성되었다 (도 7 참조).

[0236] 이들 데이터는 mAb 1053이 1차 인간 B 세포에서 BCR 활성화의 바로 하류의 칼슘 신호전달을 강력하게 억제할 수

있음을 입증한다.

[0237] 실시예 7: 1차 인간 B 세포에서 인-단백질 신호전달에 대한 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0238] CR2-의존성 BCR 활성화 하류의 신호전달 사건을 차단하는 mAb 1053의 능력을 평가하기 위해, 항-BCR:C3dg 복합체로 PBMC를 자극한 후에 세포내 유동 세포측정법에 의해 B 세포에서 인산화된 ERK1/2 (pERK) 및 인산화된 AKT (pAKT)의 수준을 측정하였다.

[0239] 절차

[0240] PBMC를 인간 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 단리하고, 가습 분위기 하에 37℃, 5% CO_2에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후, PBMC를 표시된 농도의 CHO-발현된 mAb 1053과 함께 30분 동안 사전-인큐베이션하였다. 세포를 항-BCR:C3dg 복합체로 37℃에서 10분 동안 자극하고, 고정에 의해 정지시키고, 투과시키고, -20℃에서 밤새 보관하였다. 세포를 항-CD20-PE로 염색하여 B 세포, 항-pAKT (pS473)-알렉사 647 및 항-pERK-알렉사 488을 확인하였다. 형광을 유동 세포측정법에 의해 평가하고, 정규화된 % pERK+ 및 pAKT+ 값을 CD20+ 세포에서 결정하였다. N=4개체, 평균 ± SD.

[0241] 결과

[0242] mAb 1053 수준의 적정은 2.7 nM의 IC_{50}으로의 pERK 반응의 강한 억제를 발생시켰다 (도 8a). 동일한 PBMC 검정에서의 복합체-자극된 포스포-AKT 신호의 평가는 mAb 1053에 대해 3.8 nM의 IC_{50}을 제공하였다 (도 8b). 종합하면, 이들 데이터는 모델 CR2/BCR 리간드 복합체로의 자극 후 1차 인간 B 세포에서 신호전달을 방지하는 mAb 1053의 능력을 입증한다.

[0243] mAb 1053은 용량-의존성 방식으로 2.7 nM의 IC_{50}으로 pERK 반응을 강하게 억제하였다 (도 8a 참조). pAKT 신호전달은 mAb 1053에 의해 3.8 nM의 IC_{50}으로 유사하게 억제되었다 (도 8b 참조).

[0244] 이들 데이터는 1차 인간 B 세포에서 BCR 활성화 하류의 인-단백질 신호전달을 방지하는 mAb 1053의 능력을 입증한다.

[0245] 실시예 8: CD69 상향조절에 의해 결정된 바와 같은 1차 인간 B 세포 활성화에 대한 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0246] CR2-의존성 BCR 활성화 하류의 신호전달 사건을 차단하는 mAb 1053의 능력을 평가하기 위해, 항-BCR:C3dg 복합체로 PBMC를 자극한 후에 유동 세포측정법에 의해 1차 인간 B 세포에서 CD69 (활성화 마커)의 세포 표면 발현을 측정하였다.

[0247] 절차

[0248] 조합된 공여자로부터의 동결된 PBMC (인간 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 단리됨)를 해동시키고, 가습 분위기 하에 37℃, 5% CO2에서 30분 동안 표시된 농도의 HEK-발현된 mAb 1053 또는 이소형 대조군 항체와 함께 인큐베이션하였다. 세포를 항-BCR:C3dg 복합체로 자극하고, 추가로 4시간 동안 인큐베이션한 후, 고정시켰다. 세포를 항-CD20-A647로 염색하여 B 세포, 및 항-CD69-PE를 확인하였다. 형광을 유동 세포측정법에 의해 평가하고, 정규화된 % CD69 반응을 CD20+ 세포에서 결정하였다. N=4 독립적 평가, 평균 ± SD.

[0249] 결과

[0250] mAb 1053은 CD69 상향조절을 4.4 nM의 IC_{50}으로 강력하게 억제한 반면, 이소형 대조군 항체는 그렇지 않았다 (도 9 참조).

[0251] 이들 데이터는 1차 인간 B 세포에서 BCR 활성화 하류의 세포 표면 CD69의 상향조절을 방지하는 mAb 1053의 능력을 입증한다.

[0252] 실시예 9: 1차 인간 B 세포에서 항체 분비에 대한 mAb 996, mAb 999 및 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0253] 1차 인간 B 세포에서 기능적 반응을 차단하는 mAb 1053의 능력을 평가하기 위해, 항-BCR:C3dg 복합체로 B 세포를 자극한 후에 MSD에 의해 1차 인간 B 세포에서 분비된 이뮤노글로불린 수준을 측정하였다.

[0254] 절차

[0255] 단일 공여자로부터의 이전에 동결된 PBMC (인간 전혈로부터 밀도 구배 원심분리에 의해 단리됨)로부터 비-B 세포 및 형질 세포를 제거하는 음성 자기 분리에 의해 B 세포를 단리하였다. 세포를 가습 분위기 하에 37℃, 5% CO_2에서 30분 동안 5 μg/ml HEK-발현된 mAb 996, mAb 999, mAb 1053, 이소형 대조군 항체 존재 또는 mAb 부재 배양 배지에서 사전-인큐베이션하였다. B 세포를 항-BCR:C3dg 복합체, 또는 C3dg를 함유하지 않는 복합체 ('C3dg 부재' 대조군)로 자극하였다. 배양 배지는 세포 생존을 유지시키기 위해 준최적 농도의 IL-21 및 CD40L을 함유하였다. 4일 후, 세포 상청액을 수거하고, MSD 검정 키트를 사용하여 IgA에 대해 검정하였다. IgA 농도를 표준 곡선으로부터 계산하였고, 'C3dg 부재' 대조군 대비 중앙 배수 증가를 CR2-의존성 활성화 윈도우로서 계산하였다. N=11 공여자, 평균 ± SE.

[0256] 결과

[0257] mAb 996, mAb 999, 및 mAb 1053은 1차 인간 B 세포로부터의 C3dg-의존성 IgA 분비를 강력하게 억제한 반면, 이소형 대조군 항체는 그렇지 않았다 (도 10 참조).

[0258] 이들 데이터는 1차 인간 B 세포에서 이뮤노글로불린 분비의 C3dg-의존성 기능적 산출을 방지하는 mAb 996, mAb 999, 및 mAb 1053의 능력을 입증한다.

[0259] 실시예 10 및 11: 1차 인간 여포성 수지상 세포 (FDC)에 대한 mAb 1053의 영향

[0260] 자가면역에서 FDC의 중추적 역할은 GC/ELS에서 동족 B 세포에의 지속적인 제시를 위한 C3d/g-옵소닌화된 항원에의 CR2-의존성 결합 및 그의 보유이다.

[0261] 실시예 10: 1차 인간 FDC에 대한 mAb 1053의 표적 결속을 결정하기 위한 검정

[0262] 본 실험은 1차 인간 FDC에 대한 mAb 1053의 세포-상 결합 친화도를 결정하였다. 비표지된 mAb 1053을 FDC-풍부화된 인간 편도 소화물 상에 적정한 후, 과량의 형광-표지된 mAb 1053을 적정하였다. FDC를 확인하고, 항체 결합을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[0263] 절차

[0264] 단일 공여자로부터의 인간 편도를 기계적으로 파괴하고, 효소적으로 소화시켜 FDC를 유리시키고, 소화물을 음성 자기 분리에 의해 CD45-고갈시켰다. CD45-고갈된 편도 소화물을 실온에서 20분 동안 표시된 농도의 비표지된 CHO-발현된 mAb 1053과 함께 사전-인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 항체와 함께 인큐베이션하여 유동 세포측정법에 의해 FDC를 확인하고, 포화 농도의 PE-표지된 mAb 1053 (mAb 1053-PE, 1 μg/ml)과 함께 30분 동안 인큐베이션하였다. CD11b, CD45, CD31 및 CD34를 인식하는 항체로 계통+ 세포를 확인하였다. 세포를 게이팅하여 FDC (계통- gp38+ CD21+ (비-경쟁적 클론, Bu32 사용))를 확인하였다. 억제되지 않은 mAb 1053-PE 염색의 기하평균을 100%로 설정하였다. 데이터는 4명의 개별 공여자의 평균 ± SE이다.

[0265] 결과

[0266] FDC에 대한 mAb 1053의 표적 결속은 농도-의존적이었고, EC_{50}은 세포-상 결합 곡선으로부터 62.2 pM으로 계산되었다 (도 11 참조).

[0267] 이들 데이터는 mAb 1053이 1차 인간 FDC에 대해 높은 친화도로 CR2 표적에 결속한다는 것을 입증한다.

[0268] 실시예 11: 1차 인간 FDC에 대한 C3dg 리간드 결합에 대한 mAb 1053의 효과를 결정하기 위한 검정

[0269] 본 실험은 인간 FDC에 대한 C3dg 리간드 복합체의 결합을 방지하는 mAb 1053의 능력을 결정하였다. 스트렙타비딘 및 비오틴-C3dg (재조합)의 형광-표지된 복합체를 인간 편도 소화물과 함께 인큐베이션하고, 복합체 결합을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[0270] 절차

[0271] 비오티닐화된 C3dg 및 스트렙타비딘-APC를 사용하여 C3dg의 형광 표지된 사량체를 생성하였다. 비오티닐화된 C3dg를 스트렙타비딘-APC와 함께 4:1 비로 인큐베이션함으로써 복합체를 생성하였다.

[0272] 단일 공여자로부터의 인간 편도를 기계적으로 파괴하고, 효소적으로 소화시켜 FDC를 유리시키고, 소화물을 음성 자기 분리에 의해 CD45-고갈시켰다. CD45-고갈된 편도 소화물을 실온에서 20분 동안 표시된 농도의 비표지된 CHO-발현된 mAb 1053과 함께 사전-인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 항체와 함께 인큐베이션하여 유동 세포측정법에 의해 FDC를 확인하고, 10 μg/ml C3dg:스트렙타비딘-APC 리간드 복합체와 함께 30분 동안 인큐베이션하

였다. CD11b, CD45, CD31 및 CD34를 인식하는 항체로 계통+ 세포를 확인하였다. 세포를 게이팅하여 FDC (계통- gp38+ CD21+ (비-경쟁적 클론, Bu32 사용))를 확인하였다. C3dg (APC) 염색의 기하평균을 100%로 설정하였다. 데이터는 4명의 개별 공여자의 평균 ± SE이다.

[0273] 결과

[0274] 편도 소화물과 mAb 1053의 사전-인큐베이션은 용량-의존성 방식으로 47.0 pM의 IC_{50}으로 리간드 결합을 방지하였다 (도 12 참조).

[0275] 이들 데이터는 mAb 1053이 1차 인간 FDC에 대한 C3dg-리간드의 결합을 강력하게 억제함으로써 보체-옵소닌화된 항원의 보유를 저해할 수 있음을 입증한다.

[0276] 생물학적 데이터

[0277] 서열

[0278] 서열식별번호: 1: 인간 CR2 서열

[0279]
ISCGSPPPILNGRISYYSTPIAVGTVIRYSCSGTFRLIGEKSLLCITKDKVDGTWDKPAPKCEYFNKYSSCPEPIVPG
GYKIRGSTPYRHGDSVTFACKTNFSMNGNKSVWCQANNMWGPTRLPTCVSVFPLECPALPMIHNGHHTSENV
GSIAPGLSVTYSCESGYLLVGEKIINCLSSGKWSAVPPTCEEARCKSLGRFPNGKVKEPPILRVGVTANFFCDEGY
RLQGPPSSRCVIAGQGVAWTKMPVCEEIFCPSPPPILNGRHIGNSLANVSYGSIVTYTCDPDPEEGVNFILIGEST
LRCTVDSQKTGTWSGPAPRCELSTSAVQCPHPQILRGRMVSGQKDRYTYNDTVIFACMFGFTLKGSKQIRCNA
QGTWEPSAPVCEKECQAPPNILNGQKEDRHMVRFDPGTSIKYSCNPGYVLVGEESIQCTSEGVWTPPVPQCKVA
ACEATGRQLLTKPQHQFVRPDVNSSCGEGYKLSGSVYQECQGTIPWFMEIRLCKEITCPPPPVIYNGAHTGSSLE
DFPYGTTVTYTCNPGPERGVEFSLIGESTIRCTSNDQERGTWSGPAPLCKLSLLAVQCSHVHIANGYKISGKEAP
YFYNDTVTFKCYSGFTLKGSSQIRCKADNTWDPEIPVCEKETCQHVRQSLQELPAGSRVELVNTSCQDGYQLTG
HAYQMCQDAENGIWFKKIPLCKVIHCHPPPVIVNGKHTGMMAENFLYGNEVSYECDQGFYLLGEKKLQCRSDSK
GHGSWSGPSPQCLRSPPVTRCPNPEVKHGYKLNKTHSAYSHNDIVYVDCNPGFIMNGSRVIRCHTDNTWVPGV
PTCIKKAFIGCPPPPKTPNGNHTGGNIARFSPGMSILYSCDQGYLLVGEALLLCTHEGTWSQPAPHCKEVNCSSP
ADMDGIQKGLEPRKMYQYGAVVTLECEDGYMLEGSPQSQCQSDHQWNPPLAVCRSRSLAPVLCGIAAGLILLTF
LIVITLYVISKHRARNYYTDTSQKEAFHLEAREVYSVDPYNPAS

[0280] 서열식별번호: 2: 인간 CR2 에피토프

[0281]
FNKYS

[0282] 서열식별번호: 3: 1053 중쇄의 아미노산 서열

[0283]
QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIHYSGSTYYNPPLESRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGGPRHGWSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

[0284] 서열식별번호: 4: 1053 경쇄의 아미노산 서열

[0285]
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTI
SSLQPEDIATYYCQQDSNLPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0286] 서열식별번호: 5: 1053 가변 중쇄의 아미노산 서열

[0287]
QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIHYSGSTYYNPPLESRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGGPRHGWSWGQGTLVTVSS

[0288] 서열식별번호: 6: 1053 가변 경쇄의 아미노산 서열

[0289]
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISEYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTI
SSLQPEDIATYYCQQDSNLPITFGGGTKVEIK

[0290] 서열식별번호: 7: 1053 CDRH1의 아미노산 서열

[0291] SDSYYWG

[0292] 서열식별번호: 8: 1053 CDRH2의 아미노산 서열

[0293] SIHYSGSTYYNPPLES

[0294] 서열식별번호: 9: 1053 CDRH3의 아미노산 서열

[0295] EGGPRHGWS

[0296] 서열식별번호: 10: 1053 CDRL1의 아미노산 서열

[0297] QASQDISEYLN

[0298] 서열식별번호: 11: 1053 CDRL2의 아미노산 서열

[0299] DASNLET

[0300] 서열식별번호: 12: 1053 CDRL3의 아미노산 서열

[0301] QQDSNLPIT

[0302] 서열식별번호: 13: 1053 중쇄를 코딩하는 핵산 서열

[0303] CAGCTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAACCCAGCGAGACCCTGAGCCTGACCTGCACCGT
GAGCGGAGGCAGCATCAGCTCCGACAGCTACTACTGGGGCTGGATTAGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGG
AGTGGATCGGAAGCATCCACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCACCCCTGGAGAGCAGGGTGACCATCA
GCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTCACAGCAGCCGACACCGCCGTGTACT
ATTGCGCCAGGGAGGGCGGACCCAGGCACGGCTGGAGCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAG
CGCAAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCG
CCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCA
GCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
AAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGgccGGA
GcCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACC
TGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT
GCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCG
TGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCTA
TCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAG
ATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCT
TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

[0304] 서열식별번호: 14: 1053 경쇄를 코딩하는 핵산 서열

[0305] GACATCCAGATGACTCAGTCCCCCTCTAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACCTGCCAG
GCCAGCCAGGACATCAGCGAGTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAACTGCTGATC
TACGACGCCTCAAACCTCGAGACCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACC
TTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAGCAACCTGCCCATC
ACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGC
CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACA
GCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGT
ACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

[0306] 서열식별번호: 15: 996 중쇄의 아미노산 서열

[0307] QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIHNSGSTYYNPPLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGGPRHGWSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

[0308] 서열식별번호: 16: 996 경쇄의 아미노산 서열

[0309] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISTFLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTI
SSLQPEDIATYYCQQDSILPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0310] 서열식별번호: 17: 996 가변 중쇄의 아미노산 서열

[0311] QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIHNSGSTY
YNPPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGGPRHGWSWGQGTLVTVSS

[0312] 서열식별번호: 18: 996 가변 경쇄의 아미노산 서열

[0313] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISTFLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPS
RFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQDSILPITFGGGTKVEIK

[0314] 서열식별번호: 19: 996 CDRH1의 아미노산 서열

[0315] SSSYYWG

[0316] 서열식별번호: 20: 996 CDRH2의 아미노산 서열

[0317] SIHNSGSTYYNPPLKS

[0318] 서열식별번호: 21: 996 CDRH3의 아미노산 서열

[0319] EGGPRHGWS

[0320] 서열식별번호: 22: 996 CDRL1의 아미노산 서열

[0321] QASQDISTFLN

[0322] 서열식별번호: 23: 996 CDRL2의 아미노산 서열

[0323] DASNLET

[0324] 서열식별번호: 24: 996 CDRL3의 아미노산 서열

[0325] QQDSILPIT

[0326] 서열식별번호: 25: 996 중쇄를 코딩하는 핵산 서열

CAGCTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAACCCAGCGAGACCCTGAGCCTGACCTGCACCGT
GAGCGGAGGCAGCATCAGCTCCAGCAGCTACTACTGGGGCTGGATTAGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGG
AGTGGATCGGAAGCATCCACAACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCACCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCA
GCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTCACAGCAGCCGACACCGCCGTGTACT
ATTGCGCCAGGGAGGGCGGACCCAGGCACGGCTGGAGCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAG
CGCAAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCG
CCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCA
GCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
AAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGgccGGA
GcCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACC
TGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT
GCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCG
TGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCTA
TCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAG
ATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCT
TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

[0327]

[0328] 서열식별번호: 26: 996 경쇄를 코딩하는 핵산 서열

GACATCCAGATGACTCAGTCCCCCTCTAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACCTGCCAG
GCCAGCCAGGACATCAGCACCTTCCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAACTGCTGATC
TACGACGCCTCAAACCTCGAGACCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACC
TTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAGCATCCTGCCCATC
ACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGC
CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACA
GCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGT
ACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

[0329]

[0330] 서열식별번호: 27: 999 중쇄의 아미노산 서열

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIHYSGSTYYNPPLESRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGGPRHGWSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

[0331]

[0332] 서열식별번호: 28: 999 경쇄의 아미노산 서열

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASHDISNFLNWYQQKPGKAPKLLIYDTSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTI
SSLQPEDIATYYCQQDSILPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0333]

[0334] 서열식별번호: 29: 999 가변 중쇄의 아미노산 서열

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIHYSGSTY
YNPPLESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGGPRHGWSWGQGTLVTVSS

[0335]

[0336] 서열식별번호: 30: 999 가변 경쇄의 아미노산 서열

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASHDISNFLNWYQQKPGKAPKLLIYDTSNLETGVPS
RFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQDSILPITFGGGTKVEIK

[0337]

[0338] 서열식별번호: 31: 999 CDRH1의 아미노산 서열

[0339] SSSYYWG

[0340] 서열식별번호: 32: 999 CDRH2의 아미노산 서열

[0341] SIHYSGSTYYNPPLES

[0342] 서열식별번호: 33: 999 CDRH3의 아미노산 서열

[0343] EGGPRHGWS

[0344] 서열식별번호: 34: 999 CDRL1의 아미노산 서열

[0345] QASHDISNFLN

[0346] 서열식별번호: 35: 999 CDRL2의 아미노산 서열

[0347] DTSNLET

[0348] 서열식별번호: 36: 999 CDRL3의 아미노산 서열

[0349] QQDSILPIT

[0350] 서열식별번호: 37: 999 중쇄를 코딩하는 핵산 서열

[0351] CAGCTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAACCCAGCGAGACCCTGAGCCTGACCTGCACCGT
GAGCGGAGGCAGCATCAGCTCCAGCAGCTACTACTGGGGCTGGATTAGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGG
AGTGGATCGGAAGCATCCACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCACCCCTGGAGAGCAGGGTGACCATCA
GCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTCACAGCAGCCGACACCGCCGTGTACT
ATTGCGCCAGGGAGGGCGGACCCAGGCACGGCTGGAGCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAG
CGCAAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCG
CCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCA
GCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
AAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGGCCGGA
GCCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACC
TGTGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT
GCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCG
TGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCTA
TCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAG
ATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCT
TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

[0352] 서열식별번호: 38: 999 경쇄를 코딩하는 핵산 서열

[0353] GACATCCAGATGACTCAGTCCCCCTCTAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACCTGCCAG
GCCAGCCACGACATCAGCAACTTCCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAACTGCTGATC
TACGACACCTCAAACCTCGAGACCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACC
TTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAGCATCCTGCCCATC
ACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGC
CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACA
GCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGT
ACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

[0354] 서열식별번호: 39:

[0355] MISCGSPPPIL

[0356] 서열식별번호: 40:

[0357] MISCGSPPPILNGRISY

[0358] 서열식별번호: 41:

[0359] YSTPIAVG

[0360] 서열식별번호: 42:

[0361] YSTPIAVGT

[0362] 서열식별번호: 43:

[0363] YSTPIAVGTVIRYSCSGT

[0364] 서열식별번호: 44:

[0365] TVIRYSCSGT

[0366] 서열식별번호: 45:

[0367] TVIRYSCSGTF

[0368] 서열식별번호: 46:

[0369] VIRYSCSGT

[0370] 서열식별번호: 47:

[0371] FRLIGEKS

[0372] 서열식별번호: 48:

[0373] FRLIGEKSL

[0374] 서열식별번호: 49:

[0375] FRLIGEKSLL

[0376] 서열식별번호: 50:

[0377] RLIGEKSL

[0378] 서열식별번호: 51:

[0379] RLIGEKSLL

[0380] 서열식별번호: 52:

[0381] IGEKSLL

[0382] 서열식별번호: 53:

[0383] GEKSLLCITKDKVDGTWDKPA

[0384] 서열식별번호: 54:

[0385] CITKDKVDGT

[0386] 서열식별번호: 55:

[0387] CITKDKVDGTWDKPAPKCEY

[0388] 서열식별번호: 56:

[0389] KVDGTWDKPAPKCEY

[0390] 서열식별번호: 57:

[0391] WDKPAPKCEY

[0392] 서열식별번호: 58:

[0393] FNKYSSCPEPIVPGGYKIRGSTPYRHGDSVT

[0394] 서열식별번호: 59:

[0395] FNKYSSCPEPIVPGGYKIRGSTPYRHGDSVTF

[0396] 서열식별번호: 60:

[0397] SSCPEPIVPGGYKIRGSTPYRHGDSVT

[0398] 서열식별번호: 61:

[0399] YKIRGSTPYRHGDSVT

[0400] 서열식별번호: 62:

[0401] YKIRGSTPYRHGDSVTF

[0402] 서열식별번호: 63:

[0403] KIRGSTPYRHGDSVT

[0404] 서열식별번호: 64:

[0405] KIRGSTPYRHGDSVTF

[0406] 서열식별번호: 65:

[0407] FACKTNF

[0408] 서열식별번호: 66:

[0409] SMNGNKSVW

[0410] 서열식별번호: 67:

[0411] SMNGNKSVWC

[0412] 서열식별번호: 68:

[0413] SMNGNKSVWCQA

[0414] 서열식별번호: 69:

[0415] SMNGNKSVWCQANNM

[0416] 서열식별번호: 70:

[0417] SMNGNKSVWCQANNMWGPTRL

[0418] 서열식별번호: 71:

[0419] SMNGNKSVWCQANNMWGPTRLPTC

[0420] 서열식별번호: 72:

[0421] NNMWGPTRL

[0422] 서열식별번호: 73:

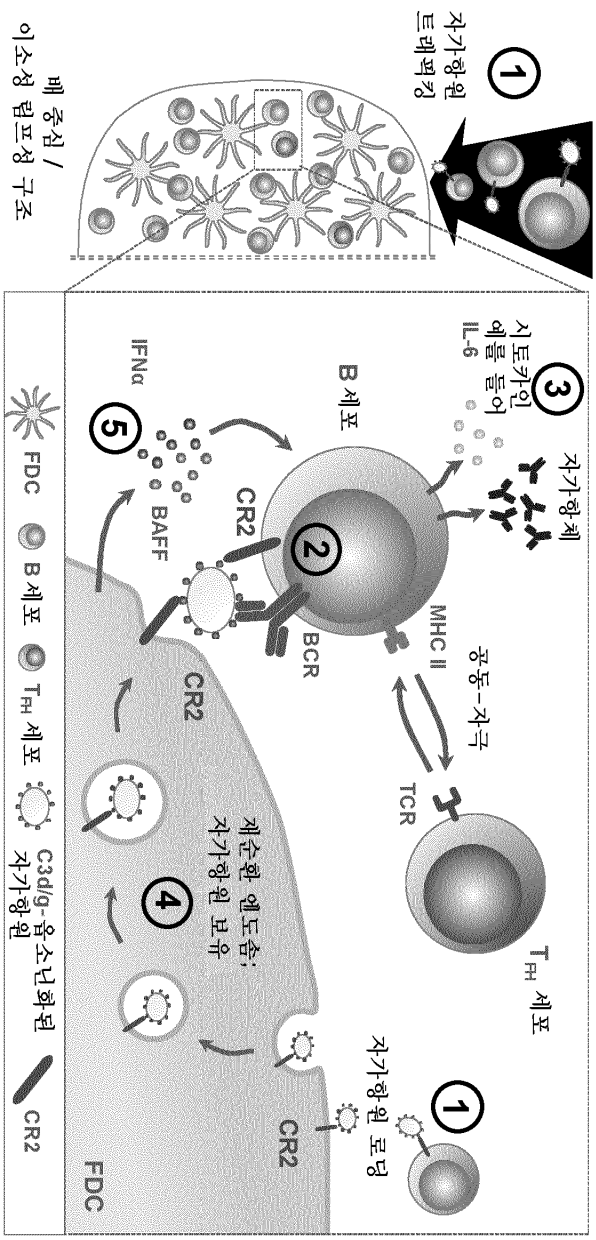
[0423] NNMWGPTRLPTCV

[0424] 서열식별번호: 74:

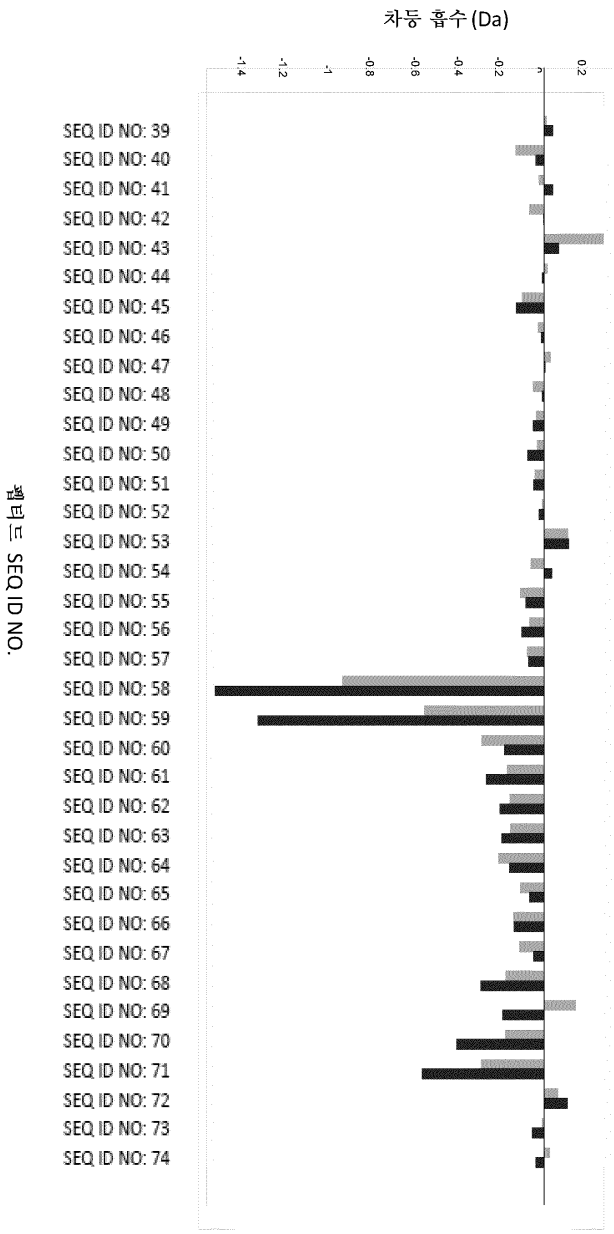
[0425] VSVFPLE

도면

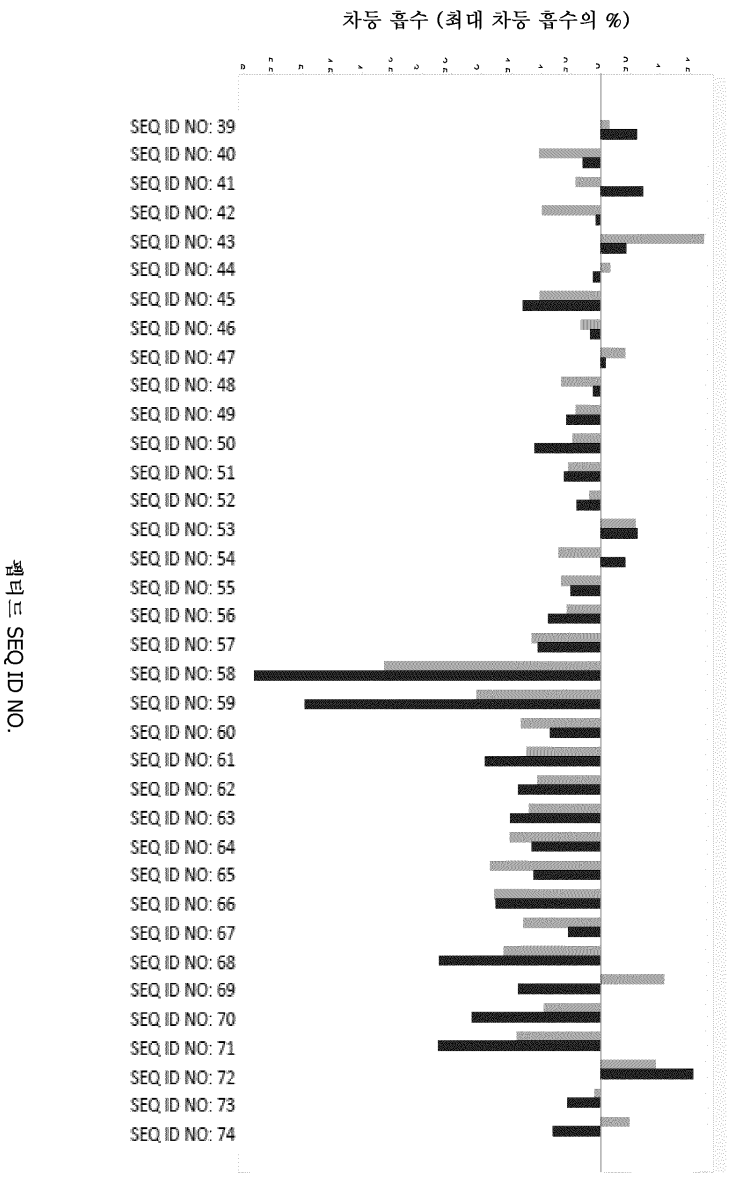
도면1



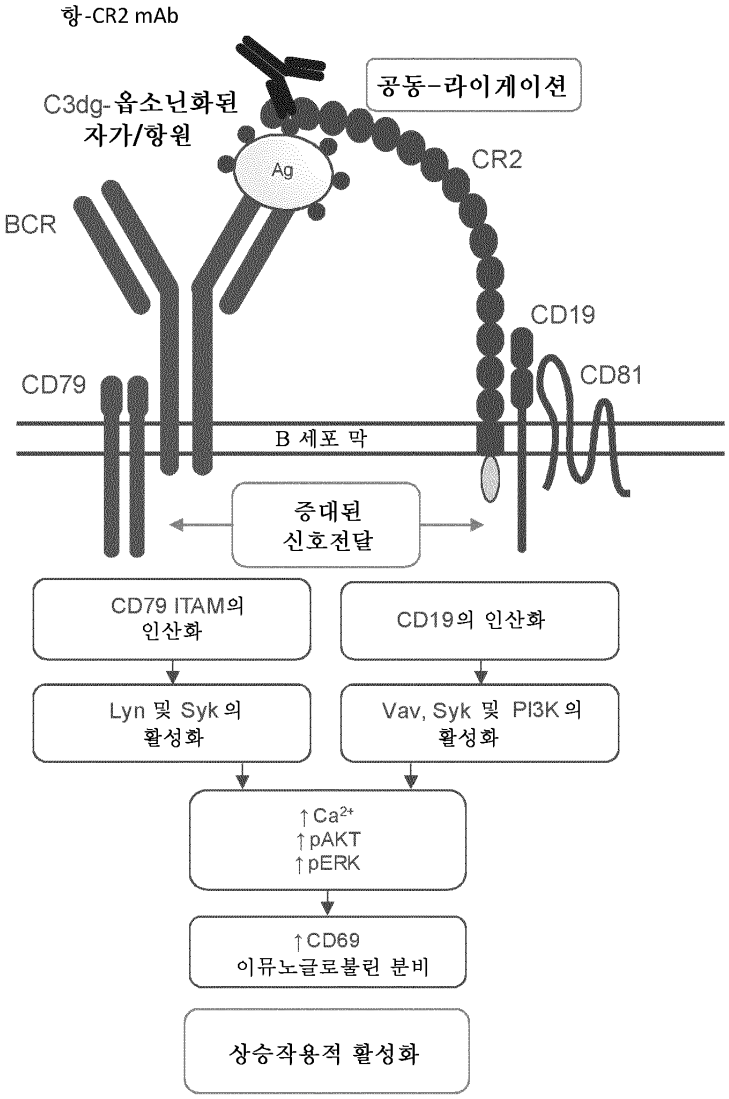
도면2a


차등 흡수 (Da)
-1.4
-1.2
-1
-0.8
-0.6
-0.4
-0.2
0
0.2
펩타이드 SEQ ID NO.
SEQ ID NO: 39
SEQ ID NO: 40
SEQ ID NO: 41
SEQ ID NO: 42
SEQ ID NO: 43
SEQ ID NO: 44
SEQ ID NO: 45
SEQ ID NO: 46
SEQ ID NO: 47
SEQ ID NO: 48
SEQ ID NO: 49
SEQ ID NO: 50
SEQ ID NO: 51
SEQ ID NO: 52
SEQ ID NO: 53
SEQ ID NO: 54
SEQ ID NO: 55
SEQ ID NO: 56
SEQ ID NO: 57
SEQ ID NO: 58
SEQ ID NO: 59
SEQ ID NO: 60
SEQ ID NO: 61
SEQ ID NO: 62
SEQ ID NO: 63
SEQ ID NO: 64
SEQ ID NO: 65
SEQ ID NO: 66
SEQ ID NO: 67
SEQ ID NO: 68
SEQ ID NO: 69
SEQ ID NO: 70
SEQ ID NO: 71
SEQ ID NO: 72
SEQ ID NO: 73
SEQ ID NO: 74

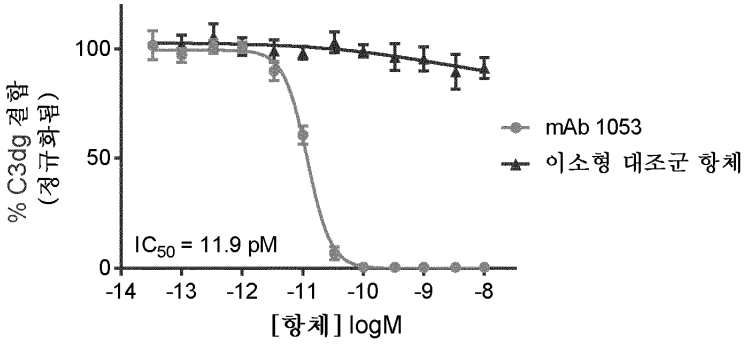
도면2b


차등 흡수 (최대 차등 흡수의 %)
SEQ ID NO: 39
SEQ ID NO: 40
SEQ ID NO: 41
SEQ ID NO: 42
SEQ ID NO: 43
SEQ ID NO: 44
SEQ ID NO: 45
SEQ ID NO: 46
SEQ ID NO: 47
SEQ ID NO: 48
SEQ ID NO: 49
SEQ ID NO: 50
SEQ ID NO: 51
SEQ ID NO: 52
SEQ ID NO: 53
SEQ ID NO: 54
SEQ ID NO: 55
SEQ ID NO: 56
SEQ ID NO: 57
SEQ ID NO: 58
SEQ ID NO: 59
SEQ ID NO: 60
SEQ ID NO: 61
SEQ ID NO: 62
SEQ ID NO: 63
SEQ ID NO: 64
SEQ ID NO: 65
SEQ ID NO: 66
SEQ ID NO: 67
SEQ ID NO: 68
SEQ ID NO: 69
SEQ ID NO: 70
SEQ ID NO: 71
SEQ ID NO: 72
SEQ ID NO: 73
SEQ ID NO: 74
펩타드 SEQ ID NO.

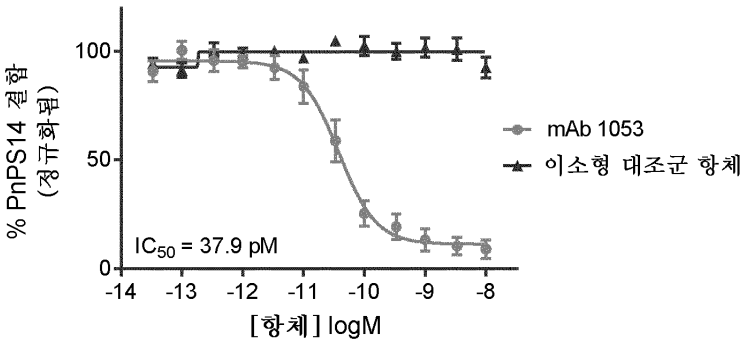
도면3


항-CR2 mAb
공동-라이게이션
C3dg-옵소닌화된
자가/항원
Ag
CR2
BCR
CD19
CD81
CD79
B 세포 막
증대된
신호전달
CD79 ITAM의
인산화
CD19의 인산화
Lyn 및 Syk의
활성화
Vav, Syk 및 PI3K의
활성화
↑Ca2+
↑pAKT
↑pERK
↑CD69
이뮤노글로불린 분비
상승작용적 활성화

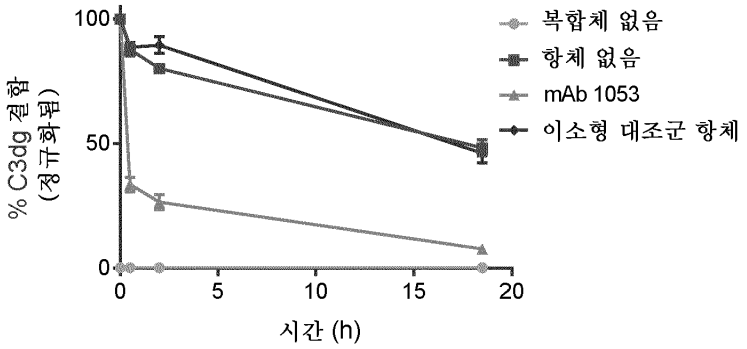
도면4


% C3dg 결합
(정규화됨)
100
50
0
IC50 = 11.9 pM
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
[항체] logM
mAb 1053
이소형 대조군 항체

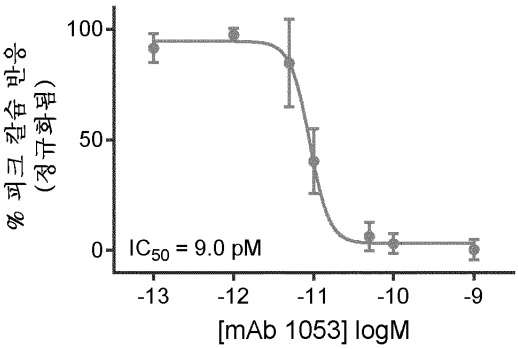
도면5


% PnPS14 결합
(정규화됨)
100
50
0
IC50 = 37.9 pM
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
[항체] logM
mAb 1053
이소형 대조군 항체

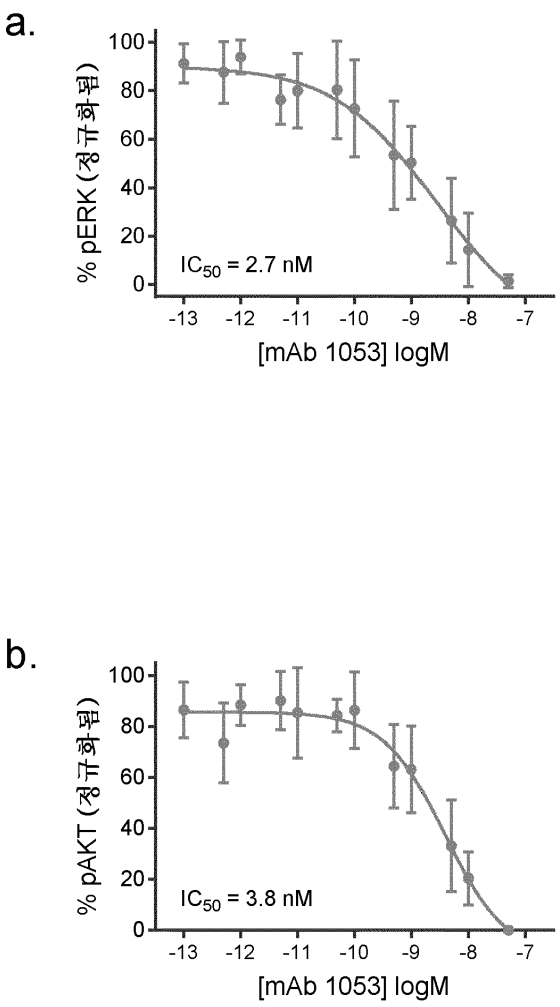
도면6


% C3dg 결합
(정규화됨)
100
50
0
0
5
10
15
20
시간 (h)
복합체 없음
항체 없음
mAb 1053
이소형 대조군 항체

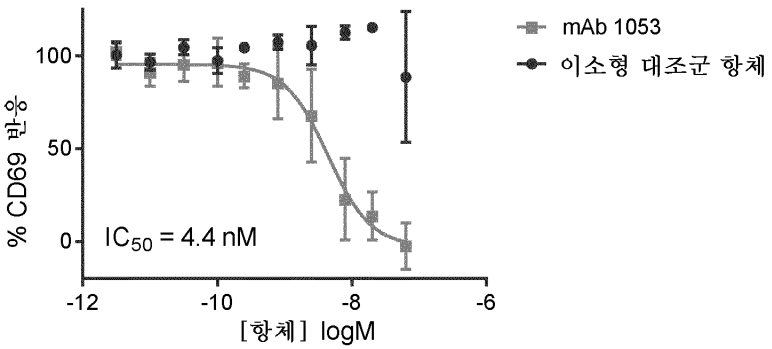
도면7


% 피크 칼슘 반응
(정규화됨)
100
50
0
IC50 = 9.0 pM
-13
-12
-11
-10
-9
[mAb 1053] logM

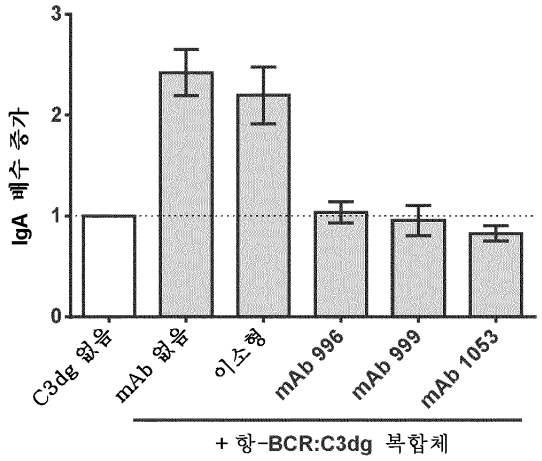
도면8


a.
% pERK (정규화됨)
100
80
60
40
20
0
IC50 = 2.7 nM
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
[mAb 1053] logM
b.
% pAKT (정규화됨)
100
80
60
40
20
0
IC50 = 3.8 nM
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
[mAb 1053] logM

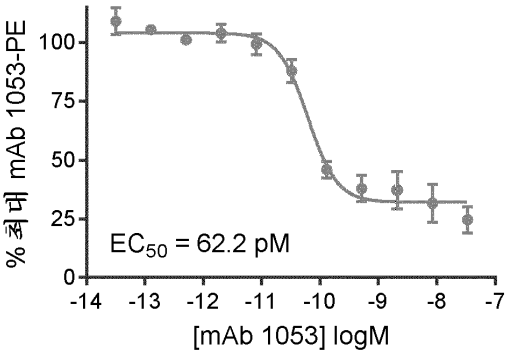
도면9


% CD69 반응
100
50
0
IC50 = 4.4 nM
-12
-10
-8
-6
[항체] logM
mAb 1053
이소형 대조군 항체

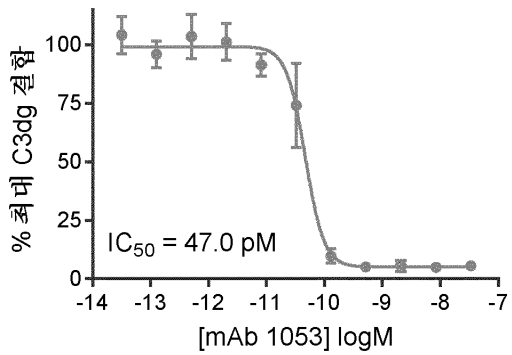
도면10



도면11



도면12



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> GlaxoSmithKline Intellectual Property Limited, England

<120> Anti-CR2 Antibodies and Antigen-binding Fragments thereof; and their use in Medical therapy

<130> PB66811 WO

<150> GB 1912437.9

<151> 2019-08-30

<160> 74

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1013

<212> PRT

<213> Human CR2 sequence

<400> 1

Ile Ser Cys Gly Ser Pro Pro Pro Ile Leu Asn Gly Arg Ile Ser Tyr
1 5 10 15

Tyr Ser Thr Pro Ile Ala Val Gly Thr Val Ile Arg Tyr Ser Cys Ser
20 25 30

Gly Thr Phe Arg Leu Ile Gly Glu Lys Ser Leu Leu Cys Ile Thr Lys
35 40 45

Asp Lys Val Asp Gly Thr Trp Asp Lys Pro Ala Pro Lys Cys Glu Tyr
50 55 60

Phe Asn Lys Tyr Ser Ser Cys Pro Glu Pro Ile Val Pro Gly Gly Tyr
65 70 75 80

Lys Ile Arg Gly Ser Thr Pro Tyr Arg His Gly Asp Ser Val Thr Phe
85 90 95

Ala Cys Lys Thr Asn Phe Ser Met Asn Gly Asn Lys Ser Val Trp Cys
100 105 110

Gln Ala Asn Asn Met Trp Gly Pro Thr Arg Leu Pro Thr Cys Val Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Glu Cys Pro Ala Leu Pro Met Ile His Asn Gly His
130 135 140

His Thr Ser Glu Asn Val Gly Ser Ile Ala Pro Gly Leu Ser Val Thr
145 150 155 160

Tyr Ser Cys Glu Ser Gly Tyr Leu Leu Val Gly Glu Lys Ile Ile Asn
165 170 175
Cys Leu Ser Ser Gly Lys Trp Ser Ala Val Pro Pro Thr Cys Glu Glu
180 185 190
Ala Arg Cys Lys Ser Leu Gly Arg Phe Pro Asn Gly Lys Val Lys Glu
195 200 205

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

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

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

Lys Glu Asp Arg His Met Val Arg Phe Asp Pro Gly Thr Ser Ile Lys

405 410 415

Tyr Ser Cys Asn Pro Gly Tyr Val Leu Val Gly Glu Glu Ser Ile Gln

420 425 430

Cys Thr Ser Glu Gly Val Trp Thr Pro Pro Val Pro Gln Cys Lys Val

435 440 445

Ala Ala Cys Glu Ala Thr Gly Arg Gln Leu Leu Thr Lys Pro Gln His

450 455 460

Gln Phe Val Arg Pro Asp Val Asn Ser Ser Cys Gly Glu Gly Tyr Lys

465 470 475 480

Leu Ser Gly Ser Val Tyr Gln Glu Cys Gln Gly Thr Ile Pro Trp Phe

485 490 495

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

500 505 510

Ile Tyr Asn Gly Ala His Thr Gly Ser Ser Leu Glu Asp Phe Pro Tyr

515 520 525

Gly Thr Thr Val Thr Tyr Thr Cys Asn Pro Gly Pro Glu Arg Gly Val

530 535 540

Glu Phe Ser Leu Ile Gly Glu Ser Thr Ile Arg Cys Thr Ser Asn Asp

545 550 555 560

Gln Glu Arg Gly Thr Trp Ser Gly Pro Ala Pro Leu Cys Lys Leu Ser

565 570 575

Leu Leu Ala Val Gln Cys Ser His Val His Ile Ala Asn Gly Tyr Lys

580 585 590

Ile Ser Gly Lys Glu Ala Pro Tyr Phe Tyr Asn Asp Thr Val Thr Phe

595 600 605

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

610 615 620

Lys Ala Asp Asn Thr Trp Asp Pro Glu Ile Pro Val Cys Glu Lys Glu

625 630 635 640

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

645 650 655

Arg Val Glu Leu Val Asn Thr Ser Cys Gln Asp Gly Tyr Gln Leu Thr
660 665 670

Gly His Ala Tyr Gln Met Cys Gln Asp Ala Glu Asn Gly Ile Trp Phe
675 680 685

Lys Lys Ile Pro Leu Cys Lys Val Ile His Cys His Pro Pro Pro Val
690 695 700

Ile Val Asn Gly Lys His Thr Gly Met Met Ala Glu Asn Phe Leu Tyr
705 710 715 720

Gly Asn Glu Val Ser Tyr Glu Cys Asp Gln Gly Phe Tyr Leu Leu Gly
725 730 735

Glu Lys Lys Leu Gln Cys Arg Ser Asp Ser Lys Gly His Gly Ser Trp
740 745 750

Ser Gly Pro Ser Pro Gln Cys Leu Arg Ser Pro Pro Val Thr Arg Cys
755 760 765

Pro Asn Pro Glu Val Lys His Gly Tyr Lys Leu Asn Lys Thr His Ser
770 775 780

Ala Tyr Ser His Asn Asp Ile Val Tyr Val Asp Cys Asn Pro Gly Phe
785 790 795 800

Ile Met Asn Gly Ser Arg Val Ile Arg Cys His Thr Asp Asn Thr Trp
805 810 815

Val Pro Gly Val Pro Thr Cys Ile Lys Lys Ala Phe Ile Gly Cys Pro
820 825 830

Pro Pro Pro Lys Thr Pro Asn Gly Asn His Thr Gly Gly Asn Ile Ala
835 840 845

Arg Phe Ser Pro Gly Met Ser Ile Leu Tyr Ser Cys Asp Gln Gly Tyr
850 855 860

Leu Leu Val Gly Glu Ala Leu Leu Leu Cys Thr His Glu Gly Thr Trp
865 870 875 880

Ser Gln Pro Ala Pro His Cys Lys Glu Val Asn Cys Ser Ser Pro Ala
885 890 895

Asp Met Asp Gly Ile Gln Lys Gly Leu Glu Pro Arg Lys Met Tyr Gln

900 905 910

Tyr Gly Ala Val Val Thr Leu Glu Cys Glu Asp Gly Tyr Met Leu Glu
915 920 925
Gly Ser Pro Gln Ser Gln Cys Gln Ser Asp His Gln Trp Asn Pro Pro
930 935 940
Leu Ala Val Cys Arg Ser Arg Ser Leu Ala Pro Val Leu Cys Gly Ile
945 950 955 960
Ala Ala Gly Leu Ile Leu Leu Thr Phe Leu Ile Val Ile Thr Leu Tyr
965 970 975

Val Ile Ser Lys His Arg Ala Arg Asn Tyr Tyr Thr Asp Thr Ser Gln
980 985 990
Lys Glu Ala Phe His Leu Glu Ala Arg Glu Val Tyr Ser Val Asp Pro
995 1000 1005
Tyr Asn Pro Ala Ser
1010

<210> 2
<211> 5
<212> PRT
<213> Human CR2 epitope
<400> 2
Phe Asn Lys Tyr Ser
1 5
<210> 3
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 3
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro
50 55 60

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

Lys

<210> 4

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 4

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Glu Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Ser Asn Leu Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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> 5

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 6

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Glu Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Ser Asn Leu Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 7

Ser Asp Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 8

Ser Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu Glu Ser

1 5 10 15

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 9

Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser

1 5

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 10

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Glu Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 11

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210>

12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 12

Gln Gln Asp Ser Asn Leu Pro Ile Thr

1 5

<210> 13

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 13

cagctccagc tgcaggagag cggcccaggc ctggtgaaac ccagcgagac cctgagcctg 60

acctgcaccg tgagcggagg cagcatcagc tccgacagct actactgggg ctggattagg 120

cagcctcccg gcaagggcct ggagtggatc ggaagcatcc actacagcgg cagcacctac 180

tacaacccac ccctggagag cagggtgacc atcagcgtgg acaccagcaa gaaccagttc 240

agcctgaagc tgagcagcgt cacagcagcc gacaccgccg tgtactattg cgccagggag 300

ggcggaccca ggcacggctg gagctggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcgca 360

agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420

acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480

aacagcggag ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540

ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600

atctgtaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaggt ggagcccaag 660

agctgtgaca agacccacac ctgccccccc tgccctgccc ccgagctggc cggagccccc 720

agcgtgttcc tgttcccccc caagcctaag gacaccctga tgatcagcag aaccccgag 780

gtgacctgtg tggtggtgga tgtgagccac gaggaccctg aggtgaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca caatgccaag accaagccca gggaggagca gtacaacagc 900

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaaggag 960

tacaagtgta aggtgtccaa caaggccctg cctgccccta tcgagaaaac catcagcaag 1020

gccaagggcc agcccagaga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcag agatgagctg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1200

gacagcgatg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag cagatggcag 1260

cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaatca ctacacccag 1320

aagagcctga gcctgtcccc tggcaag 1347

<210> 14

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 14

gacatccaga tgactcagtc cccctctagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60

atcacctgcc aggccagcca ggacatcagc gagtacctga actggtacca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaaactgct gatctacgac gcctcaaacc tcgagaccgg cgtgcctagc 180

aggtttagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccttca ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag gacagcaacc tgcccatcac cttcggcgga 300

ggcaccaagg tggagattaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttcccccc 360

agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 15

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 15

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

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

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser 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 Ala Gly Ala 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 Asp Glu Leu 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

Lys

<210> 16

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 16

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Phe

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Ser Ile Leu Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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> 17

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 18

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

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

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 19

Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly
1 5

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 20

Ser Ile His Asn Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400

> 21

Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser

1 5

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 22

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 23

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 24

Gln Gln Asp Ser Ile Leu Pro Ile Thr

1 5

<210> 25

<211> 1347

<212> DNA

<213> Nucleic acid sequence encoding '996 heavy chain

<400> 25

cagctccagc tgcaggagag cggcccaggc ctggtgaaac ccagcgagac cctgagcctg 60

acctgcaccg tgagcggagg cagcatcagc tccagcagct actactgggg ctggattagg 120

cagcctcccg gcaagggcct ggagtggatc ggaagcatcc acaacagcgg cagcacctac 180

tacaacccac ccctgaagag cagggtgacc atcagcgtgg acaccagcaa gaaccagttc 240

agcctgaagc tgagcagcgt cacagcagcc gacaccgccg tgtactattg cgccagggag 300

ggcggaccca ggcacggctg gagctggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcgca 360

agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420

acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480

aacagcggag ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540

ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600

atctgtaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaggt ggagcccaag 660

agctgtgaca agacccacac ctgccccccc tgccctgccc ccgagctggc cggagccccc 720

agcgtgttcc tgttcccccc caagcctaag gacaccctga tgatcagcag aacccccgag 780

gtgacctgtg tggtggtgga tgtgagccac gaggaccctg aggtgaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca caatgccaag accaagccca gggaggagca gtacaacagc 900

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaaggag 960

tacaagtgta aggtgtccaa caaggccctg cctgccccta tcgagaaaac catcagcaag 1020

gccaagggcc agcccagaga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcag agatgagctg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1200

gacagcgatg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag cagatggcag 1260

cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaatca ctacacccag 1320

aagagcctga gcctgtcccc tggcaag 1347

<210> 26

<211> 642

<212> DNA

<213> Nucleic acid sequence encoding '996 light chain

<400> 26

gacatccaga tgactcagtc cccctctagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60

atcacctgcc aggccagcca ggacatcagc accttcctga actggtacca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaaactgct gatctacgac gcctcaaacc tcgagaccgg cgtgcctagc 180

aggtttagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccttca ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag gacagcatcc tgcccatcac cttcggcgga 300

ggcaccaagg tggagattaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttcccccca 360

agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 27

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 27

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro
50 55 60

Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser 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 Ala Gly Ala 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 Asp Glu Leu 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

Lys

<210> 28
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques
<400> 28
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 Gln Ala Ser His Asp Ile Ser Asn Phe
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Thr Phe Gly Gly 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> 29
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques
<400> 29
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 30

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 30

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 Gln Ala Ser His Asp Ile Ser Asn Phe

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Ser Ile Leu Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 31

Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 32

Ser Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Pro Leu Glu Ser

1 5 10 15

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 33

Glu Gly Gly Pro Arg His Gly Trp Ser

1 5

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 34

Gln Ala Ser His Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 35

Asp Thr Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210>

36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 36

Gln Gln Asp Ser Ile Leu Pro Ile Thr

1 5

<210> 37

<211> 1347

<212> DNA

<213> Nucleic acid sequence encoding '999 heavy chain

<400> 37

cagctccagc tgcaggagag cggcccaggc ctggtgaaac ccagcgagac cctgagcctg 60

acctgcaccg tgagcggagg cagcatcagc tccagcagct actactgggg ctggattagg 120

cagcctcccg gcaagggcct ggagtggatc ggaagcatcc actacagcgg cagcacctac 180

tacaacccac ccctggagag cagggtgacc atcagcgtgg acaccagcaa gaaccagttc 240

agcctgaagc tgagcagcgt cacagcagcc gacaccgccg tgtactattg cgccagggag 300

ggcggaccca ggcacggctg gagctggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcgca 360

agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420

acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480

aacagcggag ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540

ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600

atctgtaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaggt ggagcccaag 660

agctgtgaca agacccacac ctgccccccc tgccctgccc ccgagctggc cggagccccc 720

agcgtgttcc tgttcccccc caagcctaag gacaccctga tgatcagcag aaccccgag 780

gtgacctgtg tggtggtgga tgtgagccac gaggaccctg aggtgaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca caatgccaag accaagccca gggaggagca gtacaacagc 900

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaaggag 960

tacaagtgta aggtgtccaa caaggccctg cctgccccta tcgagaaaac catcagcaag 1020

gccaagggcc agcccagaga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcag agatgagctg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1200

gacagcgatg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag cagatggcag 1260

cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaatca ctacacccag 1320

aagagcctga gcctgtcccc tggcaag 1347

<210> 38

<211> 642

<212> DNA

<213> Nucleic acid sequence encoding '999 light chain

<400> 38

gacatccaga tgactcagtc cccctctagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60

atcacctgcc aggccagcca cgacatcagc aacttcctga actggtacca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaaactgct gatctacgac acctcaaacc tcgagaccgg cgtgcctagc 180

aggtttagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccttca ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag gacagcatcc tgcccatcac cttcggcgga 300

ggcaccaagg tggagattaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttcccccc 360

agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 39

Met Ile Ser Cys Gly Ser Pro Pro Pro Ile Leu

1 5 10

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 40

Met Ile Ser Cys Gly Ser Pro Pro Pro Ile Leu Asn Gly Arg Ile Ser

1 5 10 15

Tyr

<210> 41

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 41

Tyr Ser Thr Pro Ile Ala Val Gly

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 42

Tyr Ser Thr Pro Ile Ala Val Gly Thr

1 5

<210> 43

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 43

Tyr Ser Thr Pro Ile Ala Val Gly Thr Val Ile Arg Tyr Ser Cys Ser

1 5 10 15

Gly Thr

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 44

Thr Val Ile Arg Tyr Ser Cys Ser Gly Thr

1 5 10

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 45

Thr Val Ile Arg Tyr Ser Cys Ser Gly Thr Phe

1 5 10

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 46

Val Ile Arg Tyr Ser Cys Ser Gly Thr

1 5

<210> 47

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 47

Phe Arg Leu Ile Gly Glu Lys Ser

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 48

Phe Arg Leu Ile Gly Glu Lys Ser Leu

1 5

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 49

Phe Arg Leu Ile Gly Glu Lys Ser Leu Leu

1 5 10

<210> 50

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 50

Arg Leu Ile Gly Glu Lys Ser Leu

1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 51

Arg Leu Ile Gly Glu Lys Ser Leu Leu

1 5

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 52

Ile Gly Glu Lys Ser Leu Leu

1 5

<210> 53

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 53

Gly Glu Lys Ser Leu Leu Cys Ile Thr Lys Asp Lys Val Asp Gly Thr

1 5 10 15

Trp Asp Lys Pro Ala

20

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 54

Cys Ile Thr Lys Asp Lys Val Asp Gly Thr

1 5 10

<210> 55

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 55

Cys Ile Thr Lys Asp Lys Val Asp Gly Thr Trp Asp Lys Pro Ala Pro

1 5 10 15

Lys Cys Glu Tyr

20

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 56

Lys Val Asp Gly Thr Trp Asp Lys Pro Ala Pro Lys Cys Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 57

Trp Asp Lys Pro Ala Pro Lys Cys Glu Tyr

1 5 10

<210> 58

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 58

Phe Asn Lys Tyr Ser Ser Cys Pro Glu Pro Ile Val Pro Gly Gly Tyr

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 59

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 59

Phe Asn Lys Tyr Ser Ser Cys Pro Glu Pro Ile Val Pro Gly Gly Tyr
1 5 10 15

Lys Ile Arg Gly Ser Thr Pro Tyr Arg His Gly Asp Ser Val Thr Phe
20 25 30

<210> 60

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 60

Ser Ser Cys Pro Glu Pro Ile Val Pro Gly Gly Tyr Lys Ile Arg Gly
1 5 10 15

Ser Thr Pro Tyr Arg His Gly Asp Ser Val Thr
20 25

<210> 61

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 61

Tyr Lys Ile Arg Gly Ser Thr Pro Tyr Arg His Gly Asp Ser Val Thr
1 5 10 15

<210> 62

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 62

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

1 5 10 15

Phe

<210> 63

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 63

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

1 5 10 15

<210> 64

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400

> 64

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

1 5 10 15

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 65

Phe Ala Cys Lys Thr Asn Phe

1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 66

Ser Met Asn Gly Asn Lys Ser Val Trp

1 5

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 67

Ser Met Asn Gly Asn Lys Ser Val Trp Cys

1 5 10

<210> 68

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 68

Ser Met Asn Gly Asn Lys Ser Val Trp Cys Gln Ala

1 5 10

<210> 69

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 69

Ser Met Asn Gly Asn Lys Ser Val Trp Cys Gln Ala Asn Asn Met

1 5 10 15

<210> 70

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 70

Ser Met Asn Gly Asn Lys Ser Val Trp Cys Gln Ala Asn Asn Met Trp

1 5 10 15

Gly Pro Thr Arg Leu

20

<210> 71

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 71

Ser Met Asn Gly Asn Lys Ser Val Trp Cys Gln Ala Asn Asn Met Trp

1 5 10 15

Gly Pro Thr Arg Leu Pro Thr Cys

20

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 72

Asn Asn Met Trp Gly Pro Thr Arg Leu

1 5

<210> 73

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 73

Asn Asn Met Trp Gly Pro Thr Arg Leu Pro Thr Cys Val

1 5 10

<210> 74

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence identified using molecular biology techniques

<400> 74

Val Ser Val Phe Pro Leu Glu

1 5