(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0131205
(43) 공개일자 2023년09월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 51/04 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 51/0495 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7023345
(22) 출원일자(국제) 2022년01월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년07월10일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/050453
(87) 국제공개번호 WO 2022/152701
국제공개일자 2022년07월21일
(30) 우선권주장
21151407.0 2021년01월13일
유럽특허청(EPO)(EP)
21184780.1 2021년07월09일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
(72) 발명자
콜롬베티 사라
스위스 8952 슐리렌 바기스트라쎄 10 로슈 글리카르트 아게
프로스트 소피아
스위스 8952 슐리렌 바기스트라쎄 10 로슈 글리카르트 아게
(74) 대리인
제일특허법인(유)

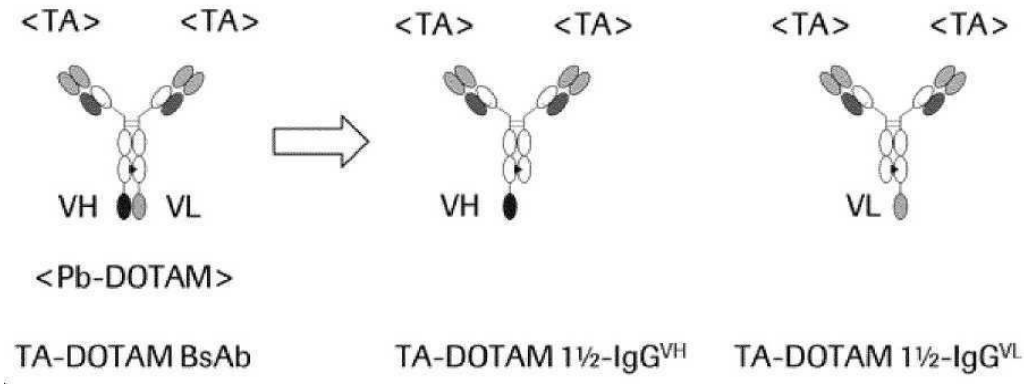
전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 **병용 요법**

(57) 요 약

본원 발명은 사전-표적화된 방사면역요법(PRIT)의 이용을 포함하는 병용 요법에 관계한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

명 세 서

청구범위

청구항 1

개체에서 증식성 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 개체를,

i) 다중특이적(multispecific) 항체 또는 분할 다중특이적(split multispecific) 항체(상기 항체 또는 분할 항체는 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는다)를 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 그리고 방사성-표지화된 화합물을 개체에게 투여하는 것을 더욱 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법; 및

ii) CD40 효현제(agonist) 및 면역 관문 저해제(immune checkpoint inhibitor)를 개체에게 투여하는 것을 포함하는 면역요법

으로 치료하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

청구항 제1항에 있어서, 상기 방법은,

다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계, 및

CD40 효현제 및 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계

를 포함하는 치료 주기를 포함하되, 상기 항-CD40 항체 및 상기 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 3

청구항 제2항에 있어서, 상기 방법은 1회 이상의 추가 치료 주기를 포함하되,

각 추가 주기는,

다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계, 및

면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 4

청구항 제3항에 있어서, 상기 방법은 2, 3, 4 또는 5회 추가 주기를 포함하는, 방법.

청구항 5

청구항 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 방사성-표지화된 화합물은, ^{212}Pb, ^{212}Bi 또는 ^{213}Bi으로 킬레이트화된 DOTAM인, 방법.

청구항 6

청구항 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 항원은 CEA인, 방법.

청구항 7

청구항 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 다중특이적 항체는 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 8

청구항 제7항에 있어서, Fc 도메인은, 효과기(effector) 기능을 감소시키거나 또는 제거하기 위해 변형되는, 방법.

청구항 9

청구항 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 분할 다중특이적 항체를 투여하는 단계를 포함하되, 상기 분할 항체는

i) 표적 항원에 결합하고, 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 더욱 포함하지만, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하지 않는 첫 번째 헤미바디(hemibody); 및

ii) 표적 항원에 결합하고, 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 더욱 포함하지만, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하지 않는 두 번째 헤미바디

를 포함하고, 여기서 첫 번째 헤미바디의 상기 VH 도메인 및 두 번째 헤미바디의 상기 VL 도메인은, 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성할 수 있는, 방법.

청구항 10

청구항 제9항에 있어서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각 Fc 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 11

청구항 제10항에 있어서, Fc 도메인은, 효과기 기능을 감소시키거나 또는 제거하기 위해 변형되는, 방법.

청구항 12

청구항 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, CD40 효현제는 효현성 항-CD40 항체인, 방법.

청구항 13

청구항 제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 관문 저해제는 PD1, PDL1 또는 CTLA4의 저해제에서 선택되는, 방법.

청구항 14

청구항 제13항에 있어서, 면역 관문 저해제는 PD1에 대한 항체, PDL1에 대한 항체 및 CTLA4에 대한 항체에서 선택되는 항체인, 방법.

청구항 15

청구항 제14항에 있어서, 면역 관문 저해제는 PDL1에 대한 항체인, 방법.

청구항 16

청구항 제9항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 증식성 장애는 암인, 방법.

청구항 17

청구항 제9항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 개체는 인간인, 방법.

청구항 18

청구항 제9항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은, 사전-표적화된 방사면역요법 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 종양 성장 속도가 느린, 방법.

청구항 19

청구항 제9항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은, 사전-표적화된 방사면역요법 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 개체 생존 가능성을 증가시키는, 방법.

청구항 20

청구항 제9항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은, 종양, 비장 및 배수 림프절(DLN)에서 사전-표적화된 방사면역요법 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 활성화된 종양내 CD8 T 세포의 빈도를 증가시키고/증가시키거나, 활성화된 형질세포양 DC(pDC) 및 고전적 DC(cDC)의 빈도를 증가시키는, 방법.

청구항 21

청구항 제9항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은, 사전-표적화된 방사면역요법 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 면역 기억 반응을 증강하는, 방법.

청구항 22

증식성 장애를 치료하는 방법에 이용하기 위한 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체로서, 상기 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖고, 여기서 상기 치료는 상기 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하는 것을 포함하고, 그리고 여기서 상기 치료는, i) 방사성-표지화된 화합물, ii) CD40 효현제 및 iii) 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 더욱 포함하는, 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체.

청구항 23

청구항 제22항에 있어서, 상기 방법은 청구항 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 따른 방법인, 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체.

청구항 24

증식성 장애를 치료하는 방법에 이용하기 위한 CD40 효현제로서, 여기서 상기 치료는, i) 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; ii) 방사성-표지화된 화합물; 및 iii) 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 더욱 포함하는, CD40 효현제.

청구항 25

청구항 제24항에 있어서, 상기 방법은 청구항 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 따른 방법인, CD40 효현제.

청구항 26

증식성 장애를 치료하는 방법에 이용하기 위한 면역 관문 저해제로서, 여기서 상기 치료는, i) 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; ii) 방사성-표지화된 화합물; 및 iii) CD40 효현제를 투여하는 것을 더욱 포함하는, 면역 관문 저해제.

청구항 27

청구항 제26항에 있어서, 상기 방법은 청구항 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 따른 방법인, 면역 관문 저해제.

청구항 28

증식성 장애를 치료하는 방법에서 병용을 위한, 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; 방사성-표지화된 화합물; CD40 효현제; 및 면역 관문 저해제.

청구항 29

청구항 제28항에 있어서, 상기 방법은 청구항 제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 따른 방법인, 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; 방사성-표지화된 화합물; CD40 효현제; 및 면역 관문 저해제.

청구항 30

A) 첫 번째 구성요소로서, 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다

중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 활성 성분으로서 포함하는 조성물; B) 두 번째 구성요소로서, CD40 효현제를 활성 성분으로서 포함하는 조성물; 및 C) 세 번째 구성요소로서, 면역 관문 저해제, 바람직하게는 PD-L1 저해제를 활성 성분으로서 포함하는 조성물을 포함하는, 증식성 질환의 동시적 또는 순차적 병용 치료를 위한 약학적 산물.

청구항 31

청구항 제30항에 있어서, 증식성 질환은 암인, 약학적 산물.

청구항 32

청구항 제30항 또는 청구항 제31항에 있어서, D) 네 번째 구성요소로서, 방사성-표지화된 화합물을 활성 성분으로서 포함하는 조성물을 더욱 포함하는, 약학적 산물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본원 발명은 암의 치료에 이용하기 위한 병용 요법에 관계한다.

배 경 기 술

[0002] 약물을 암 세포로 표적화하기 위해 단일클론 항체가 개발되었다. 독성 물질을 종양 관련 항원에 결합하는 항체에 접합함으로써, 주변 조직에 더 적은 손상을 주면서 더 특이적 종양 사멸을 제공하는 잠재력이 있다.

[0003] 사전-표적화 방사면역요법 (PRIT)에서, 한편으로 종양 관련 항원 및 다른 한편으로 방사성-표지화된 화합물에 대한 친화성을 갖는 항체 작제물이 이용된다. 첫 번째 단계에서, 항체가 투여되고 종양에 국지화한다. 차후에, 방사성-표지화된 화합물이 투여된다. 방사성-표지화된 화합물은 작기 때문에, 종양으로 빠르게 전달될 수 있고 빠르게 제거되는데, 이것은 종양 외부에서 방사선 노출을 감소시킨다 (Goldenberg *et al* Theranostics 2012, 2(5), 523-540). 유사한 절차가 영상에 또한 이용될 수 있다. 사전-표적화는 아비딘-비오틴을 이용한 이중특이적 항체 또는 시스템을 이용할 수 있으나, 후자는 아비딘/스트렙타비딘이 면역원성이라는 단점이 있다.

[0004] 본원 발명은 PRIT의 이용을 포함하는 병용 요법에 관계한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본원 발명은 i) 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체 (상기 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는다); ii) CD40 효현제 및 iii) 면역 관문 저해제의 이용을 수반하는 병용 요법에 관계한다.

[0006] 한 가지 양상에서, 본원 발명은 A) 첫 번째 구성요소로서 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 활성 성분으로서 포함하는 조성물; B) 두 번째 구성요소로서 CD40 효현제를 활성 성분으로서 포함하는 조성물; 및 C) 세 번째 구성요소로서 면역 관문 저해제, 바람직하게는 PD-L1 저해제를 활성 성분으로서 포함하는 조성물을 포함하는, 증식성 질환, 바람직하게는 암의 동시적 또는 순차적 병용 치료를 위한 약학적 산물에 관계한다. 일부 구체예에서, 약학적 산물은 방사성-표지화된 화합물을 더욱 포함할 수 있다.

[0007] 다른 양상에서 본원 발명은 본원에서 개시된 바와 같은 약학적 산물 및 이와 함께 이것을 이용하기 위한 사용설명서를 포함하는 키트를 제공한다.

[0008] 다른 양상에서, 본원 발명은 증식성 질환 예컨대 암을 치료하는 방법에 이용하기 위한, 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체에 관계하는데, 여기서 상기 치료는 상기 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하는 것을 포함하고, 그리고 여기서 상기 치료는 i) 방사성-표지화된 화합물, ii) CD40 효현제 및 iii) 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 더욱 포함한다.

[0009] 다른 양상에서, 본원 발명은 증식성 질환 예컨대 암을 치료하는 방법에 이용하기 위한 CD40 효현제에 관계하는

데, 여기서 상기 치료는 i) 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; ii) 방사성-표지화된 화합물 및 iii) 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 더욱 포함한다.

[0010] 다른 양상에서 본원 발명은 증식성 질환 예컨대 암을 치료하는 방법에 이용하기 위한 면역 관문 저해제에 관계하는데, 여기서 상기 치료는 i) 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; ii) 방사성-표지화된 화합물 및 iii) CD40 효현제를 투여하는 것을 더욱 포함한다.

[0011] 다른 양상에서, 본원 발명은 증식성 질환 예컨대 암을 치료하는 방법에서 병용을 위한, i) 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; ii) 방사성-표지화된 화합물; iii) CD40 효현제 및 iv) 면역 관문 저해제에 관계한다.

[0012] 다른 양상에서, 본원 발명은 증식성 질환 예컨대 암을 치료하는 방법에 관계하는데, 상기 방법은 i) 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체; ii) 방사성-표지화된 화합물; iii) CD40 효현제; 및 iv) 면역 관문 저해제를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0013] 다른 양상에서, 본원 발명은 개체에서 증식성 질환 예컨대 암을 치료하는 방법에 관계하는데, 상기 방법은

[0014] i) 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체 (상기 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는다)를 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 그리고 방사성-표지화된 화합물을 개체에게 투여하는 것을 더욱 포함하는 방사면역요법 치료; 및

[0015] ii) CD40 효현제 및 면역 관문 저해제를 개체에게 투여하는 것을 포함하는 면역요법 치료를 포함한다.

[0016] 방사성-표지화된 화합물은 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체 이후에 환자에게 투여된다. 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 표적 항원에 결합한다. 이후, 방사성-표지화된 화합물이 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체에 결합하고, 그리고 이에 따라서 표적 세포에 국지화된다.

[0017] 항-CD40 항체 및 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여될 수 있다. 이들은 다중특이적 항체/분할 다중특이적 항체 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 전후에 투여될 수 있다. 바람직하게는, 이들은 다중특이적 항체/분할 다중특이적 항체 및 방사성-표지화된 화합물 이후에 투여된다.

[0018] 한 구체예에서, 치료 주기는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계, 그리고 CD40 효현제 및 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계를 포함하되, 상기 항-CD40 항체 및 상기 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여된다.

[0019] 치료는 1회 주기를 포함할 수 있거나, 또는 복수 주기, 예를 들면, 2, 3, 4, 5 또는 6회 주기를 포함할 수 있다.

[0020] 일부 구체예에서, 치료의 모든 주기가 동일한 것은 아니다. 일부 구체예에서:

[0021] 일차 주기는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계, 그리고 CD40 효현제 및 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계를 포함하고, 여기서 상기 항-CD40 항체 및 상기 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여되고; 그리고

[0022] 1회 이상의 후속 주기는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계 및 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계를 포함한다.

[0023] 예를 들면, 전술된 바와 같은 1, 2, 3, 4 또는 5회 후속 주기가 있을 수 있다.

[0024] 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 이중특이적 항체 또는 분할 이중특이적 항체일 수 있다.

[0025] 한 구체예에서, 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체)는 표적 항원에 대한 적어도 하나의 결합 부위, 그리고 방사성-표지화된 화합물, 예를 들면, Pb-DOTAM 킬레이트에 대한 적어도 하나의 결합 부위를 포함하는 항체일 수 있다. 예시적인 항체는 WO2019/201959에서 설명된다.

[0026] 분할 다중특이적 항체는 본원에서 헤미바디로서 지칭되는 2개의 상이한 부분으로 구성된다. 각 헤미바디는 표적 항원에 결합할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함한다. 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위는 2개의 헤미바디가 연결될 때에만 기능적 항원 결합 부위가 형성되도록, 2개의 헤미바디로 쪼개진다. 따라서, 분할 항체는

[0027] i) 표적 항원에 결합하고 (다시 말하면, 표적 항원에 결합할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하고), 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 더욱 포함하지만 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하지 않는 첫 번째 헤미바디; 및

[0028] ii) 표적 항원에 결합하고 (다시 말하면, 표적 항원에 결합할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하고), 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 더욱 포함하지만 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하지 않는 두 번째 헤미바디를 포함하고,

[0029] 여기서 첫 번째 헤미바디의 상기 VH 도메인 및 두 번째 헤미바디의 상기 VL 도메인은 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성할 수 있다.

[0030] 첫 번째 및 두 번째 헤미바디 중 어느 것도 그 자체로는, 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 포함하지 않는다. 첫 번째 헤미바디는 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 결합 부위로부터 유래된 VH 도메인만을 갖고 VL 도메인을 갖지 않는다. 두 번째 헤미바디는 VL 도메인만을 갖고 VH 도메인을 갖지 않는다.

[0031] 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위는 첫 번째와 두 번째 헤미바디의 VH와 VL 도메인이 연결될 때 형성된다. 이것은 예를 들면, 첫 번째와 두 번째 항체가 동일한 개별 표적 세포에 또는 인접한 세포에 결합될 때 발생할 수 있다.

[0032] 용어 "헤미바디", "데미바디", SPLIT 및 "단일 도메인 분할 항체"는 교체가능하게 이용될 수 있다. 예시적인 헤미바디/데미바디는 공동계류중인 출원 PCT/EP2020/069561에서 설명된다.

[0033] 치료가 표적 항원에 대한 적어도 하나의 결합 부위 및 방사성-표지화된 화합물에 대한 적어도 하나의 결합 부위를 포함하는 단일 항체 분자를 이용할 때 (다시 말하면, 분할 항체를 이용하지 않을 때), 상기 치료는 제거제의 투여를 또한 포함할 수 있다. 제거제는 다중특이적 항체 이후 및 방사성-표지화된 화합물 이전에 투여된다. 제거제는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위에 결합한다. 제거제는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위를 차단하여, 순환 항체가 킬레이트화 방사성 핵종에 결합하는 것을 예방한다. 대안으로 또는 부가적으로, 제거제는 신체로부터 항체의 청소율을 증가시킬 수 있다. "제거제"는 "차단제"로서 대안적으로 지칭될 수 있다: 이들 용어는 아래의 논의에서 서로 대체될 수 있다. 제거제는 본원에서 더욱 논의된 바와 같은 청소 모이어티에 접합될 수 있다.

[0034] 치료가 헤미바디를 이용할 때, 상기 치료는 청소 단계를 포함하는 것이 필요하지 않다. 다시 말하면, 일부 구체예에서, 상기 방법은 첫 번째와 두 번째 헤미바디의 투여 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에 (다시 말하면, 이들 헤미바디의 투여 후, 그러나 방사성-표지화된 화합물의 투여 전), 제거제 또는 차단제를 투여하는 단계를 포함하지 않는다. 다른 구체예에서, 임의적으로 방사성감작화제 및/또는 화학요법제 이외에, 어떤 작용제도 첫 번째와 두 번째 헤미바디의 투여 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에 투여되지 않는다. 다른 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디의 투여 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에 어떤 작용제도 투여되지 않는다.

[0035] 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료와 비교하여 한 가지 이상의 이점을 야기한다. 사전-표적화된 방사면역요법 단독을 이용한 참조 치료는 병용 요법의 경우에서와 동일한 사전-표적화된 방사면역요법 치료 (다시 말하면, 동일한 화합물, 용량, 투여 횟수, 주기의 수)를, 그러나 면역요법 없이 (다시 말하면, CD40 효현제 또는 면역 관문 저해제의 투여 없이) 투여하는 것을 수반한다. 면역요법 단독을 이용한 참조 치료는 병용 요법의 경우에서와 동일한 면역요법 치료 (다시 말하면, 동일한 CD40 효현제 및 면역 관문 저해제 화합물, 용량, 투여 횟수, 주기의 수)를, 그러나 사전-표적화된 방사면역요법 없이 (다시 말하면, 적용가능하면 다중특이적/분할 다중특이적 항체, 방사성-표지화된 화합물 및 제거제의 투여 없이) 투여하는 것을 수반한다. 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독보다 종양 성장 속도가 늦다. 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 환자/개체 생존 가능성을 증가시킨다. 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 활성화된 종양내 CD8 T 세포의 증가된 빈도 (예를 들면, 41BB 발현의 상향조절에 의해 계측될 때), 및/또는 종양, 비장 및 배수 림프절

(DLN)에서 활성화된 형질세포양 DC (pDC) 및 고전적 DC (cDC)의 증가된 빈도 (예를 들면, CD86 발현의 상향조절에 의해 계측될 때), 및/또는 전체 면역 세포에서 T 세포의 증가된 빈도를 야기한다. 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 면역 기억 반응을 증강하거나 또는 종양 재발 가능성을 감소시킨다.

[0036] 일부 구체예에서, 암은 면역 관문 저해제에 불응성이다.

[0037] 일부 구체예에서, 표적 항원은 CEA인 것이 바람직할 수 있다.

[0038] 일부 구체예에서, 방사성-표지화된 화합물은 Pb-DOTAM인 것이 바람직할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0039] 도 1은 표적 항원 (TA)-DOTAM 이중특이적 항체 (TA-DOTAM BsAb), 그리고 예시적인 TA-분할-DOTAM-VH/VL 항체의 계통도 구조를 보여준다.

도 2는 종양 세포 상에서 분할-VH/VL DOTAM 결합체의 조립을 보여주는 계통도이다.TA-분할-DOTAM-VH/VL 항체는 표적화된 세포 상에서 종양 항원 (TA)에 결합되지 않으면 ^{212}Pb-DOTAM에 유의미하게 결합하지 않을 것이고, 여기서 DOTAM 결합체의 2개의 도메인이 조립된다.

도 3은 제거제의 이용을 수반하는 3 단계 TA-PRIT 개념의 실례의 도식적 개요를 보여준다.

도 4는 제거제가 이용되지 않는 2 단계 TA-PRIT 개념의 실례의 도식적 개요를 보여준다.

도 5는 CEA 결합 적격성을 증명하는, MKN45 세포에 분할 항체의 결합을 보여준다. 항체의 검출은 인간 IgG 특이적 이차 항체를 이용하여 실행된다.

도 6은 DOTAM 결합 적격성을 증명하는, MKN45 세포에 분할 항체의 결합을 보여준다. 항체의 검출은 Pb-DOTAM-FITC를 이용하여 실행된다.

도 7의 A는 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 실행된, CEA-분할-DOTAM-VH/VL를 이용한 2 단계 PRIT에 대한 예시적인 프로토콜을 보여준다 (h = 시간, d = 일, w = 주).

도 7의 B는 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 실행된 3 단계 PRIT 대조에 대한 예시적인 프로토콜을 보여준다 (h = 시간, d = 일, w = 주).

도 8은 CEA-분할-DOTAM-VH 단독, CEA-분할-DOTAM-VL 단독 또는 조합된 2개의 상보성 항체 중 어느 한 가지에 의해 사전-표적화된, 또는 표준 3 단계 PRIT를 이용한, ^{212}Pb -DOTAM의 주사 6 시간 후, SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 사전-표적화된 ^{212}Pb-DOTAM의 생체분포를 보여준다 (%ID/g ± SD, n = 4).

도 9는 SCID 생쥐에서 IV 주사 후 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 약물동력학을 보여준다.

도 10은 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 2 단계 (위쪽) 또는 3 단계 (아래쪽)의 CEA-PRIT를 포함하는, 프로토콜 158의 실험 설계를 보여준다. *2/4 작제물에서 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 조정된 CEA 분할 DOTAM BsAb 용량.

도 11은 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 사전-표적화된 ^{212}Pb -DOTAM의 생체분포를 보여준다 (p.i. 6 시간). 분포는 CEA-DOTAM BsAb 또는 CEA-분할-DOTAM 항체의 이중파라토픽 조합에 의해 사전-표적화된, ^{212}Pb -DOTAM의 주사 6 시간 후, 종양 보유 SCID 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포이다. 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 %ID/g ± SD (n = 4)로서 표현된다.

도 12는 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 3 단계 CEA-PRIT (위쪽), 2 단계 CEA-PRIT (중간), 또는 1 단계 CEA-RIT의 1회 주기를 포함하는, 프로토콜 160의 실험 일정을 보여준다. 생체분포 (BD) 스카우트는 방사선 주사 후 24 시간째에 안락사되었고, 반면 효능 군에서 생쥐는 종료 기준이 도달될 때까지 유지되고 조심스럽게 모니터링되었다.

도 13은 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 사전-표적화된 ^{212}Pb -DOTAM 및 ^{212}Pb -DOTAM-CEA-DOTAM 의 생체분포를 보여준다 (p.i. 24 시간). 분포는 CEA-DOTAM-사전-표적화된 ^{212}Pb-DOTAM 또는 예비인큐베이션된 ^{212}Pb-

DOTAM-CEA-DOTAM의 주사 후 24 시간째에 종양 보유 SCID 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포이다. 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± SD (n = 3)으로서 표현된다.

도 14는 BxPC3 모형 (n=10)에서 PRIT 치료된 군 및 대조 (군 A-E)에 대한 표준 오차를 갖는 종양 성장 평균을 보여준다. 곡선은 n<5에서 절두되었다. 반점 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 전체 군에 대한 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 표시한다.

도 15는 BxPC3 모형 (n=10)에서 PRIT 치료된 군 및 대조 (군 A-E)에 대한 개별 종양 성장 곡선을 보여준다.반점 수직선은 ^{212}Pb-표지화 화합물 (20 μCi)의 투여를 표시한다.

도 16은 BxPC3 모형에서 CEA-PRIT 및 CEA-RIT로 치료된 생쥐 (군 A-E, n=10)에서 평균 체중 감소를 보여준다. 곡선은 n<5에서 절두되었다. 반점 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 전체 군에 대한 ^{212}Pb-표지화 화합물의 투여를 표시한다.

도 17은 ^{212}Pb-DOTAM 주사 후 24 시간째에 희생 및 부검과 함께, SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 2 단계 CEA-PRIT를 포함하는, 프로토콜 175의 실험 설계를 보여준다. CEA-분할-DOTAM-VH-AST 용량은 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 조정되었다.

도 18은 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체에 의해 사전-표적화된, ^{212}Pb-DOTAM의 주사 후 24 시간째에 종양 보유 SCID 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포를 보여준다 (프로토콜 175). 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± SD (n = 4)로서 표현된다.

도 19는 ^{212}Pb-DOTAM 주사 후 6 시간째에 희생 및 부검과 함께, SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 2 단계 CEA-PRIT를 포함하는, 프로토콜 185의 실험 설계를 보여준다. CEA-분할-DOTAM-VH-AST (CH1A1A) 용량은 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 조정되었다.

도 20은 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체에 의해 사전-표적화된, ^{212}Pb-DOTAM의 주사 6 시간 후 종양 보유 SCID 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포를 보여준다 (프로토콜 185). 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± SD (n = 5)로서 표현된다.

도 21은 주사 후 7 일째에 2가지 선택된 SC BxPC3 종양에서 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍 (조합된 VH와 VL 항체)의 분포를 보여준다. A 및 B는 T84.66을 표적으로 하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL이 주사된 생쥐 A3으로부터 획득된 종양의 섹션을 보여주는데, 여기서 A는 CEA 발현을 보여주고, 그리고 B는 상응하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 분포를 보여준다. C 및 D는 CH1A1A를 표적으로 하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL이 주사된 생쥐 C5로부터 획득된 종양 섹션을 보여준다: C는 CEA 발현을 보여주고, 그리고 D는 상응하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 분포를 보여준다.

도 22는 ^{212}Pb-DOTAM 주사 후 6 시간째에 희생 및 부검과 함께, SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 2 단계 CEA-PRIT를 포함하는, 프로토콜 189의 실험 설계를 보여준다. CEA-분할-DOTAM-VH-AST (CH1A1A) 용량은 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 조정되었다.

도 23은 양성 대조 (CH1A1A 단독)와 비교하여, CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체 (T84.66 및 CH1A1A)의 이중파라토픽 쌍에 의해 사전-표적화된, ^{212}Pb-DOTAM의 주사 6 시간 후 종양 보유 SCID 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포를 보여준다. 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± SD로서 표현된다.

도 24는 SPLIT 항체에 대한 FACS에 의해 결정된 바와 같은 평균 형광 강도 (MFI)를 보여준다. FACS에 의해 결정된 Pb-DOTA-FITC의 결합은 Pb-DOTA-FITC와 함께 양쪽 SPLIT 항체의 공동인큐베이션의 경우에만 목격될 수 있다. 단일 SPLIT 항체는 유의미한 신호를 발생시키지 않았다.

도 25의 A 내지 C는 분할 항체의 추가의 예시적인 형식을 보여준다.

도 26은 칩 상에 포획된 비오틴화된 DOTAM에 개별 TA-분할-DOTAM-VH 및 TA-분할-DOTAM-VL 항체의 결합을 사정하는, 실시예 8, 실험 1로부터 결과를 보여준다.

도 27은 칩 상에 포획된 개별 TA-분할-DOTAM-VH 및 TA-분할-DOTAM-VL 항체에 DOTAM의 결합을 사정하는, 실시예

8, 실험 2로부터 결과를 보여준다.

도 28은 칩 상에 포획된 TA-분할-DOTAM-VH/VL 항체 (항체 쌍)에 DOTAM의 결합을 사정하는, 실시예 8, 실험 3으로부터 결과를 보여준다.

도 29는 B6-huCEA 생쥐에서 동소 Panc02-huCEA-luc 종양의 CEA-PRIT를 사정하는, 프로토콜 119의 연구 개요를 보여준다 (IPANC = 췌장내, d = 일, h = 시간).

도 30은 CEA-DOTAM (mu)에 의해 사전-표적화된 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 후 24 시간째에 종양 보유 B6-huCEA 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포를 보여준다 (1차 주기). 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± 표준 편차 (SD; n = 3)로서 표현된다.

도 31은 ELISA에 의해 결정된 바와 같은, 프로토콜 119의 군 B 및 D에서 생쥐에 IP 투여 (200 μg/항체/생쥐) 후 24 시간째에 항-CD40 및 항-PD-L1 항체의 혈청 농도를 보여준다. 이들 그래프는 각 치료 주기에 대한 평균 ± SD의 개별 값을 보여준다.

도 32는 mm^{2}당 초당 광자 (P) ± 평균의 표준 오차 (SEM; n = 8)로서 표현된, 동소 Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D에 대한 평균 배경 차분 BLI 신호를 보여준다. 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 33은 mm^{2}당 초당 광자 (P)로서 표현된, 동소 Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D의 개별 생쥐에 대한 배경 차분 BLI 신호를 보여준다 (n=8). 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다. 화살표는 영상화의 최종일인 88일 자를 표시하는데, 이 시점까지 군 D에서 3마리의 생쥐가 여전히 생존하고 어떤 신호도 없었다.

도 34는 동소 Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D에서 생존을 나타내는 카플란 마이어 곡선을 보여준다 (n=8). 점선 및 파선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 ^{212}Pb-DOTAM (20 μCi) 및 면역요법 투여 각각을 표시한다.

도 35는 초기 BW ± SEM의 백분율로서 표현된, 다양한 치료 후 BW에서 평균 변화를 보여준다. 점선 및 파선은 치료 계획에 따른, ^{212}Pb-DOTAM 및 면역요법 투여 각각을 표시한다.

도 36은 B6-huCEA 생쥐에서 SC Panc02-huCEA-luc 종양의 CEA-PRIT를 사정하는, 프로토콜 136의 연구 개요를 보여준다 (d = 일, h = 시간).

도 37은 CEA-DOTAM (mu)에 의해 사전-표적화된, ^{212}Pb-DOTAM의 주사 후 24 시간째에 종양 보유 B6-huCEA 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포를 보여준다 (1차 주기). 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± SD (n = 3)로서 표현된다.

도 38은 ELISA에 의해 결정된 바와 같은, 군 B 및 D의 생쥐에 IP 투여 (200 μg/항체/생쥐) 후 24 시간째에 항-CD40 및 항-PD-L1의 혈청 농도를 보여준다. 이들 그래프는 각 치료 주기에 대한 개별 값 및 평균 ± SD를 보여준다. 오른쪽 그래프에서 별표 (*)는 이상점에 기인한 왜곡 평균을 표시한다 (그래프 상에 도시되지 않음; 1차 주기의 경우에 1개의 데이터 포인트 및 3차 주기의 경우에 3개의 데이터 포인트).

도 39는 SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D에 대한 표준 오차를 갖는 종양 성장 평균을 보여준다 (n = 9). 곡선은 n<5에서 절두되었다. 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 40은 SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D에 대한 개별 종양 성장 곡선을 보여준다 (n = 9). 파선 및 점선 수직선은 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM (20 μCi)의 투여를 각각 표시한다.

도 41은 mm^{2}당 초당 광자 (P) ± SEM으로서 표현된, SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D에 대한 평균 배경 차분 BLI 신호를 보여준다 (n = 9). 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 42는 mm^2당 초당 광자 (P)로서 표현된, SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D의 개별 생쥐에 대한 배경 차분 BLI 신호를 보여준다 (n=9). 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 43은 ≥ 3000 mm^3의 종양 용적의 종료 기준에 근거하여, SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 군 A-D에서 생존을 나타내는 카플란 마이어 곡선을 보여준다 (n = 9). 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 44는 T 세포 활성화를 나타내는, 2회 주기의 면역요법, CEA-PRIT, CEA-PRIT + 면역요법, 또는 치료 없음으로 처리된 생쥐로부터 획득된 DLN, 비장 및 종양 샘플의 FACS 분석을 보여준다. 샘플은 ^{212}Pb-DOTAM 방사선조사 후 48 시간에 상응하는, 면역요법 주사 후 24 시간째에 채취되었다. 별표는 유의성의 수준을 표시한다 (일원 변량 분석, $p<0.05$, n = 4).

도 45는 cDC 및 pDC의 활성화를 나타내는, 2회 주기의 면역요법, CEA-PRIT, CEA-PRIT + 면역요법, 또는 치료 없음으로 처리된 생쥐로부터 획득된 DLN, 비장 및 종양 샘플의 FACS 분석을 보여준다. pDC 하위모집단에 대한 마커: MHCII+ $CD11c^{int}$ CD317+; CD11b- cDC 하위모집단 (교차-제시 DC)에 대한 마커: MHCII+ $CD11c^{high}$ CD11b-; CD11b+ cDC 하위모집단에 대한 마커: MHCII+ $CD11c^{high}$ CD11b+. 샘플은 ^{212}Pb-DOTAM 방사선조사 후 48 시간에 상응하는, 면역요법 주사 후 24 시간째에 채취되었다. 별표는 유의성의 수준을 표시한다 (일원 변량 분석, $p<0.05$, n = 4).

도 46은 전체 T 세포 빈도를 나타내는, 2회 주기의 면역요법, CEA-PRIT, CEA-PRIT + 면역요법, 또는 치료 없음으로 처리된 생쥐로부터 획득된 DLN, 비장 및 종양 샘플의 FACS 분석을 보여준다. 샘플은 ^{212}Pb-DOTAM 방사선조사 후 48 시간에 상응하는, 면역요법 주사 후 24 시간째에 채취되었다. 별표는 유의성의 수준을 표시한다 (일원 변량 분석, $p<0.05$, n = 4).

도 47은 SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 재공격된 및 미경험 B6-huCEA 생쥐에 대한 종양 성장 곡선을 보여준다 (n = 5). 재공격된 생쥐는 초기에 종양 보유자이었고, 3회 주기의 CEA-PRIT + CIT (항-CD40 + 항-PD-L1) 후 종양이 없는 상태가 되었다.

도 48은 SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 재공격된 및 미경험 생쥐로부터 획득된 혈액, 비장 및 림프절 (LN) 샘플의 FACS 분석을 보여준다 (n = 5). 재공격된 생쥐는 초기에 종양 보유자이었고, 3회 주기의 CEA-PRIT + CIT (항-CD40 + 항-PD-L1) 후 종양이 없는 상태가 되었다. 별표는 유의성의 수준을 표시한다 (독립표본 t 검정, $p<0.05$); dp = 이중 양성; iono = 이오노마이신.

도 49는 초기 BW ± SEM의 백분율로서 표현된, 다양한 치료 후 BW에서 평균 변화를 보여준다. 점선 및 파선은 치료 계획에 따른 ^{212}Pb-DOTAM 및 면역요법 투여를 각각 표시한다.

도 50은 B6-huCEA 생쥐에서 SC MC38-huCEA 종양의 CEA-PRIT를 사정하는, 프로토콜 150의 연구 개요를 보여준다 (d = 일, h = 시간).

도 51은 CEA-DOTAM (mu)에 의해 사전-표적화된 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 후 24 시간째에 MC38-huCEA 종양 보유 B6-huCEA 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포를 보여준다 (1차 주기). 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± SD (n = 4)로서 표현된다.

도 52는 ELISA에 의해 결정된 바와 같은, 군 B, C 및 E의 생쥐에 IP 투여 (200 μg/항체/생쥐) 후 24 시간째에 항-CD40 및 항-PD-L1의 혈청 농도를 보여준다. 이들 그래프는 각 치료 주기에 대한 평균 ± SD의 개별 값을 보여준다.

도 53은 SC MC38-huCEA 모형에서 군 A-E에 대한 표준 오차를 갖는 종양 성장 평균을 보여준다 (n = 9). 곡선은 n<5에서 절두되었다. 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다. 화살표는 immuno-PD 분석을 표시한다.

도 54는 SC MC38-huCEA 모형에서 군 A-E에 대한 개별 종양 성장 곡선을 보여준다 (n = 9). 파선 및 점선 수직선

은 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM (20 μCi)의 투여를 각각 표시한다.

도 55는 ≥ 3000 mm^{3}의 종양 용적의 종료 기준에 근거하여 SC MC38-huCEA 모형에서 군 A-E에서 생존을 나타내는 카플란 마이어 곡선을 보여준다 (n = 9). 부호는 종양 용적 이외의 이유로 안락사된 중도절단 생쥐를 나타낸다. 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 56은 2회 주기의 면역요법, CEA-PRIT, CEA-PRIT + 면역요법, 또는 치료 없음으로 처리된 생쥐로부터 획득된 림프절 샘플의 FACS 분석을 보여준다. 샘플은 ^{212}Pb-DOTAM 방사선조사 후 48 시간에 상응하는, 면역요법 주사 후 24 시간째에 채취되었다. 별표는 유의성의 수준을 표시한다 (다중 비교를 위한 보정 [Tukey]을 동반한 일원 변량 분석, $p<0.05$, n = 4). MFI = 평균 형광 강도.

도 57은 SC MC38-huCEA 모형에서 재공격된 및 미경험 (동일 연령) B6-huCEA 생쥐에 대한 종양 성장 곡선을 보여준다. 재공격된 생쥐는 초기에 종양 보유자이었고, 항-CD40, 항-CD40 + 항-PD-L1, CEA-PRIT, 또는 CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1을 이용한 치료 후 종양이 없는 상태가 되었다.

도 58은 SC MC38-huCEA 모형에서 재공격된 및 미경험 생쥐의 FACS 분석을 보여준다. 재공격된 생쥐는 초기에 종양 보유자이었고, 항-CD40, 항-CD40 + 항-PD-L1, CEA-PRIT, 또는 CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1을 이용한 치료 후 종양이 없는 상태가 되었다. 별표는 유의성의 수준을 표시한다 (다중 비교를 위한 보정 [Tukey]을 동반한 일원 변량 분석, $p<0.05$, n = 4); dp = 이중 양성.

도 59는 초기 BW ± SEM의 백분율로서 표현된, 다양한 치료 후 BW에서 평균 변화를 보여준다. 점선 및 파선은 치료 계획에 따른 ^{212}Pb-DOTAM 및 면역요법 투여를 각각 표시한다.

도 60은 huCEACAM5 생쥐에서 SC Panc02-huCEA-Fluc 종양의 SPLIT PRIT 및/또는 CIT를 사정하는, 프로토콜 195의 연구 개요를 보여준다 (d = 일, h = 시간).

도 61은 SPLIT CEA-PRIT에 의해 사전-표적화된 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 후 24 시간째에 Panc02-huCEA-Fluc 종양 보유 huCEACAM5 생쥐에서 ^{212}Pb의 분포를 보여준다. 장기와 조직에서 방사성 내용물은 평균 % ID/g ± SD (n = 3)으로서 표현된다.

도 62는 SC Panc02-huCEA-Fluc 모형에서 군 A-D에 대한 표준 오차를 갖는 종양 성장 평균을 보여준다 (n = 10) (프로토콜 195). 곡선은 n<5에서 절두되었다. 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 63은 SC Panc02-huCEA-Fluc 모형에서 군 A-D에 대한 개별 종양 성장 곡선을 보여준다 (n = 10) (프로토콜 195). 파선 및 점선 수직선은 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM (20 μCi)의 투여를 각각 표시한다.

도 64는 ≥ 2000 mm3의 종양 용적의 종료 기준에 근거하여, SC Panc02-huCEA-Fluc 모형 (프로토콜 195)에서 군 A-D의 생존을 나타내는 카플란 마이어 곡선을 보여준다 (n = 10). 부호는 종양 용적 이외의 이유로 안락사된 중도절단 생쥐를 나타낸다. 파선 및 점선 수직선은 연구 설계에 따른, 일부 또는 모든 군에 대한 면역요법 및 ^{212}Pb-DOTAM 투여 (20 μCi)를 각각 표시한다.

도 65는 SC Panc02-huCEA-Fluc 모형에서 재공격된 생쥐 및 미경험 (동일 연령) huCEACAM5 생쥐에 대한 표준 오차를 갖는 종양 성장 평균을 보여준다. 재공격된 생쥐는 초기에 종양 보유자이었고, SPLIT CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1을 이용한 치료 후 종양이 없는 상태가 되었다. 재공격 후 13일 자에, 군마다 3마리의 생쥐가 immuno-PD 분석을 위해 안락사되었다 (데이터 제시되지 않음).

도 66은 SC Panc02-huCEA-Fluc 모형에서 재공격된 및 미경험 (동일 연령) huCEACAM5 생쥐에 대한 종양 성장 곡선을 보여준다. 재공격된 생쥐는 초기에 종양 보유자이었고, SPLIT CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1을 이용한 치료 후 종양이 없는 상태가 되었다. 재공격 후 13일 자에, 군마다 3마리의 생쥐가 immuno-PD 분석을 위해 안락사되었다 (데이터 제시되지 않음).

도 67은 초기 BW ± SEM의 백분율로서 표현된, 다양한 치료 후 BW의 평균 변화를 보여준다. 점선 및 파선은 치

료 계획에 따른 ^{212}Pb-DOTAM 및 면역요법 투여를 각각 표시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] **I. 정의**

[0041] 본원에서 목적으로 "수용자 인간 프레임워크"는 아래에 규정된 바와 같이, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인 (VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인 (VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 이의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 이것은 아미노산 서열 변화를 내포할 수 있다. 일부 양상에서, 아미노산 변화의 개수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하이다. 일부 양상에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 면역글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 공통 프레임워크 서열과 서열에서 동일하다.

[0042] "친화성"은 분자 (예를 들면, 항체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 파트너 (예를 들면, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 별도로 표시되지 않으면, 본원에서 이용된 바와 같이, "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 (예를 들면, 항체와 항원) 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화성을 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로, 해리 상수 (K_D)에 의해 표현될 수 있다. 친화성은 본원에서 설명된 것들을 비롯한, 당해 분야에서 공지된 통상적인 방법에 의해 계측될 수 있다. 결합 친화성을 계측하기 위한 특정한 예시적이고 모범적인 방법은 하기에서 설명된다.

[0043] "친화성 성숙된" 항체는 변경을 갖지 않는 부모 항체와 비교하여, 하나 이상의 상보성 결정 영역 (CDR)에서 한 가지 이상의 변경을 갖는 항체를 지칭하는데, 이런 변경은 항원에 대한 항체의 친화성에서 향상을 유발한다.

[0044] 용어 "표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 대한 결합 부위" 또는 "표적 항원에 대한 결합 부위"는 항체가 상기 항원을 표적으로 하는 데 있어서 진단 시약 및/또는 치료제로서 유용할 만큼 충분한 친화성으로 상기 항원에 결합할 수 있는 결합 부위를 지칭한다. 표적 항원에 대한 결합 부위를 포함하는 항체는 표적 항원에 충분한 친화성으로 결합하는 임의의 결합 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 항원 결합 모이어티는 항체 단편 (예컨대 Fv, Fab, 교차-Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')2; 디아바디; 선형 항체; 단일 사슬 항체 분자 (예를 들면, scFv 또는 scFab); 또는 단일 도메인 항체 (dAb) 예컨대 VHH일 수 있다. 다른 구체예에서 이것은 단백질 결합 골격 예컨대 DARPin (설계된 안키린 반복 단백질); 어피바디; Sso7d; 모노바디 또는 안티칼린일 수 있다.

[0045] 한 양상에서, 관련 없는, 비 항원 단백질에 대한 항체의 결합 정도는 예를 들면, 표면 플라스몬 공명 (SPR)에 의해 계측될 때 상기 항원에 대한 상기 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 일정한 양상에서, 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합하는 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면, 10^{-8} M 이하, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)를 갖는다. 항체는 이러한 항체가 1 μM 이하의 K_D를 가질 때, 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원"에 특이적으로 결합"하는 것으로 일컬어진다. 일정한 양상에서, 항체는 상이한 종으로부터 상기 항원 사이에서 보존되는 상기 항원의 에피토프에 결합한다.

[0046] 용어 "방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위" 또는 "방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위"는 항체가 방사성-표지화된 화합물을 상기 항체와 연관시키기 위한 진단 시약 및/또는 치료제로서 유용할 만큼 충분한 친화성으로 방사성-표지화된 화합물에 결합할 수 있는 항원 결합 부위를 지칭한다. 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위는 바람직하게는 VH와 VL 도메인을 포함한다. 한 양상에서, 관련 없는, 비 항원-화합물에 대한 항원 결합 부위의 결합 정도는 예를 들면, 표면 플라스몬 공명 (SPR)에 의해 계측될 때, 방사성-표지화된 화합물에 대한 상기 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 일정한 양상에서, 방사성-표지화된 화합물에 결합하는 항원 결합 부위는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면, 10^{-8} M 이하, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)를 갖는다. 이것은 100pM, 50pM, 20pM, 10pM, 5pM, 1pM 또는 그 미만, 예를 들면, 0.9pM 또는 그 미만, 0.8pM 또는 그 미만, 0.7pM 또는 그 미만, 0.6pM 또는 그 미만, 또는 0.5pM 또는 그 미만의 K_D를 갖는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들면, 기능적 결합 부위는 약 1pM-1nM, 예를 들면, 약 1-10 pM, 1-100pM, 5-50 pM, 100-500 pM 또는 500pM-1 nM의 K_D로 방사성-표지화된 화합물에 결합할 수 있다. 항원 결합 부위는 이러한 항원 결합

부위가 1 μM 이하의 K_D를 가질 때, 방사성-표지화된 화합물"에 특이적으로 결합"하는 것으로 일컬어진다.

[0047] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미에서 이용되고, 그리고 단일클론 항체, 다중클론 항체, 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체), 그리고 항체 단편 (이들이 원하는 항원 결합 활성을 나타내기만 하면)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.

[0048] "항체 단편"은 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는 무손상 항체의 부분을 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 실례는 Fv, Fab, 교차-Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$; 디아바디; 선형 항체; 단일 사슬 항체 분자 (예를 들면, scFv 및 scFab); 단일 도메인 항체 (dAb); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 항체 단편에 관한 검토를 위해, Holliger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136 (2005)을 참조한다. 용어 "Fab 단편"은 면역글로불린의 중쇄의 VH와 CH1 도메인 및 경쇄의 VL과 CL 도메인으로 구성되는 단백질을 지칭한다. "Fab' 단편"은 항체 힌지 영역으로부터 하나 이상의 시스테인을 포함하는 CH1 도메인의 카르복시 말단에서 잔기의 부가에 의해 Fab 단편과 상이하다. 구제 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 $F(ab')_2$ 단편에 관한 논의를 위해, U.S. 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

[0049] 본원에서 이용된 바와 같이, "Fab 단편"에 대한 언급은 교차-Fab 단편 또는 scFab뿐만 아니라 전통적인 Fab 단편 (다시 말하면, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 경쇄, 그리고 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는 중쇄 단편을 포함하는 것)을 포함하는 것으로 의도된다.

[0050] 용어 "교차-Fab 단편" 또는 "xFab 단편" 또는 "교차 Fab 단편"은 중쇄와 경쇄의 가변 영역 또는 불변 영역 중 어느 한 가지가 교환되는 Fab 단편을 지칭한다. 교차-Fab 단편은 경쇄 가변 영역 (VL) 및 중쇄 불변 영역 1 (CH1)로 구성되는 폴리펩티드 사슬, 그리고 중쇄 가변 영역 (VH) 및 경쇄 불변 영역 (CL)으로 구성되는 폴리펩티드 사슬을 포함한다. 명료함을 위해, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자에서, 중쇄 불변 영역을 포함하는 펩티드 사슬은 본원에서 교차 Fab 분자의 "중쇄" 로서 지칭된다. 반대로, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 불변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자에서, 중쇄 가변 영역을 포함하는 펩티드 사슬이 본원에서 교차 Fab 분자의 "중쇄" 로서 지칭된다.

[0051] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "단일 사슬"은 펩티드 결합에 의해 선형으로 연결되는 아미노산 단량체를 포함하는 분자를 지칭한다. 단일 사슬 Fab 분자는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄가 펩티드 링커에 의해 연결되어 단일 펩티드 사슬을 형성하는 Fab 분자이다. 이와 같은 특정 구체예에서, Fab 경쇄의 C 말단은 단일 사슬 Fab 분자에서 Fab 중쇄의 N 말단에 연결된다.

[0052] 비대칭적 Fab 팔은 또한, 정확한 Fab 대합을 주도하기 위해 하전된 또는 비-하전된 아미노산 돌연변이를 도메인 인터페이스 내로 도입함으로써 조작될 수 있다. 참조: 예를 들면, WO 2016/172485.

[0053] "단일 사슬 가변 단편" 또는 "scFv"는 펩티드 링커에 의해 연결된, 항체의 중쇄 (VH)와 경쇄 (VL)의 가변 도메인의 융합 단백질이다. 특히, 링커는 10 내지 25개 아미노산의 짧은 폴리펩티드이고, 그리고 통상적으로, 유연성을 위한 글리신뿐만 아니라 용해도를 위한 세린 또는 트레오닌이 풍부하고, 그리고 VH의 N 말단을 VL의 C 말단과 연결하거나 또는 그 반대일 수 있다. 이러한 단백질은 불변 영역의 제거 및 링커의 도입에도 불구하고, 본래 항체의 특이성을 유지한다. ScFv 단편에 관한 검토를 위해, 예를 들면, Plückthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)를 참조한다; 또한, WO 93/16185; 및 U.S. 특허 번호 5,571,894와 5,587,458을 참조한다.

[0054] 분할 항체는 항원에 대한 결합 부위가 2개의 부분, 예컨대 2개의 개별 항체 분자 사이에 분할되는 항체를 지칭한다. 이들 2개의 부분은 "헤미바디" 또는 "데미바디"로서 지칭될 수 있다. 이들 2개의 부분이 연결될 때, 항원에 대한 기능적 결합 부위가 형성된다. 본원 발명에서, 각 헤미바디는 표적 세포의 표면 상에서 항원에 대한 항원 결합 모이어티뿐만 아니라 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 또는 VL 중 어느 하나를 포함한다. 2개의 헤미바디가 동일한 또는 인접한 표적 세포에 결합할 때, 안정된 결합이 VH와 VL 사이에 형성될 수 있고, 따라서 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 결합 부위가 형성될 수 있다. "CEA 표적화 SPLIT PRIT"는 분할 항체 표적화 CEA를 지칭한다. 용어 "SPLIT PRIT"는 또한, 용어 "TA-분할-DOTAM-VH/VL"와 교체가능하게 이용될 수 있다. 용어 "CEA 표적화 SPLIT PRIT"는 용어 "CEA-분할-DOTAM-VH/VL"과 교체가능하게 이용될 수 있다.

[0055] 용어 "제거제"는 개체의 순환으로부터 유래된 항체의 청소율을 증가시키는 작용제 및/또는 효과기 분자, 특히

방사성-표지화된 화합물이 이러한 효과기 분자에 대한 기능적 결합 부위에 결합하는 것을 차단하는 작용제를 지칭한다. 일반적으로 제거제는 항체에 결합한다, 예를 들면, 항체에 특이적으로 결합한다. 이것은 효과기 분자에 대한 기능적 결합 부위에 결합한다, 예를 들면, 상기 기능적 결합 부위에 특이적으로 결합한다.

[0056] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "청소 단계" 또는 "청소기"는 개체의 순환으로부터 유래된 항체의 청소율을 증가시키는 작용제 및/또는 효과기 분자의 결합을 차단하는 작용제의 이용을 포괄한다. 일부 작용제는 청소 및 차단 둘 모두에서 기능할 수 있다.

[0057] 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는, 단백질성 또는 비단백질성 중 어느 한 가지인 항원 상에서 부위를 표시한다. 에피토프는 인접한 아미노산 스트레치 (선형 에피토프)로부터 둘 모두 형성될 수 있거나, 또는 예를 들면, 항원의 접힘으로 인해, 다시 말하면 단백질성 항원의 삼차 접힘에 의해 공간적으로 근접하는 비인접한 아미노산 (입체형태적 에피토프)을 포함할 수 있다. 선형 에피토프는 전형적으로, 변성제에 단백질성 항원의 노출 이후에도 항체에 의해 여전히 결합되는 반면, 입체형태적 에피토프는 전형적으로, 변성제로 처리 시에 파괴된다. 에피토프는 고유한 공간적 입체형태에서 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 또는 8-10개의 아미노산을 포함한다.

[0058] 특정 에피토프에 결합하는 항체 (다시 말하면, 동일한 에피토프에 결합하는 것들)에 대한 선별검사는 당해 분야에서 일과적인 방법 예컨대 예를 들면, 제한 없이, 알라닌 스캐닝, 펩티드 블롯 (참조: Meth. Mol. Biol. 248 (2004) 443-463), 펩티드 개열 분석, 에피토프 절제, 에피토프 추출, 항원의 화학적 변형 (참조: Prot. Sci. 9 (2000) 487-496), 그리고 교차 차단 (참조: "Antibodies", Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)을 이용하여 실행될 수 있다.

[0059] 변형 보조 프로파일링 (MAP)으로서 또한 알려져 있는 항원 구조 기반 항체 프로파일링 (ASAP)은 화학적으로 또는 효소적으로 변형된 항원 표면에 대한 군중으로부터 획득된 항체 각각의 결합 프로필에 근거하여, 항원에 특이적으로 결합하는 다수의 단일클론 항체를 비닝하는 것을 가능하게 한다 (참조: 예를 들면, US 2004/0101920). 각 빈에서 항체는 다른 빈에 의해 나타내진 에피토프와 명백하게 상이하거나 또는 부분적으로 중첩하는 고유한 에피토프일 수 있는 동일한 에피토프에 결합한다.

[0060] 또한 경쟁적 결합이 항체가 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하거나, 또는 참조 항체와 결합에 대해 경쟁하는지를 쉽게 결정하는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, 참조 항체와 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 분석에서 항원에 대한 참조 항체의 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭하고, 그리고 반대로, 참조 항체는 경쟁 분석에서 항원에 대한 항체의 결합을 50% 이상 차단한다. 또한 예를 들면, 항체가 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해, 참조 항체는 포화 조건하에 항원에 결합하도록 허용된다. 과잉의 참조 항체의 제거 후, 항원에 결합하는 문제되는 항체의 능력이 사정된다. 만약 문제되는 항체가 참조 항체의 포화 결합 후 항원에 결합할 수 있으면, 문제되는 항체는 참조 항체와 상이한 에피토프에 결합하는 것으로 결론될 수 있다. 그러나, 만약 문제되는 항체가 참조 항체의 포화 결합 후 항원에 결합할 수 없으면, 문제되는 항체는 참조 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 문제되는 항체가 동일한 에피토프에 결합하거나, 또는 입체적 이유로 결합이 단지 방해를 받는지를 확증하기 위해, 일과적인 실험 (예를 들면, 펩티드 돌연변이 및 ELISA, RIA, 표면 플라스몬 공명, 유세포분석 또는 당해 분야에서 가용한 임의의 다른 정량적 또는 정성적 항체 결합 측정을 이용한 결합 분석)이 이용될 수 있다. 이러한 검정은 2가지 설정에서 실행되어야 한다, 다시 말하면 이들 항체 둘 모두 포화 항체이다. 만약 양쪽 설정에서, 단지 첫 번째 (포화) 항체만 항원에 결합할 수 있으면, 문제되는 항체 및 참조 항체는 항원에 결합에 대해 경쟁하는 것으로 결론될 수 있다.

[0061] 일부 양상에서, 만약 1배, 5배, 10배, 20배 또는 100배 과잉의 한 항체가 경쟁적 결합 측정에서 계측될 때 다른 항체의 결합을 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 90% 또는 심지어 99% 또는 그 초과로 저해하면, 2개의 항체는 동일하거나 또는 중복 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다 (참조: 예를 들면, Junghans et al., Cancer Res. 50 (1990) 1495-1502).

[0062] 일부 양상에서, 만약 한 항체의 결합을 감소시키거나 또는 제거하는, 항원 내에 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합 또한 감소시키거나 또는 제거하면, 2개의 항체는 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다. 만약 한 항체의 결합을 감소시키거나 또는 제거하는 아미노산 돌연변이의 부분집합만 다른 항체의 결합을 감소시키거나 또는 제거하면, 2개의 항체는 "중복 에피토프"를 갖는 것으로 간주된다.

[0063] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정 공급원 또는 종으로부터 유래되고, 반면 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지 부분이 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래되는 항체를 지칭한다.

[0064] 항체의 "부류"는 이의 중쇄에 의해 소유된 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 항체의 5가지 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있고, 그리고 이들 중에서 몇몇은 하위부류 (아이소타입), 예를 들면, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 및 IgA_2로 더욱 나눠질 수 있다. 일정한 양상에서, 항체는 IgG_1 아이소타입이다. 일정한 양상에서, 항체는 Fc-영역 효과기 기능을 감소시키기 위한 P329G, L234A 및 L235A 돌연변이를 갖는 IgG_1 아이소타입이다. 다른 양상에서, 항체는 IgG_2 아이소타입이다. 일정한 양상에서, 항체는 IgG_4 항체의 안정성을 향상시키기 위한, 힌지 영역에서 S228P 돌연변이를 갖는 IgG_4 아이소타입이다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각, α, δ, ε, γ 및 μ로 불린다. 항체의 경쇄는 이의 불변 도메인의 아미노산 서열에 근거하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 불리는 두 가지 유형 중에서 한 가지에 배정될 수 있다.

[0065] "효과기 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인한 생물학적 활성을 지칭하는데, 이들은 항체 아이소타입에 따라서 변한다. 항체 효과기 기능의 실례는 다음을 포함한다: C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체 (예를 들면, B 세포 수용체)의 하향조절; 그리고 B 세포 활성화.

[0066] 작용제, 예를 들면, 약학 조성물의 "효과량"은 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하는 데 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0067] 용어 "탠덤 Fab"는 펩티드 링커/테더를 통해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 항체를 지칭한다. 일부 구체예에서, 탠덤 Fab는 펩티드 링커/테더에 의해 연결된 하나의 Fab 단편 및 하나의 교차-Fab 단편을 포함할 수 있다.

[0068] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 내포하는, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 규정하는 데 이용된다. 본원에서 용어 "Fc 도메인"은 첫 번째 불변 영역을 제외하고, 2개의 중쇄의 불변 영역을 내포하는 면역글로불린의 C 말단 영역을 규정하는 데 이용된다. 따라서, Fc는 IgA, IgD 및 IgG의 마지막 2개의 불변 영역 면역글로불린 도메인, 그리고 IgE 및 IgM의 마지막 3개의 불변 영역 면역글로불린 도메인을 지칭한다. 상기 용어는 선천적 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 양상에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 중쇄의 Cys226으로부터, 또는 Pro230으로부터 카르복실 말단까지 걸친다. 하지만, 숙주 세포에 의해 생산되는 항체는 중쇄의 C 말단으로부터 하나 이상, 특히 1개 또는 2개의 아미노산의 번역후 개열을 겪을 수 있다. 이런 이유로 전장 중쇄를 인코딩하는 특이적 핵산 분자의 발현에 의해 숙주 세포에 의해 생산되는 항체는 전장 중쇄를 포함할 수 있거나, 또는 이것은 전장 중쇄의 개열된 변이체를 포함할 수 있다. 이것은 중쇄의 최종 2개의 C 말단 아미노산이 글리신 (G446) 및 리신 (K447, EU 색인에 따른 넘버링)인 경우에 그러할 수 있다. 이런 이유로, Fc 영역의 C 말단 리신 (Lys447), 또는 C 말단 글리신 (Gly446) 및 리신 (Lys447)은 존재하거나 존재하지 않을 수 있다. 한 양상에서, 본원 발명에 따른 항체 내에 포함된, 본원에서 특정된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 중쇄는 추가의 C 말단 글리신-리신 디펩티드 (G446 및 K447, EU 색인에 따른 넘버링)를 포함한다. 한 양상에서, 본원 발명에 따른 항체 내에 포함된, 본원에서 특정된 바와 같은 Fc 영역을 포함하는 중쇄는 추가의 C 말단 글리신 잔기 (G446, EU 색인에 따른 넘버링)를 포함한다. 본원에서 별도로 특정되지 않으면, Fc 영역 또는 불변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에서 설명된 바와 같이, EU 색인으로 또한 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다. 본원에서 이용된 바와 같이, Fc 도메인의 "아단위"는 이량체성 Fc 도메인을 형성하는 2개의 폴리펩티드 중에서 하나, 다시 말하면, 이들 2개의 폴리펩티드 중에서 다른 것과 안정되게 연결되어 이량체성 Fc 도메인을 형성할 수 있는, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 예를 들면, IgG Fc 도메인의 아단위는 IgG CH2 및 IgG CH3 불변 도메인을 포함한다.

[0069] "프레임워크" 또는 "FR"은 상보성 결정 영역 (CDR) 이외에 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 구성된다. 따라서, CDR과 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 아래의 순서로 나타난다: FR1-CDR-H1(CDR-L1)-FR2- CDR-H2(CDR-L2)-FR3- CDR-H3(CDR-L3)-FR4.

[0070] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 선천적 항체 구조와 실제적으로 유사한 구조를 갖는 또는 본원에서 규정된 바와 같은 Fc 영역을 내포하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하기 위해 본원에서 교체가능하게 이용된다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "전장 항체"는 2개의 "전장 항체 중쇄" 및 2개의 "전장 항체 경쇄"로 구성되는 항체를 표시한다. "전장 항체 중쇄"는 N 말단에서 C 말단 방향으로, VH-CH1-HR-CH2-CH3으로서 약칭되는 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 항체 불변 중쇄 도메인 1 (CH1), 항체 힌지 영역 (HR), 항체 중쇄 불변 도메인 2 (CH2) 및 항체 중쇄 불변 도메인 3 (CH3); 그리고 하위부류 IgE의 항체의 경우에는 임의적으로 항체 중쇄 불

변 도메인 4 (CH4)로 구성되는 폴리펩티드일 수 있다. 바람직하게는 "전장 항체 중쇄"는 N 말단에서 C 말단 방향으로, VH, CH1, HR, CH2 및 CH3으로 구성되는 폴리펩티드이다. 교차-Mab 형성의 가능성은 "전장"에 대한 언급에 의해 배제되는 것으로 의도되지 않는다 - 따라서, 중쇄는 VH 도메인이 VL 도메인과 교환되거나, 또는 CH1 도메인이 CL 도메인과 교환될 수 있다. "전장 항체 경쇄"는 N 말단에서 C 말단 방향으로, VL-CL로서 약칭되는 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인 (CL)으로 구성되는 폴리펩티드일 수 있다. 대안으로, 교차-Mab의 경우에는, VL 도메인이 VH 도메인과 교환될 수 있거나, 또는 CL 도메인이 CH1 도메인과 교환될 수 있다. 항체 경쇄 불변 도메인 (CL)은 κ (카파) 또는 λ (람다)일 수 있다. 2개의 전장 항체 사슬은 CL 도메인 및 CH1 도메인 사이에, 그리고 전장 항체 중쇄의 힌지 영역 사이에 폴리펩티드간 이황화 결합을 통해 함께 연결된다. 전형적인 전장 항체의 실례는 IgG (예를 들면 IgG1 및 IgG2), IgM, IgA, IgD 및 IgE와 같은 자연 항체이다. 전장 항체는 단일 종 예를 들면 인간으로부터 유래될 수 있거나, 또는 이들은 키메라화 또는 인간화 항체일 수 있다. 본원에서 설명된 전장 항체는 한 쌍의 VH와 VL에 의해 각각 형성된 2개의 항원 결합 부위를 포함하는데, 이들은 일부 구체예에서 둘 모두 동일한 항원에 특이적으로 결합할 수 있거나, 또는 상이한 항원에 결합할 수 있다. 상기 전장 항체의 중쇄 또는 경쇄의 C 말단은 상기 중쇄 또는 경쇄의 C 말단에서 마지막 아미노산을 표시한다.

[0071] "융합된"은 구성요소가 직접적으로 또는 하나 이상의 펩티드 링커를 통해, 펩티드 결합에 의해 연결되는 것으로 의미된다.

[0072] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양액"은 교체가능하게 이용되고, 그리고 외인성 핵산이 도입된 세포 및 이런 세포의 자손을 지칭한다. 숙주 세포에는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"가 포함되는데, 이들은 일차 형질전환된 세포 및 계대 (passage)의 횟수에 상관없이, 이로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 핵산 함량에서 부모 세포와 완전하게 동일하지 않을 수도 있으며 돌연변이를 내포할 수도 있다. 최초 형질전환된 세포에 대해 선별검사되거나 또는 선별된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손은 본원에 포함된다.

[0073] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산되거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-인코딩 서열을 활용하는 비인간 공급원으로부터 유래된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 소유하는 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 특정적으로 배제한다.

[0074] "인간 공통 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택에서 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 유래된다. 일반적으로, 서열의 하위군은 Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest,* Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), Vols. 1-3의 경우에서와 같은 하위군이다. 한 양상에서, VL의 경우에, 하위군은 Kabat et al., *위와 같음*의 경우에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 양상에서, VH의 경우에, 하위군은 Kabat et al., *위와 같음*의 경우에서와 같은 하위군 III이다.

[0075] "인간화" 항체는 비인간 CDR로부터 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 일정한 양상에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실제적으로 모두 포함할 것인데, 여기서 CDRs의 전부 또는 실제적으로 전부가 비인간 항체의 것들에 상응하고, 그리고 FR의 전부 또는 실제적으로 전부가 인간 항체의 것들에 상응한다. 인간화 항체는 임의적으로, 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들면, 비인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화를 겪은 항체를 지칭한다.

[0076] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변성이고 항원 결합 특이성을 결정하는 항체 가변 도메인의 각 영역, 예를 들면 "상보성 결정 영역" ("CDR")을 지칭한다.

[0077] 일반적으로, 항체는 6개의 CDR을 포함한다: VH에서 3개 (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), 그리고 VL에서 3개 (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). 본원에서 예시적인 CDR은 하기를 포함한다:

[0078] (a) 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), 그리고 96-101 (H3)에서 발생하는 초가변 루프 (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987));

[0079] (b) 아미노산 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), 그리고 95-102 (H3)에서 발생하는 CDR (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)); 그리고

[0080] (c) 아미노산 잔기 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), 그리고 93-101 (H3)에서 발생하는 항원 접촉 (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)).

[0081] 별도로 표시되지 않으면, CDR은 Kabat et al., *위와 같음*에 따라서 결정된다. 당업자는 CDR 지정이 Chothia, *위와 같음*, McCallum, *위와 같음*, 또는 임의의 다른 과학적으로 용인된 명명법 시스템에 따라서 또한 결정될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 상기 대신에, 본원에서 설명된 바와 같은 CDR-H1의 서열이 예를 들면, Pb-DOTAM 결합 가변 도메인의 경우에 Kabat26에서 Kabat35로 확장될 수 있다.

[0082] 한 가지 양상에서, CDR 잔기는 서열 표에서 또는 본 명세서의 다른 곳에서 확인된 것들을 포함한다.

[0083] 별도로 표시되지 않으면, HVR/CDR 잔기 및 가변 도메인에서 다른 잔기 (예를 들면, FR 잔기)는 본원에서 Kabat et al., 위와 같음에 따라서 넘버링된다.

[0084] "면역접합체"는 세포독성 작용제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 한 가지 이상의 이종성 분자(들)에 접합된 항체이다.

[0085] "개체" 또는 "피험자"는 포유동물이다. 포유동물은 순치된 동물 (예를 들면, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류 (예를 들면, 인간 및 비인간 영장류 예컨대 원숭이), 토끼, 그리고 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 양상에서, 개체 또는 피험자는 인간이다.

[0086] 본원에서 설명된 바와 같은 분자는 "단리될 수 있다". "단리된" 항체는 자연 환경의 구성요소로부터 분리된 것이다. 일부 양상에서, 항체는 예를 들면, 전기이동 (예를 들면, SDS-PAGE, 등전위 초점 (IEF), 모세관 전기이동) 또는 크로마토그래피 (예를 들면, 이온 교환 또는 역상 HPLC) 방법에 의해 결정될 때, 95% 또는 99% 보다 높은 순도로 정제된다. 항체 순도의 사정을 위한 방법에 관한 검토를 위해, 예를 들면, Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)을 참조한다.

[0087] 용어 "핵산 분자" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 뉴클레오티드의 중합체를 포함하는 임의의 화합물 및/또는 물질을 포함한다. 각 뉴클레오티드는 염기, 특이적으로 퓨린 또는 피리미딘 염기 (다시 말하면, 시토신 (C), 구아닌 (G), 아데닌 (A), 티민 (T) 또는 우라실 (U)), 당 (다시 말하면, 데옥시리보오스 또는 리보오스), 그리고 인산염 기로 구성된다. 종종, 핵산 분자는 염기의 서열에 의해 설명되는데, 여기서 상기 염기는 핵산 분자의 일차 구조 (선형 구조)를 나타낸다. 염기의 서열은 전형적으로 5'에서 3'로 나타내진다. 본원에서, 용어 핵산 분자는 예를 들면, 상보성 DNA (cDNA) 및 유전체 DNA를 비롯한 데옥시리보핵산 (DNA), 리보핵산 (RNA), 특히 전령 RNA (mRNA), DNA 또는 RNA의 합성 형태, 그리고 이들 분자 중에서 두 가지 이상을 포함하는 혼성 중합체를 포괄한다. 핵산 분자는 선형 또는 환상일 수 있다. 이에 더하여, 용어 핵산 분자는 센스와 안티센스 가닥뿐만 아니라 단일 가닥과 이중 가닥 형태 둘 모두를 포함한다. 게다가, 본원에서 설명된 핵산 분자는 자연 발생 또는 비-자연 발생 뉴클레오티드를 내포할 수 있다. 비-자연 발생 뉴클레오티드의 실례는 유도체화된 당 또는 인산염 백본 연쇄 또는 화학적으로 변형된 잔기를 갖는 변형된 뉴클레오티드 염기를 포함한다. 핵산 분자는 또한, 시험관내에서 및/또는 생체내에서, 예를 들면, 숙주 또는 환자에서 본원 발명의 항체의 직접적인 발현을 위한 벡터로서 적합한 DNA와 RNA 분자를 포괄한다. 이런 DNA (예를 들면, cDNA) 또는 RNA (예를 들면, mRNA) 벡터는 변형되지 않거나 또는 변형될 수 있다. 예를 들면, mRNA는 mRNA가 개체 내로 주입되어 항체가 생체내에서 생성될 수 있도록, RNA 벡터의 안정성 및/또는 인코딩된 분자의 발현을 증강하기 위해 화학적으로 변형될 수 있다 (참조: 예를 들면, Stadler er al, Nature Medicine 2017, 2017년 6월 12일 온라인 공개됨, doi:10.1038/nm.4356 또는 EP 2 101 823 B1).

[0088] "단리된" 핵산은 자연 환경의 구성요소로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산에는 핵산 분자를 통상적으로 내포하는 세포에 내포된 핵산 분자가 포함되지만, 상기 핵산 분자는 염색체외에 또는 자연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 존재한다.

[0089] "항체를 인코딩하는 단리된 핵산"은 항체 중쇄와 경쇄 (또는 이들의 단편)를 인코딩하는 하나 이상의 핵산 분자, 단일 벡터 또는 별개의 벡터에서 이런 핵산 분자(들), 그리고 숙주 세포 내에 하나 이상의 위치에서 존재하는 이런 핵산 분자(들)를 지칭한다.

[0090] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "단일클론 항체"는 실제적으로 동질성 항체의 모집단으로부터 획득된 항체를 지칭한다, 다시 말하면, 상기 모집단을 구성하는 개별 항체는 예를 들면, 자연 발생 돌연변이를 내포하거나 또는 단일클론 항체 제조물의 생산 동안 발생하는 가능한 변이체 항체 (이런 변이체는 일반적으로 미량으로 존재한다)를 제외하고, 동일하고 및/또는 동일한 에피토프에 결합한다. 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지향된

상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다중클론 항체 제조물과 대조적으로, 단일클론 항체 제조물의 각 단일클론 항체는 항원 상에서 단일 결정인자에 대해 지향된다. 따라서, 수식어 "단일클론"은 항체의 실제적으로 동질성 모집단으로부터 획득되는 것으로서 항체의 특징을 표시하고, 그리고 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는다. 예를 들면, 본원 발명에 따른 단일클론 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지 전시 방법, 그리고 인간 면역글로불린 좌위 중에서 전부 또는 일부를 내포하는 유전자도입 동물을 활용하는 방법을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있는데, 이런 방법 및 단일클론 항체를 만들기 위한 다른 예시적인 방법은 본원에서 설명된다.

[0091] "나신 항체"는 이종성 모이어티 (예를 들면, 세포독성 모이어티) 또는 방사성 표지에 접합되지 않는 항체를 지칭한다. 나신 항체는 약학 조성물 내에 존재할 수 있다.

[0092] "선천적 항체"는 변화하는 구조를 갖는 자연 발생 면역글로불린 분자를 지칭한다. 예를 들면, 선천적 IgG 항체는 디설피드 결합되는 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 동일한 중쇄로 구성되는, 약 150,000 달톤의 이종사량체성 당단백질이다. N 말단으로부터 C 말단으로, 각 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 영역으로 또한 불리는 가변 도메인 (VH), 그 이후에 3개의 불변 중쇄 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N 말단으로부터 C 말단으로, 각 경쇄는 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 영역으로 또한 불리는 가변 도메인 (VL), 그 이후에 불변 경쇄 (CL) 도메인을 갖는다.

[0093] 용어 "포장 삽입물"은 치료 산물의 상업적인 패키지 내에 관례적으로 포함되는 사용설명서를 지칭하는 데 이용되는데, 이것은 이런 치료 산물의 이용에 관련된 징후, 용법, 용량, 투여, 병용 요법, 금기 및/또는 주의사항에 관한 정보를 내포한다.

[0094] 참조 폴리펩티드 서열에 대하여 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요하면, 갭을 도입한 후에, 그리고 정렬의 목적으로 임의의 보존성 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않고, 참조 폴리펩티드 서열 내에 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 내에 아미노산 잔기의 백분율로서 규정된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적을 위한 정렬은 당해 분야의 기술 범위 안에 있는 다양한 방식으로, 예를 들면, 공개적으로 가용한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, Clustal W, Megalign (DNASTAR) 소프트웨어 또는 FASTA 프로그램 패키지를 이용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여, 서열을 정렬하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 대안으로, 동일성 퍼센트 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 생성될 수 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc.에 의해 저술되었고, 그리고 소스 코드가 사용자 문서로 U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559에 제출되었는데, 여기서 이것은 U.S. Copyright 등록 번호 TXU510087하에 등록되고 WO 2001/007611에서 설명된다.

[0095] 별도로 표시되지 않으면, 본원에서 목적을 위해, 퍼센트 아미노산 서열 동일성 값은 BLOSUM50 비교 매트릭스를 갖는 FASTA 패키지 버전 36.3.8c 또는 그 이후 버전의 ggsearch 프로그램을 이용하여 생성된다. FASTA 프로그램 패키지는 W. R. Pearson and D. J. Lipman (1988), "Improved Tools for Biological Sequence Analysis", PNAS 85:2444-2448; W. R. Pearson (1996) "Effective protein sequence comparison" Meth. Enzymol. 266:227- 258; 및 Pearson et. al. (1997) Genomics 46:24-36에 의해 저술되었고, 그리고 www.fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml 또는 www. ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta로부터 공개적으로 가용하다. 대안으로, 국부보다는 전역 정렬이 수행되도록 담보하기 위해 ggsearch (global protein:protein) 프로그램 및 디폴트 옵션 (BLOSUM50; 개방: -10; ext: -2; Ktup = 2)을 이용하여, fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/index.cgi에서 접근 가능한 공개 서버가 서열을 비교하는 데 이용될 수 있다. 퍼센트 아미노산 동일성은 출력 정렬 헤더에서 제공된다.

[0096] 용어 "약학 조성물" 또는 "약학 제제"는 그 안에 내포된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 허용하는 그런 형태이고, 그리고 이러한 약학 조성물이 투여될 개체에게 받아들이기 어려울 정도로 독성인 추가 성분을 내포하지 않는 제조물을 지칭한다.

[0097] "약학적으로 허용되는 운반체"는 개체에게 비독성인, 약학 조성물 또는 제제에서 활성 성분 이외의 성분을 지칭한다. 약학적으로 허용되는 운반체는 완충액, 부형제, 안정제 또는 보존제를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0098] 본원에서 이용된 바와 같은 표적 항원에 대한 언급은 별도로 표시되지 않으면, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들면, 인간) 및 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 비롯한, 임의의 척추동물 공급원으로부터 임의의 선천적 표적

항원을 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 표적 항원뿐만 아니라 세포에서 처리로부터 발생하는 표적 항원의 임의의 형태를 포괄한다. 상기 용어는 또한, 표적 항원의 자연 발생 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이체 또는 대립형질 변이체를 포괄한다. 예를 들면, 표적 항원 CEA는 UniProt (www.uniprot.org) 수탁 번호 P06731 (버전 119), 또는 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_004354.2에서 도시되는, 인간 CEA, 특히 암배아 항원 관련 세포 부착 분자 5 (CEACAM5)의 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0099] 본원에서 이용된 바와 같이, "치료" (및 이의 문법적 변이, 예컨대 "치료한다" 또는 "치료하는")는 치료를 받는 개체에서 질환의 자연 경과를 변경하려는 시도에서 임상적 개입을 지칭하고, 그리고 임상 병리의 예방을 위해 또는 임상 병리의 경과 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 전이 예방, 질환 진행의 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 그리고 관해 또는 향상된 예후를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일부 양상에서, 본원 발명의 항체는 질환의 발달을 지연시키거나 또는 질환의 진행을 늦추는 데 이용된다.

[0100] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체를 항원에 결합시키는 데 관련되는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 선천적 항체의 중쇄와 경쇄의 가변 도메인 (각각, VH와 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖는데, 각 도메인이 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다. (참조: 예를 들면, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007).) 단일 VH 또는 VL 도메인이 항원 결합 특이성을 부여하는 데 충분할 수 있다. 게다가, 특정 항원에 결합하는 항체는 각각, 상보성 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 선별검사하기 위해, 항원에 결합하는 항체로부터 VH 또는 VL 도메인을 이용하여 단리될 수 있다. 참조: 예를 들면, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991).

[0101] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "벡터"는 자신이 연관되는 다른 핵산을 증식할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자기 복제 핵산 구조로서 벡터뿐만 아니라 이것이 도입된 숙주 세포의 유전체 내로 통합된 벡터를 포함한다. 일정한 벡터는 그들이 작동가능하게 연결되는 핵산의 발현을 주동할 수 있다. 이런 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로서 지칭된다.

[0102] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "Pb" 또는 "납"은 이의 이온, 예를 들면, Pb(II)를 포함한다. 다른 금속에 대한 언급 또한 이들의 이온을 포함한다. 따라서, 숙련된 독자는 예를 들면, 용어 납, Pb, ^{212}Pb 또는 ^{203}Pb가 상기 원소의 이온 형태, 특히, Pb(II)를 포괄하는 것으로 의도된다는 것을 이해한다.

[0103] **II. 조성물 및 방법**

[0104] **A. 방사성-표지화된 화합물**

[0105] 본원 발명에 따라서, 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 효과기 분자에 대한 결합 부위를 포함한다. (첫 번째와 두 번째 헤미바디로 형성된 분할 다중특이적 항체에서, 첫 번째 헤미바디는 효과기 분자에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하고, 두 번째 헤미바디는 효과기 분자에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하고, 그리고 이들 2개의 헤미바디가 연결될 때 기능적 결합 부위가 형성된다).

[0106] 본원 발명에 따른 효과기 분자는 방사성동위원소를 포함하는 방사성-표지화된 화합물이다, 예를 들면, 방사성-표지화된 합텐이다.

[0107] 일부 구체예에서, 효과기 분자는 킬레이트화된 방사성동위원소를 포함할 수 있다.

[0108] 일부 구체예에서, 효과기 분자에 대한 기능적 결합 부위는 킬레이터 및 방사성동위원소를 포함하는 킬레이트에 결합할 수 있다. 다른 구체예에서, 항체는 킬레이트화된 방사성동위원소, 예를 들면, 히스타민-숙시닐-글리신 (HSG), 디곡시제닌, 비오틴 또는 카페인에 접합되는 모이어티에 결합할 수 있다.

[0109] 킬레이터는 예를 들면, 여러 자리 분자 예컨대 아미노폴리카르복실산 또는 아미노폴리티오카르복실산, 또는 이들의 염 또는 기능적 변이체일 수 있다. 킬레이터는 예를 들면, 두자리 또는 세자리 또는 네자리일 수 있다. 적합한 금속 킬레이터의 실례는 EDTA (에틸렌디아민테트라아세트산, 또는 염 형태 예컨대 $CaNa_2EDTA$), DTPA (디에틸렌트리아민 펜타아세트산), DOTA (1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산), NOTA (2,2',2''-(1,4,7-트리아자노난-1,4,7-트리틸)트리아세트산), IDA (이미노디아세트산), MIDA ((메틸이미노)디아세트산), TTHA (3,6,9,12-테트라키스(카르복시메틸)-3,6,9,12-테트라- 아자테트라데칸디오산), TETA (2,2',2'',2'''-(1,4,8,11-테트라아자시클로테트라데칸- 1,4,8,11-테트라일)테트라아세트산), DOTAM

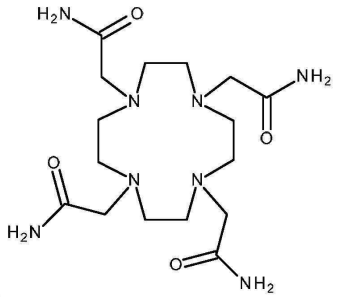
(1,4,7,10-테트라키스(카바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸), HEHA (1,4,7,10,13,16-헥사아자시클로헥사데칸-1,4,7,10,13,16-헥사아세트산, Macrocyclics, Inc., Plano, Texas로부터 가용함), NTA (니트릴로트리아세트산) EDDHA (에틸렌디아민-N, N'-비스(2-히드록시페닐아세트산), BAL (2,3,-디메르캅토프로판올), DMSA (2,3-디메르캅토숙신산), DMPS (2,3-디메르캅토-1-프로판술폰산), D-페니실라민 (B-디메틸시스테인), MAG_3 (메르캅토아세틸트리글리신), Hynic (6-히드라지노피리딘-3-카르복실산), p-이소티오시아나토벤질-데스페리옥사민 (예를 들면, 영상을 위해 지르코늄으로 표지화됨), 그리고 금속을 킬레이트화할 수 있는 이들의 염 또는 기능적 변이체/유도체를 포함하는 분자를 포함한다. 일부 구체예에서, 킬레이터는 DOTA 또는 DOTAM, 또는 금속을 킬레이트화할 수 있는 이들의 염 또는 기능적 변이체/유도체인 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 킬레이터는 방사성 동위원소가 거기에 킬레이트화된 DOTA 또는 DOTAM일 수 있거나 또는 이것을 포함할 수 있다.

[0110] 방사성-표지화된 화합물은 방사성 핵종과 함께, 상기 킬레이터의 기능적 변이체 또는 유도체를 포함하거나 또는 이들로 구성될 수 있다. 적합한 변이체/유도체는 일정한 한정된 정도까지 상이하고, 그리고 킬레이터로서 기능하는 능력을 유지하는 (다시 말하면 본원에서 설명된 목적 중 한 가지 이상에 이용될 만큼 충분한 활성을 유지하는) 구조를 갖는다. 기능적 변이체/유도체는 또한, 소형 분자, 폴리펩티드 또는 탄수화물을 비롯한, 한 가지 이상의 추가 모이어티 또는 치환체에 접합된 전술된 바와 같은 킬레이터를 포함할 수 있다. 이러한 부착은 예를 들면 킬레이터의 백본 부분 내에, 성분 탄소 중에서 하나를 통해 일어날 수 있다. 적합한 치환체는 예를 들면, 탄화수소 기 예컨대 알킬, 알케닐, 아릴 또는 알키닐; 히드록시 기; 알코올 기; 할로겐 원자; 니트로 기; 시아노 기; 술포닐 기; 티올 기; 아민 기; 옥소 기; 카르복시 기; 티오카르복시 기; 카르보닐 기; 아미드 기; 에스테르 기; 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 헤테로환일 수 있다. 치환체는 예를 들면 아래의 "R^1" 기에 대해 규정된 것들 중에서 한 가지일 수 있다. 소형 분자는 예를 들면, 염료 (예컨대 Alexa 647 또는 Alexa 488), 비오틴 또는 비오틴 모이어티, 또는 페닐 또는 벤질 모이어티일 수 있다. 폴리펩티드는 예를 들면, 올리고 펩티드, 예를 들면, 두 개 또는 세 개의 아미노산의 올리고펩티드일 수 있다. 예시적인 탄수화물은 덱스트란, 선형 또는 분지된 중합체 또는 공중합체 (예를 들면 폴리알킬렌, 폴리(에틸렌-리신), 폴리메타크릴레이트, 폴리아미노산, 다당류 또는 올리고당류, 덴드리머)를 포함한다. 유도체는 또한, 상기 명시된 바와 같은 화합물이 링커 모이어티를 통해 연결되는 킬레이터 화합물의 다합체를 포함할 수 있다. 유도체는 또한, 금속 이온을 킬레이트화하는 능력을 유지하는, 상기 화합물의 기능적 단편을 포함할 수 있다.

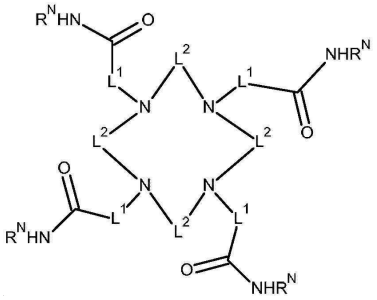
[0111] 유도체의 특정 실례는 벤질-EDTA 및 히드록시에틸-티오우리도-벤질 EDTA, DOTA-벤젠 (예를 들면, (S-2-(4-아미노벤질)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸 테트라아세트산), DOTA-비오틴, 그리고 DOTA-TyrLys-DOTA를 포함한다.

[0112] 본원 발명의 일부 구체예에서, 방사리간드에 대한 기능적 결합 부위는 DOTAM 및 금속, 예를 들면, 납 (Pb)을 포함하는 금속 킬레이트에 결합한다. 앞서 언급된 바와 같이, "DOTAM"는 화학 명칭:

[0113] 1,4,7,10-테트라키스(카르바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸을 갖고, 이것은 아래 화학식의 화합물이다:

[0114] 

[0115] 본원 발명은 일정한 양상 및 구체예에서 금속 이온을 통합하는, DOTAM의 기능적 변이체 또는 유도체를 또한 이용할 수 있다. DOTAM의 적합한 변이체/유도체는 DOTAM의 구조와 일정한 한정된 정도까지 상이하고, 그리고 기능하는 능력을 유지하는 (다시 말하면 본원에서 설명된 목적 중 한 가지 이상에 이용될 만큼 충분한 활성을 유지하는) 구조를 갖는다. 이런 양상 및 구체예에서, DOTAM 또는 DOTAM의 기능적 변이체/유도체는 WO 2010/099536에서 개시된 활성 변이체 중에서 한 가지일 수 있다. 적합한 기능적 변이체/유도체는 아래 화학식의 화합물:

[0116] 

[0117] 또는 이의 약학적으로 허용되는 염일 수 있고; 여기서

[0118] R^N은 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클로알킬-C_{1-4}알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4}-알킬, C_{1-7} 헤테로아릴 및 C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4}-알킬이고; 여기서 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐 및 C_{2-6} 알키닐은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^w 기에 의해 임의적으로 치환되고; 그리고 여기서 상기 C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클로알킬-C_{1-4}알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4}알킬, C_{1-7} 헤테로아릴 및 C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4}-알킬은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^x 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0119] L^1은 독립적으로 C_{1-6} 알킬렌, C_{1-6} 알케닐렌, 또는 C_{1-6} 알키닐렌이고, 이들은 각각, 1, 2 또는 3개의 독립적으로 선택된 R^1 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0120] L^2는 C_{2-4} 직쇄 알킬렌이고, 이것은 독립적으로 선택된 R^1 기에 의해 임의적으로 치환되고; 그리고 C_{1-4} 알킬 및 또는 C_{1-4} 할로알킬에서 독립적으로 선택된 1, 2, 3 또는 4개의 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0121] R^1은 D^1-D^2-D^3, 할로겐, 시아노, 니트로, 히드록실, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알콕시, C_{1-6} 알킬티오, C_{1-6} 알킬술피닐, C_{1-6} 알킬술포닐, 아미노, C_{1-6} 알킬아미노, 디-C_{1-6} 알킬아미노, C_{1-4} 알킬카르보닐, 카르복시, C_{1-6} 알콕시카르보닐, C_{1-6} 알킬카르보닐아미노, 디-C_{1-6} 알킬카르보닐아미노, C_{1-6} 알콕시카르보닐아미노, C_{1-6} 알콕시카르보닐(C_{1-6} 알킬)아미노, 카르바밀, C_{1-6} 알킬카르바밀 및 디-C_{1-6} 알킬카르바밀에서 독립적으로 선택되고;

[0122] 각 D^1은 C_{6-10} 아릴-C_{1-4} 알킬, C_{1-9} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬, C_{3-10} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-9} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{1-8} 알킬렌, C_{1-8} 알케닐렌 및 C_{1-8} 알키닐렌에서 독립적으로 선택되고; 여기서 상기 C_{1-8} 알킬렌, C_{1-8} 알케닐렌 및 C_{1-8} 알키닐렌은 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^4 기에 의해 임의적으로 치환되고; 그리고 여기서 상기 C_{6-10} 아릴-C_{1-4} 알킬, C_{1-9} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬, C_{3-10} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-9} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^5 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0123] 각 D^2는 독립적으로 부재하거나 또는 C_{1-20} 직쇄 알킬렌이고, 여기서 상기 C_{1-20} 직쇄 알킬렌의 1개 내지 6개의 비-인접한 메틸렌 기가 각각, 독립적으로 선택된 -D^4- 모이어티에 의해 임의적으로 대체되고, 단서로써 상기 C_{1-20} 직쇄 알킬렌에서 적어도 하나의 메틸렌 단위가 -D^4- 모이어티에 의해 임의적으로 대체되지 않고; 여기서 상기 C_{1-20} 직쇄 알킬렌은 할로겐, 시아노, 니트로, 히드록실, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-4} 알콕시, C_{1-4} 할로알콕시, 아미노, C_{1-4} 알킬아미노, 디-C_{1-4} 알킬아미노, C_{1-4} 알킬카르보닐, 카르복시, C_{1-4} 알콕시카르보닐, C_{1-4} 알킬카르보닐아미노, 디-C_{1-4} 알킬카르보닐아미노, C_{1-4} 알콕시카르보닐아미노, C_{1-4} 알콕시카르보닐-(C_{1-4} 알킬)아미노, 카르바밀, C_{1-4} 알킬카르바밀 및 디-C_{1-4} 알킬카르바밀에서 독립적으로 선택되는 하나 이상의 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0124] 각 D^3은 H, 할로겐, 시아노, 니트로, 히드록실, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-14} 시클로알킬, C_{3-14} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-14} 헤테로시클로알킬, C_{2-14} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{6-14} 아릴, C_{6-14} 아릴-C_{1-4} 알킬, C_{1-13} 헤테로아릴, C_{1-13} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬에서 독립적으로 선택되고; 여기서 상기 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^6 기에 의해 임의적으로 치환되고; 그리고 여기서 상기 C_{3-14} 시클로알킬, C_{3-14} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-14} 헤테로시클로알킬, C_{2-14} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{6-14} 아릴, C_{6-14} 아릴-C_{1-4} 알킬, C_{1-13} 헤테로아릴, C_{1-13} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^7 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0125] 각 D^4는 -O-, -S-, $-NR^aC(=O)-$, $-NR^aC(=S)-$, $-NR^bC(=O)NR^c-$, $-NR^bC(=S)NR^c-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-S(=O)NR^a-$, $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)NR^a-$, $-OC(=S)NR^a-$, $-NR^a-$, $-NR^bS(=O)NR^c-$ 및 $NR^bS(=O)_2NR^0-$에서 독립적으로 선택되고;

[0126] 각 R^4 및 R^6은 할로겐, 시아노, 니트로, 히드록실, C_{1-4} 알콕시, C_{1-4} 할로알콕시, C_{1-4} 알킬티오, C_{1-4} 알킬술피닐, C_{1-4} 알킬술포닐, 아미노, C_{1-4} 알킬아미노, 디-C_{1-4} 알킬아미노, C_{1-4} 알킬카르보닐, 카르복시, C_{1-4} 알콕시카르보닐, C_{1-4} 알킬카르보닐아미노, 디-C_{1-4} 알킬카르보닐아미노, C_{1-4} 알콕시카르보닐아미노, C_{1-4} 알콕시카르보닐-(C_{1-4} 알킬)아미노, 카르바밀, C_{1-4} 알킬카르바밀 및 디-C_{1-4} 알킬카르바밀에서 독립적으로 선택되고;

[0127] 각 R^5는 할로겐, 시아노, 시안산염, 이소티오시안산염, 니트로, 히드록실, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알키닐, C_{1-4} 알콕시, C_{1-4} 할로알콕시, C_{1-4} 알킬티오, C_{1-4} 알킬술피닐, C_{1-4} 알킬술포닐, 아미노, C_{1-4} 알킬아미노, 디-C_{1-4} 알킬아미노, C_{1-4} 알킬카르보닐, 카르복시, C_{1-4} 알콕시카르보닐, C_{1-4} 알킬카르보닐아미노, 디-C_{1-4} 알킬카르보닐아미노, C_{1-4} 알콕시카르보닐아미노, C_{1-4} 알콕시카르보닐-(C_{1-4} 알킬)아미노, 카르바밀, C_{1-4} 알킬카르바밀 및 디-C_{1-4} 알킬카르바밀에서 독립적으로 선택되고;

[0128] 각 R^7은 할로겐, 시아노, 니트로, 히드록실, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4} 알킬, C_{1-7} 헤테로아릴, C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬, $-OR^0$, $-SR^0$, $-S(=O)R^P$, $-S(=O)_2R^P$, $-S(=O)NR^sR^t$, $-C(=O)R^P$, $-C(=O)OR^P$, $-C(=O)NR^sR^t$, $-OC(=O)R^P$, $-OC(=O)NR^sR^t$, $-NR^sR^t$, $-NR^qC(=O)R^r$, $-NR^qC(=O)OR^r$, $-NR^qC(=O)NR^r$, $-NR^qS(=O)_2R^r$ 및 $-NR^PS(=O)_2NR^sR^t$에서 독립적으로 선택되고; 여기서 상기 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R' 기에 의해 임의적으로 치환되고; 그리고 여기서 상기 C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4} 알킬, C_{1-7} 헤테로아릴, C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R'' 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0129] 각 R^a, R^b 및 R^c는 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4} 알킬, C_{1-7} 헤테로아릴, C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬에서 독립적으로 선택되고; 여기서 상기 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^w 기에 의해 임의적으로 치환되고; 그리고 여기서 상기 C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4} 알킬, C_{1-7} 헤테로아릴, C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^x 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0130] 각 R^o, R^p, R^q, R^r, R^s 및 R^t는 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클

로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4} 알킬, C_{1-7} 헤테로아릴, C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬에서 독립적으로 선택되고; 여기서 상기 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^y 기에 의해 임의적으로 치환되고; 그리고 여기서 상기 C_{3-7} 시클로알킬, C_{3-7} 시클로알킬-C_{1-4} 알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬, C_{2-7} 헤테로시클로알킬-C_{1-4} 알킬, 페닐, 페닐-C_{1-4} 알킬, C_{1-7} 헤테로아릴, C_{1-7} 헤테로아릴-C_{1-4} 알킬은 각각, 1, 2, 3 또는 4개의 독립적으로 선택된 R^z 기에 의해 임의적으로 치환되고;

[0131] 각 R', R^w 및 R^y는 히드록실, 시아노, 니트로, C_{1-4} 알콕시, C_{1-4} 할로알콕시, 아미노, C_{1-4} 알킬아미노 및 디-C_{1-4} 알킬아미노에서 독립적으로 선택되고; 그리고

[0132] 각 R'', R^x 및 R^z는 히드록실, 할로겐, 시아노, 니트로, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-4} 알콕시, C_{1-4} 할로알콕시, 아미노, C_{1-4} 알킬아미노 및 디-C_{1-4} 알킬아미노에서 독립적으로 선택되고;

[0133] 단서로써 임의적으로 치환된 모이어티에서 각 원자의 원자가가 초과되지 않는다.

[0134] 적절하게는, 상기 화학식의 기능적 변이체/유도체는 DOTAM의 것과 비슷하거나 또는 그 초과인, 본원 발명의 항체에 대한 친화성을 갖고, 그리고 DOTAM의 것과 비슷하거나 또는 그 초과인, Pb에 대한 결합 강도를 갖는다 ("친화성"은 전술된 바와 같이, 해리 상수에 의해 계측된 바와 같다). 예를 들면, 본원 발명의 항체 또는 /Pb를 갖는 기능적/변이체 유도체의 해리 상수는 동일한 항체/Pb를 갖는 DOTAM의 해리 상수보다 1.1배 이하, 1.2배 이하, 1.3배 이하, 1.4배 이하, 1.5배 이하, 또는 2배 이하일 수 있다.

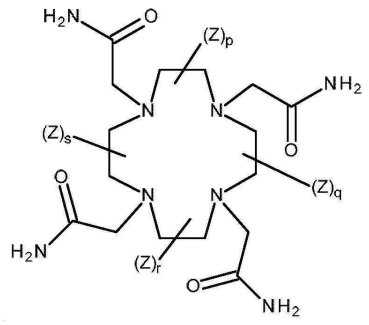
[0135] 각 R^N은 H, C_{1-6} 알킬, 또는 C_{1-6} 할로알킬; 바람직하게는 H, C_{1-4} 알킬, 또는 C_{1-4} 할로알킬일 수 있다. 가장 바람직하게는, 각 R^N은 H이다.

[0136] DOTAM 변이체의 경우에, 1, 2, 3개 또는 가장 바람직하게는 각 L^2가 C_2 알킬렌인 것이 바람직하다. 유리하게는, DOTAM의 C_2 알킬렌 변이체는 Pb에 대한 특히 높은 친화성을 가질 수 있다. L^2에 대한 임의적 치환체는 R^1, C_{1-4} 알킬, 또는 C_{1-4} 할로알킬일 수 있다. 적절하게는, L^2에 대한 임의적 치환체는 C_{1-4} 알킬 또는 C_{1-4} 할로알킬일 수 있다.

[0137] 임의적으로, 각 L^2는 치환되지 않은 C_2 알킬렌 $-CH_2CH_2-$일 수 있다.

[0138] 각 L^1은 바람직하게는 C_{1-4} 알킬렌, 더 바람직하게는 C_1 알킬렌 예컨대 $-CH_2-$이다.

[0139] DOTAM의 기능적 변이체/유도체는 아래 화학식의 화합물일 수 있고:

[0140] 

[0141] 여기서 각 Z는 독립적으로 앞서 규정된 바와 같은 R^1이고; p, q, r 및 s는 0, 1 또는 2이고; 그리고 p+q+r+s는 1 이상이다. 바람직하게는, p, q, r 및 s는 0 또는 1이고 및/또는 p+q+r+s는 1이다. 예를 들면, 상기 화합물은 p+q+r+s = 1을 가질 수 있고, 여기서 Z는 *p*-SCN-벤질 모이어티이다 - 이런 화합물은 Macrocyclics, Inc. (Plano, Texas)로부터 상업적으로 가용하다.

[0142] 본원 발명에서 유용한 방사성 핵종은 금속, 예컨대 납 (Pb), 루테튬 (Lu), 또는 이트륨 (Y)의 방사성동위원소를 포함할 수 있다.

[0143] 치료적 적용에서 특히 유용한 방사성 핵종은 알파 또는 베타 방출체인 방사성 핵종일 수 있다. 예를 들면, 이들은 ^{212}Pb, ^{212}Bi, ^{213}Bi, ^{90}Y, ^{177}Lu, ^{225}Ac, ^{211}At, ^{227}Th, ^{223}Ra에서 선택될 수 있다.

[0144] 일부 구체예에서, DOTAM (또는 이의 염 또는 기능적 변이체)는 Pb 또는 Bi 예컨대 상기 열거된 Pb 또는 Bi 방사성동위원소 중에서 하나로 킬레이트화되는 것이 바람직할 수 있다. 다른 구체예에서, DOTA (또는 이의 염 또는 기능적 변이체)는 Lu 또는 Y 예컨대 상기 열거된 Lu 또는 Y 방사성동위원소 중에서 하나로 킬레이트화되는 것이 바람직할 수 있다.

[0145] 일부 구체예에서, 다가 항체 또는 다가 분할 항체는 Pb-DOTAM 킬레이트에 결합할 수 있다.

[0146] 일부 구체예에서, 다가 항체 또는 다가 분할 항체는 방사성-표지화된 화합물에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 이것은 Pb-DOTAM 및/또는 표적에 대해, ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면 10^{-7} M 이하, 예를 들면 10^{-7} 내지 10^{-13}, 10^{-8} M 이하, 예를 들면 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)로, 방사성-표지화된 화합물, 예컨대 Pb-DOTAM 킬레이트에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서 이것은 100pM, 50pM, 20pM, 10pM, 5pM, 1pM 또는 그 미만, 예를 들면, 0.9pM 또는 그 미만, 0.8pM 또는 그 미만, 0.7pM 또는 그 미만, 0.6pM 또는 그 미만, 또는 0.5pM 또는 그 미만의 결합 친화성의 K_D 값으로 결합하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들면, 기능적 결합 부위는 약 1pM-1nM, 예를 들면, 약 1-10 pM, 1-100pM, 5-50 pM, 100-500 pM 또는 500pM-1 nM의 K_D로 금속 킬레이트에 결합할 수 있다.

[0147] **B. DOTA에 대한 예시적인 항원 결합 부위**

[0148] 본원 발명의 특정한 구체예에서, 항체는 DOTA (또는 이의 기능적 유도체 또는 변이체)에 대한 기능적 결합 부위를 포함하거나, 또는 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 연결되어 DOTA (또는 이의 기능적 유도체 또는 변이체), 예를 들면, Lu 또는 Y (예를 들면, ^{177}Lu 또는 ^{90}Y)로 킬레이트화된 DOTA에 대한 기능적 결합 부위를 형성한다. 예를 들면, 기능적 결합 부위는 약 1pM-1nM, 예를 들면, 약 1-10 pM, 1-100pM, 5-50 pM, 100-500 pM 또는 500pM-1 nM의 K_D로 방사성-표지화된 화합물에 결합할 수 있다.

[0149] C825는 방사선금속 예컨대 ^{177}Lu 및 ^{90}Y와 복합화된 DOTA-Bn (S-2-(4-아미노벤질)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸 테트라아세트산)에 대해 높은 친화성을 갖는 공지된 scFv이다 (예를 들면, 본원에서 참조로서 편입되는 Cheal et al 2018, Theranostics 2018 및 WO2010099536을 참조한다). C825의 CDR 서열 및 VL과 VH 서열은 본원에서 제공된다. 한 구체예에서, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 중쇄 가변 영역 형성 부분은 (a) 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 2개 또는 3개 모두의 CDR을 포함할 수 있다. 대안적 구체예에서, CDR-H1은 서열 GFSLTDYGVH를 가질 수 있다. 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위의 경쇄 가변 영역 형성 부분은 (d) 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 2개 또는 3개 모두의 CDR을 포함할 수 있다.

[0150] 다른 구체예에서, 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위의 중쇄 가변 도메인 형성 부분 (예를 들면, 분할 항체의 경우에 첫 번째 헤미바디 상에서)은 서열 번호: 41의 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 41에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 결합 부위는 바람직하게는 본원에서 설명된 바와 같은 친화성으로, Lu 또는 Y와 복합화된 DOTA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 41에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, 상기 항체 또는 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 41에서 VH 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VH는 (a) 서열 번호: 35 또는 서열 GFSLTDYGVH의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 그리고 (c) 서열 번호: 37의 아미노산

서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0151] 임의적으로, 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위의 경쇄 가변 도메인 형성 부분 (예를 들면, 분할 항체의 경우에 두 번째 헤미바디 상에서)은 서열 번호: 42의 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 42에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 결합 부위는 바람직하게는 본원에서 설명된 바와 같은 친화성으로, Lu 또는 Y와 복합화된 DOTA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 42에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, 상기 항체 또는 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 42에서 VL 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VL은 (a) 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0152] 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역에 관련된 구체예는 명시적으로 조합으로 예기된다. 따라서, 기능적 항원 결합 부위는 앞서 규정된 바와 같은 중쇄 가변 영역 및 앞서 규정된 바와 같은 경쇄 가변 영역으로부터 형성될 수 있다. 분할 항체의 경우에, 이들은 각각, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 상에 있을 수 있다.

[0153] 임의의 상기 구체예에서, DOTA 복합체에 대한 결합 부위를 형성하는 경쇄와 중쇄 가변 영역은 인간화될 수 있다. 한 구체예에서, 경쇄와 중쇄 가변 영역은 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 더욱 포함한다.

[0154] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 도메인은 아래에 더욱 논의된 바와 같이, 하나 이상의 C 말단 잔기 예컨대 하나 이상의 C 말단 알라닌 잔기, 또는 CH1 도메인의 N 말단으로부터 하나 이상의 잔기에 의해 확장될 수 있다.

[0155] **C. DOTAM에 대한 예시적인 항원 결합 부위**

[0156] 본원 발명의 다른 특정한 구체예에서, 상기 항체는 Pb-DOTAM 킬레이트 (Pb-DOTAM)에 대한 기능적 결합 부위를 포함하거나, 또는 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 연결되어 Pb-DOTAM 킬레이트 (Pb-DOTAM)에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성한다.

[0157] 예시적인 항원 결합 부위는 WO2019/201959에서 설명되는데, 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다.

[0158] 일정한 구체예에서, Pb-DOTAM에 결합하는 기능적 항원 결합 부위는 아래의 특성 중에서 한 가지 이상을 가질 수 있다:

[0159] · Pb-DOTAM 및 Bi-DOTAM에 특이적으로 결합한다;

[0160] · 다른 킬레이트화된 금속, 예컨대 Cu-DOTAM과 비교하여 Pb-DOTAM (및 임의적으로 Bi-DOTAM)에 대해 선택적이다;

[0161] · 매우 높은 친화성으로 Pb-DOTAM에 결합한다;

[0162] · Pb-DOTAM 상에서 WO2019/201959에서 설명된 항체 예를 들면, PRIT-0213 또는 PRIT-0214와 동일한 에피토프에 결합하고 및/또는 상기 항체와 동일한 접촉 잔기를 갖는다.

[0163] Pb의 방사성동위원소는 치료의 방법에서 유용하다. 본원 발명에서 이용될 수 있는 납의 특정 방사성동위원소는 ^{212}Pb를 포함한다.

[0164] α-입자 방출체인 방사성 핵종은 짧은 경로 길이 및 높은 선형 에너지 전달의 조합으로 인해 β-방출체보다, 주변 조직에 대한 더 적은 손상과 함께 더 특이적인 종양 세포 사멸에 대한 잠재력을 갖는다. ^{212}Bi는 α-입자 방출체이지만, 이의 짧은 반감기가 이의 직접적인 이용을 어렵게 만든다. ^{212}Pb는 ^{212}Bi의 부모 방사성 핵종이고, 그리고 ^{212}Bi의 생체내 발생기로서 역할하여, ^{212}Bi의 짧은 반감기를 효과적으로 극복할 수 있다 (Yong and Brechbiel, Dalton Trans. 2001 June 21; 40(23)6068-6076).

[0165] 일반적으로, 방사선금속은 킬레이트화된 형태로 이용된다. 본원 발명의 일정한 양상에서, DOTAM이 킬레이트화제

로서 이용된다. DOTAM은 Pb(II)의 안정된 킬레이터이다 (Yong and Brechbiel, Dalton Trans. 2001 June 21; 40(23)6068-6076; Chappell et al Nuclear Medicine and Biology, Vol. 27, pp. 93-100, 2000). 따라서, DOTAM은 상기 논의된 바와 같은 납의 동위원소, 예컨대 ^{212}Pb와 병용하는 데 특히 유용하다.

[0166] 일부 구체예에서, 이들 항체는 100pM, 50pM, 20pM, 10pM, 5pM, 1pM 또는 그 미만, 예를 들면, 0.9pM 또는 그 미만, 0.8pM 또는 그 미만, 0.7pM 또는 그 미만, 0.6pM 또는 그 미만, 또는 0.5pM 또는 그 미만의 결합 친화성의 K_D 값으로 Pb-DOTAM에 결합하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들면, 기능적 결합 부위는 약 1pM-1nM, 예를 들면, 약 1-10 pM, 1-100pM, 5-50 pM, 100-500 pM 또는 500pM-1 nM의 K_D로 방사성-표지화된 화합물에 결합할 수 있다.

[0167] 일정한 구체예에서, 이들 항체는 DOTAM에 의해 킬레이트화된 Bi에 추가적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 이들 항체는 1nM, 500pM, 200pM, 100pM, 50pM, 10pM 또는 그 미만, 예를 들면, 9pM, 8pM, 7pM, 6pM, 5pM 또는 그 미만의 결합 친화성의 K_D 값으로 Bi-DOTAM (다시 말하면, 본원에서 "Bi-DOTAM 킬레이트"로 또한 명명되는, 비스무트와 복합화된 DOTAM을 포함하는 킬레이트)에 결합하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들면, 기능적 결합 부위는 약 1pM-1nM, 예를 들면, 약 1-10 pM, 1-100pM, 5-50 pM, 100-500 pM 또는 500pM-1 nM의 K_D로 금속 킬레이트에 결합할 수 있다.

[0168] 일부 구체예에서, 이들 항체는 유사한 친화성으로 Bi-DOTAM 및 Pb-DOTAM에 결합할 수 있다. 예를 들면, Bi-DOTAM/Pb-DOTAM에 대한 친화성의 비율, 예를 들면, K_D 값의 비율은 0.1-10, 예를 들면 1-10의 범위 안에 있는 것이 바람직할 수 있다.

[0169] 한 구체예에서, Pb-DOTAM에 대한 항원 결합 부위의 중쇄 가변 영역 형성 부분 (예를 들면, 분할 항체의 경우에 첫 번째 헤미바디 상에서)은 (a) GFSLSTYSMS (서열 번호: 1)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) FIGSRGDTYYASWAKG (서열 번호: 2)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) ERDPYGGGAYPPHL (서열 번호: 3)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 2개 또는 3개 모두의 CDR을 포함할 수 있다. Pb-DOTAM에 대한 결합 부위의 경쇄 가변 영역 형성 부분 (예를 들면, 분할 항체의 경우에 두 번째 헤미바디 상에서)은 (d) QSSHSVYSDNDLA (서열 번호: 4)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) QASKLAS (서열 번호: 5)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) LGGYDDESDTYG (서열 번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 2개 또는 3개 모두의 CDR을 포함할 수 있다.

[0170] 일부 구체예에서, 이들 항체는 각각, 서열 번호: 1-6의 아미노산 서열과 비교하여 치환, 예를 들면, 1, 2 또는 3개의 치환을 갖는 CDR-H1, CDR-H2 및/또는 CDR-H3 중에서 하나 이상, 또는 CDR-L1, CDR-L2 및/또는 CDR-L3 중에서 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0171] 일부 구체예에서, 항체는 본원에서 설명된 바와 동일한 접촉 잔기를 공유할 수 있다: 예를 들면, 이들 잔기는 불변할 수 있다. 이들 잔기는 다음을 포함할 수 있다:

[0172] a) 중쇄 CDR2에서: Phe50, Asp56 및/또는 Tyr58, 그리고 임의적으로 또한 Gly52 및/또는 Arg 54;

[0173] b) 중쇄 CDR3에서: Glu95, Arg96, Asp97, Pro98, Tyr99, Ala100C 및/또는 Tyr100D, 그리고 임의적으로 또한 Pro100E;

[0174] c) 경쇄 CDR1에서: Tyr28 및/또는 Asp32;

[0175] d) 경쇄 CDR3에서: Gly91, Tyr92, Asp93, Thr95c 및/또는 Tyr96;

[0176] e) 경쇄 CDR2에서: 임의적으로 Gln50;

[0177] 이들 모두 Kabat에 따라서 넘버링됨.

[0178] 예를 들면, 일부 구체예에서, CDR-H2는 아미노산 서열 FIGSRGDTYYASWAKG (서열 번호: 2), 또는 서열 번호: 2에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함할 수 있는데, 여기서 이들 치환은 Phe50, Asp56 및/또는 Tyr58을 포함하지 않고, 그리고 임의적으로 또한 Gly52 및/또는 Arg 54를 포함하지 않는다 (이들 모두 Kabat에 따라서 넘버링됨).

[0179] 일부 구체예에서, CDR-H2는 아래에 도시된 바와 같은 하나 이상의 위치에서 치환될 수 있다. 여기에서 및 하기의 치환 표에서, 치환은 생식계열 잔기 (밑줄 표시됨)에 기초되거나, 또는 이론적으로 입체적으로 적합되고 그

리고 또한 부위에서 결정화된 레퍼토리로 발생하는 아미노산에 의한다. 일부 구체예에서, 앞서 언급된 바와 같은 잔기는 고정될 수 있고, 그리고 다른 잔기는 아래의 표에 따라서 치환될 수 있다: 다른 구체예에서, 임의의 잔기의 치환이 아래의 표에 따라서 만들어질 수 있다.

WolfGuy	Kabat	AA	치환
251	50	F	Y, H
252	51	I	
253	52	G	
254	53	S	A, G, T, I, N
288	54	R	A, D, G, N, S, T, F, Y
289	55	G	D, S, Y, T, A, N, R, V
290	56	D	
291	57	T	K, I, A, P, S
292	58	Y	F, W, H
293	59	Y	N, F, H, L, S
294	60	A	G, N, S, T
295	61	S	A, G, N, Q, T
296	62	W	K, P, S, A, T, D, N, R, Q
297	63	A	F, L, V, M, I
298	64	K	N, Q, R, E
299	65	G	S, T, D, N, A

[0180]

[0181] 임의적으로, CDR-H3은 아미노산 서열 ERDPYGGGAYPPHL (서열 번호: 3), 또는 서열 번호: 3에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함할 수 있는데, 여기서 이들 치환은 Glu95, Arg96, Asp97, Pro98을 포함하지 않고, 그리고 임의적으로 또한 Ala100C, Tyr100D 및/또는 Pro100E를 포함하지 않고/않거나 임의적으로 또한 Tyr99를 포함하지 않는다. 예를 들면, 일부 구체예에서 치환은 Glu95, Arg96, Asp97, Pro98, Tyr99 Ala100C 및 Tyr100D를 포함하지 않는다.

[0182] 일정한 구체예에서, CDR-H3은 아래에 도시된 바와 같은 하나 이상의 위치에서 치환될 수 있다. 일부 구체예에서, 앞서 언급된 바와 같은 잔기는 고정될 수 있고, 그리고 다른 잔기는 아래의 표에 따라서 치환될 수 있다: 다른 구체예에서, 임의의 잔기의 치환이 아래의 표에 따라서 만들어질 수 있다.

WolfGuy	Kabat	AA	치환
351	95	E	
352	96	R	K, E
353	97	D	
354	98	P	
355	99	Y	F, G, S, T, D
356	100	G	
392	100A	G	
393	100B	G	
394	100C	A	S, T
395	100D	Y	F
396	100E	P	
397	100F	P	
398	101	H	A, T, V, D
399	102	L	Y, V, I, H, F

[0183]

[0184] 임의적으로, CDR-L1은 아미노산 서열 QSSHSVYSDNDLA (서열 번호: 4), 또는 서열 번호: 4에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함할 수 있는데, 여기서 이들 치환은 Tyr28 및/또는 Asp32 (Kabat 넘버링)를 포함하지 않는다.

[0185] 일정한 구체예에서, CDR-L1은 아래에 도시된 바와 같은 하나 이상의 위치에서 치환될 수 있다. 다시 한 번, 일부 구체예에서, 앞서 언급된 바와 같은 잔기는 고정될 수 있고, 그리고 다른 잔기는 아래의 표에 따라서 치환될 수 있다: 다른 구체예에서, 임의의 잔기의 치환이 아래의 표에 따라서 만들어질 수 있다.

WolfGuy	Kabat	AA	치환
551	24	Q	R, K
552	25	S	A, G
554	26	S	T
555	27	H	Q, S, R, K
556	27A	S	Q
557	27B	V	I, D, N
561	28	Y	F
562	29	S	T, V
571	30	D	R, S, N, G
572	31	N	K
597	32	D	
598	33	L	I, V, M
599	34	A	S

[0186]

[0187] 임의적으로, CDR-L3은 아미노산 서열 LGGYDDESDTYG (서열 번호: 6), 또는 서열 번호: 6에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함할 수 있고, 여기서 이들 치환은 Gly91, Tyr92, Asp93, Thr95c 및/또는 Tyr96 (Kabat)을 포함하지 않는다.

[0188] 일정한 구체예에서, CDR-L3은 아래에 도시된 바와 같은 아래의 위치에서 치환될 수 있다. (대부분의 잔기가 용매 노출되고 항원 접촉이 없기 때문에, 많은 치환이 상상될 수 있다). 다시 한 번, 일부 구체예에서, 앞서 언급된 바와 같은 잔기는 고정될 수 있고, 그리고 다른 잔기는 아래의 표에 따라서 치환될 수 있다: 다른 구체예에서, 임의의 잔기의 치환이 아래의 표에 따라서 만들어질 수 있다.

WolfGuy	Kabat	AA	치환
751	89	L	A, V, Q
752	90	G	A
753	91	G	
754	92	Y	A, D, E, F, G, H, I, K, L, N, Q, R, S, T, V
755	93	D	A, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y
756	94	D	A, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y
794	95	E	A, D, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y
795	95A	S	A, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W, Y
796	95B	D	A, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T, V, W, Y
797	95C	T	S
798	96	Y	F, H, R
799	97	G	A, E, I, K, L, M, N, Q, S, T, V

[0189]

[0190] 이들 항체는 각각 서열 번호: 1 또는 서열 번호: 5의 서열을 임의적으로 갖는 CDR-H1 또는 CDR-L2, 또는 거기에 상대적인 적어도 1개, 2개 또는 3개의 치환, 임의적으로 보존성 치환을 갖는 이의 변이체를 더욱 포함할 수 있다.

[0191] 따라서, Pb-DOTAM에 대한 항원 결합 부위의 중쇄 가변 도메인 형성 부분은 적어도:

[0192] a) 중쇄 CDR2로서, 아미노산 서열 FIGSRGDTYYASWAKG (서열 번호: 2), 또는 서열 번호: 2에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함하되, 이들 치환이 Phe50, Asp56 및/또는 Tyr58을 포함하지 않고, 그리고 임의적으로 또한 Gly52 및/또는 Arg54를 포함하지 않는 중쇄 CDR2;

[0193] b) 중쇄 CDR3으로서, 아미노산 서열 ERDPYGGGAYPPHL (서열 번호: 3), 또는 서열 번호: 3에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함하되, 이들 치환이 Glu95, Arg96, Asp97, Pro98을 포함하지 않고, 그리고 임의적으로 또한 Ala100C, Tyr100D 및/또는 Pro100E를 포함하지 않고/않거나 임의적으로 또한 Tyr99를 포함하지 않는 중쇄 CDR3을 포함할 수 있다.

[0194] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 도메인은 중쇄 CDR1로서, 임의적으로:

[0195] c) 아미노산 서열 GFSLSTYSMS (서열 번호: 1), 또는 서열 번호: 1에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 CDR1을 추가적으로 포함한다.

[0196] 일부 구체예에서, 중쇄 가변 도메인은 자유 VH 영역을 인식하는 기존 항체의 결합을 방지하기 위한 C 말단 알라닌 (예를 들면 Kabat 넘버링 시스템에 따른 Ala114)을 추가적으로 포함한다. Holland MC *et al* J.Clin Immunol (2013)에서 보고된 바와 같이, 자유 C 말단은 VH 도메인 항체에 대한 HAVH (인간 항-VH 도메인) 자가항체의 결합에 중요한 것으로 보이는데, 그 이유는 HAVH 자가항체가 동일한 VH 프레임워크 서열을 내포하는 무손상 IgG 또는 IgG 단편 (fAb 또는 변형된 VH 분자)에, 또는 VK 도메인 항체에 결합하지 않기 때문이다. Cordy JC *et al* Clinical and Experimental Immunology (2015)는 완전 IgG 분자에서 HAVH 항체에 자연적인 접근이 허용되지 않는, VH dAb의 C 말단 에피토프에서 숨겨진 에피토프의 존재에 주목한다.

[0197] 따라서, 항체가 자유 VH 영역 (자체의 C 말단에서 임의의 다른 도메인에 융합되지 않음)을 포함하는 경우에, 서열은 하나 이상의 C 말단 잔기에 의해 연장될 수 있다. 이러한 연장은 자유 VH 영역을 인식하는 항체의 결합을 예방할 수 있다. 예를 들면, 연장은 1-10개의 잔기, 예를 들면, 1,2,3,4,5,6,7,8,9 또는 10개의 잔기에 의할 수 있다. 한 구체예에서, VH 서열은 하나 이상의 C 말단 알라닌 잔기에 의해 연장될 수 있다. VH 서열은 또한, CH1 도메인의 N 말단 부분에 의해, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기에 의해 연장될 수 있다. (인간 IgG1 CH1 도메인의 첫 10개의 잔기는 ASTKGPSVFP (서열 번호: 149)이고, 그리고 이에 따른 한 구체예에서, 1-10개의 잔기가 이러한 서열의 N 말단으로부터 취해질 수 있다). 예를 들면, 한 구체예에서, 펩티드 서열 AST (IgG1 CH1 도메인의 첫 3개의 잔기에 상응함)가 VH 영역의 C 말단에 부가된다.

[0198] 다른 구체예에서, Pb-DOTAM에 대한 항원 결합 부위의 경쇄 가변 도메인 형성 부분은 적어도:

[0199] d) 경쇄 CDR1로서, 아미노산 서열 QSSHSVYSDNDLA (서열 번호: 4), 또는 서열 번호: 4에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함하되, 이들 치환이 Tyr28 및 Asp32를 포함하지 않는 경쇄 CDR1;

[0200] e) 경쇄 CDR3으로서, 아미노산 서열 LGGYDDESDTYG (서열 번호: 6), 또는 서열 번호: 6에서 1개, 2개 또는 3개까지의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함하되, 이들 치환이 Gly91, Tyr92, Asp93, Thr95c 및 Tyr96을 포함하지 않는 경쇄 CDR3을 포함한다.

[0201] 일부 구체예에서, 경쇄 가변 도메인은 경쇄 CDR2로서, 임의적으로:

[0202] f) 아미노산 서열 QASKLAS (서열 번호: 5), 또는 Gln50을 임의적으로 포함하지 않는, 서열 번호: 5에서 적어도 1개, 2개 또는 3개의 치환을 갖는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 CDR2를 추가적으로 포함한다.

[0203] 상기 명시된 바와 같은 (예를 들면, 가변 도메인의) CDR을 포함하는 서열의 변이체를 포함하는, 본원 발명의 임의의 구체예에서, 단백질은 상기 명시된 바와 같은 CDR 잔기 중 하나 이상에서 불변할 수 있다.

[0204] 임의적으로, Pb-DOTAM에 대한 기능적 항원 결합 부위의 중쇄 가변 도메인 형성 부분 (예를 들면, 분할 항체의 경우에 첫 번째 헤미바디 상에서)은 서열 번호: 7 및 서열 번호 9, 또는 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 9에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이의 변이체로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. (괄호 안에 표시된, 이들 참조 서열에서 N 말단 아미노산은 존재하거나 또는 부재할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서 임의의 변이체 서열에서 유지될 수 있다). 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 결합 부위는 바람직하게는 본원에서 설명된 바와 같은 친화성으로 Pb-DOTAM에 결합하는 능력을 유지한다. VH 서열은 상기 명시된 바와 같은 불변 잔기를 유지할 수 있다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 7 또는 서열 번호 9에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, 상기 항체는 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 9 (괄호 안에 표시된 N 말단 잔기와 함께 또는 이것 없이)에서 VH 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VH는 (a) 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 그리고 (c) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0205] 일부 구체예에서, 앞서 언급된 바와 같이, 일부 변이체에서 서열 번호: 7 또는 9는 하나 이상의 추가 C 말단 잔

기에 의해, 예를 들면, 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기에 의해 연장될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 한 가지 특정한 변이체에서, 서열 번호: 7의 서열은

[0206] VTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYG GGAYPPHLWGRGTLVTVSSA이도록 연장될 수 있다.

[0207] 다른 구체예에서, 이러한 연장은 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분에 의해, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기에 의할 수 있다. 예를 들면, 연장은 펩티드 서열 AST에 의할 수 있다.

[0208] 임의적으로, Pb-DOTAM에 대한 기능적 항원 결합 부위의 경쇄 가변 도메인 형성 부분 (예를 들면, 분할 항체의 경우에 두 번째 헤미바디 상에서)은 서열 번호: 8의 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 8에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이의 변이체를 포함한다. (괄호 안에 표시된, 이러한 참조 서열에서 N 말단 아미노산은 존재하거나 또는 부재할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서 임의의 변이체 서열에서 유지될 수 있다). 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-Pb-DOTAM 결합 부위는 바람직하게는 본원에서 설명된 바와 같은 친화성으로 Pb-DOTAM에 결합하는 능력을 유지한다. VL 서열은 상기 명시된 바와 같은 불변 잔기를 유지할 수 있다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 8에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, 항-Pb-DOTAM 항체는 서열 번호: 8 (괄호 안에 표시된 N 말단 잔기와 함께 또는 이것 없이)에서 VL 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VL은 (a) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0209] 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역에 관련된 구체예는 명시적으로 조합으로 예기된다. 따라서, Pb-DOTAM에 대한 기능적 항원 결합 부위는 앞서 규정된 바와 같은 중쇄 가변 영역 및 앞서 규정된 바와 같은 경쇄 가변 영역으로부터 형성될 수 있다. 분할 항체의 경우에, 이들은 각각, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 상에 있을 수 있다.

[0210] 임의적으로, Pb-DOTAM 킬레이트에 대해 특이적인 항원 결합 부위는 서열 번호: 7 또는 서열 번호: 9 (괄호 안에 표시된 N 말단 잔기와 함께 또는 이것 없이)로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열, 또는 앞서 규정된 바와 같은 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 도메인, 그리고 서열 번호: 8 (괄호 안에 표시된 N 말단 잔기와 함께 또는 이것 없이)의 아미노산 서열, 또는 앞서 규정된 바와 같은 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 도메인으로부터 형성될 수 있다. 예를 들면, Pb-DOTAM 킬레이트에 대해 특이적인 항원 결합 부위는 서열 번호: 7의 아미노산 서열 또는 이의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 도메인, 그리고 서열 번호: 8의 아미노산 서열 또는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 도메인 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함할 수 있다. 다른 구체예에서, 이것은 서열 번호: 9의 아미노산 서열 또는 이의 변이체 (상기 논의된 바와 같은 C 말단 연장을 갖는 변이체 포함)를 포함하는 중쇄 가변 도메인, 그리고 서열 번호: 8의 아미노산 서열 또는 이의 변이체를 포함하는 경쇄 가변 도메인 (이들 서열의 번역후 변형)을 포함할 수 있다.

[0211] 임의의 상기 구체예에서, 항-Pb-DOTAM 결합 부위를 형성하는 경쇄와 중쇄 가변 영역은 인간화될 수 있다. 한 구체예에서, 경쇄와 중쇄 가변 영역은 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 더욱 포함한다. 다른 구체예에서, 경쇄 및/또는 중쇄 가변 영역은 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 vk 1 39 및/또는 vh 2 26으로부터 유래된 프레임워크 영역을 더욱 포함한다. vk 1 39의 경우에, 일부 구체예에서 복귀돌연변이가 없을 수 있다. vh 2 26의 경우에, 생식계열 Ala49 잔기가 Gly49로 복귀돌연변될 수 있다.

[0212] **D. 표적 항원**

[0213] 병용 요법에서 이용된 다중특이적 항체 (또는 분할 다중특이적 항체)는 표적 항원에 결합한다. 이것은 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원이다. 이것은 "표적 세포 항원"으로서 또한 지칭될 수 있다.

[0214] 치료는 바람직하게는 종양 또는 암의 치료이다.

[0215] 표적 항원은 예를 들면, 종양 관련 항원일 수 있다.

[0216] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "종양 관련 항원" 또는 "종양 특이적 항원"은 항원이 종양(들) 및/또는

암(들)과 연관되도록, 종양 세포 및/또는 암 세포에 의해, 또는 종양의 간질의 다른 세포 예컨대 암 관련 섬유모세포에 의해 단독적으로 또는 지배적으로 발현되거나 또는 과다발현되는 임의의 분자 (예를 들면, 단백질, 펩티드, 지질, 탄수화물 등)를 지칭한다. 종양 관련 항원은 정상적인, 비종양, 또는 비암성 세포에 의해 추가적으로 발현될 수 있다. 하지만, 이런 사례에서, 정상적인, 비종양, 또는 비암성 세포에 의한 종양 관련 항원의 발현은 종양 또는 암 세포에 의한 발현만큼 견실하지 않다. 이점에 관하여, 종양 또는 암 세포는 항원을 과다발현할 수 있거나, 또는 정상적인, 비종양, 또는 비암성 세포에 의한 항원의 발현과 비교하여, 훨씬 높은 수준으로 항원을 발현한다. 또한, 종양 관련 항원은 발달 또는 성숙의 상이한 상태의 세포에 의해 추가적으로 발현될 수 있다. 예를 들면, 종양 관련 항원은 배아 또는 태아 시기의 세포에 의해 추가적으로 발현될 수 있는데, 이들 세포는 정상적으로는 성체 숙주에서 발견되지 않는다. 대안으로, 종양 관련 항원은 줄기 세포 또는 전구체 세포에 의해 추가적으로 발현될 수 있는데, 이들 세포는 정상적으로는 성체 숙주에서 발견되지 않는다.

[0217] 종양 관련 항원은 본원에서 설명된 암 및 종양을 비롯한, 임의의 암 또는 종양의 임의의 세포에 의해 발현된 항원일 수 있다. 종양 관련 항원은 이러한 종양 관련 항원이 단지 한 가지 유형의 암 또는 종양과 연관되거나 또는 이것에 특유하도록, 단지 한 가지 유형의 암 또는 종양의 종양 관련 항원일 수 있다. 대안으로, 종양 관련 항원은 한 가지 초과 유형의 암 또는 종양의 종양 관련 항원일 수 있다 (예를 들면, 이것에 특유할 수 있다). 예를 들면, 종양 관련 항원은 유방암 및 전립선암 세포 둘 모두에 의해 발현될 수 있고, 그리고 정상적인, 비종양, 또는 비암성 세포에 의해 전혀 발현되지 않는다.

[0218] 본원 발명의 항체가 결합할 수 있는 예시적인 종양 관련 항원은 흑색종 관련 콘드로이틴 황산염 프로테오글리칸 (MCSP), 점액소 1 (MUC1; 종양 관련 상피 점액소), 흑색종의 우선적으로 발현된 항원 (PRAME), 암배아 항원 (CEA), 전립선 특이적 막 항원 (PSMA), PSCA, EpCAM, Trop2 (EGP-1로서 또한 알려져 있는 영양모세포-2), 과립구 대식세포 집락 자극 인자 수용체 (GM-CSFR), CD56, 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (HER2/neu) (erbB-2로서 또한 알려져 있음), CDS, CD7, 티로시나아제 관련된 단백질 (TRP) I, 그리고 TRP2를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 다른 구체예에서, 종양 항원은 분화 클러스터 (CD) 19, CD20, CD21, CD22, CD25, CD30, CD33 (시알산 결합 Ig 유사 렉틴 3, 골수 세포 표면 항원), CD79b, CD123 (인터류킨 3 수용체 알파), 트랜스페린 수용체, EGF 수용체, 메소텔린, 카드헤린, Lewis Y, 글리피칸-3, FAP (섬유모세포 활성화 단백질 알파), GPRC5D (G 단백질 연계 수용체 부류 C 그룹 5 구성원 D), PSMA (전립선 특이적 막 항원), CA9 = CAIX (탄산 탈수효소 IX), L1 CAM (신경 세포 부착 분자 L 1), 엔도시알린, HER3 (표피 성장 인자 수용체 패밀리 구성원 3의 활성화된 입체형태), Alk1/BMP9 복합체 (역형성 림프종 키나아제 1/뼈 형성 단백질 9), TPBG = 5T4 (영양모세포 당단백질), ROR1 (수용체 티로신 키나아제 유사 표면 항원), HER1 (표피 성장 인자 수용체의 활성화된 입체형태), 그리고 CLL1 (C-유형 렉틴 도메인 패밀리 12, 구성원 A)로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 메소텔린은 예를 들면, 난소암, 중피종, 비소세포 폐암, 폐 선암종, 난관암, 두경부암, 자궁경부암, 그리고 췌장암에서 발현된다. CD22는 예를 들면, 모발상 세포 백혈병, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 전림프구성 백혈병 (PLL), 비호지킨 림프종, 소형 림프성 림프종 (SLL), 그리고 급성 림프성 백혈병 (ALL)에서 발현된다. CD25는 예를 들면, 모발상 세포 백혈병 및 호지킨 림프종을 비롯한, 백혈병 및 림프종에서 발현된다. Lewis Y 항원은 예를 들면, 방광암, 유방암, 난소암, 결장직장암, 식도암, 위암, 폐암 및 췌장암에서 발현된다. CD33은 예를 들면, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수단구성 백혈병 (CML), 그리고 골수증식성 장애에서 발현된다.

[0219] 종양 관련 항원에 특이적으로 결합하는 예시적인 항체는 트랜스페린 수용체에 대한 항체 (예를 들면, HB21 및 이의 변이체), CD22에 대한 항체 (예를 들면, RFB4 및 이의 변이체), CD25에 대한 항체 (예를 들면, 항-Tac 및 이의 변이체), 메소텔린에 대한 항체 (예를 들면, SS 1, MORAb-009, SS, HN1, HN2, MN, MB 및 이들의 변이체), 그리고 Lewis Y 항원에 대한 항체 (예를 들면, B3 및 이의 변이체)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 이점에 관하여, 표적화 모이어티 (세포 결합 작용제)는 B3, RFB4, SS, SS1, MN, MB, HN1, HN2, HB21 및 MORAb-009, 그리고 이들의 항원 결합 부분으로 구성된 군에서 선택되는 항체일 수 있다. 본원 발명의 키메라 분자에 이용하기 적합한 다른 예시적인 표적화 모이어티는 예를 들면 U.S. 특허 5,242,824 (항-트랜스페린 수용체); 5,846,535 (항-CD25); 5,889,157 (항-Lewis Y); 5,981,726 (항-Lewis Y); 5,990,296 (항-Lewis Y); 7,081,518 (항-메소텔린); 7,355,012 (항-CD22 및 항-CD25); 7,368,110 (항-메소텔린); 7,470,775 (항-CD30); 7,521,054 (항-CD25); 및 7,541,034 (항-CD22); U.S. 특허 출원 공보 2007/0189962 (항-CD22); Frankel et al., Clin. Cancer Res., 6: 326-334 (2000), 그리고 Kreitman et al., AAPS Journal, 8(3): E532-E551 (2006)에서 개시되고, 이들은 각각 본원에서 참조로서 편입된다.

[0220] 크립토, CD30, CD19, CD33, 당단백질 NMB, CanAg, Her2 (ErbB2/Neu), CD56 (NCAM), CD22 (Siglec2), CD33 (Siglec3), CD79, CD138, PSCA, PSMA (전립선 특이적 막 항원), BCMA, CD20, CD70, E-셀렉틴, EphB2, 멜라노트

랜스페린, Muc16 및 TMEFF2를 비롯한, 표적 특이적 종양 관련 항원에 대해 추가의 항체가 조성되었다. 이들, 또는 이들의 항원 결합 단편 중 임의의 것이 본원 발명에서 유용할 수 있다, 다시 말하면, 본원에서 설명된 항체 내로 통합될 수 있다.

[0221] 본원 발명의 일부 구체예에서, 종양 관련 항원은 암배아 항원 (CEA)인 것이 바람직할 수 있다.

[0222] CEA는 이것이 상대적으로 느리게 내재화되고, 따라서 높은 백분율의 항체가 초기 치료 후, 방사성 핵종에 결합에 대해 세포의 표면 상에서 여전히 가용할 것이기 때문에, 본원 발명의 맥락에서 유리하다. 다른 낮은 내재화 표적/종양 관련 항원 역시 바람직할 수 있다. 종양 관련 항원의 다른 실례는 CD20 또는 HER2를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 표적은 EGP-1 (영양모세포-2로서 또한 알려져 있는 상피 당단백질-1), 결장 특이적 항원-p (CSAp) 또는 췌장 점액소 MUC1일 수 있다. 예를 들면 Goldenberg et al 2012 (Theranostics 2(5))를 참조하는데, 이것은 본원에서 참조로서 편입된다. 상기 참고문헌은 또한, CSAp에 결합하는 Mu-9 (Sharkey et al Cancer Res. 2003; 63: 354-63을 또한 참조한다), MUC1에 결합하는 hPAM4 (Gold et al Cancer Res. 2008: 68: 4819-26을 또한 참조한다), CD20에 결합하는 발투주맙 (Sharkey et al Cancer Res. 2008; 68: 5282-90을 또한 참조한다) 및 EGP-1에 결합하는 hRS7 (Cubas et al Biochim Biophys Acta 2009; 1796: 309-14를 또한 참조한다)과 같은 항체를 설명한다. 이들, 또는 이들의 항원 결합 부분 중 임의의 것이 본원 발명에서 유용할 수 있다, 다시 말하면, 본원에서 설명된 항체 내로 통합될 수 있다. CEA에 대해 조성된 항체의 한 가지 실례는 T84.66 (중쇄의 경우에 NCBI Acc No: CAA36980 및 경쇄의 경우에 CAA36979에서 도시된 바와 같음, 또는 WO2016/075278의 서열 번호 317 및 318에서 도시된 바와 같음), 그리고 이의 인간화 및 키메라 버전, 예컨대 WO2016/075278 A1 및/또는 WO2017/055389에서 설명된 바와 같은 T84.66-LCHA이다. 다른 실례는 WO2012/117002 및 WO2014/131712에서 설명된 바와 같은 항-CEA 항체인 CH1A1a, 그리고 CEA hMN-14 (US 6 676 924 및 US 5 874 540을 또한 참조한다)이다. 다른 항-CEA 항체는 M.J. Banfield et al, Proteins 1997, 29(2), 161-171에서 설명된 바와 같은 A5B7이다. 뮤린 항체 A5B7로부터 유래된 인간화 항체는 WO 92/01059 및 WO 2007/071422에서 개시되었다. 공동계류중인 출원 PCT/EP2020/067582를 또한 참조한다. A5B7의 인간화 버전의 실례는 A5H1EL1(G54A)이다. CEA에 대한 다른 예시적인 항체는 US7626011 및/또는 공동계류중인 출원 PCT/EP2020/067582에서 설명된 MFE23 및 이의 인간화 버전이다. CEA에 대한 항체의 또 다른 실례는 28A9이다. 이들, 또는 이들의 항원 결합 단편 중 임의의 것이 본원 발명에서 CEA 결합 모이어티를 형성하는 데 유용할 수 있다.

[0223] 일부 구체예에서, 본원 발명의 항체는 표적 항원 (예를 들면, 본원에서 논의된 임의의 표적 항원)에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 이들은 ≤ 1μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면 10^{-7}M 이하, 예를 들면 10^{-7} 내지 10^{-13}, 10^{-8} M 이하, 예를 들면 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)로 결합할 수 있다.

[0224] **E. CEA에 대한 예시적인 항원 결합 부위**

[0225] 상기 논의된 구체예, 예를 들면, 방사성-표지화된 화합물 및 DOTA/DOTAM에 대한 예시적인 결합 부위와 조합될 수 있는, 본원 발명의 특정한 구체예에서, 다중특이적 항체에 의해 또는 분할 다중특이적 항체의 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디에 의해 결합된 표적 항원은 CEA (암배아 항원)일 수 있다. CEA에 대해 조성된 항체는 T84.66 및 이의 인간화와 키메라 버전, 예컨대 WO2016/075278 A1 및/또는 WO2017/055389에서 설명된 바와 같은 T84.66-LCHA, CH1A1a (WO2012/117002 및 WO2014/131712에서 설명된 바와 같은 항-CEA 항체), 그리고 CEA hMN-14 또는 라베투주맙 (예를 들면 US 6 676 924 및 US 5 874 540에서 설명된 바와 같음)을 포함한다. CEA에 대한 다른 예시적인 항체는 A5B7 (예를 들면 M.J. Banfield et al, Proteins 1997, 29(2), 161-171에서 설명된 바와 같음), 또는 WO 92/01059 및 WO 2007/071422에서 설명된 바와 같이 뮤린 A5B7로부터 유래된 인간화 항체이다. 공동계류중인 출원 PCT/EP2020/067582를 또한 참조한다. A5B7의 인간화 버전의 실례는 A5H1EL1(G54A)이다. CEA에 대한 다른 예시적인 항체는 MFE23 및 US 7 626 011 및/또는 공동계류중인 출원 PCT/EP2020/067582에서 설명된 이의 인간화 버전이다. 항-CEA 항체의 또 다른 실례는 28A9이다. 이들, 또는 이들의 항원 결합 단편 중 임의의 것이 본원 발명에서 CEA 결합 모이어티를 형성하는 데 이용될 수 있다.

[0226] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 모이어티는 일가 결합에 대해 1nM 이하, 500pM 이하, 200pM 이하, 또는 100pM 이하의 K_D 값으로 결합할 수 있다.

[0227] 일부 구체예에서, 다중특이적 항체, 또는 분할 다중특이적 항체의 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 CEA의 CH1A1a 에피토프, A5B7 에피토프, MFE23 에피토프, T84.66 에피토프 또는 28A9 에피토프에 결합할 수 있다.

[0228] 일부 구체예에서, 다중특이적 항체, 또는 분할 다중특이적 항체의 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 가용성 CEA (sCEA) 상에 존재하지 않는 CEA 에피토프에 결합한다. 가용성 CEA는 GPI 포스포리파아제에 의해 개열되고 혈액 내로 방출되는 CEA 분자의 일부이다. 가용성 CEA에서 발견되지 않는 에피토프의 실례는 CH1A1A 에피토프이다. 임의적으로, 분할 항체의 경우에, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디 중에서 하나는 가용성 CEA 상에 존재하지 않는 에피토프에 결합하고 다른 것은 가용성 CEA 상에 존재하는 에피토프에 결합한다.

[0229] CH1A1a 및 이의 부모 뮤린 항체 PR1A3에 대한 에피토프는 WO2012/117002A1 및 Durbin H. et al., Proc. Natl. Scad. Sci. USA, 91:4313-4317, 1994에서 설명된다. CH1A1a 에피토프에 결합하는 항체는 CEA 분자의 B3 도메인 및 GPI 앵커 내에 입체형태적 에피토프에 결합한다. 한 가지 양상에서, 상기 항체는 본원에서 서열 번호: 25의 VH 및 서열 번호 26의 VL을 갖는 CH1A1a 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. A5B7 에피토프는 공동계류중인 출원 PCT/EP2020/067582에서 설명된다. A5B7 에피토프에 결합하는 항체는 CEA의 A2 도메인, 다시 말하면, 서열 번호: 141의 아미노산을 포함하는 도메인에 결합한다:

[0230] PKPFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNDNRTLTLLSVTRNDVGP YECGIQNKLSVDHSDPVILN (서열 번호: 141).

[0231] 한 가지 양상에서, 상기 항체는 본원에서 서열 번호: 49의 VH 및 서열 번호: 50의 VL을 갖는 A5B7 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0232] 한 가지 양상에서, 상기 항체는 WO2016/075278에서 설명된 T84.66과 동일한 에피토프에 결합한다. 상기 항체는 본원에서 서열 번호: 17의 VH 및 서열 번호: 18의 VL을 갖는 항체와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0233] MFE23 에피토프는 공동계류중인 출원 PCT/EP2020/067582에서 설명된다. MFE23 에피토프에 결합하는 항체는 CEA의 A1 도메인, 다시 말하면, 서열 번호: 142의 아미노산을 포함하는 도메인에 결합한다:

[0234] PKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTAS YKCETQNPVSARRSDSVILN (서열 번호: 142).

[0235] 한 가지 양상에서, 상기 항체는 본원에서 서열 번호: 127의 VH 도메인 및 서열 번호: 128의 VL 도메인을 갖는 항체와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0236] 분할 다중특이적 항체의 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 서로 CEA의 동일한 에피토프에 결합한다. 따라서, 예를 들면, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 둘 모두 CH1A1a 에피토프, A5B7 에피토프, MFE23 에피토프, T84.66 에피토프 또는 28A9 에피토프에 결합할 수 있다.

[0237] 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 및/또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 A5B7 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 T84.66 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 MFE23 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 28A9 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있다. 예시적인 서열은 본원에서 개시된다.

[0238] 다른 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 CEA의 상이한 에피토프에 결합한다. 따라서, 예를 들면, i) 하나의 헤미바디는 CH1A1A 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 A5B7 에피토프, T84.66 에피토프, MFE23 에피토프 또는 28A9 에피토프에 결합할 수 있거나; ii) 하나의 헤미바디는 A5B7 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1A 에피토프, T84.66 에피토프, MFE23 에피토프 또는 28A9 에피토프에 결합할 수 있거나; iii) 하나의 헤미바디는 MFE23 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1A 에피토프, A5B7 에피토프, T84.66 에피토프 또는 28A9 에피토프에 결합할 수 있거나; iv) 하나의 헤미바디는 T84.66 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1A 에피토프, A5B7 에피토프, MFE23 에피토프 또는 28A9 에피토프에 결합할 수 있거나; 또는 v) 하나의 헤미바디는 28A9 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1a 에피토프, A5B7 에피토프, MFE23 에피토프, 또는 T84.66 에피토프에 결합할 수 있다.

[0239] 일부 구체예에서, i) 하나의 헤미바디는 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 A5B7 또는 이의 인간화 버전으로부터, T84.66 또는 이의 인간화 버전으로부터, MFE23 또는 이의 인간화 버전으로부터, 또는 28A9 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; ii) 하나의 헤미바디는 A5B7 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열

을 가질 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1A로부터, T84.66 또는 이의 인간화 버전으로부터, MFE23 또는 이의 인간화 버전으로부터, 또는 28A9 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; iii) 하나의 헤미바디는 MFE23 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1A로부터, A5B7 또는 이의 인간화 버전으로부터, T84.66 또는 이의 인간화 버전으로부터, 또는 28A9 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; iv) 하나의 헤미바디는 T84.66 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1A로부터, A5B7 또는 이의 인간화 버전으로부터, MFE23 또는 이의 인간화 버전으로부터, 또는 28A9 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; v) 하나의 헤미바디는 28A9 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 CH1A1A로부터, A5B7 또는 이의 인간화 버전으로부터, T84.66 또는 이의 인간화 버전으로부터, 또는 MFE23 또는 이의 인간화 버전으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있다.

[0240] 특정한 구체예에서, 하나의 헤미바디는 CH1A1A 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 A5B7 에피토프에 결합할 수 있다. 첫 번째 헤미바디는 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 A5B7 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째 헤미바디는 항체 A5B7 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있다.

[0241] 다른 특정한 구체예에서, 하나의 헤미바디는 CH1A1A 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 다른 헤미바디는 T84.66 에피토프에 결합할 수 있다. 첫 번째 헤미바디는 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 T84.66 (이의 인간화 버전 포함)으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째 헤미바디는 항체 T84.66 (이의 인간화 버전 포함)으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 T84.66 에피토프에 결합하고 및/또는 아래의 (i)에서 설명된 바와 같은 항원 결합 부위를 가질 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 CH1A1A 에피토프에 결합하고 및/또는 아래의 (ii)에서 설명된 바와 같은 항원 결합 부위를 가질 수 있다.

[0242] 예시적인 CEA 결합 서열 i)-v)이 아래에 개시된다. 이들은 i) T84.66, ii) CH1A1A, iii) A5B7, iv) 28A9 및 v) MFE23으로부터 (또는 이들의 인간화 버전으로부터) 유래된 CEA 결합 서열의 실례를 제공한다.

[0243] i). 한 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 CDR을 포함할 수 있다.

[0244] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (c) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함할 수 있다.

[0245] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함한다.

[0246] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) (i) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (iii) 서열 번호: 13에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 그리고 (b) (i) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (ii) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 (c) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0247] 다른 양상에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0248] 임의의 상기 구체예에서, 다중특이적 항체는 인간화될 수 있다. 한 구체예에서, 항-CEA 항원 결합 부위는 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 더욱 포함한다.

[0249] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 17의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 17에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 17에서 VH 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VH는 (a) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (c) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0250] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 18의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 18에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 대한 항원 결합 부위는 서열 번호: 18에서 VL 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VL은 (a) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0251] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VH, 그리고 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VL을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 항체는 서열 번호: 17 및 서열 번호: 18 각각에서 VH와 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0252] ii). 추가의 특정 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 CDR을 포함할 수 있다.

[0253] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (c) 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함할 수 있다.

[0254] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함한다.

[0255] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) (i) 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (iii) 서열 번호: 21에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 그리고 (b) (i) 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (ii) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 (c) 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0256] 다른 양상에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3;

(d) 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0257] 임의의 상기 구체예에서, 다중특이적 항체는 인간화될 수 있다. 한 구체예에서, 항-CEA 항원 결합 부위는 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 더욱 포함한다.

[0258] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 25의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 25에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 25에서 VH 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VH는 (a) 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (c) 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0259] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 26의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 26에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 대한 항원 결합 부위는 서열 번호: 26에서 VL 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VL은 (a) 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0260] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VH, 그리고 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VL을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 항체는 서열 번호: 25 및 서열 번호: 26 각각에서 VH와 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0261] iii) 추가의 특정 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 CDR을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, CDR-H1은 서열 GFTFTDYYMN (서열 번호: 151)을 가질 수 있다.

[0262] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (c) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, CDR-H1은 서열 GFTFTDYYMN (서열 번호: 151)을 가질 수 있다.

[0263] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함한다.

[0264] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) (i) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (iii) 서열 번호: 45에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 그리고 (b) (i) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (ii) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포

함하는 CDR-L2 및 (c) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CDR-H1은 서열 GFTFTDYYMN (서열 번호: 151)을 가질 수 있다.

[0265] 다른 양상에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다. 일부 구체예에서, CDR-H1은 서열 GFTFTDYYMN (서열 번호: 151)을 가질 수 있다.

[0266] 임의의 상기 구체예에서, 다중특이적 항체는 인간화될 수 있다. 한 구체예에서, 항-CEA 항원 결합 부위는 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 더욱 포함한다.

[0267] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 49의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 49에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 49에서 VH 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VH는 (a) 서열 번호: 43 또는 서열 GFTFTDYYMN (서열 번호: 151)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (c) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0268] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 50의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 50에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 대한 항원 결합 부위는 서열 번호: 50에서 VL 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VL은 (a) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0269] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VH, 그리고 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VL을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 항체는 서열 번호: 49 및 서열 번호: 50 각각에서 VH와 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0270] iv) 또 다른 특정한 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 CDR을 포함할 수 있다.

[0271] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (c) 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함할 수 있다.

[0272] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함한다.

[0273] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) (i) 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (ii) 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (iii) 서열 번호: 61에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH CDR 서열을 포함하는 VH 도메인; 그리고 (b) (i) 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, (ii) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2 및 (c) 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL CDR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0274] 다른 양상에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0275] 임의의 상기 구체예에서, 다중특이적 항체는 인간화될 수 있다. 한 구체예에서, 항-CEA 항원 결합 부위는 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 더욱 포함한다.

[0276] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 65의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 65에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 65에서 VH 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VH는 (a) 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, (b) 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2 및 (c) 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0277] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 서열 번호: 66의 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 서열 번호: 66에서 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다. 임의적으로, CEA에 대한 항원 결합 부위는 서열 번호: 66에서 VL 서열 (상기 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 구체예에서, VL은 (a) 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0278] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VH, 그리고 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VL을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 항체는 서열 번호: 65 및 서열 번호: 66 각각에서 VH와 VL 서열 (이들 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.

[0279] v). 또 다른 특정한 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 (a) 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 117 또는 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; (c) 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; (d) 서열 번호: 120, 121 또는 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (e) 서열 번호: 123, 124 또는 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (f) 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 CDR을 포함할 수 있다.

[0280] 임의적으로, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 다음을 포함할 수 있다:

[0281] VH CDR 서열 (a) 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (b) 서열 번호: 117 또는 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (c) 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3; 및/또는

[0282] VL CDR 서열 (a) 서열 번호: 120, 121 또는 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (b) 서열 번호: 123, 124

또는 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (c) 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3.

[0283] 한 구체예에서, CEA에 대한 항원 결합 부위는 서열 번호: 127의 아미노산 서열, 또는 (더 바람직하게는) 서열 번호: 129, 130, 131, 132, 133 또는 134에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH), 그리고 서열 번호: 128의 아미노산 서열 또는 (더 바람직하게는) 서열 번호: 135, 136, 137, 138, 139 또는 140에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)을 포함한다.

[0284] 임의의 상기 구체예에서, 다중특이적 항체는 인간화될 수 있다. 한 구체예에서, 항-CEA 항원 결합 부위는 임의의 상기 구체예의 경우에서와 같은 CDR을 포함하고, 그리고 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 더욱 포함한다.

[0285] 특정한 양상에서, CEA에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인은

[0286] (a) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인, 또는

[0287] (b) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인, 또는

[0288] (c) 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인, 또는

[0289] (d) 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인, 또는

[0290] (e) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인, 또는

[0291] (f) 서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인, 또는

[0292] (g) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

[0293] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 상기 a) 내지 g)에서 언급된 바와 같은 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다.

[0294] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 상기 a) 내지 g)에서 언급된 바와 같은 아미노산 서열에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비하여 치환 (예를 들면, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항원 결합 부위는 바람직하게는 상기 명시된 바와 같은 친화성으로 CEA에 결합하는 능력을 유지한다. 일정한 구체예에서, 총 1개 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일정한 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 HVR 외부의 영역 (다시 말하면, FR)에서 일어난다.

[0295] 다른 구체예에서, CEA에 결합하는 항원 결합 부위는 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VH, 그리고 앞서 제공된 임의의 구체예의 경우에서와 같은 VL을 포함한다.

[0296] **F. 예시적인 다중특이적 항체**

[0297] 본원 발명에서 이용된 다중특이적 항체에 대해 다양한 형식이 가능하다. 예시적인 형식은 본원에서 참조로서 편입되는 WO2019/201959에서 설명되고, 그리고 그 안에 설명된 임의의 형식이 적용될 수 있다. 특정한 예시적인 항체 또한 WO2019/201959에서 설명되고, 그리고 이들 특이적 항체 중 임의의 것이 또한 본원 발명에 이용하기 위해 선택될 수 있다.

[0298] 일부 구체예에서, 다중특이적 항체는 Fc 도메인을 포함할 수 있다. Fc 영역의 존재는 방사면역요법 및 방사선영상의 맥락에서 유익성을 갖는다, 예를 들면 단백질의 순환 반감기를 연장하고 및/또는 더 작은 단편으로 관찰될 수 있는 것보다 더 높은 종양 흡수를 야기한다. Fc 도메인은 Fc 효과기 기능을 감소시키거나 또는 제거하기 위해 조작될 수 있다.

[0299] 한 가지 예시적인 형식은 첫 번째와 두 번째 항체 중쇄 및 첫 번째와 두 번째 항체 경쇄를 포함하는 전장 항체(예를 들면, IgG)를 포함하는데, 여기서 첫 번째 중쇄 및 첫 번째 경쇄는 조립되어 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위를 형성하고, 그리고 여기서 두 번째 중쇄 및 두 번째 경쇄는 조립되어 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 형성한다.

[0300] 이종이량체성 중쇄의 정확한 조립은 예를 들면 노브 인투 홀 돌연변이 및/또는 아래에 더욱 논의된 바와 같은 다른 변형의 이용에 의해 보조될 수 있다.

[0301] 경쇄 및 그들의 개별 중쇄의 정확한 조립은 교차-맵 기술을 이용함으로써 보조될 수 있다. 이러한 접근방식에서, 첫 번째 중쇄 및 첫 번째 경쇄, 또는 두 번째 중쇄 및 두 번째 경쇄 중 어느 하나가 조립되어, 교차-Fab 단편을 형성할 수 있다 (반면 다른 것들은 조립되어 전통적인 Fab를 형성한다). 따라서, 한 구체예에서, 첫 번째 중쇄는 VH 도메인 대신에 VL 도메인 (예를 들면, VL-CH1-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 첫 번째 경쇄는 VL 도메인과 교환된 VH 도메인 (예를 들면, VH-CL)을 포함할 수 있거나, 또는 첫 번째 중쇄는 HC1 도메인 대신에 CL 도메인 (예를 들면, VH-CL-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 첫 번째 경쇄는 CL 도메인 대신에 CH1 도메인 (예를 들면, VL-CH1)을 포함할 수 있다. 이러한 구체예에서, 두 번째 중쇄 및 두 번째 경쇄는 전통적인 도메인 구조 (예를 들면, 각각 VH-CH1-힌지-CH2-CH3 및 VL-CL)를 갖는다. 대안적 구체예에서, 두 번째 중쇄는 VH 도메인 대신에 VL 도메인 (예를 들면, VL-CH1-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 두 번째 경쇄는 VL 도메인과 교환된 VH 도메인 (예를 들면, VH-CL)을 포함할 수 있거나, 또는 두 번째 중쇄는 HC1 도메인 대신에 CL 도메인 (예를 들면, VH-CL-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 두 번째 경쇄는 CL 도메인 대신에 CH1 도메인 (예를 들면, VL-CH1)을 포함할 수 있다. 이러한 구체예에서, 첫 번째 중쇄 및 첫 번째 경쇄는 전통적인 도메인 구조를 갖는다.

[0302] 일부 구체예에서, 경쇄 및 그들의 개별 중쇄의 정확한 조립은 부가적으로 또는 대안으로, 아래에 더욱 논의된 바와 같은 전하 변경을 이용함으로써 보조될 수 있다.

[0303] 상기 형식의 일부 구체예에서, 형식은 이가일 수 있다. 다른 가능한 구체예에서, 추가 항원 결합 모이어티가 예를 들면, 어느 한쪽 또는 양쪽 항원에 대한 결합가를 증가시키기 위해 첫 번째 및/또는 두 번째 중쇄에 융합될 수 있다. 예를 들면, 표적 항원에 대한 추가의 항원 결합 모이어티는 중쇄 분자 중에서 하나 또는 둘 모두의 N 말단에 융합될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 종양 관련 항원에 대해 다가, 예를 들면, 이가일 수 있고 방사성-표지화된 화합물에 대해 일가일 수 있다.

[0304] 추가의 항원 결합 모이어티는 예를 들면, 첫 번째 항원 (예를 들면, 종양 관련 항원)에 대한 항원 결합 부위를 포함하는, 예를 들면 scFab일 수 있다. 다른 구체예에서, 추가의 항원 결합 모이어티는 Fab 또는 교차-Fab이다. 예를 들면, 중쇄 중에서 하나의 N 말단 또는 C 말단이 폴리펩티드 링커를 통해, VH 도메인 및 CH1 도메인으로 구성되는 첫 번째 폴리펩티드에 연결될 수 있고, 이것은 VL 및 CL 도메인으로 구성되는 두 번째 폴리펩티드와 연결되어 Fab를 형성한다. 다른 구체예에서, 중쇄 중에서 하나의 N 말단 또는 C 말단이 폴리펩티드 링커를 통해, VL 도메인 및 CH1 도메인으로 구성되는 첫 번째 폴리펩티드에 연결될 수 있고, 이것은 VH 및 CL 도메인으로 구성되는 두 번째 폴리펩티드와 연결된다. 다른 구체예에서, 중쇄 중에서 하나의 N 말단 또는 C 말단이 폴리펩티드 링커를 통해, VH 도메인 및 CL 도메인으로 구성되는 첫 번째 폴리펩티드에 연결될 수 있고, 이것은 VL 및 CH1 도메인으로 구성되는 두 번째 폴리펩티드와 연결된다.

[0305] 이러한 형식에서, 동일한 항원 특이성의 결합 팔이 동일한 경쇄와의 연결에 의해 형성되는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 표적 항원에 대한 항원 결합 모이어티/팔은 교차-Fab일 수 있고, 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 모이어티(들)/팔(들)은 전통적인 Fab일 수 있다. 대안으로, 표적 항원에 대한 항원 결합 모이어티/팔은 전통적인 Fab일 수 있고, 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 모이어티(들)/팔(들)은 교차-Fab일 수 있다.

[0306] 이러한 형식은 또한, 아래에 더욱 논의된 바와 같은 전하 변경을 통합할 수 있다.

[0307] 다른 예시적인 형식은 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 모이어티에 연결된, 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 포함하는 전장 항체 예컨대 IgG (예를 들면, 이것은 표적 항원에 대해 이가일 수 있다)를 포함한다.

[0308] 예를 들면, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 모이어티는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위를 포함하는 scFab (예를 들면, Pb-DOTAM 킬레이트)일 수 있다. 일부 구체예에서, scFab는 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에, 예를 들면, 이의 CH3 도메인의 C 말단에서 융합될 수 있다. 이종이량체성 중쇄의 정확한 조립은 예를 들면 노브 인투 홀 돌연변이 및/또는 아래에 더욱 논의된 바와 같은 다른 변형의 이용에 의해 보조될 수 있다.

[0309] 다른 예시적인 형식은 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 포함하는 전장 항체 (예를 들면, 이것은 표적 항원에 대해 이가일 수 있다)를 포함하는데, 여기서 중쇄 중에서 하나의 N 말단 또는 C 말단은 폴리펩티드 링커를 통해 첫 번째 폴리펩티드에 연결되고, 그리고 여기서 첫 번째 폴리펩티드는 두 번째 폴리펩티드와 연결되어, 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위를 포함하는 Fab 또는 교차-Fab를 형성한다. 예를 들면, 이러한 형식은

[0310] i) VL 및 CL 도메인으로 구성되는 두 번째 폴리펩티드와 연결되는, VH 도메인 및 CH1 도메인으로 구성되는 첫 번째 폴리펩티드; 또는

[0311] ii) VH 및 CL 도메인으로 구성되는 두 번째 폴리펩티드와 연결되는, VL 도메인 및 CH1 도메인으로 구성되는 첫 번째 폴리펩티드; 또는

[0312] iii) VL 및 CH1 도메인으로 구성되는 두 번째 폴리펩티드와 연결되는, VH 도메인 및 CL 도메인으로 구성되는 첫 번째 폴리펩티드를 포함하고;

[0313] 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드가 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위를 함께 형성할 수 있도록 한다.

[0314] 이종이량체성 중쇄의 정확한 조립은 예를 들면 노브 인투 홀 돌연변이 및/또는 전하 변경을 비롯한, 아래에 더욱 논의된 바와 같은 다른 변형의 이용에 의해 보조될 수 있다. 예를 들면, 전장 항체의 Fab 도메인은 전하 변경을 포함할 수 있다.

[0315] 다른 예시적인 형식에서 항체는 다음을 포함하는 이중특이적 항체일 수 있고:

[0316] a) 표적 항원에 특이적으로 결합하고 2개의 항체 중쇄 및 2개의 항체 경쇄로 구성되는 전장 항체;

[0317] b) 폴리펩티드로서,

[0318] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 또는 ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 중쇄 불변 도메인 (CH1); 또는

[0319] iii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 경쇄 불변 도메인 (CL)으로 구성되는 폴리펩티드;

[0320] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에 펩티드 링커를 통해 VH 도메인의 N 말단이 융합되고;

[0321] c) 폴리펩티드로서,

[0322] i) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0323] ii) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인 (CL); 또는

[0324] iii) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 중쇄 불변 도메인 (CH1)으로 구성되는 폴리펩티드;

[0325] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 다른 것의 C 말단에 펩티드 링커를 통해 VL 도메인의 N 말단이 융합되고;

[0326] 그리고 여기서 (b) 하에 펩티드의 항체 중쇄 가변 도메인 (VL) 및 (c) 하에 펩티드의 항체 경쇄 가변 도메인은 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위를 함께 형성한다.

[0327] 이러한 형식에서, 만약 첫 번째 폴리펩티드가 b(i)에서 명시된 바와 같으면, 두 번째 폴리펩티드는 c(i)에서 명시된 바와 같고; 만약 첫 번째 폴리펩티드가 b(ii)에서 명시된 바와 같으면, 두 번째 폴리펩티드는 c(ii)에서 명시된 바와 같고; 그리고 만약 첫 번째 폴리펩티드가 b(iii)에서 명시된 바와 같으면, 두 번째 폴리펩티드는 c(iii)에서 명시된 바와 같다. 전하 변경 치환은 또한, 예를 들면, 전장 항체의 Fab에 이용될 수 있다.

[0328] 임의적으로, 이러한 구조는 안정화될 수 있는데, 여기서 (b) 하에 폴리펩티드의 항체 중쇄 가변 영역 (VH) 및 (c) 하에 폴리펩티드의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)이 사슬간 이황화 다리를 통해, 예를 들면, 아래의 위치 (항상 Kabat의 EU 색인에 따른 넘버링) 사이에 이황화 결합의 도입에 의해 연결되고 안정화된다:

[0329] i) 중쇄 가변 도메인 위치 44 내지 경쇄 가변 도메인 위치 100,

[0330] ii) 중쇄 가변 도메인 위치 105 내지 경쇄 가변 도메인 위치 43, 또는

[0331] iii) 중쇄 가변 도메인 위치 101 내지 경쇄 가변 도메인 위치 100.

[0332] (b)의 항체가 VH 도메인으로 구성되고 (c)의 항체가 VL 도메인으로 구성되는 상기 형식의 실례는 WO2019/201959에서 설명된 바와 같은 PRIT213 (PRIT-0213으로서 또한 지칭됨) 및 PRIT214 (PRIT-0214로서 또한 지칭됨)이다. 따라서, 특정한 구체예에서, 본원 발명에 이용하기 위한 다중특이적 항체는

[0333] i) 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 갖는 첫 번째 중쇄;

[0334] ii) 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 두 번째 중쇄; 및

[0335] iii) 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 2개의 항체 경쇄를 포함할 수 있고,

[0336] 여기서 서열 넘버링은 WO2019/201959의 서열 넘버링이다.

[0337] 다른 구체예에서, 본원 발명에 이용하기 위한 다중특이적 항체는

[0338] i) 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 갖는 첫 번째 중쇄;

[0339] ii) 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 두 번째 중쇄; 및

[0340] iii) 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 2개의 항체 경쇄를 포함할 수 있고,

[0341] 여기서 서열 넘버링은 WO2019/201959의 서열 넘버링이다.

[0342] **G. 분할 다중특이적 항체에 대한 예시적인 형식**

[0343] 다른 구체예에서, 병용 요법에 이용하기 위한 항체는 분할 다중특이적 항체일 수 있다. 분할 다중특이적 항체는

[0344] i) 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합하고, 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 더욱 포함하지만, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하지 않는 첫 번째 헤미바디; 및

[0345] ii) 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합하고, 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 더욱 포함하지만, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하지 않는 두 번째 두 번째 헤미바디를 포함할 수 있고,

[0346] 여기서 첫 번째 헤미바디의 상기 VH 도메인 및 두 번째 헤미바디의 상기 VL 도메인은 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성할 수 있다.

[0347] 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 동일하거나 또는 상이한 에피토프에서 동일한 표적 항원에 결합할 수 있다.

[0348] 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, Fc 도메인을 포함할 수 있다. Fc 도메인은 Fc 효과기 기능을 감소시키거나 또는 제거하기 위해 조작될 수 있다.

[0349] 일부 구체예에서, 상기 논의된 바와 같이, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인이 자체의 C 말단에서 자유로운 경우에 (예를 들면, 자체의 C 말단을 통해 다른 도메인에 융합되지 않는 경우에), 이것은 HAVH 자가항체의 결합을 방지하기 위해 하나 이상의 잔기에 의해 연장될 수 있다. 예를 들면, 연장은 1-10개의 잔기, 예를 들면, 1,2,3,4,5,6,7,8,9 또는 10개의 잔기에 의할 수 있다. 한 구체예에서, 이것은 하나 이상의 알라닌 잔기에 의해, 임의적으로 하나의 알라닌 잔기에 의해 연장될 수 있다. VH 서열 또한, CH1 도메인의 N 말단 부분에 의해, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기에 의해 연장될 수 있다. (인간 IgG1 CH1 도메인의 첫 10개의 잔기는 ASTKGPSVFP이고, 그리고 이에 따른 한 구체예에서, 1-10개의 잔기가 이러한 서열의 N 말단으로부터 취해질 수 있다). 예를 들면, 한 구체예에서, 펩티드 서열 AST (IgG1 CH1 도메인의 첫 3개의 잔기에 상응함)가 VH 영역의 C 말단에 추가된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 각각, 표적 항원 (예를 들면, 종양 관련 항원)에 대해 다가, 예를 들면, 이가일 수 있다. 이것은 결합능을 증가시키는 이점을 갖는다.

[0350] 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디가 연결될 때, 이들은 방사성-표지화된 화합물에 대해 일가인 항체 복합체를 형성하는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 첫 번째 헤미바디 및 두 번째 헤미바디가 함께, 방사성-표지화된 화합물에 대한 단지 하나의 완전한 기능적 결합 부위만을 형성하도록, 첫 번째 헤미바디는 방사성-표

지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 단지 하나의 VH 도메인만을 포함할 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 단지 하나의 VL 도메인만을 포함할 수 있다.

[0351] 이들 헤미바디는 각각, i) 표적 항원에 결합할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편), ii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나, 그리고 iii) 임의적으로 Fc 영역을 포함할 수 있다. 항체 단편은 예를 들면, 표적 항원에 대해 특이적인 항원 결합 부위를 포함하는 적어도 하나의 Fv, scFv, Fab 또는 교차-Fab 단편일 수 있다. 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편)는 a) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나에, 또는 b) 만약 항체가 Fc 영역을 포함하면, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나에 융합된 Fc 영역에 융합될 수 있다. 일부 구체예에서, Fc 영역의 C 말단이 VL 도메인 또는 VH 도메인의 N 말단에 융합된다.

[0352] 융합은 직접적 또는 간접적일 수 있다. 일부 구체예에서, 융합은 링커를 통해 이루어질 수 있다. 예를 들면, Fc 영역이 힌지 영역 또는 다른 적합한 링커를 통해 항체 단편에 융합될 수 있다. 유사하게, 항체 구조의 나머지 부분에, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 또는 VH 도메인의 연결이 링커를 통해 만들어질 수 있다. 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0353] a) scFv 단편으로서, 여기서 상기 scFv 단편은 표적 항원에 결합하고; 및

[0354] b) 폴리펩티드로서,

[0355] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 또는

[0356] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 중쇄 불변 도메인을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0357] 여기서 상기 폴리펩티드는 scFv 단편의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0358] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0359] c) 표적 항원에 결합하는 두 번째 scFv; 및

[0360] d) 폴리펩티드로서,

[0361] i) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0362] ii) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VL 도메인의 C 말단이 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0363] 여기서 상기 폴리펩티드는 scFv 단편의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0364] 첫 번째 헤미바디의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 두 번째 헤미바디의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)은 이들 2개의 헤미바디의 연결 시에, 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성한다.

[0365] 임의적으로, 부분 b(i)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 추가적으로 포함할 수 있다. 임의적으로, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0366] scFv의 중쇄와 경쇄의 표적 항원 인식 가변 도메인은 펩티드 묶음에 의해 연결될 수 있다. 이런 펩티드 묶음은 1개 내지 25개의 아미노산, 바람직하게는 12개 내지 20개의 아미노산, 바람직하게는 12개 내지 16개 또는 15개 내지 20개의 아미노산을 포함할 수 있다. 전술된 묶음은 1개 이상의 (G_3S) 및/또는 (G_4S) 모티프, 특히 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 (G_3S) 및/또는 (G_4S) 모티프, 바람직하게는 3개 또는 4개의 (G_3S) 및/또는 (G_4S) 모티프, 더 바람직하게는 3개 또는 4개의 (G4S) 모티프를 포함할 수 있다.

[0367] 임의적으로, 첫 번째 헤미바디는 상기 열거된 구성요소 (a) 및 (b)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 상기 열거된 구성요소 (c) 및 (d)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있다. 어떤 상황에서든, 첫 번째 헤미바디는 첫 번째 헤미바디의 구성요소 (b)와 관련하여 방사성-표지화된 화합

물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하지 않고; 그리고 두 번째 헤미바디는 두 번째 헤미바디의 구성요소 (d)와 관련하여 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 중쇄 가변 (VH) 도메인을 포함하지 않는다.

[0368] 다른 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0369] a) 표적 항원에 결합하는 Fab 단편, 및

[0370] b) 폴리펩티드로서,

[0371] i) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 또는

[0372] ii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 중쇄 불변 도메인을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0373] 여기서 상기 폴리펩티드는 Fab 단편의 CL 또는 CH1 도메인의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0374] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0375] c) 표적 항원에 결합하는 Fab 단편, 및

[0376] d) 폴리펩티드로서,

[0377] iii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL), 또는

[0378] iv) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VL 도메인의 C 말단이 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0379] 여기서 상기 폴리펩티드는 Fab 단편의 CL 또는 CH1 도메인의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0380] (b)의 폴리펩티드의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 (d)의 폴리펩티드의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)은 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성한다 (다시 말하면, 이들 2개의 헤미바디의 연결 시에).

[0381] 임의적으로, 부분 b(i)의 폴리펩티드는 전술된 바와 같은 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 추가적으로 포함할 수 있다. 임의적으로, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0382] 임의적으로, 첫 번째 헤미바디는 상기 열거된 구성요소 (a) 및 (b)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 상기 열거된 구성요소 (c) 및 (d)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있다. 어떤 상황에서든, 첫 번째 헤미바디는 첫 번째 헤미바디의 구성요소 (b)와 관련하여 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하지 않고; 그리고 두 번째 헤미바디는 두 번째 헤미바디의 구성요소 (d)와 관련하여 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 중쇄 가변 (VH) 도메인을 포함하지 않는다.

[0383] 폴리펩티드에 융합되는 Fab 단편의 사슬은 첫 번째와 두 번째 헤미바디에 대해 독립적으로 선택될 수 있다. 따라서, 한 구체예에서, (b)의 폴리펩티드는 첫 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CH1 도메인의 C 말단에 융합되고, 그리고 (d)의 폴리펩티드는 두 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CH1 도메인의 C 말단에 융합된다. 다른 구체예에서, (b)의 폴리펩티드는 첫 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CL 도메인의 C 말단에 융합되고, 그리고 (d)의 폴리펩티드는 두 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CL 도메인의 C 말단에 융합된다. 다른 구체예에서, (b)의 폴리펩티드는 첫 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CH1 도메인의 C 말단에 융합되고, 그리고 (d)의 폴리펩티드는 두 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CL 도메인의 C 말단에 융합된다. 추가의 구체예에서, (b)의 폴리펩티드는 첫 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CL 도메인의 C 말단에 융합되고, 그리고 (d)의 폴리펩티드는 두 번째 헤미바디의 Fab 단편의 CH1 도메인의 C 말단에 융합된다.

[0384] 상기에서 지적된 바와 같이, 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 각각 다가일 수 있다, 예를

들면, 표적 항원 (예를 들면, 종양 관련 항원)에 대해 이가일 수 있다. 이것은 결합능을 증가시키는 이점을 갖는다. 이들 헤미바디는 다가, 예를 들면, 이가일 수 있고, 그리고 각각, 특정 에피토프 (이것은 첫 번째와 두 번째 헤미바디에 대해 동일한 에피토프일 수 있거나, 또는 첫 번째와 두 번째 헤미바디에 대해 상이할 수 있다)에 대해 단일특이적일 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 i) 표적 항원의 동일한 에피토프에 결합할 수 있는 2개 이상의 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편), ii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나 (하지만 둘 모두는 아님), 그리고 iii) 임의적으로 Fc 영역을 포함할 수 있다. 두 번째 헤미바디는 i) 표적 항원의 동일한 에피토프에 결합할 수 있는 2개 이상의 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편), ii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나 (하지만 둘 모두는 아님), 그리고 iii) 임의적으로 Fc 영역을 포함할 수 있다. 앞서 언급된 바와 같이, 에피토프는 첫 번째와 두 번째 헤미바디에 대해 동일할 수 있거나, 또는 첫 번째와 두 번째 헤미바디에 대해 상이할 수 있다.

[0385] 예를 들면, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, 펩티드 링커를 통해 연결되는 탠덤 Fab, 다시 말하면, 2개의 Fab 단편 (Fab-링커-Fab)을 포함할 수 있는데, 여기서 첫 번째 Fab는 자체의 C 말단을 통해 두 번째 Fab의 N 말단에 연결된다.

[0386] 한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하고:

[0387] a) 2개의 Fab 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 동일한 표적 항원 ("표적 항원 A")에 결합하고 첫 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프가 두 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프와 동일하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 펩티드 링커를 통해 연결되고, 여기서 첫 번째 Fab가 자체의 C 말단을 통해 두 번째 Fab의 N 말단에 연결되는 탠덤 Fab; 및

[0388] b) 폴리펩티드로서,

[0389] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 또는

[0390] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 불변 도메인 (CH1)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 CH1 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0391] 여기서 상기 폴리펩티드는 두 번째 Fab 단편의 CL 또는 CH1 도메인의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합되고;

[0392] 그리고 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하고:

[0393] c) 2개의 Fab 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 표적 항원 A에 결합하고 첫 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프가 두 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프와 동일하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 펩티드 링커를 통해 연결되고, 여기서 첫 번째 Fab가 자체의 C 말단을 통해 두 번째 Fab의 N 말단에 연결되는 탠덤 Fab; 및

[0394] d) 폴리펩티드로서,

[0395] i) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0396] ii) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인 (CL)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0397] 여기서 상기 폴리펩티드는 두 번째 Fab 단편의 CL 또는 CH1 도메인의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0398] 부분 b (첫 번째 헤미바디에서)의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 부분 (d) (두 번째 헤미바디에서)의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)은 다시 말하면, 이들 2개의 헤미바디의 연결 시에, 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성한다.

[0399] 임의적으로, 부분 b(i)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 추가적으로 포함할 수 있다. 임의적으로, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0400] 폴리펩티드에 융합되는 Fab 탠덤의 사슬 (다시 말하면, 폴리펩티드가 두 번째 Fab 단편의 CL 또는 CH1 도메인에

융합되는지의 여부)은 첫 번째 및 두 번째 헤미바디에 대해 독립적으로 선택될 수 있다.

[0401] 전술된 바와 같이, Fab 탠덤의 첫 번째 Fab 단편은 두 번째 Fab 단편의 N 말단에 연결된다. 한 구체예에서, 첫 번째 Fab 단편의 중쇄 단편의 C 말단이 두 번째 Fab 단편의 중쇄 단편 또는 경쇄 단편의 N 말단에 연결된다. 다른 구체예에서, 첫 번째 Fab 단편의 C 말단 경쇄 단편이 두 번째 Fab 단편의 중쇄 단편 또는 경쇄 단편의 N 말단에 연결된다. 따라서, 일부 구체예에서 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디의 Fab 탠덤은 아래와 같은 3개의 사슬을 포함할 수 있다:

[0402] 1) 첫 번째 Fab 단편의 경쇄 단편 ((VLCL)1), 펩티드 링커를 통해 두 번째 Fab 단편의 중쇄 단편에 연결된 첫 번째 Fab 단편의 중쇄 단편 ((VHCH1)1-링커-(VHCH1)2) 및 두 번째 Fab 단편의 경쇄 단편 ((VLCL)2); 또는

[0403] 2) 첫 번째 Fab 단편의 경쇄 단편 ((VLCL)1), 펩티드 링커를 통해 두 번째 Fab 단편의 경쇄 단편에 연결된 첫 번째 Fab 단편의 중쇄 단편 ((VHCH1)1-링커-(VLCL)2) 및 두 번째 Fab 단편의 중쇄 단편 ((VH-CH1)2); 또는

[0404] 3) 첫 번째 Fab 단편의 중쇄 단편 (VHCH1), 펩티드 링커를 통해 두 번째 Fab 단편의 경쇄 단편에 연결된 첫 번째 Fab 단편의 경쇄 단편 ((VLCL)1-링커-(VLCL)2) 및 두 번째 Fab 단편의 중쇄 단편; 또는

[0405] 4) 첫 번째 Fab 단편의 중쇄 단편 (VHCH1), 펩티드 링커를 통해 두 번째 Fab 단편의 중쇄 단편에 연결된 첫 번째 Fab 단편의 경쇄 단편 ((VLCL)1-링커-(VHCH1)2) 및 두 번째 Fab 단편의 경쇄 단편 ((VLCL)2).

[0406] 다른 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 각각, 표적 항원의 하나 초과, 임의적으로 두 개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 따라서, 이들 헤미바디 중에서 하나 또는 둘 모두 표적 항원에 대해 이중파라토픽일 수 있다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, i) 표적 항원의 첫 번째 에피토프에 결합할 수 있는 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편); ii) 표적 항원의 두 번째 에피토프에 결합할 수 있는 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편), iii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나 (하지만 둘 모두는 아님), 그리고 iv) 임의적으로 Fc 영역을 포함할 수 있다.

[0407] 이런 구체예에서, 경쇄 및 그들의 개별 중쇄의 정확한 조립은 교차-맵 기술을 이용함으로써 보조될 수 있다. 예를 들면, 한 구체예에서, 각 헤미바디는 하나의 Fab 및 하나의 교차-Fab를 포함하는 탠덤 Fab를 포함할 수 있는데, 여기서 Fab 및 교차-Fab에서 선택되는 한쪽 단편은 첫 번째 에피토프에 대해 특이적이고, 그리고 다른 단편은 두 번째 에피토프에 대해 특이적이다.

[0408] 특정 실례에서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함할 수 있고:

[0409] a) 첫 번째 단편 및 두 번째 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째 단편이 두 번째 단편의 N 말단에 펩티드 링커를 통해 자체의 C 말단에 의해 연결되고, 여기서 첫 번째 단편이 표적 항원의 첫 번째 에피토프에 결합하고 두 번째 단편이 표적 항원의 두 번째 에피토프에 결합하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 단편에서 선택되는 이들 단편 중에서 하나가 Fab이고 다른 것이 교차-Fab인 탠덤 Fab,

[0410] b) 폴리펩티드로서,

[0411] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 또는

[0412] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 중쇄 불변 도메인 (CH1)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 CH1 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0413] 여기서 상기 폴리펩티드는 두 번째 단편의 사슬 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0414] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함할 수 있고:

[0415] c) 첫 번째 단편 및 두 번째 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째 단편이 두 번째 단편의 N 말단에 자체의 C 말단에 의해 연결되고, 여기서 첫 번째 단편이 표적 항원의 첫 번째 에피토프에 결합하고 두 번째 단편이 표적 항원의 두 번째 에피토프에 결합하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 단편에서 선택되는 이들 단편 중에서 하나가 Fab이고 다른 것이 교차-Fab인 탠덤 Fab; 및

[0416] d) 폴리펩티드로서,

[0417] i) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0418] ii) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인 (CL)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기

서 VL 도메인의 C 말단이 경쇄 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0419] 여기서 상기 폴리펩티드는 두 번째 단편의 사슬 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0420] 첫 번째 헤미바디의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 두 번째 헤미바디의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)은 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성한다.

[0421] 임의적으로, 부분 b(i)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 추가적으로 포함할 수 있다. 임의적으로, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0422] 탠덤 Fab가 하나의 전통적인 Fab 및 하나의 교차 Fab를 포함하기만 하면, 첫 번째 또는 두 번째 단편 중 어느 하나가 교차-Fab일 수 있다.

[0423] 전술된 임의의 탠덤 Fab 구체예 (교차-Fab를 수반하는 것들 포함)에서, 임의적으로, 첫 번째 헤미바디는 구성요소 (a) 및 (b)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 구성요소 (c) 및 (d)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있다. 어떤 상황에서든, 첫 번째 헤미바디는 첫 번째 헤미바디의 구성요소 (b)와 관련하여 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하지 않고; 그리고 두 번째 헤미바디는 두 번째 헤미바디의 구성요소 (d)와 관련하여 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 중쇄 가변 (VH) 도메인을 포함하지 않는다.

[0424] 상기에서 지적된 바와 같이, 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, 효과기 기능을 감소시키거나 또는 제거하기 위해 임의적으로 조작된 Fc 도메인을 포함할 수 있다.

[0425] 한 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, i) Fc 도메인, ii) 표적 항원에 결합할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편, 예컨대 scFv, Fv, Fab 또는 교차-Fab 단편), 그리고 iii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나 (하지만 둘 모두는 아님)를 포함할 수 있다.

[0426] 임의적으로, Fc 도메인을 포함하는 헤미바디는 표적 항원에 결합에 대하여 일가일 수 있다. 다른 구체예에서, 이들은 다가, 예를 들면, 이가일 수 있다. 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, 다가이고 표적 항원의 동일한 에피토프에 대해 단일특이적일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, 표적 항원의 상이한 에피토프에 대한 결합 부위를 가질 수 있다 - 예를 들면, 이들은 이중파라토픽일 수 있다.

[0427] 항체 단편은 scFv일 수 있다. 따라서, 한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0428] a) scFv 단편으로서, 여기서 상기 scFv 단편은 표적 항원에 결합하고;

[0429] b) Fc 도메인; 및

[0430] c) 폴리펩티드로서,

[0431] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 또는

[0432] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 중쇄 불변 도메인 (CH1)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0433] 여기서 (a)의 scFv는 Fc 도메인의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 c)의 폴리펩티드는 Fc 도메인의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0434] 임의적으로, 부분 c(i)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 추가적으로 포함할 수 있다. 임의적으로, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0435] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0436] d) 표적 항원에 결합하는 두 번째 scFv;

[0437] e) Fc 도메인; 및

[0438] f) 폴리펩티드로서,

[0439] i) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0440] ii) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인 (CL)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VL 도메인의 C 말단이 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드;

[0441] 여기서 (d)의 scFv는 Fc 도메인의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 (f)의 폴리펩티드는 Fc 도메인의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0442] 다른 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, 표적 항원에 대한 Fab (예를 들면, 표적 항원에 대한 단일 Fab) 및 Fc 도메인을 포함하는 외팔 IgG일 수 있다. 따라서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0443] i) 완전한 경쇄 단편;

[0444] ii) 완전한 중쇄;

[0445] iii) Fd를 결여하는 추가의 Fc 사슬; 및

[0446] iv) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드;

[0447] 여기서 (i)의 경쇄 및 (ii)의 중쇄는 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 함께 제공하고; 그리고 여기서 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드는 (ii) 또는 (iii) 중 어느 하나의 C 말단에, 바람직하게는 링커를 통해, 자체의 N 말단에 의해 융합된다.

[0448] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0449] v) 완전한 경쇄 단편;

[0450] vi) 완전한 중쇄;

[0451] vii) Fd를 결여하는 추가의 Fc 사슬; 및

[0452] viii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드;

[0453] 여기서 (v)의 경쇄 및 (vi)의 중쇄는 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 함께 제공하고; 그리고 여기서 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드는 (vi) 또는 (vii) 중 어느 하나의 C 말단에, 바람직하게는 링커를 통해, 자체의 N 말단에 의해 융합된다.

[0454] 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성되는 폴리펩티드일 수 있다:

[0455] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 이러한 경우에 상기 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기, 또는 임의적으로 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분을 추가적으로 포함할 수 있고; 또는

[0456] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 중쇄 불변 도메인 (CH1), 여기서 VH 도메인의 C 말단은 CH1 도메인의 N 말단에 융합된다.

[0457] 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성되는 폴리펩티드일 수 있다:

[0458] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0459] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인, 여기서 VL 도메인의 C 말단은 불변 도메인의 N 말단에 융합된다.

[0460] 첫 번째와 두 번째 헤미바디가 예를 들면, 외팔 IgG에 관해 이종이량체일 때, 이들의 조립은 아래에 더욱 설명

된 바와 같이, 노브 인투 홀 기술의 이용에 의해 보조될 수 있다.

[0461] 다른 구체예에서, 이들 헤미바디는 각각, 전술된 바와 같은 탠덤 Fab (예를 들면, 2개의 Fab 단편을 포함하고, 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편 둘 모두 표적 항원 A의 동일한 에피토프에 결합하고; 또는 Fab 및 교차 Fab를 포함하고, 여기서 이들 중에서 하나는 표적 항원 A의 첫 번째 에피토프에 결합하고 다른 것은 표적 항원 A의 두 번째 에피토프에 결합한다)를 포함할 수 있는데, 여기서 Fab 탠덤은 Fc 도메인의 N 말단에 융합되고 (예를 들면, 자체의 C 말단을 통해), 그리고 여기서 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 또는 VL 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 펩티드는 Fc 도메인의 C 말단에 융합된다 (예를 들면, 자체의 N 말단을 통해).

[0462] 따라서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0463] a) 탠덤 Fab로서, 아래에서 선택되는 탠덤 Fab:

[0464] i) 2개의 Fab 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 표적 항원 A에 결합하고 첫 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프가 두 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프와 동일하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 펩티드 묶음을 통해 연결되고, 여기서 첫 번째 Fab가 두 번째 Fab의 N 말단에 자체의 C 말단을 통해 연결되는 탠덤 Fab; 및

[0465] ii) 첫 번째 단편 및 두 번째 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째 단편이 두 번째 단편의 N 말단에 펩티드 묶음을 통해 자체의 C 말단에 의해 연결되고, 여기서 첫 번째 단편이 표적 항원 A의 첫 번째 에피토프에 결합하고 두 번째 단편이 표적 항원 A의 두 번째 에피토프에 결합하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 단편에서 선택되는 이들 단편 중에서 하나가 Fab이고 다른 것이 교차-Fab인 탠덤 Fab;

[0466] b) Fc 도메인; 및

[0467] c) 폴리펩티드로서,

[0468] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 또는

[0469] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 항체 중쇄 불변 도메인 (CH1)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 CH1 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드,

[0470] 여기서 탠덤 Fab는 Fc 도메인의 사슬 중에서 하나의 N 말단에 융합되고, 그리고 c)의 폴리펩티드는 Fc 도메인의 사슬 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0471] 임의적으로, 부분 c(i)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 추가적으로 포함할 수 있다. 임의적으로, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0472] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0473] d) 탠덤 Fab로서, 아래에서 선택되는 탠덤 Fab:

[0474] i) 2개의 Fab 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 표적 항원 A에 결합하고 첫 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프가 두 번째 Fab 단편에 의해 결합된 에피토프와 동일하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 Fab 단편이 펩티드 묶음을 통해 연결되고, 여기서 첫 번째 Fab가 두 번째 Fab의 N 말단에 자체의 C 말단을 통해 연결되는 탠덤 Fab; 및

[0475] ii) 첫 번째 단편 및 두 번째 단편을 포함하는 탠덤 Fab로서, 여기서 첫 번째 단편이 두 번째 단편의 N 말단에 펩티드 묶음을 통해 자체의 C 말단에 의해 연결되고, 여기서 첫 번째 단편이 표적 항원 A의 첫 번째 에피토프에 결합하고 두 번째 단편이 표적 항원 A의 두 번째 에피토프에 결합하며, 그리고 여기서 첫 번째와 두 번째 단편에서 선택되는 이들 단편 중에서 하나가 Fab이고 다른 것이 교차-Fab인 탠덤 Fab;

[0476] e) Fc 도메인; 및

[0477] f) 폴리펩티드로서,

[0478] i) 항체 중쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0479] ii) 항체 중쇄 가변 도메인 (VL) 및 항체 경쇄 불변 도메인을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VL

도메인의 C 말단이 경쇄 불변 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드,

[0480] 여기서 (d)의 탠덤 Fab는 Fc 도메인의 사슬 중에서 하나의 N 말단에 융합되고, 그리고 (f)의 폴리펩티드는 Fc 도메인의 사슬 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0481] 첫 번째 헤미바디의 VH 도메인 및 두 번째 헤미바디의 VL 도메인은 다시 말하면, 이들 2개의 항체의 연결 시에 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위를 함께 형성한다.

[0482] 만약 첫 번째 헤미바디가 (a)(i)에 따른 탠덤 Fab를 포함하면, 일반적으로 두 번째 헤미바디는 d(i)에 따른 탠덤 Fab를 포함할 것이다; 만약 첫 번째 헤미바디가 (a)(ii)에 따른 탠덤 Fab를 포함하면, 일반적으로 두 번째 헤미바디는 d(ii)에 따른 탠덤 Fab를 포함할 것이다.

[0483] 탠덤 Fab는 일반적으로 전술된 바와 같을 수 있다. 예를 들면, 탠덤 Fab는 상기에서 명시된 사슬의 임의의 세트로 구성될 수 있다. 일반적으로, 두 번째 Fab (이것은 교차-Fab일 수 있다)의 중쇄 단편이 Fc 도메인에 연결될 수 있다.

[0484] 추가의 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, a) 첫 번째와 두 번째 아단위를 포함하는 Fc 도메인, b) 표적 항원에 결합할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 포함하는 항체 단편, 예컨대 scFv, Fv, Fab 또는 교차-Fab 단편), 그리고 c) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나 (하지만 둘 모두는 아님)를 포함하는 폴리펩티드를 포함할 수 있고, 여기서 (b)의 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편)의 C 말단은 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 (c)의 폴리펩티드의 C 말단은 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합된다. (b)의 항체 단편의 융합은 바람직하게는 힌지 영역을 통해 이루어진다. (c)의 폴리펩티드의 융합은 폴리펩티드의 C 말단 및 Fc 영역의 N 말단 사이에 배치된 링커를 통해 및/또는 상부 힌지 영역의 일부 또는 전부 (예를 들면, EU 넘버링 색인에 따른 Asp221 및 거기에서 C 말단의 잔기)를 통해 이루어질 수 있다. 한 구체예에서, (b)의 항체 단편은 Fab 단편일 수 있다. 한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디에서, (c)의 폴리펩티드는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인으로 구성되고; 그리고 두 번째 헤미바디에서 (c)의 폴리펩티드는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인으로 구성된다.

[0485] 따라서, 한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0486] i) 완전한 경쇄;

[0487] ii) 완전한 중쇄;

[0488] iii) 추가의 Fc 사슬; 및

[0489] iv) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드;

[0490] 여기서 (i)의 경쇄 및 (ii)의 중쇄는 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 함께 제공하고; 그리고 여기서 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드는 (iii)의 N 말단에, 바람직하게는 링커를 통해, 자체의 C 말단에 의해 융합된다.

[0491] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하거나 또는 다음과 같이 구성될 수 있고:

[0492] v) 완전한 경쇄;

[0493] vi) 완전한 중쇄;

[0494] vii) 추가의 Fc 사슬; 및

[0495] viii) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드;

[0496] 여기서 (v)의 경쇄 및 (vi)의 중쇄는 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 함께 제공하고; 그리고 여기서 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드는 (vii)의 N 말단에, 바람직하게는 링커를 통해, 자체의 c-말단에 의해 융합된다.

[0497] 링커는 당업자에게 공지된 바와 같은 또는 본원에서 설명된 바와 같은 임의의 유연한 링커, 예를 들면, 링커

GGGGSGGGGSGGGGSGGSGG (서열 번호: 152)를 포함할 수 있다. 링커는 상부 힌지 영역의 일부 또는 전부를 더욱 포함할 수 있다, 예를 들면, Asp221에서부터 Fc 사슬의 시작 (예를 들면, Cys226에서)까지 확장될 수 있다.

[0498] 또 다른 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 각각, 표적 항원에 대한 항원 결합 부위를 갖는 전장 항체를 포함하고, 그리고 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인 또는 VH 도메인 중 어느 하나를 더욱 포함한다.

[0499] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함할 수 있고:

[0500] a) 2개의 항체 중쇄 및 2개의 항체 경쇄로 구성되는 첫 번째 전장 항체로서, 여기서 상기 전장 항체의 적어도 하나의 팔이 표적 항원에 결합하는 첫 번째 전장 항체; 및

[0501] b) 폴리펩티드로서,

[0502] i) 추가의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 또는

[0503] ii) 추가의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 추가의 항체 불변 도메인 (CH1)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VH 도메인의 C 말단이 CH1 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드,

[0504] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 첫 번째 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0505] 두 번째 헤미바디는 다음을 포함할 수 있고:

[0506] c) 2개의 항체 중쇄 및 2개의 항체 경쇄로 구성되는 두 번째 전장 항체로서, 여기서 상기 전장 항체의 적어도 하나의 팔이 표적 항원에 결합하는 두 번째 전장 항체; 및

[0507] d) 폴리펩티드로서,

[0508] i) 추가의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL); 또는

[0509] ii) 추가의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 추가의 항체 경쇄 불변 도메인 (CL)을 포함하거나 또는 그와 같이 구성되고, 여기서 VL 도메인의 C 말단이 CL 도메인의 N 말단에 융합되는 폴리펩티드,

[0510] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 두 번째 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단에 의해 융합된다.

[0511] 첫 번째 헤미바디의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 두 번째 헤미바디의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)은 다시 말하면, 이들 2개의 항체의 연결 시에 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성한다.

[0512] 임의적으로, 부분 b(i)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 추가적으로 포함할 수 있다. 임의적으로, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0513] 임의적으로, 첫 번째 헤미바디는 상기 열거된 구성요소 (a) 및 (b)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 상기 열거된 구성요소 (c) 및 (d)로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있다. 어떤 상황에서든, 첫 번째 헤미바디는 첫 번째 헤미바디의 구성요소 (b)와 관련하여 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하지 않고; 그리고 두 번째 헤미바디는 두 번째 헤미바디의 구성요소 (b)와 관련하여 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 항체 중쇄 가변 (VH) 도메인을 포함하지 않는다.

[0514] 전장 항체의 양쪽 팔은 동일한 표적 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 것이 바람직할 수 있다. 항체가 표적 항원에 대해 이가인 경우에, 전장 항체의 양쪽 팔은 동일한 표적 항원의 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0515] 다른 구체예에서, 항체는 표적 항원에 대해 이중파라토픽일 수 있다; 예를 들면, 전장 항체의 한쪽 팔은 표적 항원의 첫 번째 에피토프에 결합할 수 있고, 그리고 한쪽 팔은 표적 항원의 두 번째 에피토프에 결합할 수 있다. 이런 구체예에서, 경쇄 및 그들의 개별 중쇄의 정확한 조립을 보조하기 위해 항체의 한쪽 팔은 Fab를 포함할 수 있고, 그리고 한쪽 팔은 교차-Fab를 포함할 수 있다. 따라서, 한 구체예에서, 전장 항체의 첫 번째 중쇄는 VH 도메인 대신에 VL 도메인 (예를 들면, VL-CH1-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 첫 번째 경쇄는 VL 도메인과 교환된 VH 도메인 (예를 들면, VH-CL)을 포함할 수 있거나, 또는 첫 번째 중쇄는 HC1 도메인 대신

에 CL 도메인 (예를 들면, VH-CL-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 첫 번째 경쇄는 CL 도메인 대신에 CH1 도메인 (예를 들면, VL-CH1)을 포함할 수 있다. 이러한 구체예에서, 두 번째 중쇄 및 두 번째 경쇄는 전통적인 도메인 구조 (예를 들면, 각각, VH-CH1-힌지-CH2-CH3 및 VL-CL)를 갖는다. 대안적 구체예에서, 전장 항체의 두 번째 중쇄는 VH 도메인 대신에 VL 도메인 (예를 들면, VL-CH1-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 두 번째 경쇄는 VL 도메인과 교환된 VH 도메인 (예를 들면, VH-CL)을 포함할 수 있거나, 또는 두 번째 중쇄는 HC1 도메인 대신에 CL 도메인 (예를 들면, VH-CL-힌지-CH2-CH3)을 포함할 수 있고, 그리고 두 번째 경쇄는 CL 도메인 대신에 CH1 도메인 (예를 들면, VL-CH1)을 포함할 수 있다. 이러한 구체예에서, 첫 번째 중쇄 및 첫 번째 경쇄는 전통적인 도메인 구조를 갖는다.

[0516] 헤미바디에 대한 또 다른 가능한 형식에서,

[0517] i) 첫 번째 헤미바디는 다음을 포함하고:

[0518] a) 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합할 수 있는 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편, 예를 들면, Fab 단편);

[0519] b) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드; 및

[0520] c) 2개의 아단위를 포함하는 Fc 도메인,

[0521] 여기서 (b)의 폴리펩티드는 (a)의 항원 결합 모이어티의 C 말단에 (예를 들면, (a)의 Fab 단편의 사슬 중에서 하나의 C 말단에) 자체의 N 말단에 의해 융합되고, 그리고 (c)의 Fc 도메인의 아단위 중에서 하나의 N 말단에 자체의 C 말단에 의해 융합되며;

[0522] 그리고 여기서 첫 번째 헤미바디는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하지 않고; 그리고

[0523] ii) 두 번째 헤미바디는 다음을 포함하고:

[0524] d) 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합할 수 있는 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편, 예를 들면, Fab);

[0525] e) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드; 및

[0526] f) 2개의 아단위를 포함하는 Fc 도메인,

[0527] 여기서 (e)의 폴리펩티드는 (d)의 항원 결합 모이어티의 C 말단에 (예를 들면, (d)의 Fab 단편의 사슬 중에서 하나의 C 말단에) 자체의 N 말단에 의해 융합되고, 그리고 (f)의 Fc 도메인의 아단위 중에서 하나의 N 말단에 자체의 C 말단에 의해 융합되며;

[0528] 그리고 여기서 두 번째 헤미바디는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하지 않고;

[0529] 여기서 첫 번째 헤미바디의 상기 VH 도메인 및 두 번째 헤미바디의 상기 VL 도메인은 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성할 수 있다.

[0530] 융합은 직접적으로 또는 간접적으로, 예를 들면, 펩티드 링커를 통해 이루어질 수 있다.

[0531] 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 표적 항원에 결합하는 다른 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 추가의 항체 단편), 예를 들면, 표적 항원에 결합하는 다른 Fab 단편을 더욱 포함한다. 따라서, 일부 구체예에서 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디 (일반적으로 둘 모두)는 각각, 표적 항원에 결합할 수 있는 2개의 항원 결합 모이어티를 포함한다. 헤미바디의 2개의 항원 결합 모이어티는 바람직하게는, 동일한 에피토프에서 또는 상이한 에피토프에서 서로 동일한 표적 항원에 결합할 수 있다. 임의적으로, 첫 번째와 두 번째 항체는 각각, 표적 항원에 결합할 수 있는 2개 이하의 항원 결합 모이어티를 포함한다. 다른 구체예에서, 이들은 표적 항원에 결합할 수 있는 2개 초과의 항원 결합 모이어티를 포함할 수 있다.

[0532] 한 구체예에서, 이러한 추가의 항체 결합 모이어티 (예를 들면, 항체 단편, 예를 들면, Fab 단편)는 Fc 도메인의 다른 아단위의 N 말단에 자체의 C 말단 (예를 들면, 자체의 사슬 중에서 하나, 예를 들면, 중쇄의 것)에 의해 융합된다. 따라서, 한 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 두팔 헤미바디일 수 있는데, 여기서

각 팔은 표적 항원에 대한 결합 모이어티를 보유한다.

[0533] 따라서, 한 구체예에서, 분할 항체는 다음을 포함하고:

[0534] i) 첫 번째 헤미바디로서,

[0535] a) 첫 번째 항원 결합 모이어티 (예를 들면, Fab 단편)로서, 여기서 상기 항원 결합 모이어티 (예를 들면, Fab 단편)는 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합하고;

[0536] b) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드; 및

[0537] c) 첫 번째와 두 번째 아단위를 포함하는 Fc 도메인을 포함하고,

[0538] 여기서 (b)의 폴리펩티드가 (a)의 항원 결합 모이어티의 C 말단에 (예를 들면, (a)의 Fab 단편의 사슬 중에서 하나의 C 말단에) 자체의 N 말단에 의해 융합되고, 그리고 (c)의 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 자체의 C 말단에 의해 융합되며;

[0539] 그리고 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합하는 두 번째 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 두 번째 Fab 단편)를 더욱 포함하고, 여기서 두 번째 항원 결합 모이어티 (예를 들면, Fab)가 (c)의 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 자체의 C 말단에 의해 (예를 들면, 자체의 사슬 중에서 하나의 C 말단에 의해) 융합되는 첫 번째 헤미바디;

[0540] 여기서 첫 번째 헤미바디는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인을 포함하지 않고; 그리고

[0541] ii) 두 번째 헤미바디로서,

[0542] d) 첫 번째 항원 결합 모이어티 (예를 들면, Fab 단편)로서, 여기서 상기 항원 결합 모이어티 (예를 들면, Fab 단편)는 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합하고;

[0543] e) 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드; 및

[0544] f) 첫 번째와 두 번째 아단위를 포함하는 Fc 도메인을 포함하고,

[0545] 여기서 (e)의 폴리펩티드가 (d)의 항원 결합 모이어티의 C 말단에 (예를 들면, (d)의 Fab 단편의 사슬 중에서 하나의 C 말단에) 자체의 N 말단에 의해 융합되고, 그리고 (f)의 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 자체의 C 말단에 의해 융합되며;

[0546] 그리고 표적 세포의 표면 상에서 발현된 항원에 결합하는 두 번째 항원 결합 모이어티 (예를 들면, 두 번째 Fab 단편)를 더욱 포함하고, 여기서 두 번째 항원 결합 모이어티 (예를 들면, Fab)가 (f)의 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 자체의 C 말단에 의해 (예를 들면, 자체의 사슬 중에서 하나의 C 말단에 의해) 융합되는 두 번째 헤미바디;

[0547] 여기서 두 번째 헤미바디는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인을 포함하지 않고; 그리고

[0548] 여기서 첫 번째 헤미바디의 상기 VH 도메인 및 두 번째 헤미바디의 상기 VL 도메인은 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 항원 결합 부위를 함께 형성할 수 있다.

[0549] 일부 경우에 바람직할 수 있는 다른 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 각각, 표적 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 단일 항원 결합 모이어티를 갖는다. 따라서, 첫 번째 헤미바디 및/또는 두 번째 헤미바디는 단일특이적이고 표적 항원에 대해 일가일 수 있다. 바람직하게는 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 동일한 에피토프에서 또는 상이한 에피토프에서 서로 동일한 표적 항원에 결합한다.

[0550] 한 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 헤미바디는 외팔 항체이다. 이런 구체예에서, (b)의 폴리펩티드에 융합되지 않는 첫 번째 헤미바디의 Fc 아단위는 또한, 임의의 다른 항원 결합 도메인/모이어티에 융합되지 않고; 및/또는 (e)의 폴리펩티드에 융합되지 않는 두 번째 헤미바디의 Fc 아단위는 또한, 임의의 다른 항원 결합 도메인/모이어티에 융합되지 않는다. 따라서, Fc 도메인은 Fd를 결여하는 아단위를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 헤미바디를 구성하는 폴리펩티드 중에서 하나는 Fc 아단위로 구성되거나 또는 본질적으로 구성될 수 있다.

[0551] 따라서, 일부 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 아래의 폴리펩티드를 포함할 수 있고:

[0552] i) N 말단에서 C 말단으로: Fab 중쇄 (예를 들면, VH-CH1); 임의적 링커; 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VH 도메인; 임의적 링커; 및 Fc 아단위 (예를 들면, CH2-CH3)를 포함하는 폴리펩티드;

[0553] ii) Fab 경쇄 폴리펩티드 (예를 들면, VL-CL); 및

[0554] iii) Fc 아단위 폴리펩티드 (예를 들면, CH2-CH3);

[0555] 여기서 (i)의 Fab 중쇄 및 (ii)의 Fab 경쇄는 표적 항원에 결합할 수 있는 Fab 단편을 형성한다.

[0556] 두 번째 헤미바디는 아래의 폴리펩티드를 포함할 수 있고:

[0557] iv) N 말단에서 C 말단으로: Fab 중쇄 (예를 들면, VH-CH1); 임의적 링커; 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위의 VL 도메인; 임의적 링커; 및 Fc 아단위 (예를 들면, CH2-CH3)를 포함하는 폴리펩티드;

[0558] v) Fab 경쇄 폴리펩티드 (예를 들면, VL-CL), 및

[0559] vi) Fc 아단위 폴리펩티드 (예를 들면, CH2-CH3);

[0560] 여기서 (iv)의 Fab 중쇄 및 (v)의 Fab 경쇄는 표적 항원에 결합할 수 있는 Fab 단편을 형성한다.

[0561] 이들 외팔 헤미바디의 일부 구체예에서, (i) 및 (iv)의 Fab 중쇄는 서로 동일한 서열을 가질 수 있고; 그리고 ii) 및 (v)의 Fab 경쇄 폴리펩티드는 서로 동일한 서열을 가질 수 있다.

[0562] 상이한 특이성을 갖는 Fab가 있는 임의의 상기 형식의 일부 구체예에서, 경쇄 및 그들의 개별 중쇄의 정확한 조립은 아래에 더욱 논의된 바와 같은 전하 변경을 이용함으로써 보조될 수 있다.

[0563] 이종이량체성 중쇄의 정확한 조립은 아래에 더욱 논의된 바와 같이, 노브 인투 홀 기술에 의해 보조될 수 있다.

[0564] **H. 예시적인 분할 다중특이적 분할 항체**

[0565] 표적 결합 (예를 들면, CEA 결합)에 관련된 양상과 구체예 및 DOTA 결합에 관련된 양상과 구체예는 일부 구체예에서 조합될 수 있다. 한 구체예에서, 다중특이적 항체는 상기 명시된 임의의 서열을 갖는, CEA에 대한 결합 부위 및 상기 명시된 임의의 서열을 갖는, DOTA 킬레이트에 대한 결합 부위를 포함할 수 있다. 다른 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, 예를 들면, 전술된 바와 같은 임의의 서열을 포함하는, CEA에 대한 결합 부위를 포함하고, 그리고 연결되어 전술된 바와 같은 임의의 서열을 갖는, DOTA 킬레이트에 대한 결합 부위를 형성한다. 또한, CEA 결합 및/또는 DOTA 결합에 관련된 양상과 구체예는 전술된 바와 같은 항체에 대한 바람직한 형식과 조합될 수 있는 것으로 명시적으로 예기된다 - 다시 말하면, 임의의 바람직한 형식에서, 표적 항원에 결합하는 부분은 전술된 바와 같은 CDR 또는 가변 영역 서열을 포함하는 CEA 결합체일 수 있고, 및/또는 방사성 핵종-표지화 화합물에 결합하는 부분은 전술된 바와 같은 CDR 및/또는 가변 영역 서열을 갖는 DOTA 결합체일 수 있다.

[0566] 분할 항체의 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는

[0567] a) CEA에 특이적으로 결합하고 2개의 항체 중쇄 및 2개의 항체 경쇄로 구성되는 첫 번째 전장 항체; 및

[0568] b) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드로서, 여기서 상기 중쇄 가변 도메인은 서열 번호 35-37의 중쇄 CDR을 포함하고 (또는 여기서 CDR-H1은 서열 GFSLTDYGVH를 갖고), 및/또는 여기서 상기 중쇄 가변 도메인은 서열 번호 41에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함할 수 있고;

[0569] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 첫 번째 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단이 융합된다.

[0570] 첫 번째 헤미바디는, (b)의 폴리펩티드와 연결되어 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 결합 도메인을 형성하는 경쇄 도메인을 포함하지 않는다.

[0571] (b)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 예를 들면, 1-10개의 잔기를 더욱 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 임의적으로, 이들은 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기일 수 있다. 다른 구체예에서, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST

일 수 있다.

[0572] 일부 구체예에서, 2개의 항체 중쇄는 부분 (a)에서 동일한 가변 도메인, 임의적으로 동일한 가변, CH1 및/또는 CH2 도메인을 갖는다. 이들은 예를 들면, 노브 인투 홀 돌연변이 및 이종이량체의 정확한 연결을 증진하도록 의도된 다른 돌연변이의 창출에 의해, 임의적으로 그들의 CH3 도메인에서만 다를 수 있다.

[0573] 두 번째 헤미바디는

[0574] c) CEA에 특이적으로 결합하고 2개의 항체 중쇄 및 2개의 항체 경쇄로 구성되는 두 번째 전장 항체; 및

[0575] d) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드로서, 여기서 상기 경쇄 가변 도메인은 서열 번호: 38-40의 CDR을 포함하고 및/또는 여기서 상기 경쇄 가변 도메인은 서열 번호 42에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함할 수 있고;

[0576] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 두 번째 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단과 융합되고, 그리고 여기서 두 번째 헤미바디는, (d)의 폴리펩티드와 연결되어 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 결합 도메인을 형성하는 중쇄 도메인을 포함하지 않는다.

[0577] 일부 구체예에서, 2개의 항체 중쇄는 부분 (c)에서 서로 동일한 가변 도메인, 임의적으로 동일한 가변, CH1 및/또는 CH2 도메인을 갖는다. 이들은 예를 들면, 노브 인투 홀 돌연변이 및 이종이량체의 정확한 연결을 증진하도록 의도된 다른 돌연변이의 창출에 의해, 임의적으로 그들의 CH3 도메인에서만 다를 수 있다.

[0578] CEA 결합 부위/서열은 전술된 CEA 결합 부위/서열 중 임의의 것일 수 있다.

[0579] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0580] 예를 들면, (a)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 22-24의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 26에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 103에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (a)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다.

[0581] 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 19-21의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 25에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (a)에서 하나의 중쇄는 서열 번호: 100의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 102의 서열을 갖는다.

[0582] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 100의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 101의 두 번째 중쇄 (여기서 C 말단 AST는 임의적이고 부재하거나 또는 본원에서 설명된 바와 같은 다른 C 말단 연장으로 치환될 수 있다) 및 서열 번호: 103의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0583] 두 번째 헤미바디 역시 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0584] 예를 들면, (c)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 22-24의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 26에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 103에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 첫 번째 헤미바디의 (a)에서 경쇄와 동일한 서열을 갖는 것이 바람직할 수 있다, 예를 들면, 부분 (a) 및 (c)에서 모든 상기 경쇄는 동일한 서열을 갖는 것이 바람직할 수 있다.

[0585] 일부 구체예에서, 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 19-21의 CDR을 포함하고 및/또는 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 25에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (c)의 하나의 중쇄는 서열 번호: 97의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 99의 서열을 갖는다.

[0586] 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 97의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 98의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 103의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0587] 유사하게, 표적 결합 (예를 들면, CEA 결합)에 관련된 양상과 구체예 및 pb-DOTAM 결합에 관련된 양상과 구체예

는 일부 구체예에서 조합될 수 있다. 한 구체예에서, 다중특이적 항체는 상기 명시된 임의의 서열을 갖는, CEA에 대한 결합 부위 및 상기 명시된 임의의 서열을 갖는, pb-DOTAM 킬레이트에 대한 결합 부위를 포함할 수 있다. 다른 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 각각, 예를 들면, 전술된 바와 같은 임의의 서열을 포함하는, CEA에 대한 결합 부위를 포함하고, 그리고 연결되어 전술된 바와 같은 임의의 서열을 갖는, pb-DOTAM 킬레이트에 대한 결합 부위를 형성할 수 있다. 또한, CEA 결합 및/또는 pb-DOTAM 결합에 관련된 양상과 구체예는 전술된 바와 같은 항체에 대한 바람직한 형식과 조합될 수 있는 것으로 명시적으로 예기된다 - 다시 말하면, 임의의 바람직한 형식에서, 표적 항원에 결합하는 부분은 전술된 바와 같은 CDR 또는 가변 영역 서열을 포함하는 CEA 결합체일 수 있고, 및/또는 방사성 핵종-표지화 화합물에 결합하는 부분은 전술된 바와 같은 CDR 및/또는 가변 영역 서열을 갖는 pb-DOTAM 결합체일 수 있다.

[0588] 분할 항체의 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는

[0589] a) CEA에 특이적으로 결합하고 2개의 항체 중쇄 및 2개의 항체 경쇄로 구성되는 첫 번째 전장 항체; 및

[0590] b) 항체 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드로서, 여기서 상기 중쇄 가변 도메인은 서열 번호 1-3의 중쇄 CDR을 포함하고, 및/또는 여기서 상기 중쇄 가변 도메인은 서열 번호 7에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함할 수 있고;

[0591] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 첫 번째 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VH 도메인의 N 말단이 융합된다.

[0592] 첫 번째 헤미바디는, (b)의 폴리펩티드와 연결되어 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 결합 도메인을 형성하는 경쇄 도메인을 포함하지 않는다.

[0593] (b)의 폴리펩티드는 VH 도메인의 C 말단에서 하나 이상의 잔기, 임의적으로 하나 이상의 알라닌 잔기, 임의적으로 단일 알라닌 잔기를 더욱 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들면, (b)의 폴리펩티드는 C 말단 알라닌 연장을 갖는 서열 번호: 7, 예를 들면, 아래의 서열을 포함할 수 있거나 또는 이것으로 구성된다:

[0594] VTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSA

[0595] 다른 구체예에서, 추가의 잔기는 전술된 바와 같은 CH1 도메인의 N 말단 부분, 예를 들면, CH1 도메인의 N 말단으로부터, 예를 들면, 인간 IgG1 CH1 도메인으로부터 1-10개의 잔기일 수 있다. 예를 들면, 추가의 잔기는 AST일 수 있다.

[0596] 일부 구체예에서, 2개의 항체 중쇄는 부분 (a)에서 동일한 가변 도메인, 임의적으로 동일한 가변, CH1 및/또는 CH2 도메인을 갖는다. 이들은 예를 들면, 노브 인투 홀 돌연변이 및 이종이량체의 정확한 연결을 증진하도록 의도된 다른 돌연변이의 창출에 의해, 임의적으로 그들의 CH3 도메인에서만 다를 수 있다.

[0597] 두 번째 헤미바디는

[0598] c) CEA에 특이적으로 결합하고 2개의 항체 중쇄 및 2개의 항체 경쇄로 구성되는 두 번째 전장 항체; 및

[0599] d) 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하거나 또는 이것으로 구성되는 폴리펩티드로서, 여기서 상기 경쇄 가변 도메인은 서열 번호: 4-6의 CDR을 포함하고 및/또는 여기서 상기 경쇄 가변 도메인은 서열 번호 8에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함할 수 있고;

[0600] 여기서 상기 폴리펩티드는 상기 두 번째 전장 항체의 2개의 중쇄 중에서 하나의 C 말단에, 바람직하게는 펩티드 링커를 통해, VL 도메인의 N 말단과 융합되고, 그리고 여기서 두 번째 헤미바디는, (d)의 폴리펩티드와 연결되어 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 결합 도메인을 형성하는 중쇄 도메인을 포함하지 않는다.

[0601] 일부 구체예에서, 2개의 항체 중쇄는 부분 (c)에서 서로 동일한 가변 도메인, 임의적으로 동일한 가변, CH1 및/또는 CH2 도메인을 갖는다. 이들은 예를 들면, 노브 인투 홀 돌연변이 및 이종이량체의 정확한 연결을 증진하도록 의도된 다른 돌연변이의 창출에 의해, 임의적으로 그들의 CH3 도메인에서만 다를 수 있다.

[0602] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0603] 예를 들면, (a)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 22-24의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 26에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체

예에서 이들은 서열 번호: 34에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (a)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다.

[0604] 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 19-21의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 25에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (a)에서 하나의 중쇄는 서열 번호: 27의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 28의 서열을 갖는다.

[0605] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 28의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 32 (또는 본원에서 설명된 바와 같은 추가의 C 말단 알라닌 또는 다른 C 말단 연장, 예컨대 AST를 갖는 연장을 포함하는 이의 변이체)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 34의 경쇄를 포함할 수 있다. C 말단 알라닌 연장을 갖는 서열 번호: 32의 변이체는 아래에 도시된다:

[0606] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFA
YYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPP
GKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSA

[0607] 다른 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 항체 A5B7 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0608] 예를 들면, (a)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 46-48의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 50에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 54에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (a)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다.

[0609] 일부 구체예에서, 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 43-45의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 49에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (a)에서 하나의 중쇄는 서열 번호: 51의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 53의 서열을 갖는다.

[0610] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 51의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 52 (또는 본원에서 설명된 바와 같은 C 말단 알라닌 연장 또는 다른 C 말단 연장, 예컨대 AST를 갖는 연장을 포함하는 이의 변이체)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 54의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0611] 다른 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 항체 T84.66 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0612] 예를 들면, (a)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 14-16의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 18에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 89에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (a)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다.

[0613] 일부 구체예에서, 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 11-13의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 17에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (a)에서 하나의 중쇄는 서열 번호: 86의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 88의 서열을 갖는다.

[0614] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 86의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 87 (또는 C 말단 "AST"가 부재하거나 또는 본원에서 개시된 바와 같은 상이한 C 말단 연장에 의해 치환되는 이의 변이체)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 89의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0615] 다른 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 항체 28A9 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0616] 예를 들면, (a)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 62-64의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 66에 적어도 90,

91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 96에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (a)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다.

[0617] 일부 구체예에서, 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 59-61의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 65에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (a)에서 하나의 중쇄는 서열 번호: 93의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 95의 서열을 갖는다.

[0618] 특정한 구체예에서, 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 93의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 94 (또는 C 말단 "AST"가 없거나 또는 본원에서 개시된 바와 같은 상이한 C 말단 연장을 갖는 이의 변이체)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 96의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0619] 일부 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0620] 예를 들면, (c)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 22-24의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 26에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 34에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 첫 번째 헤미바디의 (a)에서 경쇄와 동일한 서열을 갖는 것이 바람직할 수 있다, 예를 들면, 부분 (a) 및 (c)에서 모든 상기 경쇄는 동일한 서열을 갖는 것이 바람직할 수 있다.

[0621] 일부 구체예에서, 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 19-21의 CDR을 포함하고 및/또는 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 25에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (c)의 하나의 중쇄는 서열 번호: 29의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 30의 서열을 갖는다.

[0622] 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 30의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 33의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 34의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0623] 다른 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 A5B7 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0624] 예를 들면, (c)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 46-48의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 50에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 58에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 첫 번째 헤미바디의 (a)에서 경쇄와 동일한 서열을 갖는 것이 바람직할 수 있다, 예를 들면, 부분 (a) 및 (c)에서 모든 상기 경쇄는 동일한 서열을 갖는 것이 바람직할 수 있다.

[0625] 일부 구체예에서, 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 43-45의 CDR을 포함하고 및/또는 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 49에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (c)의 하나의 중쇄는 서열 번호: 55의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 57의 서열을 갖는다.

[0626] 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 55의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 56의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 58의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0627] 다른 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 항체 T84.66 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0628] 예를 들면, (c)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 14-16의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 18에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 89에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다.

[0629] 일부 구체예에서, 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 11-13의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 부분

(c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 17에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (c)에서 하나의 중쇄는 서열 번호: 83의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 85의 서열을 갖는다.

[0630] 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 83의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 84의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 89의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0631] 다른 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 항체 28A9 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열 (다시 말하면, CDR 또는 VH/VL 도메인)을 가질 수 있다.

[0632] 예를 들면, (c)에서 2개의 경쇄는 서열 번호 62-64의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 서열 번호 66에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서 이들은 서열 번호: 96에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, (c)에서 2개의 경쇄는 서로 동일한 것이 바람직할 수 있다.

[0633] 일부 구체예에서, 부분 (c)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호: 59-61의 CDR을 포함할 수 있고 및/또는 부분 (a)에서 2개의 항체 중쇄는 서열 번호 65에 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일성을 갖는 가변 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 부분 (c)에서 하나의 중쇄는 서열 번호: 90의 서열을 갖고, 그리고 다른 중쇄는 서열 번호: 92의 서열을 갖는다.

[0634] 특정한 구체예에서, 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 90의 첫 번째 중쇄 및 서열 번호: 91의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 96의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0635] 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 CEA의 동일한 에피토프에 결합한다. 따라서, 예를 들면, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 A5B7 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 T84.66 (이의 인간화 버전 포함)으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 28A9 (이의 인간화 버전 포함)로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째와 두 번째 헤미바디 둘 모두 MFE23 (이의 인간화 버전 포함)으로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있다.

[0636] 따라서, 예를 들면:

[0637] i) 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 28의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 32 (임의적으로 본원에서 설명된 바와 같은 C 말단 연장, 예를 들면, AST 포함)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 34의 경쇄를 포함할 수 있고; 그리고 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 30의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 33의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 34의 경쇄를 포함할 수 있거나;

[0638] ii) 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 51의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 52 (임의적으로 본원에서 설명된 바와 같은 C 말단 연장, 예를 들면, AST 포함)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 54의 경쇄를 포함할 수 있고; 그리고 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 55의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 56의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 58의 경쇄를 포함할 수 있거나;

[0639] iii) 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 86의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 87 (여기서 C 말단 AST 잔기는 임의적이고, 그리고 부재하거나 또는 대안적 C 말단 연장에 의해 치환될 수 있다)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 89의 경쇄를 포함할 수 있고; 그리고 두 번째 헤미바디 항체는 서열 번호: 83의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 84의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 89의 경쇄를 포함할 수 있거나; 또는

[0640] iv) 첫 번째 헤미바디는 서열 번호: 93의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 94 (여기서 C 말단 AST 잔기는 임의적이고, 그리고 부재하거나 또는 대안적 C 말단 연장에 의해 치환될 수 있다)의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 96의 경쇄를 포함할 수 있고; 그리고 두 번째 헤미바디는 서열 번호: 90의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 91의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 96의 경쇄를 포함할 수 있다.

[0641] 다른 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 상기 논의된 바와 같이, CEA의 상이한 에피토프에 결합한다. 따라서, 예를 들면, 첫 번째 헤미바디는 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 A5B7로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있거나; 또는, 첫 번째 헤미바디는 항체 A5B7로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 두 번째 헤미바디는 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가

질 수 있다. 이중파라토픽 (CH1A1A 및 A5B7) 쌍의 이용의 실례는 실시예 6c에서 설명된다.

[0642] 또 다른 특정한 구체예에서, 표적이 CEA일 수 있고, 예를 들면, 항체 CH1A1A로부터 유래된 CEA 결합 서열을 가질 수 있고, 그리고 형식이 도 25의 C에서 도시된 바와 같을 수 있다. 임의적으로, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 연결되어 Pb-DOTAM 킬레이트 (Pb-DOTAM)에 대한 기능적 항원 결합 부위를 형성한다.

[0643] **I 폴리펩티드 링커**

[0644] 병용 요법에서 이용된 다중특이적 또는 분할 다중특이적 항체에서, 성분 또는 도메인 (예를 들면, Fc 도메인, 항체 결합 모이어티, VH, VL)은 펩티드 링커를 통해 간접적으로 다른 성분 또는 도메인에 융합될 수 있다.

[0645] 링커 (예를 들면, Fab 단편 및 방사성-표지화된 화합물에 대한 VH/VL 사이의 링커 및/또는 방사성-표지화된 화합물에 대한 VH/VL 및 Fc 도메인 사이의 링커)는 적어도 5개 또는 적어도 10개 아미노산, 바람직하게는 5개 내지 100개, 예를 들면, 5개 내지 70개, 5개 내지 60개 또는 5개 내지 50개; 또는 10개 내지 100개, 10개 내지 70개, 10개 내지 60개 또는 10개 내지 50개 아미노산의 펩티드일 수 있다. 일부 구체예에서, 링커는 길이에서 15-30개 아미노산, 예를 들면, 길이에서 15-25개, 예를 들면, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24개 아미노산인 것이 바람직할 수 있다. 링커는 강성 링커 또는 유연한 링커일 수 있다. 일부 구체예에서, 이것은 Thr, Ser, Gly 및/또는 Ala 잔기를 포함하거나 또는 이들로 구성되는 유연한 링커이다. 예를 들면, 이것은 Gly 및 Ser 잔기를 포함하거나 또는 이들로 구성될 수 있다. 일부 구체예에서 이것은 반복 모티프 예컨대 (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)n을 가질 수 있는데, 여기서 n은 예를 들면 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다. 적합한, 비면역원성 펩티드 링커는 예를 들면, (G4S)n, (SG4)n, (G4S)n 또는 G4(SG4)n 펩티드 링커를 포함하는데, 여기서 "n"은 일반적으로 1 및 10 사이, 전형적으로 2 및 4 사이의 숫자이다. 다른 구체예에서 상기 펩티드 링커는 (GxS)n 또는 (GxS)nGm인데, 여기서 G = 글리신, S = 세린, 그리고 (x = 3, n= 3, 4, 5 또는 6, 그리고 m= 0, 1, 2 또는 3) 또는 (x = 4, n= 2, 3, 4 또는 5, 그리고 m= 0, 1, 2 또는 3), 예를 들면, x = 4 및 n= 2 또는 3, 예를 들면, x = 4, n= 2이다. 일부 구체예에서, 링커는 서열 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (서열 번호: 31)일 수 있거나 또는 이것을 포함할 수 있다. 다른 구체예에서 링커는 GGGGSGGGGSGGGGSGGSGG 또는 GGGGSGGGGSGGGGSGGSGGS 또는 GGGGSGGGGSGGGGSGGSGGG이거나, 또는 이것을 포함할 수 있다. 다른 예시적인 펩티드 링커는 EPKSC(D)-(G4S)2이다. 추가적으로, 항원 결합 모이어티가 Fc 도메인 아단위의 N 말단에 융합되는 경우에, 이것은 추가의 펩티드 링커와 함께 또는 이것 없이, 면역글로불린 힌지 영역 또는 이의 부분을 통해 융합될 수 있다.

[0646] 본 발명자들은 y개의 아미노산으로 구성되는 펩티드 링커 내에, y 위치에서 Ser (다시 말하면, 링커의 마지막/C 말단 아미노산으로서 Ser)이 y+2 아미노산 (다시 말하면, 링커 내에 마지막 아미노산으로부터 C 말단 방향으로 2개 잔기 상에 배치된 아미노산)의 성격에 따라서, 이러한 y+2 아미노산의 글리코실화를 유도할 수 있다고 결정하였다. 이런 이유로, 링커의 마지막 세린 잔기는 y-2 또는 y-3 위치에 배치되는 것이 바람직할 수 있다 (다시 말하면, 링커의 마지막 세린 잔기는 링커 내에 마지막 아미노산으로부터 N 말단 방향으로 2 또는 3개 아미노산의 위치에 있는 것이 바람직할 수 있다). 일부 구체예에서, 링커는 Gly 및 Ser으로 구성된 군에서 선택되는 y개의 연속 아미노산 잔기로 구성될 수 있는데, 예를 들면 여기서 y=5 또는 그 초과; 예를 들면 y=5 내지 100, 5 내지 70, 5 내지 60, 5 내지 50; 또는 10 내지 100, 10 내지 70, 10 내지 60 또는 10 내지 50; 예를 들면, 15 내지 31 또는 15 내지 30, 예를 들면, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25이고, 그리고 여기서 마지막 세린은 y-2 또는 y-3 위치에 있다. (따라서, y-2 위치에서 세린 및 y-1과 y 위치에서 글리신이 있을 수 있거나; 또는 y-3 위치에서 세린 및 y-2, y-1과 y 위치에서 글리신이 있을 수 있다). 일부 구체예에서 y=20 또는 21인 것이 바람직할 수 있다. 일부 구체예에서, 링커는 (GxS)n(GGSGG) 또는 (GxS)n(GGSGGG)이고, G = 글리신, S = 세린, x = 4 및 n= 1 내지 20 또는 2 내지 20 또는 1 내지 10 또는 2 내지 10, 예를 들면, n= 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9, 예를 들면, n=2 내지 5 또는 2 내지 4인 것이 바람직할 수 있다. 예를 들면, 링커는 GGGGSGGGGSGGGGSGGSGG 또는 GGGGSGGGGSGGGGSGGSGGG일 수 있다.

[0647] **J. CD40 효현제**

[0648] 본원 발명의 병용 요법은 CD40 효현제를 포함한다.

[0649] 인간 CD40 항원은 종양 괴사 인자 수용체 (TNF-R) 패밀리에 속하는 50 kDa 세포 표면 당단백질이다 (Stamenkovic et al., EMBO J. 8:1403-10 (1989)). 이것은 또한, "종양 괴사 인자 수용체 상과 구성원 5"로서 알려져 있다. 대안적 지정은 B 세포 표면 항원 40, Bp50, CD40L 수용체, CDw40, CDW40, MGC9013, p50 또는 TNFRSF5를 포함한다. 이것은 예를 들면 UniProt 엔트리 번호 P25942 하에 등록된다. 한 구체예에서 인간 CD40

항원은 아래에 도시된 서열을 갖는다 (표 1 참조).

[0650] 표 1: 인간 CD40 항원의 단백질 서열

표 1

인간 CD40 항원의 단백질 서열	MVRLPLQCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVSDCTE FTETECLPCGESEFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGTSETDTICTCE EGWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICEPCPVGFFSNVSSAFE KCHPWTSCETKDLVVQQAGTNKTDVVCGPQDRLRALVVIPIIFGILFAILLVL VFIKKVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAPVQETLHGCQPVTQED GKESR ISVQERQ

[0651]

[0652] CD40은 항원 제시 세포 (APC)에 의해 발현되고, 그리고 T 세포 상에서 이의 자연 리간드의 인게이지먼트는 수지상 세포 및 B 세포를 비롯한 APC를 활성화한다.

[0653] 본원에서 이용된 바와 같이, "CD40 효현제"는 CD40/CD40L 상호작용을 효현작용하는 임의의 모이어티를 포함한다. 전형적으로 이들 모이어티는 효현성 CD40 항체 또는 효현성 CD40L 폴리펩티드일 것이다. "효현제"는 세포 상에서 수용체와 결합되고, 그리고 상기 수용체의 자연 리간드에 의해 개시된 것과 유사하거나 또는 동일한 반응 또는 활성을 개시한다. 한 가지 양상에서, "CD40 효현제"는 아래의 반응 중 임의의 것 또는 모두를 유도하지만 이들에 한정되지 않는다: B 세포 증식 및/또는 분화; ICAM- 1, E-셀렉틴, VC AM 등과 같은 분자를 통한 세포간 부착의 상향조절; 친염증성 사이토킨 예컨대 IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF 등의 분비; TRAF (예를 들면, TRAF2 및/또는 TRAF3), MAP 키나아제 예컨대 NIK (NF-kB 유도 키나아제), I-카파 B 키나아제 (IKK /.베타.), 전사 인자 NF-kB, Ras 및 MEK/ERK 경로, PI3K AKT 경로, P38 MAPK 경로 등과 같은 경로에 의한 CD40 수용체를 통한 신호 전달; XIAP, mcl-1, bcl-x 등과 같은 분자에 의한 항아폽토시스성 신호의 전달; B 및/또는 T 세포 기억 생성; B 세포 항체 생성; B 세포 아이소타입 변환, MHC 클래스 II 및 CD80/86의 세포 표면 발현의 상향조절, 기타 등등.

[0654] 예시적인 효현제는 CD40 리간드 CD40L (이의 기능적 변이체 포함), 또는 CD40L 또는 이의 기능적 변이체, 예컨대 재조합 인간 CD40L 또는 아데노바이러스 벡터 발현된 CD40L을 발현하는 핵산을 포함한다.

[0655] 다른 구체예에서, 효현제는 항-CD40 항체, 예를 들면, 단일클론 항체일 수 있다. 예를 들면, 항체는 인간 또는 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 IgG, 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4일 수 있다.

[0656] 일부 구체예에서, 항체는 ≤ 1μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면, 10^{-8} M 이하, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)로 CD40에 결합할 수 있다. 다른 구체예에서, 항체는 4 x 10^{-10} M 이하의 K_D로 인간 CD40에 결합할 수 있다.

[0657] 예시적인 항-CD40 효현제 항체는 당해 분야에서 알려져 있다. 이들 또는 이들의 기능적 변이체 중 임의의 것이 본원 발명의 구체예에서 이용될 수 있다.

[0658] CP-870,893 (Pfizer) (셀리크렐루맙으로서 또한 알려져 있음)은 종양 세포 사멸에 대한 면역 매개 및 비-면역 매개 효과를 나타내는 완전 인간 CD40 효현제 IgG2 mAb이다 (Vonderheide RH, Flaherty KT, Khalil M, Stumacher MS, Bajor DL, Hutnick NA, et al. Clinical activity and immune modulation in cancer patients treated with CP-870,893, a novel CD40 agonist monoclonal antibody. J Clin Oncol. 2007;25:876-83).

[0659] 다세투주맙 (Seattle Genetics)은 CD40에 대한 인간화 mAb IgG1이다 (Khubchandani S, Czuczman MS, Hernandez-Ilizaliturri FJ. Dacetuzumab, a humanized mAb against CD40 for the treatment of hematological malignancies. Curr Opin Investig Drugs. 2009;10:579-87.).

[0660] Chi Lob 7/4 (University of Southampton)는 키메라 IgG1이다 (Johnson PW, Steven NM, Chowdhury F, Dobbyn J, Hall E, Ashton-Key M, et al. A Cancer Research UK phase I study evaluating safety, tolerability, and biological effects of chimeric anti-CD40 monoclonal antibody (MAb), Chi Lob 7/4. J Clin Oncol. 2010;28:2507).

[0661] APX005M은 인간화 토끼 IgG1이다 (Bjorck P, Filbert E, Zhang Y, Yang X, Trifan O. The CD40 agonistic monoclonal antibody APX005M has potent immune stimulatory capabilities. J Immunother Cancer. 2015;3:P198. doi: 10.1186/2051-1426-3-S2-P198.)

[0662] ADC-1013은 완전 인간 IgG1이다 (Mangsbo SM, Broos S, Fletcher E, Veitonmäki N, Furebring C, Dahlén E, Norlén P, Lindstedt M, Tötterman TH, Ellmark P. The human agonistic CD40 antibody ADC-1013 eradicates bladder tumors and generates T-cell-dependent tumor immunity. Clin Cancer Res. 2015;21:1115-1126. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0913.)

[0663] CDX-1140은 완전 인간 IgG2이다 (Vitale LA, Thomas LJ, He LZ, O'Neill T, Widger J, Crocker A, Sundarapandiyan K, Storey JR, Forsberg EM, Weidlick J, et al. Development of CDX-1140, an agonist CD40 antibody for cancer immunotherapy. Cancer Immunol Immunother. 2019;68:233-245. doi: 10.1007/s00262-018-2267-0.)

[0664] **K. 면역 관문 저해제**

[0665] 본원 발명의 병용 요법은 면역 관문 저해제를 포함한다.

[0666] 예시적인 면역 관문 저해제는 CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-1 5049, CHK1, CHK2, A2aR, B-7 또는 이들의 조합의 저해제를 포함한다.

[0667] 일부 구체예에서, 관문 저해제는 PD1, PDL1 또는 CTLA4의 저해제일 수 있다.

[0668] 인간 PD-L1 (또는 PDL1) 항원은 또한, "예정된 세포 사멸 1 리간드 1" 또는 CD274 분자로서 지정된다. 대안적 지정은 B7-H, B7H1, B7-H1, B7 동족체 1, MGC142294, MGC142296, PDCD1L1, PDCD1LG1, PDCD1 리간드 1, PDL1, PD-L1, 예정된 사멸 리간드 1을 포함한다. 한 구체예에서 인간 PD-L1 항원은 실례에 관해 말하자면 UniProt 엔트리 번호 Q9NZQ7로서 등록된, 아래에 도시된 서열을 갖는다 (표 2).

[0669] 표 2:

표 2

[0670]

인간 PD-L1 항원의 단백질 서열	MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAAL IVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKL QDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELTCQAEG YPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFR RLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGR MMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET

[0671] 일부 구체예에서, 저해제는 예를 들면, PD-1 또는 PD-L1에 결합하고 PD1 및 PD-L1 사이의 연결을 차단할 수 있는 소형 분자 또는 펩티드일 수 있다.

[0672] 일부 구체예에서, 저해제는 관문 저해제에 대한 항체, 예를 들면, 항-PD1, 항-PDL1 또는 항-CTLA4 항체이다. 항체는 단일클론 항체일 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 또는 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 IgG, 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4일 수 있다.

[0673] 일부 구체예에서, 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면, 10^{-8} M 이하, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)로 관문 저해제, 예를 들면, PD1, PDL1 또는 CTLA4에 결합할 수 있다. 항체는 인간 PD1, PDL1 또는 CTLA4에 결합할 수 있다.

[0674] 예시적인 항체는 당해 분야에서 알려져 있다. 이들 또는 이들의 기능적 변이체 중 임의의 것이 본원 발명의 구체예에서 이용될 수 있다. 실례는 다음을 포함한다:

[0675] 니볼루맙 (항-PD-1 mAb, BMS-936558 /ONO-4538, Bristol-Myers Squibb, 이전에 MDX-1 106);

[0676] 펨브로리주맙 (항-PD1 mAb, MK-3475, 람브롤리주맙, Keytruda®, Merck);

[0677] 세미플리맙 (항-PD-1, Regeneron);

[0678] 아테졸리주맙 (항-PD-L1 mAb, Tecentriq®, MPDL3280A/RG7446) Roche/Genentech);

[0679] Merck Serono 및 Pfizer에 의해 개발된 완전 인간 IgG1 항-PD-L1 항체인 아벨루맙 (바벤시오);

[0680] AstraZeneca에 의해 개발된 완전 인간 IgG1 항-PD-L1 항체인 더발루맙 (임핀지).

[0681] 예시적인 PD-1 저해제는 또한, Jounce Therapeutics에 의한 JTX-4014; 스파르탈리주맙 (PDR001); 캄렐리주맙 (SHR1210); 신틸리맙 (IBI308); 티슬레리주맙 (BGB-A317); 토리팔리맙 (JS 001); 도스탈리맙 (TSR-042, WBP-285); Incyte 및 MacroGenics에 의해 개발된 인간화 IgG4 단일클론 항체인 INCMGA00012 (MGA012); AstraZeneca/MedImmune 및 GlaxoSmithKline에 의한 AMP-224; 그리고 AstraZeneca에 의한 AMP-514 (MEDI0680)에서 선택될 수 있다.

[0682] 예시적인 PD-L1 저해제는 또한, KN035; Checkpoint Therapeutics에 의한 CK-301; AUNP12; CA-170; 또는 BMS-986189에서 선택될 수 있다.

[0683] CD152로서 또한 알려져 있는 CTLA-4 (세포독성 T 림프구 관련 단백질 4)는 수용체의 CD28 패밀리의 다른 저해제 구성원이고, 그리고 T 세포 상에서 발현된다.

[0684] CTLA-4에 결합하고 이것을 저해하는 항체는 당해 분야에서 알려져 있다.

[0685] 한 가지 실례에서, 항체는 인간 IgG 항체인 이필리무맙 (상품명 Yervoy®, Bristol-Myers Squibb)이다. 다른 실례에서, 항-CTLA-4 항체는 인간 IgG2 항체인 트레멜리무맙 (이전에 티실리무맙, CP-675,206)이다.

[0686] **L. 제거제**

[0687] 제거제가 상기 논의된 바와 같이, 본원 발명의 일부 구체예에서 이용될 수 있다.

[0688] 예시적인 작용제는 항체에 결합하고 신체로부터 이들의 청소율을 증강한다. 이들은 항이디오타입 항체를 포함한다.

[0689] 다른 예시적인 작용제는 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위에 결합하지만, 그들 자체로는 방사성-표지화되지 않는 것들이다. 예를 들면, 방사성-표지화된 화합물이 일정한 화학 원소 (예를 들면, 금속)의 방사성동위원소로 부하된 킬레이터를 포함하는 경우에, 상기 작용제는 동일한 원소 (예를 들면, 금속)의 비방사성 동위원소로 부하된 동일한 킬레이터를 포함할 수 있거나, 또는 비-부하된 킬레이터 또는 상이한 비방사성 모이어티 (예를 들면, 상이한 원소의 비방사성 동위원소) (이것이 항원 결합 부위에 의해 여전히 결합될 수 있다면)로 부하된 킬레이터를 포함할 수 있다.

[0690] 일부 경우에, 제거제/차단제는 분자의 크기 및/또는 수력학적 반지름을 증가시키는 모이어티를 추가적으로 포함할 수 있다. 이들은 순환 중인 항체에 결합하는 분자의 능력을 간섭하지 않으면서, 종양에 접근하는 상기 분자의 능력을 방해한다. 예시적인 모이어티는 친수성 중합체를 포함한다. 상기 모이어티는 예를 들면, 덱스트란, 덱스트린, PEG, 폴리시알산 (PSAs), 히알루론산, 히드록시에틸-전분 (HES) 또는 폴리(2-에틸 2-옥사졸린) (PEOZ)의 중합체 또는 공중합체일 수 있다. 다른 구체예에서 상기 모이어티는 비구조적 펩티드 또는 단백질 예컨대 XTEN 폴리펩티드 (비구조화된 친수성 단백질 중합체), 호모-아미노산 중합체 (HAP), 프롤린-알라닌-세린 중합체 (PAS), 엘라스틴 유사 펩티드 (ELP), 또는 젤라틴 유사 단백질 (GLK)일 수 있다. 다른 예시적인 모이어티는 단백질 예컨대 알부민 예를 들면, 소 혈청 알부민, 또는 IgG를 포함한다. 이들 모이어티/중합체에 적합한 분자량은 예를 들면, 적어도 50 kDa, 예를 들면 50 kDa 내지 2000 kDa 사이의 범위 안에 있을 수 있다. 예를 들면, 분자량은 200-800kDa, 임의적으로 300, 350, 400 또는 450 kDa 초과, 그리고 임의적으로 700, 650, 600 또는 550kDa 미만, 임의적으로 약 500kDa일 수 있다.

[0691] 예시적인 제거제는 본원에서 참조로서 편입되는 WO2019/202399에서 설명된다. 이것은 M-DOTAM (여기서 M-DOTAM은 금속 이온을 통합하는 DOTAM 또는 이의 기능적 변이체이다)에 접합된, 덱스트란 또는 이의 유도체, 예컨대 아미노덱스트란을 포함하는 덱스트란 기반 제거제를 설명하는데, 여기서 상기 복합체는 Pb-DOTAM에 대한 항원 결합 부위에 의해 인식된다. 제거제 내에 존재하는 금속은, 금속 이온-DOTAM 복합체가 항체에 의해 높은 친화성으로 인식된다면, 납의 안정된 (비방사성) 동위원소, 또는 다른 금속 이온의 안정된 또는 본질적으로 안정된 동위원소일 수 있다.

[0692] "안정된 동위원소"는 방사성 붕괴를 겪지 않는 동위원소인 것으로 의미된다. "본질적으로 안정된 동위원소"는 반감기가 매우 긴 방사성 붕괴를 겪어 이용하기에 안전한 동위원소인 것으로 의미된다. 바람직하게는, 금속 이온은 Pb, Ca 및 Bi의 이온에서 선택된다. 예를 들면, 제거제는 DOTAM 또는 이의 기능적 변이체와 복합화된 Pb, DOTAM 또는 이의 기능적 변이체와 복합화된 Ca, 또는 DOTAM 또는 이의 기능적 변이체와 복합화된 ^{209}Bi (1.9 x 10^{19}년의 반감기를 갖는 본질적으로 안정된 동위원소)의 안정된 동위원소를 포함할 수 있다. Pb는 자연 발생 납일 수 있는데, 이것은 안정된 (비방사성) 동위원소 ^{204}Pb, ^{206}Pb, ^{207}Pb 및 ^{208}Pb의 혼합물이다.

[0693] **M. 치료 방법 및 조성물**

[0694] 일정한 양상에서, 본원 발명은 개체에서 증식성 질환 또는 장애, 예를 들면, 종양 또는 암의 치료법으로서 본원에서 설명된 병용 요법을 제공한다. 임의의 상기 양상에 따라서 "개체" 또는 "피험자"는 바람직하게는 포유동물, 더 바람직하게는 인간이다.

[0695] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "암"은 고형암 및 혈액암 둘 모두, 예컨대 림프종, 림프성 백혈병, 폐암, 비소세포 폐 (NSCL) 암, 기관지폐포 세포 폐암, 골암, 췌장 관 선암종 (PDAC)을 비롯한 췌장암, 피부암, 머리 또는 목의 암, 피부 또는 안구내 흑색종, 자궁암, 난소암, 항문 부위의 암, 위암, 위암, 결장암 및/또는 직장암일 수 있는 결장직장암, 유방암, 자궁암, 난관의 암종, 자궁내막의 암종, 자궁경부의 암종, 질의 암종, 외음부의 암종, 호지킨병, 식도의 암, 소장의 암, 내분비계의 암, 갑상선의 암, 부갑상선의 암, 부신의 암, 연조직의 육종, 요도의 암, 음경의 암, 전립선암, 방광의 암, 신장 또는 요관의 암, 신장 세포 암종, 신우의 암종, 중피종, 간세포암, 담도암, 중추신경계 (CNS)의 신생물, 척수 축 종양, 뇌간 신경교종, 다형성 아교모세포종, 성상세포종, 신경초종, 상의세포종, 수모세포종, 수막종, 편평상피 세포 암종, 뇌하수체 선종 및 유잉 육종, 상기 암 중 임의의 것의 불응성 버전, 상기 암 중 임의의 것의 관문-저해제 경험된 버전, 또는 상기 암 중 하나 이상의 조합을 포함한다. 한 구체예에서 이런 "암"은 유방암, 폐암, 결장암, 난소암, 흑색종 암, 방광암, 신장암, 신장암, 간암, 두경부암, 결장직장암, 췌장암, 위 암종 암, 식도암, 중피종 또는 전립선암에서 선택되는 고형 종양이다. 다른 구체예에서 이런 "암"은 혈액 종양 예컨대 예를 들면, 백혈병 (예컨대 AML, CLL), 림프종, 골수종이다. 또 다른 구체예에서 "암"은 유방암, 폐암, 결장암, 결장직장암, 췌장암, 위암 또는 전립선암이다.

[0696] 일부 구체예에서, 암은 단일요법으로서 면역 관문 저해제에 불응성일 수 있다. 실례는 인간 흑색종, 신장 세포 암종 (RCC), NSCLC, 위장관, 유방, 췌장, 전립선, 육종 및 결장직장암 예를 들면, 췌장 관 선암종을 포함할 수 있다.

[0697] 증식성 장애 또는 암을 치료하는 방법은 i) 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체 (상기 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위 및 표적 항원에 대한 결합 부위를 갖는다); ii) 방사성-표지화된 화합물; iii) CD40 효현제; 및 iv) 면역 관문 저해제를 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0698] 방사성-표지화된 화합물은 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체 이후에 환자에게 투여된다. 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 표적 항원에 결합한다. 이후, 방사성-표지화된 화합물이 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체에 결합하고, 그리고 이에 따라서 표적 세포에 국지화된다.

[0699] 항-CD40 항체 및 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여될 수 있다. 이들은 다중특이적 항체/분할 다중특이적 항체 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 전후에 투여될 수 있다. 바람직하게는, 이들은 다중특이적 항체/분할 다중특이적 항체 및 방사성-표지화된 화합물 이후에 투여된다.

[0700] 한 구체예에서, 치료는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계, 그리고 CD40 효현제 및 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계를 포함하는 치료 주기를 포함하되, 상기 항-CD40 항체 및 상기 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여된다.

[0701] 일부 구체예에서, 두 번째 단계 (면역요법)는 항-CD40 항체 및 면역 관문 저해제 중에서 하나 또는 둘 모두의 반복된 투여를 포함할 수 있다. 예를 들면, 두 번째 단계는 항-CD40 항체 및 면역 관문 저해제 둘 모두의 투여 (동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로), 그 이후에 면역 관문 저해제 단독의 1회 이상의 투여를 포함할 수 있다. 반복된 투여는 숙련된 실무자에 의해 결정될 수 있는 바와 같은 적합한 간격으로 발생할 수 있다.

[0702] 치료는 1회 주기를 포함할 수 있거나, 또는 바람직한 구체예는 복수 주기, 예를 들면, 2, 3, 4, 5 또는 6회 주

기를 포함할 수 있다.

[0703] 일부 구체예에서, 치료의 모든 주기가 동일한 것은 아니다. 일부 구체예에서:

[0704] 일차 치료 주기는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계, 그리고 CD40 효현제 및 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계를 포함하고, 여기서 상기 항-CD40 항체 및 상기 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여되고; 그리고

[0705] 1회 이상의 후속 주기는 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하고, 이후 방사성-표지화된 화합물을 투여하는 것을 포함하는 사전-표적화된 방사면역요법의 첫 번째 단계 및 면역 관문 저해제를 투여하는 것을 포함하는 면역요법의 두 번째 단계를 포함한다.

[0706] 예를 들면, 1, 2, 3, 4 또는 5회 후속 주기가 있을 수 있다. 방사성-표지화된 화합물은 세포에 세포독성인 방사성동위원소로 표지화된다. 적합한 방사성동위원소는 상기 논의된 바와 같은 알파와 베타 방출체를 포함한다.

[0707] 일부 구체예에서, 일단 다중특이적 또는 분할 다중특이적 항체가 표적 세포로 국지화하는 데 적합한 기간이 제공되면, 방사성-표지화된 화합물이 개체에게 투여될 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 방사성-표지화된 화합물은 다중특이적 또는 분할 다중특이적 항체 직후에, 또는 다중특이적 또는 분할 다중특이적 항체 후 적어도 4 시간, 8 시간, 1 일, 또는 2 일째에 개체에게 투여될 수 있다. 임의적으로, 이것은 다중특이적 또는 분할 다중특이적 항체 후 3 일, 5 일, 또는 7 일 이내에 투여될 수 있다. 특정한 구체예에서, 방사성-표지화된 화합물은 다중특이적 또는 분할 다중특이적 항체 후 2 내지 7 일째에 개체에게 투여될 수 있다.

[0708] 일부 구체예에서, 면역요법이 방사성-표지화된 화합물 이후에 투여될 수 있다.

[0709] 예시적인 치료 주기 지속 기간은 14 일인데, 여기서 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체는 상기 주기의 1일 자에 투여되고; 방사성-표지화된 화합물은 상기 주기의 다음 7 일 동안, 예를 들면, 이러한 실례에서 늦어도 8일 자에 투여되고, 그리고 면역요법 (예를 들면, CD40 효현제 및 면역 관문 저해제 (여기서 상기 CD40 효현제 및 상기 면역 관문 저해제는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여된다)를 포함하거나, 또는 항-CD40 없이 면역 관문 저해제를 포함하는)는 방사성-표지화된 화합물의 투여 후 적어도 1 일째에, 예를 들면, 9일 자에 제공된다. 한 구체예에서, CD40 효현제는 일차 치료 주기에서 단지 1회만 투여된다. 항-CD40 - 및 항-PD-L1 항체를 포함하는 병용 요법에 관련된 치료 일정은 예를 들면 WO2016/023875에서 개시된다.

[0710] 이중특이적 항체 (다시 말하면, 본원 발명에 따른 "분할" 항체 아님)를 이용하는 사전-표적화 방사면역요법의 방법에서는, 항체의 투여 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에, 제거제 또는 차단제를 투여하는 것이 관례다.

[0711] 본원 발명의 일부 양상에서, 제거제가 다중특이적 항체 이후 및 방사성-표지화된 화합물 이전에 투여된다.

[0712] 일부 구체예에서, 제거제는 다중특이적 항체를 이용한 치료 후 겨우 몇 시간 또는 며칠 내에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서 제거제는 다중특이적 항체 후 적어도 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 22 또는 24 시간째에, 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7 일째에 투여되는 것이 바람직할 수 있다. 일부 구체예에서, 제거제는 항체 후 14 일 이내에, 예를 들면, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2 일 이내에 투여되는 것이 바람직할 수 있다.

[0713] 임의적으로, 제거제는 다중특이적 항체 후 4 일 및 10 일 사이, 4 일 및 7 일 사이, 2 일 및 7 일 사이, 또는 2 일 내지 4 일 사이의 기간에 투여된다.

[0714] 일부 구체예에서, 방사성 핵종은 제거제 후 겨우 몇 분, 몇 시간 또는 며칠 내에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서 방사성 핵종은 제거제 후 적어도 30 분째에, 그리고 임의적으로 제거제의 투여 후 48 시간, 24 시간, 8 시간 또는 4 시간 이내에 투여되는 것이 바람직할 수 있다. 일부 구체예에서, 방사성 핵종은 제거제의 투여 다음 날 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 만약 방사성-표지화된 화합물이 주기의 8일 자에 투여되면, 제거제는 7일 자에 투여될 수 있다.

[0715] 본원 발명의 다른 양상, 예를 들면, 분할 다중특이적 항체를 수반하는 것들에 따라서, 제거제 또는 차단제를 개체에게 투여하는 단계가 없다. 일정한 양상에서, 분할 항체의 투여 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에, 첫 번째 또는 두 번째 헤미바디에 결합하거나, 또는 첫 번째와 두 번째 헤미바디로부터 형성된 분할 항체에 결합하는 임의의 작용제를 투여하는 단계가 없다. 일정한 양상에서, 임의적으로 화학요법제 및 방사성감작화제에서 선택되는 화합물을 제외하고, 분할 항체 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에, 임의의 작용제를 투여하

는 단계가 없다. 일부 구체예에서, 항체의 투여 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에 어떤 작용제도 투여되지 않는다. 일부 구체예에서 항체의 투여 및 방사성-표지화된 화합물의 투여 사이에, 개체에게 어떤 다른 작용제의 주사 또는 주입도 없을 수 있다.

[0716] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 항체는 부가적으로 또는 대안으로, 방사성감작화제와 병용 투여될 수 있다. 방사성감작화제 및 항체는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로 투여될 수 있다.

[0717] 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체, 방사성-표지화된 화합물, 항-CD40 항체 및 면역 관문 저해제는 비경구, 폐내 및 비내를 비롯한 임의의 적절한 수단에 의해, 그리고 국소 치료를 위해 원하는 경우에, 병변내 투여에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입 또는 주사는 근육내, 정맥내, 동맥내, 복막내, 또는 피하 투여를 포함한다. 일부 구체예에서, 투여는 정맥내 또는 피하 주사에 의할 수 있다. 일부 구체예에서, 다중특이적 항체는 또는 분할 다중특이적 항체 및/또는 항-CD40 항체 및/또는 면역 관문 저해제는 IV 주입에 의해 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 방사성-표지화된 화합물은 IV 주사에 의해 투여될 수 있고, 그리고 항-CD40 항체 및/또는 면역 관문 저해제는 피하 (s.c.) 투여될 수 있다.

[0718] 일부 구체예에서, 전술된 바와 같은 1회 이상의 치료 주기에 앞서 1회 이상의 선량측정 주기가 이용될 수 있다. 선량측정 주기는 i) 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 투여하는 단계 및 ii) 감마-방출체로 방사성-표지화된 영상화에 적합한 화합물을 차후에 투여하는 단계 (여기서 상기 방사성-표지화된 화합물은 방사성-표지화된 화합물에 대한 기능적 결합 부위에 결합한다)를 포함할 수 있다. 화합물은 이것이 알파 또는 베타 방출체가 아닌 감마 방출체로 표지화된다는 점을 제외하고, 후속 치료 주기에서 이용된 화합물과 동일할 수 있다. 예를 들면, 한 구체예에서, 선량측정 주기에서 이용된 방사성-표지화된 화합물은 ^{203}Pb-DOTAM일 수 있고, 그리고 치료 주기에 이용된 방사성-표지화된 화합물은 ^{212}Pb-DOTAM일 수 있다. 환자는 종양내로 화합물의 흡수를 결정하고 및/또는 화합물의 흡수 선량을 추정하기 위해 영상화가 진행될 수 있다. 이러한 정보는 후속 치료 단계에서 예상된 방사선 노출을 추정하고, 그리고 치료 단계에 이용된 방사성-표지화된 화합물의 선량을 안전한 수준으로 조정하는 데 이용될 수 있다.

[0719] **N. 약학 제제**

[0720] 본원에서 설명된 바와 같은 항체의 약학 제제는 동결 건조된 제제 또는 수성 용액의 형태에서, 원하는 정도의 순도를 갖는 이런 항체를 한 가지 이상의 임의적인 약학적으로 허용되는 운반체와 혼합함으로써 제조될 수 있다 (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)). 약학적으로 허용되는 운반체는 일반적으로, 이용된 용량과 농도에서 수용자에게 비독성이고, 그리고 다음을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: 완충액, 예컨대 히스티딘, 인산염, 구연산염, 아세트산염, 그리고 다른 유기 산; 아스코르빈산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 염화암모늄; 염화헥사메토늄; 염화벤잘코늄; 염화벤제토늄; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 글루코오스, 만노오스 또는 덱스트린을 비롯한 단당류, 이당류 및 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로오스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대 이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들면, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴록사머 (예를 들면 폴록사머 188) 및 폴리소르베이트 (예를 들면 PS20, PS80, 높은 등급 PS80 다시 말하면 >98% 올레산을 갖는 PS80). 본원 발명에 따라서 이용된 암 면역요법 구성요소 중 일부에 대한 약학 조성물은 예를 들면 WO2003/040170 (항-CD40 항체의 경우) 및 WO2010/77634 (PD-L1 항체의 경우)에서 개시되거나 또는 상업적인 약학적 산물로서 가용하다.

[0721] 본원에서 예시적인 약학적으로 허용되는 운반체는 틈새 약물 분산 작용제, 예컨대 가용성 중성 활성 히알루론산분해효소 당단백질 (sHASEGP), 예를 들면, 인간 가용성 PH-20 히알루론산분해효소 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (HYLENEX®, Halozyme, Inc.)을 더욱 포함한다. rHuPH20을 포함하는 일정한 예시적인 sHASEGP 및 이용 방법은 US 특허 공개 번호 2005/0260186 및 2006/0104968에서 설명된다. 한 가지 양상에서, sHASEGP는 한 가지 이상의 추가 글리코사미노글리카나아제, 예컨대 콘드로이티나아제와 병용된다.

[0722] 예시적인 동결 건조된 항체 조성물은 US 특허 번호 6,267,958에서 설명된다. 수성 항체 조성물은 US 특허 번호 6,171,586 및 WO 2006/044908에서 설명된 것들을 포함하는데, 후자 조성물은 히스티딘-아세트산염 완충액을 포

함한다.

[0723] 항체가 분할 항체인 경우에, 첫 번째와 두 번째 헤미바디는 단일 약학 조성물에서 또는 별개의 약학 조성물에서 제제화될 수 있다.

[0724] 본원에서 제제는 또한, 치료되는 특정 적응증에 대해 필요에 따라 한 가지 초과의 활성 성분, 바람직하게는 서로에 부정적으로 영향을 주지 않는 상보적 활성을 갖는 것들을 내포할 수 있다. 예를 들면, 상기 논의된 바와 같은 화학요법제 및/또는 방사성감작화제를 더욱 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 이런 활성 성분은 적절하게는, 의도된 목적에 효과적인 양에서 조합으로 존재한다.

[0725] 활성 성분은 예를 들면, 액적형성 기술에 의해 또는 계면 중합화에 의해 제조된 마이크로캡슐 내에, 예를 들면 각각, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들면, 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로유제, 나노입자 및 나노캡슐)에서 또는 마크로유제에서 히드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에 포획될 수 있다. 이런 기술은 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)에서 개시된다.

[0726] 지속된 방출 제조물이 제조될 수 있다. 지속된 방출 제조물의 적합한 실례는 항체를 내포하는 고체 소수성 중합체의 반투성 매트릭스를 포함하는데, 이들 매트릭스는 성형된 물품, 예를 들면, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다.

[0727] 생체내 투여에 이용되는 제제는 일반적으로 무균이다. 무균은 예를 들면, 무균 여과 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성될 수 있다.

[0728] **0. 항체 변이체**

[0729] 일정한 구체예에서, 본원에서 제시된 임의의 항체의 아미노산 서열 변이체가 예기된다. 예를 들면, 상기 항체의 결합 친화성 및/또는 다른 생물학적 특성을 향상시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 상기 항체를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 내로 적절한 변형을 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이런 변형은 예를 들면, 항체의 아미노산 서열로부터 결실 및/또는 이들 서열 내로 삽입 및/또는 이들 서열 내에 잔기의 치환을 포함한다. 최종 작제물이 원하는 특징, 예컨대 항원 결합을 소유한다면, 최종 작제물에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 만들어질 수 있다.

[0730] 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0731] 일정한 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환적 돌연변이유발을 위한 관심되는 부위는 HVR (CDR) 및 FR을 포함한다. 보존성 치환은 "바람직한 치환"의 표제하에 표 3에서 도시된다. 더 실제적인 변화는 "예시적인 치환"의 표제하에 표 3에서 제공되고, 그리고 아미노산 측쇄 부류에 관하여 아래에 더욱 설명된다. 아미노산 치환은 관심되는 항체 내로 도입될 수 있고, 그리고 산물은 원하는 활성, 예를 들면, 유지된/향상된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 감소되거나 또는 제거된 ADCC 또는 CDC에 대해 선별검사될 수 있다.

[0732] **표 3**

표 3

[0733]

본래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0734] 아미노산은 공통 측쇄 특성에 따라 군화될 수 있다:

[0735] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0736] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0737] (3) 산성: Asp, Glu;

[0738] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0739] (5) 사슬 배향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro;

[0740] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0741] 비보존성 치환은 이들 부류 중에서 한 가지의 구성원을 다른 부류로 교체하는 것을 수반할 것이다.

[0742] 치환 변이체의 한 가지 유형은 부모 항체의 하나 이상의 초가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다 (예를 들면, 인간화 또는 인간 항체). 일반적으로, 추가 연구를 위해 선택되는 결과의 변이체(들)는 부모 항체에 비하여 일정한 생물학적 특성에서 변경 (예를 들면, 향상) (예를 들면, 증가된 친화성, 감소된 면역원성)을 가질 것이고 및/또는 부모 항체의 실제적으로 유지된 일정한 생물학적 특성을 가질 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화성 성숙된 항체인데, 이것은 예를 들면, 파지 전시 기반 친화성 성숙 기술, 예컨대 본원에서 설명된 것들을 이용하여 편의하게 생성될 수 있다. 간단히 말하면, 하나 이상의 CDR 잔기가 돌연변이되고, 그리고 변이체 항체가 파지에서 전시되고 특정 생물학적 활성 (예를 들면, 결합 친화성)에 대해 선별검사된다.

[0743] 예를 들면, 항체 친화성을 향상시키기 위해 CDRs에서 변경 (예를 들면, 치환)이 만들어질 수 있다. 이런 변경은 CDR "핫스팟", 다시 말하면, 체성 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 인코딩된 잔기 (참조: 예를 들면, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)) 및/또는 항원에 접촉하는 잔기에서 만들어질 수 있으며, 결과의 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화성에 대해 검사된다. 이차 라이브러리를 구축하고 이들로부터 재선별함에 의한 친화성 성숙은 예를 들면, Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).)에서 설명되었다. 친화성 성숙의 일부 양상에서, 다양성이 임의의 다양한 방법 (예를 들면, 오류 가능성 PCR, 사슬 셔플링, 또는 올리고뉴클레오티드-유도 돌연변이)에 의해, 성숙을 위해 선택된 가변적 유전자 내로 도입된다. 이차 라이브러리가 이후 창출된다. 상기 라이브러리는 이후, 원하는 친화성을 갖는 임의의 항체 변이체를 확인하기 위해 선별검사된다. 다양성을 도

입하기 위한 다른 방법은 CDR-지향된 접근방식을 수반하는데, 여기서 여러 CDR 잔기 (예를 들면, 한 번에 4-6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관련된 CDR 잔기는 예를 들면, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모형화를 이용하여 특이적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.

[0744] 일정한 양상에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이런 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실제적으로 감소시키지 않으면, 하나 이상의 CDR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들면, 결합 친화성을 실제적으로 감소시키지 않는 보존성 변경 (예를 들면, 본원에서 제시된 바와 같은 보존성 치환)이 CDR에서 만들어질 수 있다. 이런 변경은 예를 들면, CDR에서 항원 접촉 잔기의 외부에 있을 수 있다. 앞서 제공된 일정한 변이체 VH와 VL 서열에서, 각 CDR은 변경되지 않거나, 또는 단지 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 치환을 내포한다.

[0745] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인을 위한 유용한 방법은 Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085에 의해 설명된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 이러한 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군 (예를 들면, 하전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys 및 glu)이 확인되고, 그리고 항체의 항원과의 상호작용이 영향을 받는지를 결정하기 위해 중성 또는 음성으로 하전된 아미노산 (예를 들면, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체된다. 추가 치환은 초기 치환에 기능적 감수성을 나타내는 아미노산 위치에서 도입될 수 있다. 대안으로 또는 부가적으로, 항원 항체 복합체의 결정 구조는 항체 및 항원 사이의 접촉 포인트를 확인하는 데 이용될 수 있다. 이런 접촉 잔기 및 인접한 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 또는 제거될 수 있다. 변이체는 그들이 원하는 특성을 내포하는지를 결정하기 위해 선별검사될 수 있다.

[0746] 아미노산 서열 삽입은 1개 잔기로부터 100개 이상의 잔기를 내포하는 폴리펩티드까지의 길이 범위에서 변하는 아미노 및/또는 카르복실 말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 복수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 실례는 N 말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 (예를 들면, ADEPT (항체 지향된 효소 전구약물 요법)의 경우) 또는 폴리펩티드에 대한 항체의 N 또는 C 말단에 융합을 포함한다.

[0747] 글리코실화 변이체

[0748] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도가 증가하거나 또는 감소하도록 변형된다. 항체에 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 하나 이상의 글리코실화 부위가 창출되거나 또는 제거되도록 아미노산 서열을 변형함으로써 편의하게 달성될 수 있다.

[0749] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우에, 거기에 부착된 올리고당류는 변경될 수 있다. 포유류 세포에 의해 생산된 선천적 항체는 전형적으로, Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 N-연쇄에 의해 일반적으로 부착되는 분지된, 바이안테나리 올리고당류를 포함한다. 참조: 예를 들면, Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997). 올리고당류는 다양한 탄수화물, 예를 들면, 만노오스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토오스 및 시알산뿐만 아니라 바이안테나리 올리고당류 구조의 "줄기"에서 GlcNAc에 부착된 푸코오스를 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 본원 발명의 항체에서 올리고당류의 변형은 일정한 향상된 특성을 갖는 항체 변이체를 창출하기 위해 만들어질 수 있다.

[0750] 한 양상에서, Fc 영역에 부착된 (직접적으로 또는 간접적으로) 푸코오스를 결여하는 비푸코실화된 올리고당류, 다시 말하면 올리고당류 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 이런 비푸코실화된 올리고당류 ("비푸코실화된" 올리고당류로서 또한 지칭됨)는 특히 N-연결된 올리고당류인데, 이것은 바이안테나리 올리고당류 구조의 줄기에서 첫 번째 GlcNAc에 부착된 푸코오스 잔기를 결여한다. 한 양상에서, 선천적 또는 부모 항체와 비교하여 Fc 영역에서 증가된 비율의 비푸코실화된 올리고당류를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들면, 비푸코실화된 올리고당류의 비율은 적어도 약 20%, 적어도 약 40%, 적어도 약 60%, 적어도 약 80%, 또는 심지어 약 100% (다시 말하면, 푸코실화된 올리고당류가 존재하지 않는다)일 수 있다. 비푸코실화된 올리고당류의 백분율은 예를 들면 WO 2006/082515에서 설명된 바와 같이, MALDI-TOF 질량 분광분석법에 의해 계측될 때, Asn 297에 부착된 모든 올리고당류의 합계 (예를 들면 복합체, 하이브리드 및 높은 만노오스 구조)에 비하여, 푸코오스 잔기를 결여하는 올리고당류의 (평균) 양이다. Asn297은 Fc 영역 내에 대략 위치 297 (Fc 영역 잔기의 EU 넘버링)에서 위치된 아스파라긴 잔기를 지칭하고; 하지만, Asn297은 또한, 항체에서 경미한 서열 변이로 인해, 위치 297의 대략 ±3개 아미노산 상류 또는 하류에, 다시 말하면, 위치 294 및 300 사이에 위치될 수 있다. Fc 영역에서 증가된 비율의 비푸코실화된 올리고당류를 갖는 이런 항체는 향상된 FcγRIIIa 수용체 결합 및/또는 향상된 효과기 기능, 특히 향상된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 참조: 예를 들면, US 2003/0157108; US 2004/0093621.

[0751] 감소된 푸코실화를 갖는 항체를 생성할 수 있는 세포주의 실례는 단백질 푸코실화에서 결함되는 Lec13 CHO 세포

(Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys*. 249:533-545 (1986); US 2003/0157108; 및 WO 2004/056312, 특히 실시예 11), 그리고 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실전달효소 유전자, *FUT8*, 녹아웃 CHO 세포 (참조: 예를 들면, Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng*. 87:614-622 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng*., 94(4):680-688 (2006); 및 WO 2003/085107), 또는 GDP-푸코오스 합성 또는 전달체 단백질의 감소된 또는 전폐된 활성을 갖는 세포 (참조: 예를 들면, US2004259150, US2005031613, US2004132140, US2004110282)를 포함한다.

[0752] 추가의 양상에서, 항체 변이체는 양분된 올리고당류가 제공되는데, 예를 들면, 여기서 항체의 Fc 영역에 부착된 바이안테나리 올리고당류는 GlcNAc에 의해 양분된다. 이런 항체 변이체는 전술된 바와 같이 감소된 푸코실화 및/또는 향상된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이런 항체 변이체의 실례는 예를 들면 Umana et al., Nat Biotechnol 17, 176-180 (1999); Ferrara et al., Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006); WO 99/54342; WO 2004/065540, WO 2003/011878에서 설명된다.

[0753] 올리고당류 내에 적어도 하나의 갈락토오스 잔기가 Fc 영역에 부착되는 항체 변이체 역시 제공된다. 이런 항체 변이체는 향상된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이런 항체 변이체는 예를 들면, WO 1997/30087; WO 1998/58964; 및 WO 1999/22764에서 설명된다.

[0754] 항체는 글리코실화의 정도가 감소하도록 변형되는 것이 바람직할 수 있다. 일부 구체예에서 항체는 비글리코실화되거나 또는 데글리코실화될 수 있다. 항체는 N297에서 치환, 예를 들면, N297D/A를 포함할 수 있다.

[0755] Fc 영역 변이체

[0756] 일정한 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 변형이 본원에서 제공된 항체의 Fc 영역 내로 도입되어, Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들면, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들면, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0757] 일정한 구체예에서, 본원 발명은 감소된 효과기 기능, 예를 들면, 감소되거나 또는 제거된 CDC, ADCC 및/또는 FcγR 결합을 갖는 항체 변이체를 예기한다. 일정한 양상에서, 본원 발명은 전부는 아니지만 일부 효과기 기능을 소유하는 항체 변이체를 예기하는데, 이들 기능으로 인해 이것은 생체내에서 항체의 반감기가 중요하고, 반면 일정한 효과기 기능 (예를 들면, 보체 의존성 세포독성 (CDC) 및 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC))이 불필요하거나 또는 유해한 적용을 위한 바람직한 후보가 된다.

[0758] CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확증하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정이 수행될 수 있다. 예를 들면, 항체가 FcγR 결합을 결여 (따라서, ADCC 활성을 아마도 결여)하지만, FcRn 결합 능력을 유지하도록 담보하기 위해, Fc 수용체 (FcR) 결합 측정이 수행될 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 일차 세포인 NK 세포는 단지 FcγRIII만을 발현하고, 반면 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII을 발현한다. 조혈 세포 상에서 FcR 발현은 Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)의 464 페이지 상에 표 3에서 요약된다. 관심되는 분자의 ADCC 활성을 사정하기 위한 시험관내 분석의 무제한적 실례는 U.S. 특허 번호 5,500,362 (예를 들면, Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)을 참조한다) 및 Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)을 참조한다)에서 설명된다. 대안으로, 비방사성 검정 방법이 이용될 수 있다 (예를 들면, 유세포분석법의 경우에 ACTI™ 비방사성 세포독성 검정 (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; 및 CytoTox 96® 비방사성 세포독성 검정 (Promega, Madison, WI)을 참조한다. 이런 검정을 위한 유용한 효과기 세포는 말초혈 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안으로 또는 부가적으로, 관심되는 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들면, 동물 모형, 예컨대 Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)에서 개시된 것에서 사정될 수 있다. 항체가 C1q에 결합할 수 없고, 따라서 CDC 활성을 결여한다는 것을 확증하기 위해, C1q 결합 측정 또한 실행될 수 있다. 참조: 예를 들면, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서 C1q와 C3c 결합 ELISA. 보체 활성화를 사정하기 위해, CDC 검정이 수행될 수 있다 (참조: 예를 들면, Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)). FcRn 결합 및 생체내 소실/반감기 결정이 또한, 당해 분야에서 공지된 방법을 이용하여 수행될 수 있다 (참조: 예를 들면, Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006); WO 2013/120929 A1).

[0759] 감소된 효과기 기능을 갖는 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 (U.S. 특허 번호 6,737,056) 중에서 하나 이상의 치환, 예를 들면, P329G을 갖는 것들을 포함한다. 이런 Fc 돌연변이체는 잔기

265 및 297의 알라닌으로의 치환을 갖는 이른바 "DANA" Fc 돌연변이체를 비롯하여, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중에서 2개 이상에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다 (US 특허 번호 7,332,581).

[0760] 일정한 양상에서, 항체 변이체는 FcγR 결합을 축소하는 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들면, Fc 영역의 위치 234 및 235 (잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 한 가지 양상에서, 치환은 L234A 및 L235A (LALA)이다. 일정한 양상에서, 항체 변이체는 인간 IgG1 Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서 D265A 및/또는 P329G를 더욱 포함한다. 한 가지 양상에서, 치환은 인간 IgG1 Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서 L234A, L235A 및 P329G (LALA-PG)이다. (참조: 예를 들면, WO 2012/130831). 다른 양상에서, 치환은 인간 IgG1 Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서 L234A, L235A 및 D265A (LALA-DA)이다. 대안적 치환은 임의적으로 D265A 및/또는 P329G 및/또는 P331S와 조합으로, L234F 및/또는 L235E를 포함한다.

[0761] 다른 구체예에서, 감소된 효과기 기능을 갖는 IgG 아형 예컨대 IgG4 또는 IgG2를 이용하는 것이 가능할 수 있다.

[0762] FcR에 향상된 또는 축소된 결합을 갖는 일정한 항체 변이체가 설명된다. (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 그리고 Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).)

[0763] 일부 구체예에서, 예를 들면, US 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642 및 Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)에서 설명된 바와 같이, 변경된 (다시 말하면, 향상된 또는 축소된, 바람직하게는 축소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 야기하는, Fc 영역 내에 변경이 만들어진다.

[0764] 일정한 양상에서, 항체 변이체는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들면 Fc 영역의 위치 253 및/또는 310 및/또는 435 (잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 일정한 양상에서, 항체 변이체는 위치 253, 310 및 435에서 아미노산 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 한 가지 양상에서, 치환은 인간 IgG1 Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서 I253A, H310A 및 H435A이다. 참조: 예를 들면, Grevys, A., et al., J. Immunol. 194 (2015) 5497-5508.

[0765] 일정한 양상에서, 항체 변이체는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들면 Fc 영역의 위치 310 및/또는 433 및/또는 436 (잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 일정한 양상에서, 항체 변이체는 위치 310, 433 및 436에서 아미노산 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 한 가지 양상에서, 치환은 인간 IgG1 Fc 영역으로부터 유래된 Fc 영역에서 H310A, H433A 및 Y436A이다. (참조: 예를 들면, WO 2014/177460 A1). 예를 들면, 일부 구체예에서, 보통의 FcRn 결합이 이용될 수 있다.

[0766] Fc 영역 변이체의 다른 실례와 관련하여, Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); U.S. 특허 번호 5,648,260; U.S. 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351을 또한 참조한다.

[0767] 본원에서 보고된 바와 같은 전장 항체의 중쇄의 C 말단은 아미노산 잔기 PGK로 끝나는 완전한 C 말단일 수 있다. 중쇄의 C 말단은 C 말단 아미노산 잔기 중에서 1개 또는 2개가 제거된 단축된 C 말단일 수 있다. 중쇄의 C 말단은 PG로 끝나는 단축된 C 말단일 수 있다. 본원에서 보고된 바와 같은 모든 양상 중 한 양상에서, 본원에서 특정된 바와 같은 C 말단 CH3 도메인을 포함하는 중쇄를 포함하는 항체는 C 말단 글리신 잔기 (G446, 아미노산 위치의 EU 색인 넘버링)를 포함한다. 이것은 본원에서 이용된 바와 같은 용어 "전장 항체" 또는 "전장 중쇄"에 여전히 명시적으로 포괄된다.

[0768] 향상된 조립/안정성을 위한 변이체

[0769] 다중특이적 항체를 만들기 위한 공지된 기술은 본원에서 설명된 임의의 다중특이적 항체 또는 분할 다중특이적 항체를 만드는 데 이용될 수 있다. 이들 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 공동발현 (참조: Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)) 및 "노브-인-홀" 조작 (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 5,731,168 및 Atwell et al., J. Mol. Biol. 270:26 (1997))을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 다른 방법은 항체 Fc-이종이량체성 분자를 만들기 위해 정전 스티어링 효과를 조작하는 방법 (참조: 예를 들면, WO 2009/089004); 2개 이상의 항체 또는 단편을 교차연결하는 방법 (참조: 예를 들면, US 특허 번호 4,676,980 및 Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)); 류신 지퍼를 이용하는 방법 (참조: 예를 들면, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992) 및 WO 2011/034605); 그리고 경쇄 오대합 문제를 회피하기 위해 공통 경쇄 기술을 이용하는 방법 (참조: 예를 들면, WO 98/50431)을 포함한다.

[0770] 전술된 임의의 다중특이적 또는 분할 다중특이적 항체에서, 중쇄 이종이량체의 정확한 조립은 다양한 변형에 의해 보조될 수 있다.

[0771] Fc 영역의 CH3 도메인은 예를 들면 WO 96/027011, Ridgway, J.B., et al., Protein Eng 9 (1996) 617-621; 및 Merchant, A.M., et al., Nat Biotechnol 16 (1998) 677-681에서 여러 실례로 상세하게 설명되는 "노브 인투 홀" 기술에 의해 변경될 수 있다. 이러한 방법에서 2개의 CH3 도메인의 상호작용 표면은 이들 2개의 CH3 도메인을 내포하는 양쪽 중쇄의 이종이량체화를 증가시키기 위해 변경된다. 2개의 CH3 도메인 (2개의 중쇄의) 각각은 "노브"일 수 있고, 반면 다른 것은 "홀"이다. 예를 들면, EU 색인 넘버링에 따라서, 하나는 이른바 "노브 돌연변이" (예를 들면, T366W, 그리고 임의적으로 S354C 또는 Y349C 중에서 하나, 바람직하게는 S354C)를 포함하고, 그리고 다른 것은 이른바 "홀 돌연변이" (예를 들면, T366S, L368A 및 Y407V, 그리고 임의적으로 Y349C 또는 S354C, 바람직하게는 Y349C)를 포함한다 (참조: 예를 들면, Carter, P. et al., Immunotechnol. 2 (1996) 73).

[0772] 따라서 일부 구체예에서 항체 또는 헤미바디는 Fc 도메인의 한쪽 아단위의 CH3 도메인 및 Fc 도메인의 다른 아단위의 CH3 도메인이 각각, 이들 항체 CH3 도메인 사이의 본래 인터페이스를 포함하는 인터페이스에서 만나는 것으로 더욱 특징화되고; 여기서 상기 인터페이스는 항체의 형성을 증진하기 위해 변경되고, 여기서 상기 변경은

[0773] a) 다른 Fc 아단위의 CH3 도메인의 본래 인터페이스와 만나는 한쪽 아단위의 CH3 도메인의 본래 인터페이스 내에서, 아미노산 잔기가 더 큰 측쇄 용적을 갖는 아미노산 잔기로 대체되고, 그것에 의하여 다른 Fc 아단위의 CH3 도메인의 인터페이스 내에 공동에 위치 가능한 한쪽 Fc 아단위의 CH3 도메인의 인터페이스 내에 융기가 생성되도록, 한쪽 Fc 아단위의 CH3 도메인이 변경되고,

[0774] 그리고

[0775] b) 항체 내에 첫 번째 CH3 도메인의 본래 인터페이스와 만나는 두 번째 CH3 도메인의 본래 인터페이스 내에서, 아미노산 잔기가 더 작은 측쇄 용적을 갖는 아미노산 잔기로 대체되고, 그것에 의하여 첫 번째 CH3 도메인의 인터페이스 내에 융기가 위치 가능한 두 번째 CH3 도메인의 인터페이스 내에 공동이 생성되도록, 다른 Fc 아단위의 CH3 도메인이 변경되는 것으로 특징화된다.

[0776] 더 큰 측쇄 용적을 갖는 상기 아미노산 잔기는 임의적으로 아르기닌 (R), 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y), 트립토판 (W)으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 더 작은 측쇄 용적을 갖는 상기 아미노산 잔기는 임의적으로 알라닌 (A), 세린 (S), 트레오닌 (T), 발린 (V)으로 구성된 군에서 선택될 수 있다.

[0777] 이황화 다리의 도입이 이종이량체를 안정시키고 (Merchant, A.M., et al., Nature Biotech 16 (1998) 677-681; Atwell, S., et al., J. Mol. Biol. 270 (1997) 26-35), 그리고 수율을 증가시키기 위해 부가적으로 또는 대안적으로 이용될 수 있다. 따라서, 임의적으로, 일부 구체예에서, 양쪽 CH3 도메인은 양쪽 CH3 도메인 사이에 이황화 다리가 형성될 수 있도록, 각 CH3 도메인의 상응하는 위치에서 아미노산으로서 시스테인 (C)의 도입에 의해 더욱 변경된다. 실례는 아래의 위치 사이에 이황화 결합의 도입을 포함한다:

[0778] i) 중쇄 가변 도메인 위치 44 내지 경쇄 가변 도메인 위치 100,

[0779] ii) 중쇄 가변 도메인 위치 105 내지 경쇄 가변 도메인 위치 43, 또는

[0780] iii) 중쇄 가변 도메인 위치 101 내지 경쇄 가변 도메인 위치 100 (항상 Kabat의 EU 색인에 따른 넘버링).

[0781] 부가적으로 또는 대안으로, 항체는 결합 팔 중 하나 (또는, 2개 초과의 항원 결합 Fab 분자를 포함하는 분자의 경우에는, 하나 초과)에서 VH/VL 교환을 갖는 Fab 기반 이중특이적/다중특이적 항원 결합 분자의 생산에서 발생할 수 있는, 경쇄와 비-정합 중쇄의 오대합 (Bence-Jones-유형 부산물)을 감소시키는 데 특히 효율적인, 그 안에 포함된 Fab 분자 (교차-Fab 분자 포함)에서 아미노산 치환을 포함할 수 있다 (본원에서 온전히 참조로서 편입되는 PCT 공개 번호 WO 2015/150447, 특히 그 안에 실시예를 또한 참조한다). 결합 팔 중 하나에서 발생하는 바람직하지 않은 부산물, 특히 Bence Jones-유형 부산물과 비교하여 원하는 다중특이적 항체의 비율은 Fab 분자의 CH1과 CL 도메인 내에 특정한 아미노산 위치에서 반대 전하로 하전된 아미노산의 도입 (때때로 본원에서 "전하 변경"으로서 지칭됨)에 의해 향상될 수 있다.

[0782] 이런 이유로, 일부 구체예에서, Fab 분자를 포함하는 항체는 본원에서 설명된 바와 같은 전하 변경을 포함하는 중쇄 불변 도메인 CH1 도메인, 그리고 본원에서 설명된 바와 같은 전하 변경을 포함하는 경쇄 불변 CL 도메인을 갖는 적어도 하나의 Fab를 포함한다.

[0783] 전하 변경은 항체 내에 포함된 전통적인 Fab 분자(들), 또는 항체 내에 포함된 교차 Fab 분자(들) 중 어느 하나 (하지만 일반적으로 둘 모두는 아님)에서 만들어질 수 있다. 특정한 구체예에서, 전하 변경은 항체 내에 포함된

전통적인 Fab 분자(들)에서 만들어진다.

[0784] 일부 구체예에서, 전하 변경을 포함하는 경쇄 불변 도메인 CL 및 전하 변경을 포함하는 중쇄 불변 도메인 CH1을 포함하는 Fab 또는 교차-Fa에서, 경쇄 불변 도메인 CL에서 전하 변경은 위치 124 및 임의적으로 위치 123 (Kabat에 따른 넘버링)에 있고, 그리고 중쇄 불변 도메인 CH1에서 전하 변경은 위치 147 및/또는 213 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)에 있다. 일부 구체예에서, 경쇄 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)은 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 (바람직한 구체예에서 리신 (K)에 의해 독립적으로) 치환되고, 그리고 중쇄 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 및/또는 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)은 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환된다.

[0785] 항체 유도체

[0786] 일정한 양상에서, 본원에서 제공된 임의의 항체는 당해 분야에서 공지되고 쉽게 가용한 추가의 비단백질성 모이어티를 내포하도록 더욱 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 수용성 중합체의 무제한적 실례는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로오스, 덱스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1, 3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (동종중합체 또는 무작위 공중합체), 그리고 덱스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 동종중합체, 프롤릴프로필렌 산화물/에틸렌 산화물 공중합체, 폴리옥시에틸화된 폴리올 (예를 들면, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 그리고 이들의 혼합물을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 물에서 안정성으로 인해, 제조 시에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 그리고 분지되거나 또는 분지되지 않을 수 있다. 항체에 부착된 중합체의 숫자는 변할 수 있고, 그리고 하나 초과의 중합체가 부착되면, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 이용되는 중합체의 숫자 및/또는 유형은 향상되는 항체의 특정 특성 또는 기능, 항체 유도체가 규정된 조건하에 요법에서 이용될 것인지의 여부 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 고려 사항에 근거하여 결정될 수 있다.

[0787] **P. 분석**

[0788] 본원에서 제공된 항체는 당해 분야에서 공지된 다양한 분석법에 의해, 그들의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 확인되거나, 선별검사되거나, 또는 특징화될 수 있다.

[0789] 한 양상에서, 본원 발명의 항체는 예를 들면, 공지된 방법, 예컨대 ELISA, 웨스턴 블롯 등에 의해 항원 결합 활성에 대해 검사된다.

[0790] 항체 친화성

[0791] 일정한 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면, 10^{-8} M 이하, 예를 들면 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의, 또는 본원에서 별도로 명시된 바와 같은, 표적 항원에 대한 해리 상수 (K_D)를 갖는다.

[0792] 일정한 구체예에서, 방사성-표지화된 화합물에 대한 항원 결합 부위는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면, 10^{-8} M 이하, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의, 방사성-표지화된 화합물에 대한 해리 상수 (K_D)를 갖는다. 일부 구체예에서, K_D는 1 nM 이하, 500pM 이하, 200pM 이하, 100pM 이하, 50pM 이하, 20pM 이하, 10pM 이하, 5pM 이하 또는 1pM 이하이거나, 또는 본원에서 별도로 명시된 바와 같다. 예를 들면, 기능적 결합 부위는 약 1pM-1nM, 예를 들면, 약 1-10 pM, 1-100pM, 5-50 pM, 100-500 pM 또는 500pM-1 nM의 K_D로 방사성-표지화된 화합물/금속 킬레이트에 결합할 수 있다.

[0793] 한 구체예에서, K_D는 방사성-표지화된 항원 결합 측정 (RIA)에 의해 계측된다. 한 구체예에서, RIA는 관심되는 항체의 Fab 버전 및 이의 항원으로 수행된다. 예를 들면, 항원에 대한 Fab의 용해 결합 친화성은 표지화되지 않은 항원의 적정 연속의 존재에서 Fab를 최소 농도의 (^{125}I)-표지화 항원과 평형시키고, 이후 결합된 항원을 항-Fab 항체-코팅된 평판으로 포획함으로써 계측된다 (참조: 예를 들면, Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). 검정을 위한 조건을 확립하기 위해, MICROTITER® 다중웰 평판 (Thermo Scientific)이 50 mM 탄산

나트륨 (pH 9.6)에서 5 μg/ml의 포획 항-Fab 항체 (Cappel Labs)로 하룻밤 동안 코팅되고, 그리고 차후에, 실온 (대략 23℃)에서 2 내지 5 시간 동안 PBS에서 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 차단된다. 비흡착성 평판 (Nunc #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [^{125}I]-항원이 관심되는 Fab의 연속 희석액과 혼합된다 (예를 들면, Presta et al., *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)에서 항-VEGF 항체, Fab-12의 사정과 일치). 관심되는 Fab는 이후, 하룻밤 동안 인큐베이션된다; 하지만, 인큐베이션는 평형이 도달되도록 담보하기 위해 더 긴 기간 (예를 들면, 약 65 시간) 동안 계속될 수도 있다. 그 후에, 혼합물이 실온에서 인큐베이션를 위해 포획 평판으로 이전된다 (예를 들면, 1 시간 동안). 용액은 이후, 제거되고, 그리고 평판이 PBS에서 0.1% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20®)으로 8회 세척된다. 평판이 건조될 때, 150 μl/웰의 신틸란트 (MICROSCINT-20 ™; Packard)가 첨가되고, 그리고 이들 평판은 TOPCOUNT ™ 감마 계수기 (Packard)에서 10 분 동안 계수된다. 최대 결합의 20%보다 적거나 같은 결합을 제공하는 각 Fab의 농도가 경쟁적 결합 측정에 이용하기 위해 선택된다.

[0794] 다른 구체예에 따라서, K_D는 BIACORE® 표면 플라스몬 공명 검정을 이용하여 계측된다. 예를 들면, BIACORE®-2000 또는 BIACORE ®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)을 이용한 검정이 ~10 반응 단위 (RU)에서 고정된 항원 CM5 칩으로 25℃에서 수행된다. 한 구체예에서, 카르복시메틸화된 덱스트란 바이오센서 칩 (CM5, BIACORE, Inc.)은 공급업체의 사용설명서에 따라서 *N*-에틸-*N*′- (3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 염산염 (EDC) 및 *N*-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화된다. 항원은 거의 10 반응 단위 (RU)의 연계된 단백질을 달성하기 위해, 5 μl/분의 유속에서 주입 전 10 mM 아세트산나트륨, pH 4.8로 5 μg/ml (~0.2 μM)까지 희석된다. 항원의 주입 이후에, 반응하지 않은 기를 차단하기 위해 1 M 에탄올아민이 주입된다. 동역학 계측을 위해, Fab의 2배 연속 희석액 (0.78 nM 내지 500 nM)이 거의 25 μl/분의 유속에서 25℃에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20™) 계면활성제를 포함하는 PBS (PBST)에 주입된다. 연관 속도 (k온) 및 해리 속도 (k오프)는 연관과 해리 센서그램을 동시에 적합시킴으로써 단순한 1 대 1 랭뮤어 결합 모형 (BIACORE ® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 이용하여 계산된다. 평형 해리 상수 (K_D)는 비율 k오프/k온으로서 계산된다. 참조: 예를 들면, Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999). 온 레이트가 상기 표면 플라스몬 공명 검정에 의해 106 M-1 s-1를 초과하면, 온 레이트는 분광계, 예컨대 정지-유동 구비된 분광광도계 (Aviv Instruments) 또는 교반 큐벳이 달린 8000-시리즈 SLM-AMINCO ™ 분광광도계 (ThermoSpectronic)에서 계측될 때 증가하는 농도의 항원의 존재에서 PBS, pH 7.2에서, 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)의 25℃에서 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 대역)의 증가 또는 감소를 계측하는 형광 퀀칭 기술을 이용함으로써 결정될 수 있다.

[0795] 다른 구체예에서, K_D는 SET (용해 평형화 적정) 검정을 이용하여 계측된다. 이러한 검정에 따라서, 검사 항체는 전형적으로 일정한 농도에서 적용되고 검사 항원의 연속 희석액과 혼합된다. 평형을 확립하기 위한 인큐베이션 후, 자유 항체의 일부가 항원 코팅된 표면에서 포획되고, 그리고 일반적으로 전기화학발광을 이용하여, 표지화된/태깅된 항-종 항체로 검출된다 (예를 들면 Haenel *et al* Analytical Biochemistry 339 (2005) 182-184에서 설명된 바와 같이).

[0796] 예를 들면, 한 구체예에서 384-웰 스트렙타비딘 평판 (Nunc, Microcoat #11974998001)이 20 ng/ml의 농도로 PBS-완충액에서 25 μl/웰의 항원-비오틴-이성질체 혼합물과 함께 4 ℃에서 하룻밤 동안 인큐베이션된다. 자유 항원으로 항체 샘플의 평형화를 위해: 0.01 nM - 1 nM의 항체가 2500 nM, 500 nM 또는 100 nM의 항원의 농도로 시작하여 1:3, 1:2 또는 1:1.7 희석 단계에서 유관한 항원으로 적정된다. 샘플이 4℃에서 하룻밤 동안, 밀봉된 REMP Storage 폴리프로필렌 마이크로평판 (Brooks)에서 인큐베이션된다. 하룻밤 인큐베이션 후, 스트렙타비딘 평판이 웰마다 90 μl PBST로 3x 세척된다. 평형화 평판으로부터 15 μl의 각 샘플이 검정 평판으로 전달되고 실온에서 15 분 동안 인큐베이션되고, 그 이후에 PBST 완충액을 이용한 3x 90 μl 세척 단계가 뒤따른다. 25 μl의 염소 항인간 IgG 항체-POD 접합체 (Jackson, 109-036-088, OSEP에서 1:4000)를 첨가함으로써 검출이 실행되고, 그 이후에 PBST 완충액을 이용한 6x 90 μl 세척 단계가 뒤따른다. 25 μl의 TMB 기질 (Roche Diagnostics GmbH, 카탈로그 번호.: 11835033001)이 각 웰에 첨가된다. 계측이 Safire2 판독기 (Tecan) 상에서 370/492 nm에서 수행된다.

[0797] 다른 구체예에서, KinExA (역학적 배제) 검정을 이용하여 K_D가 계측된다. 이러한 검정에 따라서, 항원이 전형적으로, 일정한 농도의 항체 결합 부위 내로 적정되고, 샘플이 평형화되도록 허용되고, 이후 흐름 셀을 통해 빠르게 뽑아내지는데, 여기서 자유 항체 결합 부위는 항원 코팅된 비드 상에서 포획되는 반면, 항원 포화된 항체 복합체는 씻겨 나간다. 비드 포획된 항체는 이후, 표지화된, 예를 들면, 형광 표지화된 항-종 항체 (Bee *et al*

PloS One, 2012; 7(4): e36261)로 검출된다. 예를 들면, 한 구체예에서, PBS pH 7.4를 작업 완충액으로서 이용하여 KinExA 실험이 실온 (RT)에서 수행된다. 샘플이 1 mg/ml BSA로 보충된 작업 완충액 ("샘플 완충액")에서 제조된다. 0.25 ml/분의 유속이 이용된다. 5 pM 결합 부위 농도를 갖는 일정한 양의 항체가 100 pM에서 시작하여 2배 연속 희석 (농도 범위 0.049 pM - 100 pM)에 의해 항원으로 적정된다. 항원이 없는 항체의 한 가지 샘플이 100% 신호 (다시 말하면 저해 없음)로서 역할을 한다. 평형이 도달될 수 있도록 하기 위해, 항원 항체 복합체가 실온에서 적어도 24 시간 동안 인큐베이션된다. 평형화된 혼합물은 이후, 용액의 평형 상태를 섭동하지 않으면서, 결합되지 않은 항체가 비드에 의해 포획될 수 있도록 하는 5 ml의 용적으로 KinExA 시스템에서 항원 연계 비드의 칼럼을 통해 뽑아내진다. 포획된 항체는 샘플 완충액에서 250 ng/ml Dylight 650ⓒ-접합된 항인간 Fc-단편 특이적 이차 항체를 이용하여 검출된다. 각 샘플은 모든 평형 실험에 대해 중복으로 계측된다. "표준 분석" 방법을 이용하여, KinExA 소프트웨어 (버전 4.0.11) 내에 내포된 1-부위 균일 결합 모형을 이용한 데이터의 비선형 회귀 분석으로부터 KD가 획득된다.

[0798] 생물학적 활성

[0799] 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독보다 개체에서 종양 성장 속도가 늦다. 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 개체 생존 가능성을 증가시킨다. 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 개체에서 활성화된 종양내 CD8 T 세포의 증가된 빈도 (예를 들면, 41BB 발현의 상향조절에 의해 계측될 때), 및/또는 개체의 종양, 비장 및 배수 림프절 (DLN)에서 활성화된 형질세포양 DC (pDC) 및 고전적 DC (cDC)의 증가된 빈도 (예를 들면, CD86 발현의 상향조절에 의해 계측될 때), 및/또는 개체의 전체 면역 세포에서 T 세포의 증가된 빈도를 야기한다. 일부 구체예에서, 개체는 환자, 예를 들면, 인간 환자일 수 있다. 다른 구체예에서, 활성이 사정되는 개체는 모형 동물 예컨대 생쥐 모형일 수 있다.

[0800] 일부 구체예에서, 병용 요법은 사전-표적화된 방사면역요법 단독 및/또는 면역요법 단독을 이용한 치료보다 개체에서 면역 기억 반응을 증강하거나 또는 종양 재발 가능성을 감소시켰다. 증강된 면역 기억 반응은 생쥐 모형에서 종양 재공격에 대한 더 큰 저항성에 의해 사정될 수 있다.

[0801] 생쥐 모형의 실례는 항체/분할 항체에 대한 표적 항원을 발현하는 종양 세포주가 접종된 생쥐일 수 있다. 실례는 항체/분할 항체에 대한 표적 항원, 예를 들면, huCEA를 발현하도록 조작된 Panc02 종양 세포주 또는 MC38 종양 세포주이다. 종양 세포주는 또한, 리포터 예컨대 루시페라아제를 발현하도록 조작될 수 있다. 접종은 피하 또는 동소 (예를 들면, 췌장내)일 수 있다. 접종된 생쥐는 또한, 표적 항원, 예를 들면, huCEA에 대해 유전자도입될 수 있다. 면역요법에 대한 모형으로서 인간 CEA에 대해 유전자도입된 생쥐의 실례는 Clarke et al Cancer Research 58, 1469-1477, April 1, 1998에서 논의된다.

[0802] ## III. 서열

서열 번호	설명	서열
1	중쇄 CDR1, <Pb-Dotam>	GFSLSTYSMS
2	중쇄 CDR2 <Pb-Dotam>	FIGSRGDTYYASWAKG
3	중쇄 CDR3 <Pb-Dotam>	ERDPYGGGAYPPHL
4	경쇄 CDR1, <Pb-Dotam>	QSSHSVYSDNDLA
5	경쇄 CDR2 <Pb-Dotam>	QASKLAS
6	경쇄 CDR3 <Pb-Dotam>	LGGYDDESDTYG
7	중쇄 가변 도메인 <Pb-Dotam> PRIT-0213	(Q)VTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLST YSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKSQVVLT MTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVS S
8	경쇄 가변 도메인 <Pb-Dotam> PRIT-0213	(A)IQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQSSHSVYS DNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTKVEIK
9	중쇄 가변 도메인 <Pb-Dotam> PRIT-0214	(Q)VQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGFSLST YSMSWIRQPPGKGLEWIGFIGSRGDTYYASWAKGRVTISRDTSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSS
10	경쇄 가변 도메인 <Pb-Dotam> PRIT-0214	(A)IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYS DNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTKVEIK
11	중쇄 CDR1 <CEA> T84.66	GFNIKDTYMH
12	중쇄 CDR2 <CEA> T84.66	RIDPANGNSKYVPKFQG

[0803]

13	중쇄 CDR3 <CEA> T84.66	FGYYVSDYAMAY
14	경쇄 CDR1 <CEA> T84.66	RAGESVDIFGVGFLH
15	경쇄 CDR2 <CEA> T84.66	RASNRAT
16	경쇄 CDR3 <CEA> T84.66	QQTNEDPYT
17	중쇄 가변 도메인 <CEA> T84.66	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQGRV TITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSS
18	경쇄 가변 도메인 <CEA> T84.66	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAGESVDIFGVGFLHWYQQKPGQAPRLLIYRASNRATGIPARFSG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTNEDPYTFGQGTKLEIK
19	중쇄 CDR1 <CEA> CH1A1A	GYTFTEFGMN
20	중쇄 CDR2 <CEA> CH1A1A	WINTKTGEATYVEEFKG
21	중쇄 CDR3 <CEA> CH1A1A	WDFAYYVEAMDY
22	경쇄 CDR1 <CEA> CH1A1A	KASAAVGTYVA
23	경쇄 CDR2 <CEA> CH1A1A	SASYRKR
24	경쇄 CDR3 <CEA> CH1A1A	HQYYTYPLFT
25	중쇄 가변 도메인 <CEA> CH1A1A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSS

[0804]

26	경쇄 가변 도메인 <CEA> CH1A1A	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIK
27	링커 및 <DOTAM-VH>가 없는 P1AD8749의 중쇄 <CEA> → 링커 및 <DOTAM>를 결여하는, SeqID32와 동일한 플라스미드	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGW INTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWD FAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
28	P1AD8749 중쇄 홀 <CEA> CH1A1A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0805]

29	링커 및 <DOTAM-VL>이 없는 P1AD8592의 중쇄 <CEA> → 링커 및 <DOTAM>을 결여하는, SeqID33과 동일한 플라스미드	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGW INTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWD FAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	P1AD8592 중쇄 노브 <CEA>CH1A1A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
31	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
32	P1AD8749 중쇄 노브 <CEA>CH1A1A< Dotam-VH>	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSVTLKES GPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSK SQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSS

[0806]

33	P1AD8592 중쇄 홀 <CEA>CH1A1A< Dotam-VL>	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYSDNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTKVEIK
34	P1AD8749 및 P1AD8592 경쇄 <CEA> CH1A1A	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASYRKRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTFG QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
35	중쇄 CDR 1, <C825>	DYGVH
36	중쇄 CDR 2, <C825>	VIWSGGGTAYNTALIS
37	중쇄 CDR 3, <C825>	RGSYPYNYFDA
38	경쇄 CDR 1, <C825>	GSSTGAVTASNYAN
39	경쇄 CDR 2, <C825>	GHNNRPP
40	경쇄 CDR 3, <C825>	ALWYSDHWV
41	중쇄 가변 도메인 <C825>	HVKLQESGPGLVQPSQSLSLTCTVSGFSLTDYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRLN IYRDNSKNQVFLEMNSLQAEDTAMYYCARRGSYPYNYFDAWGQGTTVTVSS
42	경쇄 가변 도메인, <C825>	QAVVTQESALTTPPGETVTLTCGSSTGAVTASNYANWVQEKPDHLFTGLIGGHNNRPPGVPARFSGSL IGDKAALTIAGTQTEDEAIYFCALWYSDHWVIGGGTKLTVL
43	중쇄 CDR1 <CEA> A5B7	DYYMN

[0807]

44	중쇄 CDR2 <CEA> A5B7	FIGNKANAYTTEYSASVKG
45	중쇄 CDR3 <CEA> A5B7	DRGLRFYFDY
46	경쇄 CDR1 <CEA> A5B7	RASSSVTYIH
47	경쇄 CDR2 <CEA> A5B7	ATSNLAS
48	경쇄 CDR3 <CEA> A5B7	QHWSSKPPT
49	중쇄 가변 도메인 <CEA> A5B7	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMNWVRQAPGKGLEWLGFIGNKANAYTTEYSASVKG RFTISRDKSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSS
50	경쇄 가변 도메인 <CEA> A5B7	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVTYIHWYQQKPGQAPRSWIYATSNLASGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLEPEDFAVYYCQHWSSKPPTFGQGTKLEIK
51	P1AE4956 중쇄 홀 <CEA> A5B7	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMNWVRQAPGKGLEWLGFIGNKANAYTTEYSASVKG RFTISRDKSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0808]

52	P1AE4956 중쇄 노브 <CEA> A5B7 <Dotam-VH>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMNWVRQAPGKGLEWLGFIGNKANAYTTEYSASVKG RFTISRDKSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSVTLKES GPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSK SQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSS
53	링커 및 DOTAM-VH>가 없는 P1AE4956의 중쇄 <CEA> → 링커 및 <DOTAM>을 결여하는, SeqID52와 동일한 플라스미드	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMNWVRQAPGKGLEWLGFIGNKANAYTTEYSASVKG RFTISRDKSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
54	P1AE4956 경쇄 <CEA> A5B7	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVTYIHWYQQKPGQAPRSWIYATSNLASGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLEPEDFAVYYCQHWSSKPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
55	P1AE4957 중쇄 노브 <CEA> A5B7	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMNWVRQAPGKGLEWLGFIGNKANAYTTEYSASVKG RFTISRDKSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0809]

56	P1AE4957 중쇄 홀 <CEA> A5B7 <Dotam-VL>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMNWVRQAPGKGLEWLGFIGNKANAYTTEYSASVKG RFTISRDKSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYSDNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTKVEIK
57	링커 및 DOTAM-VL>이 없는 P1AE4957의 중쇄 <CEA> → 링커 및 <DOTAM>을 결여하는, SeqID56과 동일한 플라스미드	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYYMNWVRQAPGKGLEWLGFIGNKANAYTTEYSASVKG RFTISRDKSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
58	P1AE4957 경쇄 <CEA> A5B7	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVTYIHWYQQKPGQAPRSWIYATSNLASGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLEPEDFAVYYCQHWSSKPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
59	중쇄 CDR1 <CEA> 28A9	GGTFSYYAIS
60	중쇄 CDR2 <CEA> 28A9	GILPAFGAANYAQKFQG
61	중쇄 CDR3 <CEA> 28A9	LPPLPGAGLDY
62	경쇄 CDR1 <CEA> 28A9	RASQSISSWLA

[0810]

63	경쇄 CDR2 <CEA> 28A9	DASSLES
64	경쇄 CDR3 <CEA> 28A9	QQNTQYPMT
65	중쇄 가변 도메인 <CEA> 28A9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWVRQAPGQGLEWMGGILPAFGAANYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLPPLPGAGLDYWGQGTTVTVSS
66	경쇄 가변 도메인 <CEA> 28A9	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TEFTLTISSLQPDDFATYYCQQNTQYPMTFGQGTKVEIK
67	중쇄 CDR1 <GPRC5D>	GFTFSKYAMA
68	중쇄 CDR2 <GPRC5D>	SISTGGVNTYYADSVKG
69	중쇄 CDR3 <GPRC5D>	HTGDYFDY
70	경쇄 CDR1 <GPRC5D>	RASQSVSISGINLMN
71	경쇄 CDR2 <GPRC5D>	HASILAS
72	경쇄 CDR3 <GPRC5D>	QQTRESPLT
73	중쇄 가변 도메인 <GPRC5D>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYAMAWVRQAPGKGLEWVASISTGGVNTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATHTGDYFDYWGQGTMVTVSS
74	경쇄 가변 도메인 <GPRC5D>	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSISGINLMNWYQQKPGQQPKLLIYHASILASGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQTRESPLTFGQGTRLEIK
75	중쇄 CDR1 <FAP> 4B9	GFTFSSYAMS
76	중쇄 CDR2 <FAP> 4B9	AIIGSGASTYYADSVKG

[0811]

77	중쇄 CDR3 <FAP> 4B9	GWFGGFNY
78	경쇄 CDR1 <FAP> 4B9	RASQSVTSSYLA
79	경쇄 CDR2 <FAP> 4B9	VGSRRAT
80	경쇄 CDR3 <FAP> 4B9	QQGIMLPPT
81	중쇄 가변 도메인 <FAP> 4B9	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS
82	경쇄 가변 도메인 <FAP> 4B9	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK
83	P1AF0709 HCknob <CEA> T84.66 (D1AE4688)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQGRV TITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
84	P1AF0709 HChole <CEA> T84.66 Dotam-VL (D1AA4920)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQGRV TITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYSDNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTKVEIK

[0812]

85	링커 및 DOTAM이 없는 P1AF0709 HChole <CEA> T84.66	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQGRV TITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
86	P1AF0298 HCHole <CEA> T84.66 (D1AE4687)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQGRV TITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
87	P1AF0298 HCknob <CEA> T84.66 Dotam-VH-AST (D1AE3668)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQGRV TITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSVTLKES GPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSK SQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSAST

[0813]

88	P1AF0298 링커 및 DOTAM이 없는 HCknob <CEA> T84.66	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQGRV TITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
89	P1AF0709 및 P1AF0298 경쇄 (D1AA4120)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAGESVDIFGVGFLHWYQQKPGQAPRLLIYRASNRATGIPARFSG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTNEDPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
90	P1AF0710 HCknob <CEA> 28A9 (D1AE4690)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWVRQAPGQGLEWMGGILPAFGAANYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLPPLPGAGLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
91	P1AF0710 HChole <CEA> 28A9 Dotam-VL (D1AC3172)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWVRQAPGQGLEWMGGILPAFGAANYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLPPLPGAGLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCQSSHSVYSDNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTKVEIK

[0814]

[0815]

92	링커 또는 DOTAM이 없는 P1AF0710 HChole <CEA> 28A9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWVRQAPGQGLEWMGGILPAFGAANYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLPPLPGAGLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
93	P1AF0711 HChole <CEA> 28A9 (D1AE4689)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWVRQAPGQGLEWMGGILPAFGAANYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLPPLPGAGLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
94	P1AF0711 HCknob <CEA> 28A9 Dotam-VH-AST (D1AE3671)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWVRQAPGQGLEWMGGILPAFGAANYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLPPLPGAGLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVVTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSVTLKESG PVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKS QVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSAST

[0816]

95	P1AF0711 링커 및 DOTAM이 없는 HCknob <CEA> 28A9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSYYAISWVRQAPGQGLEWMGGILPAFGAANYAQKFQGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLPPLPGAGLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVVTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
96	P1AF0710 및 P1AF0711 경쇄 (D1AA2299)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSG TEFTLTISSLQPDDFATYYCQQNTQYPMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
97	P1AF0712 HCknob <CEA> CH1A1A (D1AC4023)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
98	P1AF0712 HChole <CEA> CH1A1A DOTA-VL (D1AE4684)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVIQ ESALTTPPGETVTLTCGSSTGAVTASNYANWVQEKPDHLFTGLIGGHNNRPPGVPARFSGSLIGDKAA LTIAGTQTEDEAIYFCALWYSDHWVIGGGTKLTVL

99	링커 또는 DOTA가 없는 P1AF0712 HChole <CEA>	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
100	P1AF0713 HCHole <CEA> CH1A1A (D1AC4022)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
101	P1AF0713 HCknob <CEA> CH1A1A DOTA-VH-AST (D1AE3670)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHVKLQE SGPGLVQPSQSLSLTCTVSGFSLTDYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRLNIYRDNS KNQVFLEMNSLQAEDTAMYYCARRGSYPYNYFDAWGQGTTVTVSSAST

[0817]

102	링커 및 DOTA가 없는 P1AF0713 HCknob <CEA> CH1A1A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
103	P1AF0712 및 P1AF0713 경쇄 (D1AA3384)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
104	P1AF8284 및 P1AF8285 HCknob <GPRC5D> (D1AF6517)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYAMAWVRQAPGKGLEWVASISTGGVNTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATHTGDYFDYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
105	P1AF8284 HChole Dotam-VL (D1AG3592)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQS SHSVYSDNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGG YDDESDTYGFGGGTKVEIK
106	P1AF8285 Hhole Dotam-VHA (D1AG3591)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSG FSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYY CARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSA

[0818]

107	P1AF8284 및 P1AF8285 경쇄 (D1AF6469)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSISGINLMNWYQQKPGQQPKLLIYHASILASGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQTRESPLTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
108	P1AF8286 및 P1AF8287 HCknob <FAP> 4B9 (D1AF6515)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
109	P1AF8286 HChole Dotam-VL (D1AG3592)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQS SHSVYSDNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGG YDDESDTYGFGGGTKVEIK
110	P1AF8287 HChole Dotam-VHA (D1AG3591)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSG FSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYY CARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSA
111	P1AF8286 및 P1AF8287 경쇄 (D1AB9974)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

[0819]

112	P1AF7782 및 P1AF7784 HCknob <CEA> CH1A1A (D1AD3419)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRV TFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
113	P1AF7782 HChole Dotam-VL (D1AG2237)	SIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSHSVYSDNDLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLASGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGSGGDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
114	P1AF7784 HChole Dotam-VH (D1AG2236)	GVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPPGKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLT ISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGSGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCT LPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
115	P1AF7782 및 P1AF7784 경쇄 (D1AD3421)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
116	중쇄 CDR1 <CEA> MFE23	DSYMH
117	중쇄 CDR2 <CEA> MFE23	WIDPENGDTEYAPKFQG
118	중쇄 CDR2 <CEA> MFE23-H26	WIDPENGGTNYAQKFQG

[0820]

[0821]

119	중쇄 CDR3 <CEA> MFE23	GTPTGPYYFDY
120	경쇄 CDR1 <CEA> MFE23	SASSSVSYMH
121	경쇄 CDR1 <CEA> MFE23-L24, L25	RASSSVSYMH
122	경쇄 CDR1 <CEA> MFE23-L26	RASQSISSYM
123	경쇄 CDR2 <CEA> MFE23	STSNLAS
124	경쇄 CDR2 <CEA> MFE23-L26	YTSNLAS
125	경쇄 CDR2 <CEA> MFE23-L29	STSSLQS
126	경쇄 CDR3 <CEA> MFE23	QQRSSYPLT
127	중쇄 가변 도메인 <CEA> MFE23	QVKLQQSGAELVRSGTSVKLSCTASGFNIKDSYMHWLRQGPEQGLEWIGWIDPENGDTEYAPKFQGKA TFTTDTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGTTVTVSS
128	경쇄 가변 도메인 <CEA> MFE23	ENVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGT SYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGAGTKLELK
129	MFE-H24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEYAPKFQGRV TMTTDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGTLVTVSS
130	MFE-H25	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFKDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEYAPKFQGRV TMTTDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGTLVTVSS

[0822]

131	MFE-H26	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGGTNYAQKFQGRV TMTTDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGTLVTVSS
132	MFE-H27	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEYAPKFQGRV TMTTDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTPTGPYYFDYWGQGTLVTVSS
133	MFE-H28	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEYAPKFQGRV TMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGTLVTVSS
134	MFE-H29	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEYAPKFQGRV TITTDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCNEGTPTGPYYFDYWGQGTLVTVSS
135	MFE-L24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK
136	MFE-L25	EIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK
137	MFE-L26	EIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK
138	MFE-L27	EIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVPYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSVQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK
139	MFE-L28	EIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVPYMHWLQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSVQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK
140	MFE-L29	EIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVPYMHWLQQKPGKAPKLLIYSTSSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSVQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKLEIK
141	CEA의 A2 도메인	PKPFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNDNRTLTLLSVTRNDVGP YECGIQNKLSVDHSDPVILN
142	CEA의 A1 도메인	PKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTAS YKCETQNPVSARRSDSVILN

[0823] ## IV. 실시예

[0824] 다음은 본원 발명의 방법과 조성물의 실시예이다. 앞서 제공된 일반적인 설명을 고려하여, 다양한 다른 구체예가 실시될 수 있는 것으로 이해된다.

[0825] 약어의 용어

[0826] ADA 항약물 항체

[0827] AST 알라닌, 세린, 트레오닌

[0828] BLI 생물발광 영상화

[0829] BsAb 이중특이적 항체

[0830] BW 체중

[0831] CA 제거제

[0832] cDC 고전적 수지상 세포

[0833] CEA 암배아 항원

[0834] CIT 암 면역요법

[0835] DC 수지상 세포

[0836] DLN 배수 림프절

[0837] DOTAM 1,4,7,10-테트라키스(카바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸

[0838] ID 주사된 용량

[0839] ELISA 효소 결합 면역흡착측정법

[0840] FACS 형광 활성화 세포 분류

[0841] FAP 섬유모세포 활성화 단백질

[0842] GPRC5D G-단백질 연계된 수용체 패밀리 C 그룹 5 구성원 D

[0843] huCEA 인간 암배아 항원

[0844] ID 주사된 용량

[0845] IFN 인터페론

[0846] IL 인터류킨

[0847] IP 복막내

[0848] IV 정맥내

[0849] Luc 루시페라아제

[0850] MCH 주요 조직적합성 복합체

[0851] MFI 평균 형광 강도

[0852] MW 분자량

[0853] NBF 중성으로 완충된 포르말린

[0854] PBS 인산염 완충된 식염수

[0855] PD 약력학적

[0856] pDC 형질세포양 수지상 세포

[0857] p.i. 주사후

[0858] PMA 포르볼 12-미리스트산염-13-아세트산염

[0859] PK 약동학

[0860] PRIT 사전-표적화 방사면역요법

[0861] RIT 방사면역요법

[0862] RCF 상대 원심력 (중력가속도)

[0863] ROI 관심 영역

[0864] RT 실온

[0865] SC 피하

[0866] SCID 중증 복합형 면역결핍

[0867] SD 표준 편차

[0868] SEM 평균의 표준 오차

[0869] SOPF 특정한 기회 감염 병원체 없음

[0870] SPLIT 분리된 v-도메인 연쇄 기술

[0871] TA 표적 항원

[0872] TGI 종양 성장 저해

[0873] TR 종양 퇴화

[0874] Treg 조절 T 세포

[0875] **실시예 1: CEA-분할-DOTAM VH/VL 항체의 생산**

[0876] 표적 항원에 대한 결합 부위 및 방사성-표지화된 화합물에 대한 결합 부위를 갖는 이중특이적 항체를 이용한 PRIT (사전-표적화 방사면역요법)의 방법은 효과적인 표적화 및 높은 종양 대 정상 조직 흡수 선량 비율을 담보하기 위해, 항체 및 방사리간드의 투여 사이에 제거제 (CA)를 통상적으로 이용한다 (도 3 참조). 이와 같은 한 가지 방법의 실례에서, 주사된 BsAb가 종양내로 침투를 위한 충분한 시간, 일반적으로 4-10 일이 허용되고, 그 후 순환성 BsAb가 Pb-DOTAM-덱스트란-500 CA를 이용하여 중화된다. CA는 사전-표적화된 부위를 차단할, 종양내로 침투하지 않는 비표적화된 BsAb에 대한 ^{212}Pb-DOTAM 결합을 차단한다. 이러한 사전-표적화 섭생은 차후에 투여되는 방사성-표지화된 킬레이트, ^{212}Pb-DOTAM의 효율적인 종양 축적을 가능하게 한다.

[0877] 하지만, 제거제를 수반하는 방법에서, CA의 이용은 비효율적인 추가 단계를 상기 방법에 도입한다. 게다가, 복합적인 인자인 CA 투여의 타이밍 및 용량을 주의 깊게 선택하는 것이 중요할 수 있다.

[0878] 제거제의 이용과 연관된 문제를 해소하기 위해, 본 발명자들은 DOTAM VL과 VH 도메인이 별개의 항체 상에서 발견되도록, 이들을 분할하는 전략을 제안하였다.

[0879] 예시적인 분할 DOTAM VH/VL 항체의 생산은 아래에 더욱 논의된다.

[0880] **항체 중쇄 또는 경쇄의 재조합 발현을 위한 플라스미드의 생산**

[0881] 원하는 단백질이 인간 배아 신장 세포 (HEK 293)의 일시적인 형질감염에 의해 발현되었다. 원하는 유전자/단백질 (예를 들면 전장 항체 중쇄, 전장 항체 경쇄, 또는 추가의 도메인 (예를 들면 C 말단에서 면역글로불린 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인)을 내포하는 전장 항체 중쇄의 발현을 위해, 아래의 기능적 요소를 포함하는 전사 단위가 이용되었다:

[0882] - 인트론 A를 포함하는 인간 시토메갈로바이러스 (P-CMV)로부터 극초기 인핸서 및 프로모터,

[0883] - 인간 중쇄 면역글로불린 5'-비번역 영역 (5'UTR),

[0884] - 뮤린 면역글로불린 중쇄 신호 서열 (SS),

[0885] - 발현되는 유전자/단백질, 그리고

[0886] - 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 서열 (BGH pA).

[0887] 발현되는 원하는 유전자를 포함하는 발현 단위/카세트에 더하여, 기본/표준 포유류 발현 플라스미드는

[0888] - 대장균 (E. coli)에서 이러한 플라스미드의 복제를 가능하게 하는, 벡터 pUC18로부터 복제 기점, 그리고

[0889] - 대장균 (E. coli)에서 암피실린 내성을 부여하는 베타 락타마아제 유전자를 내포하였다.

[0890] a) 항체 중쇄에 대한 발현 플라스미드

[0891] 완전한 기능적 항체 중쇄, 그 이후에 추가의 항체 V-중쇄 또는 V-경쇄 도메인을 포함하는 C 말단 융합 유전자를 포함하는 항체 중쇄 인코딩 유전자가, G4Sx4 링커에 의해 각각 분리된 개별 서열 요소 (V-중쇄 또는 V-경쇄)를 코딩하는 DNA 단편을 인간 IgG 분자의 CH3 도메인의 C 말단에 융합함으로써 조립되었다 (VH-CH1-힌지-CH2-CH3-링커-VH 또는 VH-CH1-힌지-CH2-CH3-링커-VL). 2개의 CH3 도메인의 C 말단에서 하나의 VH 및 하나의 VL 도메인을 각각 보유하는 재조합 항체 분자가 노브 인투 홀 기술을 이용하여 발현되었다.

[0892] HEK293 세포에서 C 말단 VH 또는 VL 도메인을 갖는 항체 중쇄의 일시적인 발현을 위한 발현 플라스미드는 C 말단 VH 또는 VL 도메인 발현 카세트를 갖는 항체 중쇄 단편 이외에, 대장균 (E. coli)에서 이러한 플라스미드의 복제를 가능하게 하는, 벡터 pUC18로부터 유래된 복제 기점, 그리고 대장균 (E. coli)에서 암피실린 내성을 부여하는 베타 락타마아제 유전자를 포함하였다. C 말단 VH 또는 VL 도메인 융합 유전자를 갖는 항체 중쇄 단편의 전사 단위는 아래의 기능적 요소를 포함한다:

[0893] - 인트론 A를 포함하는 인간 시토메갈로바이러스 (P-CMV)로부터 극초기 인핸서 및 프로모터,

[0894] - 인간 중쇄 면역글로불린 5'-비번역 영역 (5'UTR),

[0895] - 뮤린 면역글로불린 중쇄 신호 서열,

[0896] - 항체 중쇄 (VH-CH1-힌지-CH2-CH3-링커-VH 또는 VH-CH1-힌지-CH2-CH3-링커-VL) 인코딩 핵산, 그리고

[0897] - 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 서열 (BGH pA).

[0898] b) 항체 경쇄에 대한 발현 플라스미드

[0899] 완전한 기능적 항체 경쇄를 포함하는 항체 경쇄 인코딩 유전자가, 개별 서열 요소를 코딩하는 DNA 단편을 융합함으로써 조립되었다.

[0900] 항체 경쇄의 일시적인 발현을 위한 발현 플라스미드는 항체 경쇄 단편 이외에, 대장균 (E. coli)에서 이러한 플라스미드의 복제를 가능하게 하는, 벡터 pUC18로부터 유래된 복제 기점, 그리고 대장균 (E. coli)에서 암피실린 내성을 부여하는 베타 락타마아제 유전자를 포함하였다. 항체 경쇄 단편의 전사 단위는 아래의 기능적 요소를 포함한다:

[0901] - 인트론 A를 포함하는 인간 시토메갈로바이러스 (P-CMV)로부터 극초기 인핸서 및 프로모터,

[0902] - 인간 중쇄 면역글로불린 5'-비번역 영역 (5'UTR),

[0903] - 뮤린 면역글로불린 중쇄 신호 서열,

[0904] - 항체 경쇄 (VL-CL) 인코딩 핵산, 그리고

[0905] - 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 서열 (BGH pA).

[0906] **항체 분자의 일시적인 발현**

[0907] 항체 분자가, F17 배지 (Invitrogen Corp.)에서 배양된 일시적으로 형질감염된 HEK293 세포 (인간 배아 신장 세포주 293 유래됨)에서 생성되었다. 형질감염을 위해 "293 없는" 형질감염 시약 (Novagen)이 이용되었다. 전술된 바와 같은 개별 항체 중쇄와 경쇄 분자가 개별 발현 플라스미드로부터 발현되었다. 형질감염이 제조업체의 사용 설명서에서 특정된 바와 같이 수행되었다. 면역글로불린 내포 세포 배양 상층액이 형질감염 후 3 내지 7 (3-7) 일째에 수확되었다. 상층액이 정제 때까지 감소된 온도 (예를 들면 -80℃)에서 보관되었다.

[0908] 예를 들면 HEK293 세포에서 인간 면역글로불린의 재조합 발현에 관한 일반적인 정보는 Meissner, P. et al., Biotechnol. Bioeng. 75 (2001) 197-203에서 제공된다.

[0909] PRIT 헤미바디 (분할 항체)가 MabSelect Sure (친화성 크로마토그래피), 그 이후에 Superdex 200 (크기 배제 크로마토그래피)에 의해 정제되었다.

[0910] 예시적인 항체의 서열은 아래에 요약된다.

[0911]

항체 명칭	첫 번째 중쇄	두 번째 중쇄	경쇄
P1AD8592	서열 번호: 30	서열 번호: 33	서열 번호: 34
P1AD8749	서열 번호: 28	서열 번호: 32	서열 번호: 34
P1AE4956	서열 번호: 51	서열 번호: 52	서열 번호: 54
P1AE4957	서열 번호 55	서열 번호 56	서열 번호: 58

[0912] DOTAM-VL-P1AD8592를 갖는 PRIT Split 항체의 경우에, 분석적 SEC 및 CE-SDS에 근거하여 1.372mg/mL의 농도 및 >96%의 순도를 갖는 5mg이 생성되었다. DOTAM-VH - P1AD8749를 갖는 PRIT Split 항체의 경우에, 분석적 SEC 및 CE-SDS에 근거하여 2.03mg/mL의 농도 및 >91%의 순도를 갖는 14mg이 생성되었다.

[0913] 항체 P1AE4956 및 P1AE4957 또한 생성되었다. DOTAM-VL -P1AE4957을 갖는 PRIT Split 항체의 경우에, 분석적 SEC 및 CE-SDS에 근거하여 2.6mg/mL의 농도 및 >81.6%의 순도를 갖는 19 mg이 생성되었다. DOTAM-VH - P1AE4956을 갖는 PRIT Split 항체의 경우에, 분석적 SEC 및 CE-SDS에 근거하여 1.5mg/mL의 농도 및 >90%의 순도를 갖는 6.9mg이 생성되었다. ESI-MS가 PRIT 헤미바디의 정체를 확증하는 데 이용되었다.

[0914] **실시예 2: 분할 항체 기능성의 FACS 분석**

[0915] 분할 항체 또는 헤미바디의 기능성을 사정하기 위해, 37 ℃에서 10 분 동안 아쿠타아제를 이용하여, MKN-45 세포가 배양 용기로부터 분리되었다. 차후에, 이들 세포는 PBS에서 2회 세척되고, 그리고 $4x10^6$개 세포/웰의 최종 밀도로 96 웰 v-바닥 평판 내로 파종되었다.

[0916] 헤미바디 P1AD8749와 P1AD8592 및 인간 ISO 대조가 1:1 혼합되고 도 5에서 표시된 바와 같은 농도로 세포에 첨가되었다. 차후에, 이들 세포는 얼음 위에서 1 시간 동안 인큐베이션되고 PBS에서 2회 세척되었다. 세포 펠렛이 재현탁되었고, 그리고 40㎕/웰의 검출 시약, <인간 IgG(H+L)>FITC, (10㎍/ml) 또는 Pb_Dotam_FITC 1:100 => (10㎍/ml) 중 어느 하나가 PBS / 5% FCS에 첨가되었다. 얼음 위에서 60 분 인큐베이션 후, 이들 세포는 PBS에서 2회 세척되고, 그리고 FACS canto를 이용한 FITC 형광의 계측을 위해 200㎕ PBS / 5% FCS에서 재현탁되었다.

[0917] MKN-45 세포 상에서 CEA에 대한 이들 헤미바디의 결합 능력을 사정하기 위해, 인간 IgG 특이적 이차 항체를 이용하는 항체를 이용하여 이들이 검출되었다 (도 5). 예상한 바와 같이, 이들 세포에서 인간 ISO 대조의 어떤 유의미한 결합도 관찰되지 않는다. 동일한 IgG 농도로 조정될 때, 양쪽 헤미바디뿐만 아니라 둘 모두의 조합은 MKN-45 세포에 용량 의존성 결합을 보여주는데, 예상한 바와 같이 매우 높은 농도에서 후크 효과가 확연하다. 이러한 실험은 CEA 결합이 이들 헤미바디에서 기능적이라는 것을 증명한다.

[0918] DOTAM에 대한 이들 헤미바디의 결합 능력을 사정하기 위해, 이들이 인간 ISO 대조, 또는 1:1 비율에서 그들의 개별 분할 항체 파트너의 존재에서 세포에 결합되었다. MKN-45 세포에 이들의 결합 후, 이들 세포는 결합되지 않은 항체를 제거하기 위해 세척되었다. 차후에, DOTAM 결합 적격 세포 결합된 항체를 검출하기 위해, Pb-DOTAM-FITC (형광 표지화된 Pb-DOTAM)가 첨가되었다 (도 6). 예상한 바와 같이, 분할 항체 파트너 중에서 하나가 인간 ISO 대조와 조합될 때에는, 이들 세포에서 어떤 유의미한 FITC도 관찰되지 않는다. 1:1 비율에서 양쪽 헤미바디의 조합만 용량 의존성 FITC 신호를 보여준다. 이러한 실험은 DOTAM 결합 부위가, 양쪽 헤미바디가 하나의 세포 상에서 합쳐질 때 기능적으로 된다는 것을 증명한다.

[0919] **실시예 3: 생체내 연구**

[0920] **실시예 3a: 재료와 방법 - 일반적**

[0921] 모든 실험 프로토콜이 지역 당국 (Comité Régional d'Ethique de l'Expérimentation Animale du Limousin [CREEAL], Laboratoire Départemental d'Analyses et de Recherches de la Haute-Vienne)에 의해 검토되고 승인되었다. 암컷 중증 복합형 면역결핍 (SCID) 생쥐 (Charles River)가 윤리적 지침에 의거하여, 밝음 및 어둠 (12 시간/12 시간)의 일일 주기를 갖는 특정한 기회 감염 병원체 없는 (SOPF) 조건하에 유지되었다. 이들 동물이 새로운 환경에 적응할 수 있도록 하기 위해, 도착 후 첫 5 일 동안에는 조작이 수행되지 않았다. 동물은 임상 증상 및 부작용 검출을 위해 매일 통제되었다.

[0922] Corning® Matrigel® 기저막 매트릭스 (성장 인자 감소됨; 카탈로그 번호 354230)와 1:1 혼합된 세포 배양 배지에서 CEA 발현 종양 세포의 피하 (SC) 주입에 의해, 고형 이종이식편이 확립되었다. 종양 용적이 주 3회 수동

캘리퍼링을 통해 추정되고, 공식: *용적 = 0.5 x 길이 x 너비*^{2}에 따라서 계산되었다. 종양 성장률에 따라서 추가 종양 계측이 필요에 따라 실행되었다.

[0923] 생쥐가 만약 종양 부담, 주사의 부작용, 또는 다른 원인으로 인한 다루기 힘든 곤란 또는 통증의 징후를 보이면, 예정된 종결점 이전에 안락사되었다. 통증, 곤란, 또는 불편의 표시는 급성 체중 (BW) 감소, 추레한 털, 설사, 웅크린 자세, 그리고 기면을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 치료된 동물의 BW가 주 3회 계측되었고, 건강 상태에 따른 필요에 따라 추가로 계측되었다. 습성 사료가 방사선 주사 다음 날부터 시작하여, 7 일 동안 또는 모든 개체가 임의의 급성 BW 감소로부터 충분히 회복할 때까지, 모든 생쥐에게 제공되었다. BW 감소가 그들의 초기 BW의 20%를 초과하거나 또는 종양 용적이 3000 mm^3에 도달한 생쥐는 즉시 안락사되었다. 윤리적 이유로 인해 안락사가 고려되는 다른 인자는 종양 상태 (예를 들면 괴사 부위, 혈액/액체 누출, 자상의 징후) 및 동물의 전반적인 외관 (예를 들면 털, 자세, 움직임)이다.

[0924] 방사성 소변/대변의 재섭취를 최소화하기 위해, 모든 효능 연구 생쥐는 표준 침구가 있는 새로운 케이지로 이전되기에 앞서, ^{212}Pb-DOTAM 투여 후 4 시간 동안 바닥에 창살이 있는 케이지에 배치되었다. 모든 케이지는 이후, 주사후 (p.i.) 24 시간째에 교체되었다. 방사선 주사 후 24 시간 이내에 생체분포 목적으로 희생된 생쥐의 경우에는 이러한 절차가 수행되지 않았다.

[0925] 안락사의 시점에서 경부 탈구를 통한 종료 전, 마취된 생쥐에서 안와후 출혈을 이용하여 정맥동으로부터 혈액이 수집되었고, 그 이후에 프로토콜에 규정된 대로, 방사능 계측 및/또는 조직학적 분석을 위한 추가 조직 수확이 뒤따랐다. 예상치 못한 또는 비정상적인 상태는 문서화되었다. 포르말린 고정을 위해 수집된 조직이 10% 중성으로 완충된 포르말린 (4℃)에 즉시 넣어지고, 그리고 5 일 후 인산염 완충된 식염수 (PBS; 4℃)로 이전되었다. 생체분포 목적을 위해 수집된 장기와 조직이 계량되고 2470 WIZARD^2 자동 감마 계수기 (PerkinElmer)를 이용하여 방사능에 대해 계측되었고, 그리고 붕괴 및 배경에 대한 교정을 포함하는, 조직 그램당 주사된 선량 퍼센트 (% ID/g)가 차후에 계산되었다.

[0926] 통계학적 분석이 GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc.) 및 JMP 12 (SAS Institute Inc.)를 이용하여 수행되었다. 종양 성장 저해 (TGI)의 곡선 분석이 아래의 공식을 이용하여 평균 종양 용적에 근거하여 수행되었고:

[0927] $$TGI = 100 - \frac{\overline{v_{처리,d}} - \overline{v_{처리,0}}}{\overline{v_{기준,d}} - \overline{v_{기준,0}}} \times 100$$

[0928] 여기서 *d*는 연구 일을 표시하고 *0*은 기준선 값을 표시한다. 운반제가 기준 집단으로서 선택되었다. 종양 퇴화 (TR)가 아래의 공식에 따라서 계산되었고:

[0929] $$TR = \frac{\overline{v_{처리,0}} - \overline{v_{처리,d}}}{\overline{v_{처리,0}}}$$

[0930] 여기서 양성 값은 종양 퇴화를 표시하고, 그리고 -1 미만의 값은 이중 기준선 값을 뛰어넘는 성장을 표시한다.

[0931] **검사 화합물**

[0932] 설명된 연구에서 활용된 화합물은 아래의 표에서, 이중특이적 항체, 제거제 및 방사성-표지화된 킬레이트에 대해 각각 제시된다.

[0933] CEA-DOTAM (RO7198427, PRIT-0213)은 CEA의 T84.66 에피토프를 표적으로 하는 완전 인간화 BsAb이다 (WO2019/201959를 또한 참조한다). PRIT-0213은

[0934] i) 아래에 도시된 바와 같은 첫 번째 중쇄;

[0935] ii) 아래에 도시된 바와 같은 두 번째 중쇄; 및

[0936] iii) 아래에 도시된 바와 같은 2개의 항체 경쇄로 구성된다.

[0937]

설명	서열
PRIT-00213의 경쇄	1 eivltqspat lslspgerat lscragesvd ifgvgflhwy qqkpgqaprl 51 liyrasnrat giparfsgsg sgtdftltis slepedfavy ycqqtnedpy 101 tfgqgtklei krtvaapsvf ifppsdeqlk sgtasvvcll nnfypreakv 151 qwkvdnalqs gnsqesvteq dskdstysls stltlskady ekhkvyacev 201 thqglsspvt ksfnrgec
중쇄 1 PRIT-0213	1 qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgfnik dtymhwvrqa pgqglewmgr 51 idpangnsky vpkfqgrvti tadtststay melsslrsed tavyycapfg 101 yyvsdyamay wgqgtlvtvs sastkgpsvf plapssksts ggtaalgclv 151 kdyfpepvtv swnsgaltsg vhtfpavlqs sglyslssvv tvpssslgtq 201 tyicnvnhkp sntkvdkkve pkscdkthtc ppcpapeaag gpsvflfppk 251 pkdtlmisrt pevtcvvvdv shedpevkfn wyvdgvevhn aktkpreeqy 301 nstyrvvsvl tvlhqdwlng keykckvsnk algapiekti skakgqprep 351 qvytlppcrd eltknqvslw clvkgfypsd iavewesngq pennykttpp 401 vldsdgsffl yskltvdksr wqqgnvfscs vmhealhnhy tqkslslspg 451 ggggsggggs ggggsggggs vtlkesgpvl vkptetltlt ctvsgfslst 501 ysmswirqpp gkalewlgfi gsrgdtyyas wakgrltisk dtsksqvvlt 551 mtnmdpvdta tyycarerdp ygggaypphl wgrgtlvtvs s

[0938]

PRIT-0213의 중쇄 2	1 qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgfnik dtymhwvrqa pgqglewmgr 51 idpangnsky vpkfqgrvti tadtststay melsslrsed tavyycapfg 101 yyvsdyamay wgqgtlvtvs sastkgpsvf plapssksts ggtaalgclv 151 kdyfpepvtv swnsgaltsg vhtfpavlqs sglyslssvv tvpssslgtq 201 tyicnvnhkp sntkvdkkve pkscdkthtc ppcpapeaag gpsvflfppk 251 pkdtlmisrt pevtcvvvdv shedpevkfn wyvdgvevhn aktkpreeqy 301 nstyrvvsvl tvlhqdwlng keykckvsnk algapiekti skakgqprep 351 qvctlppsrd eltknqvsls cavkgfypsd iavewesngq pennykttpp 401 vldsdgsffl vskltvdksr wqqgnvfscs vmhealhnhy tqkslslspg 451 ggggsggggs ggggsggggs iqmtqspssl sasvgdrvti tcqsshsvys 501 dndlawyqqk pgkapklliy qasklasgvp srfsgsgsgt dftltisslq 551 pedfatyycl ggyddesdty gfgggtkvei k

[0939] DIG-DOTAM (RO7204012)은 음성 대조로서 이용된 비-CEA 결합 BsAb이다.

[0940] P1AD8749, P1AD8592, P1AE4956 및 P1AE4957은 CEA의 CH1A1A 또는 A5B7 에피토프를 표적으로 하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체이다. 이들의 서열은 전술된다. 모든 항체 작제물은, 그들이 해동되고 정맥내 (IV) 또는 복막내 (IP) 투여를 위해 표준 운반제 완충액 (20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl; pH 6.0) 또는 0.9% NaCl에서 그들의 최종 개별 농도로 희석되는 주사의 일자 때까지 -80℃에서 보관되었다.

[0941] Pb-DOTAM-덱스트란-500 CA (RO7201869)는, 이것이 해동되고 IV 또는 IP 투여를 위해 PBS에서 희석되는 주사의

일자 때까지 -20℃에서 보관되었다.

[0942] 방사성-표지화를 위한 DOTAM 킬레이트는 Macrocyclics에 의해 제공되었고, 그리고 Orano Med (Razès, France)에 의해 수행된 방사성-표지화 전, -20℃에서 유지되었다. ^{212}Pb-DOTAM (RO7205834)이 토륨 발생기로부터 DOTAM으로 용리에 의해 생성되었고, 그리고 차후에 표지화 후 Ca로 퀀칭되었다. IV 주사를 위한 원하는 ^{212}Pb 활성 농도를 획득하기 위해, ^{212}Pb-DOTAM 용액이 0.9% NaCl로 희석되었다.

[0943] 운반제 대조군에서 생쥐는 BsAb, CA 및 ^{212}Pb-DOTAM 대신에 운반제 완충액의 복수의 주사를 제공받았다.

[0944] **이중특이적 항체**

화합물	표적	프로토콜
CEA-DOTAM (RO7198427, PRIT-0213)	T84.66	144, 158, 160
DIG-DOTAM (RO7204012)	디곡시제닌	160
CEA-분할-DOTAM-VH P1AD8749	CH1A1A	144, 158
CEA-분할-DOTAM-VH-AST P1AF0171	CH1A1A	175, 185, 189
CEA-분할-DOTAM-VL P1AD8592	CH1A1A	144, 158, 175, 185, 189
CEA-분할-DOTAM-VH P1AE4956	A5B7	158
CEA-분할-DOTAM-VL P1AE4957	A5B7	158
CEA-분할-DOTAM-VH-AST P1AF0298	T84.66	185, 189
CEA-분할-DOTAM-VL P1AF0709	T84.66	185, 189

[0945]

[0946] **제거제**

화합물	프로토콜
Ca-DOTAM-덱스트란-500 (RO7201869)	144, 158, 160

[0947]

[0948] 방사성-표지**화된 킬레이트**

화합물	퀀칭	프로토콜
^{212}Pb-DOTAM (RO7205834)	Ca	144, 158, 160, 175, 185, 189
^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM	Ca	160

[0949]

[0950] **종양 모형**

[0951] 이용된 종양 세포주 및 생쥐에서 접종을 위해 주입된 양은 아래의 표에서 설명된다. BxPC3은 CEA를 자연적으로 발현하는, 인간 원발성 췌장 선암종 세포주이다. 10% 소 태아 혈청 (GE Healthcare Hyclone SH30088.03)으로 풍부해진 RPMI 1640 배지, GlutaMAX™ 보충물, HEPES (Gibco, 참조 번호 72400-021)에서 세포가 배양되었다. 연구 0일 자에 Corning® Matrigel® 기저막 매트릭스 (성장 인자 감소됨; 카탈로그 번호 354230)와 1:1 혼합된 RPMI 배지에서 세포를 오른쪽 옆구리 내로 피하 주입함으로써, 각 SCID 생쥐에서 고형 이종이식편이 확립되었다.

[0952] **종양 세포주**

[0953]

세포주	생쥐마다 세포	주입된 용적	프로토콜	공급업체
BxPC3	$5x10^6$	100 µL	144, 158, 160, 175, 185, 189	ECACC*

[0954] *European Collection of Authenticated Cell Cultures (Salisbury, UK)

[0955] **실시예 3b: 프로토콜 144**

[0956] 프로토콜 144의 목적은 CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb를 이용한 2 단계 PRIT 후 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서, 사전-표적화된 ^{212}Pb-DOTAM의 PK 및 생체내 분포 데이터를 제공하는 것이었다.

[0957] 2 단계 PRIT는 CEA-분할-DOTAM-VH 및 CEA-분할-DOTAM-VL (P1AD8749 및 P1AD8592)를 별개로 또는 함께 주사하고, 7 일 후 ^{212}Pb-DOTAM을 주사함으로써 수행되었다. 생쥐는 방사선 주사 6 시간 후 희생되었고, 그리고 방사능 계측을 위해 혈액 및 장기가 수확되었다. 이러한 2 단계 방식은 표준 CEA-DOTAM 이중특이적 항체, 7 일 후 Ca-DOTAM-덱스트란-500 CA, 그리고 CA 후 24 시간째에 ^{212}Pb-DOTAM을 이용한 3 단계 PRIT와 비교되었다.

[0958] CEA-분할-DOTAM-VH/VL 청소의 PK 데이터가 항체 주사 후 1 시간부터 7 일까지 반복된 혈액 샘플링에 의해 수집되고, 그리고 차후에 ELISA에 의해 분석되었다.

[0959] 연구 개요는 도 7에서 도시된다. 도 7의 A는 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서, CEA-분할-DOTAM-VH/VL PK에 대한 혈액 샘플링을 포함하는 2 단계 PRIT 섭생의 개요를 보여준다. 도 7의 B는 SC BxPC3 종양을 보유하는 SCID 생쥐에서 수행된, 3 단계 PRIT 섭생의 개요를 보여준다 (h = 시간, d = 일).

[0960] **연구 설계**

[0961] 프로토콜 144의 시간 경과 및 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[0962] **프로토콜 144의 시간 경과**

[0963]

연구 일	일자	실험 절차
0	2018-05-02	BxPC3 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	2018-05-02	BxPC3 세포의 SC 주입
14	2018-05-16	CEA-DOTAM BsAb의 IV 주사 (군 D)
15	2018-05-17	CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb의 IV 주사 (군 Aa, Ab, Ba, Bb, Ca, Cb)
15	2018-05-17	안와후 출혈 (p.i. 1 시간 및 4 시간; 각각, 군 Aa, Ba, Ca, 그리고 Ab, Bb, Cb)
16	2018-05-18	안와후 출혈 (p.i. 24 시간; 군 Aa, Ba, Ca)
18	2018-05-20	안와후 출혈 (p.i. 72 시간; 군 Ab, Bb, Cb)
21	2018-05-23	CA의 IV 주사 (군 D)
21	2018-05-23	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
22	2018-05-24	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사 (군 Aa, Ba, Ca, D)
22	2018-05-24	안와후 출혈 (p.i. 168 시간) 및 안락사 (군 Ab, Bb, Cb)
22	2018-05-24	안락사 및 조직 수확 (안와후 출혈 (p.i. 6 시간) + 감마 계수 포함) (군 Aa, Ba, Ca, D)

[0964] **프로토콜 144에서 연구 군**

군	P1AD8749 (VH) CH1A1A (μg)	P1AD8592 (VL) CH1A1A (μg)	CEA-DOTAM BsAb (μg)	PK (h p.i.)	CA (μg)	^{212}Pb (μCi)	BD (h p.i.)	n (생쥐)
Aa	100	0	0	1, 24, 168	0	10	6	4
Ab	100	0	0	4, 72, 168	0	0	-	4
Ba	0	100	0	1, 24, 168	0	10	6	4
Bb	0	100	0	4, 72, 168	0	0	-	4
Ca	100	100	0	1, 24, 168	0	10	6	4
Cb	100	100	0	4, 72, 168	0	0	-	4
D	0	0	100	-	25	10	6	4

[0965]

[0966] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 5x10^{6}개 세포 (계대 26)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 각 SCID 생쥐에서 고형 이종이식편이 확립되었다. 종양 세포 주입 14 일 후, 생쥐는 116 mm^{3}의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. ^{212}Pb-DOTAM이 접종 후 22일 자에 주사되었다; 평균 종양 용적은 21일 자에 140 mm^{3}이었다.

[0967] 군 Aa, Ba 및 Ca의 생쥐로부터 혈액이 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 주사 후 1 시간 (오른쪽 눈), 24 시간 (왼쪽 눈) 및 168 시간 (오른쪽 눈, 종료 시점)째에 마취하에 안와후 출혈을 통해 수집되었다. 유사하게, 샘플이 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 주사 후 4 시간 (오른쪽 눈), 72 시간 (왼쪽 눈) 및 168 시간 (오른쪽 눈, 종료 시점)째에 군 Ab, Bb 및 Cb의 생쥐로부터 채취되었다.

[0968] 군 Aa, Ba, Ca 및 D의 생쥐는 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 6 시간 후 희생되고 부검되었으며, 그리고 아래의 장기와 조직이 방사성 내용물의 계측을 위해 수확되었다: 혈액, 피부, 방광, 위, 소장, 결장, 비장, 췌장, 신장, 간, 폐, 심장, 대퇴골, 근육, 뇌, 꼬리, 귀 및 종양.

[0969] **결과**

[0970] 주사 6 시간 후, 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 축적 및 청소율은 도 8에서 도시된다. CEA-분할-DOTAM-VH 또는 CEA-분할-DOTAM-VL 단독 중 어느 하나를 이용한 사전-표적화는 종양에서 방사능의 축적을 야기하지 않았다. 조합되면, 이들 2개의 상보적 항체는 표준 3 단계 PRIT 섭생에 대한 87 ± 15% ID/g와 비교하여, 2 단계 PRIT 후 65 ± 12% ID/g의 종양 흡수를 야기하였다. Tukey의 다중 비교 검정을 이용한 이원 변량 분석 (ANOVA)은 이들 2가지 PRIT 치료 사이에 종양 흡수의 차이가 방광에서의 차이 (2 단계와 3 단계 PRIT 각각에 대해 1 ± 2% ID/g 및 38 ± 17% ID/g)와 마찬가지로 유의미하다는 것을 보여주었다; 이러한 검사를 이용하면, 조직 축적에서 어떤 다른 차이도 통계학적으로 유의하지 않았다 ($p = 0.05$).

[0971] 효소 결합 면역흡착측정법 (ELISA)에 의해 분석된 바와 같은 IV 주사된 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 작제물의 청소율은 도 9에서 도시된다.

[0972] **부작용 및 독성**

[0973] 본 연구와 관련된 부작용 또는 독성은 없었다.

[0974] **결론**

[0975] 본 연구의 결과는 상보적 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체를 이용한 CA-독립된 2 단계 사전-표적화의 개념 증거를 증명하였다. 2 단계 PRIT 및 표준 3 단계 PRIT를 이용하여 ^{212}Pb-DOTAM의 높고 특이적인 종양 흡수가 달성되었는데, 이들 상보적 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체를 이용하면 정상 조직에서 방사능의 축적이 거의 없었다.

[0976] **실시예 3c: 프로토콜 158**

[0977] 프로토콜 158의 목적은 제거제-독립된 2 단계 CEA-PRIT를 위해 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체의 이중파라토픽 (CH1A1A 및 A5B7) 쌍에 의해 사전-표적화된 생쥐에서 피하 BxPC3 종양에 대한 ^{212}Pb-DOTAM의 연관을 사정하는 것이었다. 종양 흡수는 표준 3 단계 CEA-PRIT의 것과 비교되었다.

[0978] 피하 BxPC3 종양을 보유하는 생쥐는 다음 중 어느 한 가지가 주사되었다:

[0979] · CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체, 7 일 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM (2 단계 PRIT), 또는

[0980] · CEA-DOTAM BsAb, 7 일 후 CA, 그리고 최종적으로, 24 시간 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM (3 단계 PRIT).

[0981] ^{212}Pb-DOTAM의 생체내 분포가 방사선 주사 6 시간 후 사정되었다. 연구 개요는 도 10에서 도시된다.

[0982] **연구 설계**

[0983] 프로토콜 158의 시간 경과 및 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[0984] **프로토콜 158의 시간 경과**

[0985]

연구 일	일자	실험 절차
0	2018-11-26	BxPC3 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	2018-11-26	BxPC3 세포의 SC 주입
15	2018-12-11	CEA-DOTAM BsAb의 IV 주사 (군 C)
16	2018-12-12	CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb의 IV 주사 (군 A, B)
22	2018-12-18	CA의 IV 주사 (군 C)
22	2018-12-18	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
23	2018-12-19	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사 (모두)
23	2018-12-19	안락사 및 조직 수확 (안와후 출혈 (p.i. 6 시간) + 감마 계수 포함) (모두)

[0986] **프로토콜 158에서 연구 군**

[0987]

군	P1AD8749 (VH) CH1A1A (μg)	P1AD8592 (VL) CH1A1A (μg)	P1AE4956 (VH) A5B7 (μg)	P1AE4957 (VL) A5B7 (μg)	CEA-DOTAM BsAb (μg)	CA (μg)	^{212}Pb (μCi)	n (생쥐)
A	154*	0	0	100	0	0	10	4
B	0	100	167**	0	0	0	10	4
C	0	0	0	0	100	25	10	4

[0988] *35% 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 154 μg으로 조정된 P1AD8749 용량; **40% 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 167 μg으로 조정된 P1AD8592 용량.

[0989] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 5x10^{6}개 세포 (계대 27)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 각 SCID 생쥐에서 고형 이종이식편이 확립되었다. 종양 세포 주입 14 일 후, 생쥐는 177 ㎜^{3}의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. ^{212}Pb-DOTAM이 접종 후 20일 자에 주사되었다; 평균 종양 용적은 21일 자에 243 ㎜^{3}이었다.

[0990] 모든 군에서 생쥐는 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 6 시간 후 희생되고 부검되었으며, 그리고 아래의 장기와 조직이 방사성 내용물의 계측을 위해 수확되었다: 혈액, 피부, 방광, 위, 소장, 결장, 비장, 췌장, 신장, 간, 폐, 심장, 대퇴골, 근육, 뇌, 꼬리 및 종양.

[0991] **결과**

[0992] 주사 6 시간 후, 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 분포는 도 11에서 도시된다. Tukey의 다중 비교 검정을 이용한 이원 변량 분석은, 양쪽 이중파라토픽 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍이 표준 3 단계 PRIT보다 더 낮은 축적을 산출한 방광을 제외하고, 이들 3가지 치료 사이에 ^{212}Pb의 정상 조직 흡수에서 어떤 유의미한 차이도 없다는 것을 보여주었다. 신장 흡수는 3가지 치료 모두에 대해 3-4% ID/g이었다. 어느 한쪽 이중파라토픽 조합은 3 단계 PRIT에 대한 67% ID/g와 비교하여, 대략 56% ID/g의 종양 축적을 야기하였다; 2 단계와 3 단계 PRIT 사이의 차이는 통계학적으로 유의하였다 ($p < 0.0001$).

[0993] **부작용 및 독성**

[0994] 본 연구와 관련된 부작용 또는 독성은 없었다.

[0995] **결론**

[0996] 본 연구는 표준 3 단계 PRIT와 비교하여, CA-독립된 2 단계 CEA-PRIT에 대한 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체의 이중파라토픽 쌍에 의해 사전-표적화된 생쥐에서 SC BxPC3 종양에 대한 ^{212}Pb-DOTAM의 연관을 사정하였다. 주사 6 시간 후 ^{212}Pb의 분포는 2 단계와 3 단계 PRIT에 대해 비슷하였는데, 종양에서는 높은 축적이 있었고 건강한 조직에서는 방사능이 거의 없었다. 이것은 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체를 이용한 2 단계 CEA-PRIT에 대한 CEA 발현 종양의 이중파라토픽 사전-표적화의 개념 증거를 증명하였다.

[0997] **실시예 3d: 프로토콜 160**

[0998] 프로토콜 160의 목적은 SC BxPC3 종양을 보유하는 생쥐에서, 상보적 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체를 이용한 CA-독립된 2 단계 CEA-PRIT의 3회 주기 후 치료 효능을 표준 3 단계 CEA-PRIT의 것과 비교하는 것이었다. 주사 전 ^{212}Pb-DOTAM과 함께 예비인큐베이션된 BsAb를 이용한, 1 단계 CEA-RIT와 또한 비교되었다.

[0999] SC BxPC3 종양을 보유하는 생쥐는 다음 중 어느 한 가지가 주사되었다:

[1000] • CEA-DOTAM BsAb, 7 일 후 CA, 그리고 최종적으로, 24 시간 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM (3 단계 PRIT),

[1001] • CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체, 7 일 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM (2 단계 PRIT), 또는

[1002] • ^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM BsAb (예비인큐베이션됨; 1 단계 RIT).

[1003] 상기 요법은 비-CEA 결합 대조 항체 (DIG-DOTAM) 및 치료 없음 (운반제)과의 비교를 또한 포함하여, 20 μCi의 ^{212}Pb-DOTAM의 3회 반복된 주기로 투여되었다. 각 치료 주기에서 ^{212}Pb-DOTAM 표적화 및 청소율을 확증하기 위한 생체분포 목적으로, 전용 생쥐가 희생되었다. 치료 효능이 TGI 및 TR의 관점에서 사정되었고, 그리고 이들 생쥐는 치료의 내약성을 사정하기 위해 연구의 지속 기간 동안 조심스럽게 모니터링되었다. 연구 개요는 도 12에서 도시된다.

[1004] 프로토콜 160의 시간 경과 및 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[1005] **프로토콜 160의 시간 경과**

연구 일	일자	실험 절차
0	2019-01-29	BxPC3 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	2019-01-29	BxPC3 세포의 SC 주입
15	2019-02-13	BsAb 또는 히스티딘 완충액의 IP 주사 (군 A, B, C, F, G, H, I)
16	2019-02-14	CEA-분할-DOTAM-VH/VL 또는 히스티딘 완충액의 IP 주사 (군 D, J, K, L)
22	2019-02-20	CA 또는 PBS의 IP 주사 (군 A, B, C, F, G, H, I)
23	2019-02-21	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
23	2019-02-21	^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM 또는 히스티딘 완충액의 IV 주사 (군 E, M)
23	2019-02-21	^{212}Pb-DOTAM 또는 0.9% NaCl의 IV 주사 (군 B, C, D, F, G, H, I, J, K, L)
24	2019-02-22	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수 (군 F, G, J, M)
29	2019-02-27	PRIT BsAb 또는 PBS의 IP 주사 (군 A, B, C, H, I)
30	2019-02-28	CEA-분할-DOTAM-VH/VL 또는 히스티딘 완충액의 IP 주사 (군 D, K, L)
36	2019-03-06	CA 또는 PBS의 IP 주사 (군 A, B, C, H, I)
37	2019-03-07	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
37	2019-03-07	^{212}Pb-DOTAM 또는 0.9% NaCl의 IV 주사 (군 B, C, D, H, I, K, L)
38	2019-03-08	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수 (군 H, K)
43	2019-03-13	PRIT BsAb 또는 PBS의 IP 주사 (군 A, B, C, I)
44	2019-03-14	CEA-분할-DOTAM-VH/VL 또는 히스티딘 완충액의 IP 주사 (군 D, L)
50	2019-03-20	CA 또는 PBS의 IP 주사 (군 A, B, C, I)
51	2019-03-21	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
51	2019-03-21	^{212}Pb-DOTAM 또는 0.9% NaCl의 IV 주사 (군 B, C, D, I, L)
52	2019-03-22	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수 (군 I, L)

[1006]

[1007] **프로토콜 160에서 연구 군**

군	BsAb	BsAb 주기마다 (μg)	CA 주기마다 (μg)	^{212}Pb-DOTAM 주기마다 (μCi)	주기 (#)	n (생쥐)
A	-	0	0	0	3	10
B	DIG-DOTAM	100	25	20	3	10
C	CEA-DOTAM	100	25	20	3	10
D	CEA-분할-DOTAM	154* + 100**	0	20	3	10
E	^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM	100	0	20	1***	10
F	DIG-DOTAM	100	25	20	1	3
G	CEA-DOTAM	100	25	20	1	3
H	CEA-DOTAM	100	25	20	2	3
I	CEA-DOTAM	100	25	20	3	3
J	CEA-분할-DOTAM	154* + 100**	0	20	1	3
K	CEA-분할-DOTAM	154* + 100**	0	20	2	3
L	CEA-분할-DOTAM	154* + 100**	0	20	3	3
M	^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM	100	0	20	1	3

[1008]

[1009] *P1AD8749: 원액에서 35% 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 154 μg으로 조정된 용량; **P1AD8592; ***일차 치료 주기에서 급성 방사선 유발 독성으로 인해 3회 주기에서 1회 주기로 조정됨.

[1010] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 $5x10^6$개 세포 (계대 24)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, SCID 생쥐에서 고형 이종이식편이 확립되었다. 종양 세포 주입 15 일 후, 생쥐는 122 mm^3의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. ^{212}Pb-DOTAM이 접종 후 23일 자에 주사되었다; 평균 종양 용적은 22일 자에 155 mm^3이었다.

[1011] CEA-DOTAM 및 DIG-DOTAM 항체가 상기 표 (프로토콜 160에서 연구 군)에 따른 IP 투여를 위해 200 μL당 100 μg의 최종 농도로 운반제 완충액에 희석되었다. CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체가 200 μL당 100 μg의 각 작제물을 내포하는, IP 투여를 위한 하나의 단회 주사 용액 내로 함께 혼합되었다. P1AD8749의 경우에, 용량이 원액 (VH/VL을 보유하지 않는 분자의 쪽)에서 35% 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 154 μg으로 조정되었다. 도 12에서 실험 일정에 따라서, Ca-DOTAM-덱스트란-500 CA가 BsAb 주사 7 일 후 IP 투여되었고 (200 μL의 PBS당 25 μg), 24 시간 후 ^{212}Pb-DOTAM (RO7205834)이 뒤따랐다. PRIT 치료된 생쥐 (2 단계와 3 단계)는 100 μL의 Ca-퀀칭된 ^{212}Pb-DOTAM 용액 (100 μL 0.9% NaCl에서 20 μCi)이 IV 주사되었다.

[1012] 1 단계 RIT로 치료된 생쥐는 단지 하나의 주사만 제공받았다: 사전 결합된 ^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM (IV 주사를 위한 100 μL 0.9% NaCl에서 20 μCi/20 μg BsAb). ^{212}Pb-DOTAM를 CEA-DOTAM BsAb와 함께 37 ℃에서 10 분 동안 인큐베이션함으로써, 직접-표지화 항체가 제조되었다.

[1013] 안락사의 시점에 군 A-E의 생쥐로부터 아래의 장기와 조직이 수확되었다: 혈청, 간, 비장, 신장, 췌장 및 종양. 안락사 전, 살아있는 생쥐는 안와후 혈액 수집을 위해 마취되었다. 수집된 혈액 샘플이 10,000 rcf에서 5 분 동안 원심분리되었고, 그리고 결과의 혈청 분획물이 단리되고, 동결되고, -20℃에서 보관되었다. 절제된 조직이 10% 중성으로 완충된 포르말린 (4℃)에 즉시 넣어지고, 그리고 24 시간 후 1X PBS (4℃)로 이전되었다. 포르말린 고정된 샘플이 추가 처리 및 분석을 위해, Roche Pharma Research and Early Development, Roche Innovation Center Basel Basel로 배송되었다.

[1014] 군 F, G, J 및 M의 생쥐는 ^{212}Pb-DOTAM 또는 ^{212}Pb-DOTAM-BsAb의 첫 번째이자 유일한 주사 후 24 시간째에 희생되고 부검되었으며; 군 H 및 K는 두 번째 ^{212}Pb-DOTAM 주사 후 24 시간째에 희생되고 부검되었으며; 군 I 및 L은 세 번째 ^{212}Pb-DOTAM 주사 후 24 시간째에 희생되고 부검되었다. 안락사의 시점에 경부 탈구를 통한 종료 전, 마취된 생쥐에서 안와후 출혈을 이용하여 혈액이 정맥동으로부터 수집되었다. 아래의 장기와 조직이 또한, 생체분포 목적으로 수확되었다: 방광, 비장, 신장, 간, 폐, 근육, 꼬리, 피부 및 종양.

[1015] **결과**

[1016] 주사 24 시간 후, 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 축적 및 청소율이 도 13에서 각 요법 및 치료 주기에 대해 도시된다. 음성 대조는 종양에서 흡수가 없었다 (0.4% ID/g). Tukey의 다중 비교 검정을 이용한 이원 변량 분석 (ANOVA)은 이들 분포가 2 단계와 3 단계 PRIT에 대해 어떤 주기에서도 유의미하게 상이하지 않다는 것을 보여주었다; 하지만, 음성 대조 및 1 단계 RIT와 비교하여, 모든 주기에서 차이가 통계학적으로 유의하였다 ($p < 0.05$). 종양 흡수는 3 단계 PRIT의 경우에 25-45% ID/g 및 2 단계 PRIT의 경우에 25-30% ID/g이었으며, 치료 또는 주기 사이에 어떤 통계학적으로 유의한 차이도 없었다. 1 단계 RIT의 경우에, 종양 흡수는 하나의 유일한 치료 주기에서 99%이었다. 정상 조직에서 흡수는 양쪽 PRIT 섭생의 경우에는 매우 낮지만, 1 단계 RIT 후, 작은 방사성-표지화된 DOTAM 킬레이트와 비교하여 예비인큐베이션된 항체의 훨씬 긴 순환 시간으로 인해 모든 장기와 조직에서 훨씬 높았다.

[1017] 평균 종양 발달 및 개별 종양 성장 곡선은 각각, 도 14 및 도 15에서 도시된다. 비치료된 운반제 군 및 DIG-DOTAM 군은 후자가 세 번째 치료 후 약간 더 낮은 배증 속도를 갖긴 하지만, 종양이 꾸준히 성장하였다. 대조적으로, PRIT 및 RIT 군에서 종양은 일차 치료 주기 후 크기가 감소하였고, 그리고 종양의 크기가 증가하기 시작하는, 접종 후 대략 10 주 때까지 종양 억제를 유지하였다. 2 단계와 3 단계 PRIT 치료는 거의 동일한 종양 억제를 야기하였다. 종양이 완전히 퇴화하지는 않았다.

[1018] 모든 치료군이 평균에 기초하여 분석될 수 있는 최종일인 연구 83일 자에, TGI는 운반제 대조와 비교하여, CEA-DOTAM (3 단계) 및 CEA-분할-DOTAM-VH/VL (2-단계)을 이용한 PRIT에 대해 각각 91.7% 및 88.4%이었다. 1 단계 RIT에 대한 상응하는 수치는 72.6%이었고, 반면 비특이적 DIG-DOTAM 대조의 경우에는 TGI가 -59.7%이었다. 동일 자에, 평균에 근거된 TR은 3 단계 CEA-DOTAM PRIT의 경우에 -1.9, 2 단계 CEA-분할-DOTAM-VH/VL PRIT의 경우에

-2.9, 1 단계 RIT의 경우에 -4.7, DIG-DOTAM PRIT의 경우에 -28.8, 그리고 운반제 대조의 경우에 -39.3이었다.

[1019] 아래에 설명된 부작용으로 인해, 생존 분석은 통계학적으로 유관한 것으로 간주되지 않았다.

[1020] **부작용 및 독성**

[1021] 모든 요법 군에서 BW 발달은 도 16에서 도시된다. 20 μCi의 ^{212}Pb-DOTAM를 이용한 2 단계와 3 단계 PRIT의 복수의 주기는 내약성이 양호했지만, 1 단계 RIT를 제공받는 생쥐에서는 급성 BW 감소가 발생하였는데, 군 E에서 8/10마리의 생쥐가 20% 이상의 BW 하락으로 인해 첫 번째 RIT 주기 후 (^{212}Pb 방사선조사 6-11 일 후) 안락사되었다. 나머지 2마리의 RIT 생쥐는 어떤 추가 ^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM 주사도 제공되지 않았지만, 종양 성장 사정을 위해 연속적으로 추적 조사되었다.

[1022] 이에 더하여, 나빠지는 종양 상태, 다시 말하면 개방되거나 또는 누출되는 종양으로 인한 윤리적 이유로 다수의 생쥐가 희생되었다. DIG-DOTAM 군에서, 9/10마리의 생쥐가 이런 이유로 3000 mm^{3}의 종양 용적에 도달하기 전 안락사되었다; 비치료된 운반제 대조의 경우에, 상응하는 수치는 5/10마리이었다. PRIT 및 RIT 군에서는 이러한 문제가 덜 확연하였는데, 3 단계 PRIT, 2 단계 PRIT 및 1 단계 RIT 군 각각에서 1/10마리, 2/10마리 및 2/10마리의 생쥐가 이런 이유로 안락사되었다. 이것은 도 15의 개별 종양 성장 곡선에서 반영된다.

[1023] 마지막으로, 군 C에서 1마리의 생쥐가 항문 아래 나빠지는 상처로 인해 안락사되었다.

[1024] 모든 부작용은 아래의 표에서 열거된다.

[1025] **프로토콜 160에서 부작용**

[1026]

군	희생된 생쥐 (군마다 n)	연구 일	종료의 원인
A: 운반제	5(10)	53, 71, 71, 73, 75	나빠지는 종양 상태
B : DIG-DOTAM	9(10)	55, 55, 55, 55, 61, 73, 73, 73, 74	나빠지는 종양 상태
C : CEA -DOTAM	1(10)	83	항문 아래 상처
C : CEA -DOTAM	1(10)	85	나빠지는 종양 상태
D : CEA-분할-DOTAM	2(10)	83, 83	나빠지는 종양 상태
E : ^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM	8(10)	29, 29, 30, 31, 31, 32, 32, 34	≥ 20%의 BW 감소
E : ^{212}Pb-DOTAM-CEA-DOTAM	2(10)	83, 83	나빠지는 종양 상태

[1027] ^{212}Pb 방사선조사가 연구 23일 자 (1차 주기), 37일 자 (2차 주기) 및 51일 자 (3차 주기)에 수행되었다.

[1028] **결론**

[1029] 3 단계 방식 (CEA-DOTAM BsAb, CA 및 ^{212}Pb-DOTAM) 및 2 단계 방식 (CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체 및 ^{212}Pb-DOTAM)을 이용한 CEA-PRIT 사이에 어떤 차이도 목격되지 않았다; TGI가 이들 2가지 치료에 대해 유의미하고 거의 동일하였으며, 그리고 20 μCi의 3회 주기가 양쪽 사례에서 안전하게 투여될 수 있었다. 대조적으로, 주사 전 CEA-DOTAM에 사전 결합된 20 μCi의 ^{212}Pb-DOTAM (1-단계 RIT)은 치료된 생쥐 중 대다수에서 내약성이 아니었다.

[1030] 본 연구는 따라서, 개발된 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 작제물을 이용한 CA-독립된 2 단계 PRIT의 내약성 및 치료 효능을 증명하였다.

[1031] **실시예 4: 프로토콜 175**

[1032] 프로토콜 175의 목적은 종양 및 건강한 조직에서 후속 ^{212}Pb 축적에 대한 증가된 주사된 사전-표적화 항체 양의 영향을 사정하는 것이었다. CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체의 2가지 상이한 용량이 비교되었다: 기준량 (100 μg) 및 2.5 배 높은 용량 (250 μg). 게다가, 항약물 항체 (ADA) 형성을 방지하기 위해 CEA-분할-DOTAM-VH 작제물의 VH를 확장하는 변형이 만들어졌다 (이것은 이전에 검사된 CEA-분할-DOTAM-VL 작제물과 함께 이용되었다). VH는

항체 CH1 도메인으로부터 첫 3개의 아미노산: 알라닌, 세린 및 트레오닌 (AST)을 포함하도록 확장되었고, 그리고 상기 작제물은 차후에 CEA-분할-DOTAM-VH-AST로서 지칭되었다.

[1033] 항체 P1AD8592는 상기 실시예 1에서 이미 설명되었다. P1AF0171은 융합 HC가 잔기 AST에 의해 확장되는 점을 제외하고, P1AD8749와 동일하다 - 따라서, 항체 P1AD0171은 전술된 바와 같은 경쇄 D1AA3384 (서열 번호: 34), 전술된 바와 같은 첫 번째 중쇄 D1AC4022 (서열 번호: 28), 그리고 아래에 도시된 바와 같은 두 번째 중쇄 D1AE3669로 구성된다:

[1034] D1AE3669 (HCknob <CEA> CH1A1A Dotam-VH-AST)

[1035] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFA
YYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSTYSMSWIRQPP
GKALEWLGFIGSRGDTYYASWAKGRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARERDPYGGGAYPPHLWGRGTLVTVSSAST

[1036] SC BxPC3 종양을 보유하는 생쥐는 다음 중 어느 한 가지가 주사되었다:

[1037] · 1x 표준 용량의 CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb, 7 일 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM, 또는

[1038] · 2.5x 표준 용량의 CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb, 7 일 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM.

[1039] ^{212}Pb-DOTAM의 생체내 분포가 방사선 주사 24 시간 후 사정되었다. 연구 개요는 도 17에서 도시된다.

[1040] **연구 설계**

[1041] 프로토콜 175의 시간 경과 및 설계는 아래에 도시된다.

[1042] **프로토콜 175의 시간 경과**

연구 일	실험 절차
0	BxPC3 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	BxPC3 세포의 SC 주입
22	CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb의 IP* 주사
29	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
29	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
30	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수

[1043]

[1044] *낮은 화합물 농도 (작제물마다 200 μL = 전체적으로 400 μL)로 인해 IP 주사가 필요함

[1045] **프로토콜 175에서 연구 군**

군	P1AF0171 (VH-AST) (μg)	P1AD8592 (VL) (μg)	^{212}Pb (μCi)	BD (h p.i.)	n (생쥐)
A	143*	100	10	24	4
B	357*	250	10	24	4

[1046]

[1047] *~30% 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 143 및 357 μg으로 조정된 P1AF0171 용량.

[1048] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 5x10^{6}개 세포 (계대 24)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 각 SCID 생쥐에서 고형 이종이식편이 확립되었다. 종양 세포 주입 21 일 후, 생쥐는 310 mm^{3}의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. ^{212}Pb-DOTAM이 접종 후 29일 자에 주사되었다; 평균 종양 용적은 30일 자에 462 mm^{3}이었다.

[1049] 모든 생쥐는 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 24 시간 후 희생되고 부검되었으며, 그리고 아래의 장기와 조직이 방사성 내용물의 계측을 위해 수확되었다: 혈액, 피부, 비장, 췌장, 신장, 간, 근육, 꼬리 및 종양.

[1050] **결과**

[1051] 주사 24 시간 후, 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 분포는 도 18에서 도시된다. 2가지 용량 수준 사이에 ^{212}Pb의 종양 또는 정상 조직 흡수에서 어떤 유의미한 차이도 없었다. 종양 축적은 양쪽 치료군에 대해 30-31% ID/g이었고, 이 시점에서 <2% ID/g의 신장 흡수를 가졌다. 1마리의 생쥐가 ^{212}Pb-DOTAM 주사 문제로 인해 꼬리에서 ~1 %ID/g을 갖긴 했지만, 다른 수집된 건강한 조직에서는 감지 가능한 ^{212}Pb 축적이 나타나지 않았다.

[1052] **부작용 및 독성**

[1053] 본 연구와 관련된 부작용 또는 독성은 없었다.

[1054] **결론**

[1055] 사전-표적화 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체의 용량을 2.5배 증가시키는 것은 이러한 생체내 모형에서, 차후에 투여된 ^{212}Pb-DOTAM의 종양 축적을 향상시키지 못하였다. 하지만, 이것은 또한, 정상 조직에서 방사능의 축적을 증가시키지 않았는데, 이것은 이러한 2 단계 사전-표적화 섭생을 이용하여 달성된 강한 특이성을 부각시킨다. 최종적으로, 이들 결과는 확장된-VH CEA-분할-DOTAM-VH-AST 작제물의 기능을 실증하였다.

[1056] **실시예 5: 프로토콜 185**

[1057] 프로토콜 185의 목적은 T84.66 에피토프를 표적으로 하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL을 사정하는 것이었다. P1AF0709 및 P1AF0298의 서열은 본원에서 제공된다. P1AF0709는 D1AE4688 (서열 번호: 83)의 첫 번째 중쇄 및 D1AA4920 (서열 번호: 84)의 두 번째 중쇄를 갖는다. P1AF0298은 D1AE4687 (서열 번호: 86)의 첫 번째 중쇄 및 D1AE3668 (서열 번호: 87)의 두 번째 중쇄를 갖는다. 둘 모두 D1AA4120 (서열 번호: 89)의 경쇄를 갖는다.

[1058] SC BxPC3 종양을 보유하는 생쥐는 표준 용량의 CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb (항체마다 100 μg), 6 일 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM이 주사되었다. ^{212}Pb-DOTAM의 생체내 분포가 방사선 주사 6 시간 후 사정되었다. 연구 개요는 도 19에서 도시된다.

[1059] **연구 설계**

[1060] 프로토콜 185의 시간 경과 및 설계는 아래에 도시된다.

[1061] **프로토콜 185의 시간 경과**

연구 일	일자	실험 절차
0	2020-03-04	BxPC3 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	2020-03-04	BxPC3 세포의 SC 주입
22	2020-03-26	CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb의 IV 주사
27	2020-03-31	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
28	2020-04-01	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
28	2020-04-01	안락사 및 조직 수확 (p.i. 6 시간) + 감마 계수

[1062]

[1063] **프로토콜 185에서 연구 군**

군	P1AF0298 T84.66 (VH-AST) (μg)	P1AF0709 T84.66 (VL) (μg)	P1AF0171 CH1A1A (VH-AST) (μg)	P1AD8592 CH1A1A (VL) (μg)	^{212}Pb (μCi)	BD (h p.i.)	n (생쥐)
A	100	100	0	0	10	6	5
B	0	0	143*	100	10	6	5

[1064]

[1065] *~30% 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 143 μg으로 조정된 P1AF0171 용량.

[1066] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 $5x10^6$개 세포 (계대 27)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 각 SCID 생쥐에서 고형 이종이식편이 확립되었다. 종양 세포 주입 22 일 후, 생쥐는 224 mm^3의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. ^{212}Pb-DOTAM이 접종 후 28일 자에 주사되었는데, 이 시점에서 평균 종양 용적은 385 mm^3에 도달하였다.

[1067] 모든 생쥐는 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 6 시간 후 희생되고 부검되었으며, 그리고 아래의 장기와 조직이 방사성 내용물의 계측을 위해 수확되었다: 혈액, 피부, 비장, 췌장, 신장, 간, 근육, 꼬리 및 종양. 수집된 종양이 2개의 조각으로 분할되었다: 하나는 방사성 내용물에 대해 계측되었고, 그리고 다른 것은 Tissue-Tek® 최적 절삭 온도 (OCT) 삽입 배지를 내포하는 크리오몰드에 넣어지고 급속 동결을 위해 드라이아이스 위에 놓였다. OCT에서 동결된 샘플은 냉동절편, 면역형광 염색, 그리고 Zeiss Axio Scope.A1 모듈식 현미경을 이용한 분석 전, -80℃에서 유지되었다.

[1068] **결과**

[1069] 주사 6 시간 후, 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 분포는 도 20에서 도시된다. 종양 축적은 40% ID/g (CH1A1A) 또는 44% ID/g (T84.66)이었다. 방사능의 유일한 다른 감지 가능한 축적은 신장에서 발견되었다: 2개의 군에 대해 p.i. 6 시간째에 3-5% ID/g.

[1070] T84.66 (군 A) 또는 CH1A1A (군 B) 중 어느 하나를 표적으로 하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍의 종양내 분포의 실례는 도 21에서 도시된다. 패널 A와 C는 CEA 발현이 BxPC3 종양에서 높고 균일하다는 것을 보여주고, 그리고 패널 B와 D는 주사 7 일 후 항체 분포가 유사하게 분포된다는 것을 보여준다. 하지만, 군 A로부터 획득된 샘플은 군 B로부터 획득된 종양 샘플과 비교하여, 전반적으로 더 강한 신호를 나타냈는데, 이것은 T84.66이 CH1A1A보다 강한 결합체라는 증거를 제공한다.

[1071] **부작용 및 독성**

[1072] 본 연구와 관련된 부작용 또는 독성은 없었다.

[1073] **결론**

[1074] 이들 결과는 CEA의 T84.66 에피토프를 표적으로 하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 작제물의 기능을 실증하였다. 사전-표적화된 CEA 발현 종양에서 212Pb의 결과적인 축적은 높고 특이적이었으며, 그리고 CH1A1A 또는 T84.66 에피토프 중 어느 하나를 표적으로 하는 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍은 CEA 발현 종양 내부에 균일하게 분포되었다.

[1075] **실시예 6: 프로토콜 189**

[1076] 프로토콜 189의 목적은 CH1A1A VH-AST/VL을 표적으로 하는 양성 대조 쌍과 비교하여, T84.66 VH-AST/CH1A1A VL 및 T84.66 VL/CH1A1 VH-AST를 표적으로 하는 이중파라토픽 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 항체 쌍을 사정하는 것이었다. 이러한 이중파라토픽 조합은 2개의 에피토프 중에서 하나 (예를 들면 T84.66)만을 발현하는 가용성 CEA에서 완전 Pb-DOTAM 결합체의 형성을 불가능하게 만들고, 그것에 의하여 이의 잠재적인 부정적인 효과, 예컨대 증가된 순환 방사능 및 연관된 방사선 유발 독성, 그리고 종양 외 표적과의 경쟁으로 인한 감소된 효능을 경감하였다.

[1077] SC BxPC3 종양을 보유하는 생쥐는 표준 용량의 CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb (항체마다 100 μg), 7 일 후 방사성-표지화된 ^{212}Pb-DOTAM이 주사되었다. ^{212}Pb-DOTAM의 생체내 분포가 방사선 주사 6 시간 후 사정되었다. 연구 개요는 도 22에서 도시된다.

[1078] **연구 설계**

[1079] 프로토콜 189의 시간 경과 및 설계는 아래에 도시된다.

[1080] **프로토콜 189의 시간 경과**

연구 일	실험 절차
0	BxPC3 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	BxPC3 세포의 SC 주입
15	CEA-분할-DOTAM-VH/VL BsAb의 IV 주사
21	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
22	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
22	안락사 및 조직 수확 (p.i. 6 시간) + 감마 계수

[1081]

[1082] **프로토콜 189에서 연구 군**

군	P1AF0298 T84.66 (VH-AST) (μg)	P1AF0709 T84.66 (VL) (μg)	P1AF0171 CH1A1A (VH-AST) (μg)	P1AD8592 CH1A1A (VL) (μg)	^{212}Pb (μCi)	BD (h p.i.)	n (생쥐)
A	100	0	0	100	10	6	5
B	0	100	143*	0	10	6	5
C	0	0	143*	100	10	6	3

[1083]

[1084] *~30% 홀/홀 불순물을 보상하기 위해 143 μg으로 조정된 P1AF0171 용량.

[1085] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 5x10^{6}개 세포 (계대 31)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 각 SCID 생쥐에서 고형 이종이식편이 확립되었다. 종양 세포 주입 14 일 후, 생쥐는 343 ㎜^{3}의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. ^{212}Pb-DOTAM이 접종 후 22일 자에 주사되었다; 평균 종양 용적은 21일 자에 557 ㎜^{3}에 도달하였다.

[1086] 모든 생쥐는 ^{212}Pb-DOTAM의 주사 6 시간 후 희생되고 부검되었으며, 그리고 아래의 장기와 조직이 방사성 내용물의 계측을 위해 수확되었다: 혈액, 피부, 비장, 췌장, 신장, 간, 근육, 꼬리 및 종양.

[1087] **결과**

[1088] 주사 6 시간 후, 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 분포는 도 23에서 도시된다. 이중파라토픽 변이의 종양 축적은 T84.66 VH-AST + CH1A1A VL 및 T84.66 VL + CH1A1A VH-AST 각각에 대해 71% ID/g 및 46% ID/g이었다. 양성 CH1A1A 대조는 37% ID/g를 야기하였다. Tukey의 다중 비교 검정을 이용한 이원 변량 분석은 3개의 군 모두 종양 흡수의 관점에서 서로 매우 상이하다는 것을 보여주었다 (2개의 다른 군과 대비하여 T84.66 VH-AST + CH1A1A VL의 경우에 $p<0.0001$; CH1A1A 단독과 대비하여 T84.66 VL + CH1A1A VH-AST의 경우에 $p = 0.0020$). 비록 2개의 다른 군과 비교하여 T84.66 VH-AST + CH1A1A VL 조합의 경우에 혈액에서 약간 더 높은 체류: <1% ID/g와 비교하여 2% ID/g가 나타나긴 했지만, 어떤 다른 장기도 군 사이에 통계학적으로 유의한 차이를 보여주지 않았다. 신장 흡수는 비록 통계학적으로 유의한 것은 아니지만, 유사하게 약간 더 높았다: 다른 2개의 군에 대해 3% ID/g와 비교하여 T84.66 VH-AST + CH1A1A에 대해 4.5% ID/g.

[1089] **부작용 및 독성**

[1090] 본 연구와 관련된 부작용 또는 독성은 없었다. 하지만, BxPC3 종양 성장이 훨씬 빨랐고, 그리고 더 큰 가변성으로, 본 연구에서 표준 성장률과 비교되었다. 부검 시에, 큰 종양 (대부분)이 액체로 채워져 있고 방사능 계측 전에 종양을 반으로 자르면 상기 액체가 비워지는 것으로 결론되었다; 이 액체는 아마도, 가속화된 성장률을 야기하긴 하지만 %IA/g에는 크게 영향을 주지 않았는데, 그 이유는 이들 종양이 개방된 후 계량되고 계측되었기 때문이다.

[1091] **결론**

[1092] 이들 결과는 검사된 CEA-분할-DOTAM-VH/VL 작제물을 이용한, CEA의 T84.66 및 CH1A1A 에피토프의 이중파라토픽 표적화의 기능을 실증하였고, 그리고 양성 CH1A1A 대조와 비교하여 이러한 조합에 대한 놀랍도록 높은 효능을 증명하였다. 사전-표적화된 CEA 발현 종양에서 ^{212}Pb의 결과적인 축적은 높고 특이적이었는데, 이것은 T84.66 VH-AST + CH1A1A VL 쌍에 대한 특정한 이점을 암시한다.

[1093] **실시예 7**

[1094] 본 실시예에서는 본원에서 설명된 바와 같은 분할 항체에 의한, Pb-DOTA의 세포로의 모집을 조사한다.

[1095] P1AF0712는 서열 번호: 97의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 98의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 103의 경쇄를 갖는다. P1AF0713은 서열 번호: 100의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 101의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 103의 경쇄를 갖는다.

[1096] MKN-45 세포가 트립신을 이용하여 배양병으로부터 분리되고 Casy 세포 계수기를 이용하여 계수되었다. 4 ℃에서 펠렛팅한 후, 300g 세포가 FACS 완충액 (PBS에서 2.5% FCS)에서 재현탁되어, 96 웰 PP V-바닥-Platte (25 µL/웰 = 5.0E+04Zellen/웰)에 분여되는 2.0E+06 세포 /mL로 조정되었다.

[1097] *DOTA-FITC를 이용한 FACS 염색*

[1098] CEA 특이적 SPLIT 항체 (각각 P1AF0712 또는 P1AF0713)는 FACS 완충액에서 40 µg/mL로 조정되어, 10 µg/mL의 최종 농도가 되었다. 양쪽 항체는 조합되거나 또는 분리되어 세포에 첨가되고, 그 이후에 완충액이 첨가되고 4 ℃에서 1 시간 동안 인큐베이션되었다. 차후에, FITC로 표지화된 Pb-DOTA가 이들 항체와 동몰 비율로 세포에 첨가되고 4 ℃에서 1 시간 동안 인큐베이션되었다. 이들 세포는 이후, FACS 완충액에서 2회 세척되고, 그리고 FACS Canto (BD, Pharmingen)를 이용한 계측을 위해 70 µl/웰 FACS 완충액에서 재현탁되었다. SPLIT 절반 중 어느 것도 형광 신호를 발생시키지 않는 것으로 밝혀졌는데 (도 24), 이것은 Pb-DOTA 결합 능력의 결여를 암시한다. 양쪽 SPLIT 절반의 조합만 Pb-DOTAM-FITC를 표적 세포로 모집할 수 있었다 (도 24).

[1099] *<huIgG(H+L)A488>를 이용한 FACS 염색*

[1100] CEA 특이적 SPLIT 항체 (각각 P1AF0712 또는 P1AF0713)는 FACS 완충액에서 40 µg/mL로 조정되어, 10 µg/mL의 최종 농도가 되었다. 양쪽 항체는 조합되거나 또는 분리되어 세포에 첨가되고, 그 이후에 완충액이 첨가되고 4 ℃에서 1 시간 동안 인큐베이션되었다. 이들 세포는 이후, FACS 완충액에서 2회 세척되었다. 세척 후, 이들 세포는 이차 항체 (<huIgG(H+L)>-Alexa488, c=10 µg/mL)를 내포하는 50 µL FACS-완충액에서 재현탁되고 4 ℃에서 1 시간 동안 인큐베이션되었다. 이들 세포는 이후, FACS 완충액에서 2회 세척되고, 그리고 FACS Canto (BD, Pharmingen)를 이용한 계측을 위해 70 µl/웰 FACS 완충액에서 재현탁되었다. 양쪽 SPLIT 항체에 대한 EC50은 비슷하였는데, 이것은 양쪽 SPLIT 항체의 CEA 특이적 세포 결합을 암시한다. 혼합물 내에 더 많은 양의 항체로 인해, 아래의 표에서 볼 수 있는 바와 같이, 더 낮은 EC50이 이들 환경하에 획득되었다.

[1101] SPLIT 항체의 EC50 결정

		EC50 µg/ml 절대
<hu>A488	P1AF0712+ PBS	2.7
	P1AF0713+ PBS	2.3
	P1AF0712+ P1AF0713	0.9
	hu ISO + PBS	
DOTA-FITC	P1AF0712+ PBS	해당 없음
	P1AF0713+ PBS	해당 없음
	P1AF0712+ P1AF0713	2.4
	hu ISO + PBS	

[1102]

[1103] *이차 항체 기초된 검출 (<hu>488, 위쪽 패널) 또는 Pb-DOTA-FITC (DOTA-FITC, 아래쪽 패널) 중 어느 한 가지를*

이용하여, EC50이 SPLIT 항체에 대해 결정되었다

[1104] **실시예 8: Biacore 결합 실험**

[1105] 본 실시예에서는 참조 항체 CEA-DOTAM (RO7198427, PRIT-0213)와 비교하여, DOTAM에 대해 개별적으로 TA-분할-DOTAM-VH 및 TA-분할-DOTAM-VL의 결합을 검사한다. 이것은 참조 항체와 비교하여, TA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍에 대한 DOTAM의 결합을 더욱 검사한다.

[1106] 본 실시예에서 이용된 코딩 및 본 출원의 다른 곳에서 이용된 단백질 번호 사이의 대응은 아래에 도시된다. 서열 역시 제공된다. 참조 항체는 본 실시예에서 "PRIT_RS"로서 코딩된다.

[1107]

표적 결합체	SPR 코드 (전구약물 A+B)	SPR 코드	DOTAM	단백질	LC (서열 번호)	HC (서열 번호)	융합 HC (서열 번호)
<CEA> CH1A1A	P1_AB	P1_A	VL	P1AD8592	34	30	33
		P1_B	VH	P1AD8749	34	28	32
<CEA> CH1A1A	P2_AB	P2_A	VL	P1AD8592	34	30	33
		P2_B	VH	P1AF0171	34	28	147
<CEA> T84.66	P3_AB	P3_A	VL	P1AF0709	89	83	84
		P3_B	VH	P1AF0298	89	86	89
<CEA> 28A9	P4_AB	P4_A	VL	P1AF0710	96	90	91
		P4_B	VH	P1AF0711	96	93	94
<CEA> A5H1EL1(G54A)	P5_AB	P5_A	VL	P1AE4957	58	55	56
		P5_B	VH	P1AE4956	54	51	52
<CEA> CH1A1A	P6_AB	P6_A	VL	P1AF0712	103	97	98
		P6_B	VH	P1AF0713	103	100	101
<GPRC5D>	P7_AB	P7_A	VL	P1AF8284	107	104	105
		P7_B	VH	P1AF8285	107	104	106

[1108] 이들 실험을 위해, PRIT SPLIT 항체가 MabSelect Sure (친화성 크로마토그래피)의 첫 번째 단계 및 이온 교환 크로마토그래피 (예를 들면 POROS XS)의 두 번째 단계에 의해 정제되고, 이후 Superdex 200 (크기 배제 크로마토그래피)에 의해 연마되었다.

[1109] 이들 실험은 25 ℃ 계측 온도에서 Biacore T200으로 수행되었다. 모든 Biacore T200 실험은 HBS-P+ (GE Healthcare, Br-1008-27) pH 7,4 작업 완충액에서 수행되었다. 상이한 DOTAM 분획물을 이용하여, 각각의 검사 항체/항체 쌍에 대해 2번의 실험이 수행되었다.

[1110] 1. 첫 번째 실험에서, 칩 상에 포획된 비오틴화된 DOTAM에 대한 개별 TA-분할-DOTAM-VH 및 TA-분할-DOTAM-VL 항체의 결합이 참조 항체에 비하여 사정되었다.

[1111] DOTAM (HBS-P+에서 120 nM 용액)이 CAP 칩 표면 상에 높은 밀도로 포획되었다 (10㎕/분, 60 초). 이후 전구약물_A 또는 전구약물_B의 HBS-P+에서 600 nM 용액이 DOTAM 표면 위에 주입되었다 (10㎕/분, 90 초). 해리가 10㎕/분의 유속에서 240 초 동안 모니터링되었다. 상대적 최대 반응 결정이 T200 평가 소프트웨어를 이용하여 평가되었다.

[1112] 결과는 도 26에서 도시된다. 이들 개별 항체 중 어느 것도, 포획된 DOTAM에 결합을 보여주지 않았다.

[1113] 2. 두 번째 실험에서, 개별 TA-분할-DOTAM-VH 및 TA-분할-DOTAM-VL 항체가 먼저, 고정된 항-hFab를 이용하여 칩 상에 포획되었고, 이후 DOTAM-모노스트렙타비딘 복합체 (DOTAM + 모노스트렙타비딘 연계 600nM, 1:1 mol, 실온에서 1 시간)의 결합이 사정되었다.

[1114] 전구약물_A 또는 전구약물 B의 HBS-P+에서 600 nM 용액이 항 hFab (GE Healthcare, BR-1008-27) CM5 칩 표면 (10㎕/분, 120 초) 위에 주입되었다. 전구약물 A 또는 B 용액의 높은 밀도 포획 후, DOTAM-모노스트렙타비딘 복합체가 주입되었다 (20㎕/분, 90 초). 해리가 20 ㎕/분의 유속에서 180 초 동안 모니터링되었다. 새로운 주기를 위해, 글리신 2.1 및 10㎕/분으로 75 초 재생 시간을 이용함으로써 표면이 재생되었다. 상대적 최대 반응 결정이 T200 평가 소프트웨어를 이용하여 평가되었다.

[1115] 결과는 도 27에서 도시된다. 낮은 백분율 최대 반응 (상기 도면에서 *로서 표시됨)은 "흔적" 또는 DOTAM-SA와의

비특이적 상호작용인 것으로 생각되고, 그리고 검정을 최적화해야 하는 필요성을 반영한다.

[1116] 3. 세 번째 실험에서, DOTAM에 대한 TA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍의 결합이 참조 항체와 비교하여 사정된다. 항체가 먼저, 고정된 항-hFab를 이용하여 칩 상에 포획되었고, 이후 DOTAM-모노스트렙타비딘 복합체 (DOTAM + 모노스트렙타비딘 연계 600nM, 1:1 mol, 실온에서 1 시간)의 결합이 사정되었다.

[1117] 전구약물_A 및 전구약물 B의 HBS-P+에서 300 nM 용액이 항 hFab (GE Healthcare, BR-1008-27) CM5 칩 표면 위에 주입되었다 (10μl/분, 120 초). 전구약물 A와 B 용액의 높은 밀도 포획 후, DOTAM-모노스트렙타비딘 복합체가 주입되었다 (20μl/분, 90 초). 해리가 20 μl/분의 유속에서 180 초 동안 모니터링되었다. 새로운 주기를 위해, 글리신 2.1 및 10μl/분으로 75 초 재생 시간을 이용함으로써 표면이 재생되었다. 상대적 최대 반응 결정이 T200 평가 소프트웨어를 이용하여 평가되었다.

[1118] 결과는 도 28에서 도시된다. 모든 TA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍은 DOTA 결합체인 P6_AB (P1AF0712/P1AF0713) 쌍을 제외하고, DOTAM에 대해 유의미한 양의 결합을 보여주었다.

[1119] TA-분할-DOTAM-VH/VL 쌍에 대해 유의미한 양의 DOTAM 결합을 보여주지만, 상기 쌍의 개별 구성원에 대해서는 그렇지 않은 유사한 결과가 FAP-결합체 P1AF8286 및 P1AF8287에 대해 또한 획득되었다. P1AF8286은 서열 번호: 108의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 109의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 111의 경쇄로 구성되고, 그리고 P1AF8287은 서열 번호: 108의 첫 번째 중쇄, 서열 번호: 110의 두 번째 중쇄 및 서열 번호: 111의 경쇄로 구성된다. 하지만, 이러한 검정은 여전히 최적화되어야 한다.

[1120] **실시예 9: 병용 요법**

[1121] **실시예 9a: 재료와 방법, 일반적**

[1122] ***건강 모니터링 및 종료 기준***

[1123] 모든 실험 프로토콜이 지역 당국 (Comité Régional d'Ethique de l'Expérimentation Animale du Limousin [CREEAL], Laboratoire Départemental d'Analyses et de Recherches de la Haute-Vienne)에 의해 검토되고 승인되었다. 암컷 유전자도입 C57BL/6J-TgN(CEAGe)18FJP [Clarke P, Mann J, Simpson JF, Rickard-Dickson K, Primus FJ. Mice transgenic for human carcinoembryonic antigen as a model for immunotherapy. Cancer Res. 1998; 58(7):1469-77] ("B6-huCEA") and C57BL/6J-Tg(CEACAM5)2682Wzm [Eades-Perner AM, van der Putten H, Hirth A, Thompson J, Neumaier M, von Kleist S, Zimmermann W. Mice transgenic for the human carcinoembryonic antigen gene maintain its spatiotemporal expression pattern. Cancer Res. 1994; 54(15):4169-76] ("huCEACAM5") 생쥐 (Charles River)가 윤리적 지침에 의거하여, 밝음 및 어둠 (12 시간/12 시간)의 일일 주기를 갖는 특정한 기회 감염 병원체 없는 (SOPF) 조건하에 유지되었다. 이들 동물이 새로운 환경에 적응할 수 있도록 하기 위해, 도착 후 첫 5 일 동안에는 조작이 수행되지 않았다.

[1124] 연구 0일 자에 암배아 항원 (CEA) 발현 종양 세포의 피하 (SC) 또는 췌장내 주입을 통해, 일차성 고형 이종이식편이 각 B6-huCEA 또는 huCEACAM5 생쥐에서 확립되었다. 동물이 임상 증상 및 부작용의 검출에 대해 매일 제어되고, 그리고 만약 종양 부담, 주사 또는 수술의 부작용, 또는 다른 원인으로 인한 다루기 힘든 곤란 또는 통증의 징후를 보이면, 예정된 종결점 이전에 안락사되었다. 통증, 곤란 또는 불편의 표시는 급성 체중 (BW) 감소, 추레한 털, 설사, 웅크린 자세, 창백한 피부, 그리고 움직이기 꺼려함을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 불량한 SC 종양 상태 (예를 들면 궤양형성, 이빨 자국, 또는 열린 상처) 또한 안락사를 촉발할 수 있다; 동소이식 모형에서, 복부 팽화는 증가하는 종양 부담을 표시하는데, 이것은 안락사를 촉발할 수 있다.

[1125] SC 종양 용적이 주 3회 수동 캘리퍼링을 통해 추정되고, 공식: $용적 = 0.5 \times 길이 \times 너비^2$에 따라서 계산되었다. 종양 성장률에 따라서 추가 종양 계측이 필요에 따라 실행되었다. 동소이식 모형에서, 종양 진행이 생물발광 영상화 (BLI)를 통해 규칙적으로 사정되었다. 이들 동물의 BW가 적어도 주 3회 계측되었고, 건강 상태에 따른 필요에 따라 추가로 계측되었다. BW 감소가 그들의 초기 BW의 20%를 초과하거나 또는 종양 용적이 3000 mm^3 (프로토콜 119, 136, 150) 또는 2000 mm^3 (프로토콜 195)에 도달한 생쥐는 즉시 안락사되었다.

[1126] 방사성 소변/대변의 재섭취를 최소화하기 위해, 생쥐는 표준 침구가 있는 새로운 케이지로 이전되기에 앞서, ^{212}Pb-1,4,7,10-테트라키스(카르바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸 (DOTAM) 투여 후 4 시간 동안 바닥에 창살이 있는 케이지에 배치되었다. 모든 케이지는 이후, 주사후 (p.i.) 24 시간째에 교체되었다. 습성 사

료가 방사선 주사 다음 날부터 시작하여, 7 일 동안 또는 모든 개체가 임의의 급성 BW 감소로부터 충분히 회복할 때까지, 모든 생쥐에게 제공되었다.

[1127] ***생물발광 영상화***

[1128] 종양 진행이 Bruker 생체내 FX PRO 시스템을 이용한 반복된 BLI를 통해 사정되었다. 신호의 간섭을 제한하기 위해, 영상화 전 전기 면도기를 이용하여 주사 부위 상에서 및 주변에서 털이 가능한 한 제거되었다. 영상화를 위해, 생쥐의 등 부분에 100 μL의 루시페린 (D-루시페린; Thermo Scientific, 참조 번호 88294)이 SC 주입되었다. 용액이 인산염 완충된 식염수 (PBS)에서 15 mg/mL로 희석되고, 0.2-μm 필터에 통과되고, 그리고 이용 때까지 -20℃에서 보관되었다. 영상화 동안, 생쥐는 주사 부위가 아래를 향하도록 나란히 배치되었다. 설정의 광학 사진이 촬영되었고, 그 이후에 1-분 BLI 획득이 뒤따랐다. 신호의 최대화를 위해, 획득이 루시페린 주입 10 분 후에 시작되었다. 이미지들이 이후, 시각 사정을 위해 덧씌워졌다. 직사각형 관심 영역 (ROI)이 취해졌고, 그리고 종양 진행을 사정하기 위해 ROI 내에 배경 보정 신호가 각 생쥐에 대해 비교되었다.

[1129] ***조직 수확***

[1130] 항체 주사의 개별 혈청 농도를 계측함으로써 이들 항체 주사를 검증하기 위해, 면역요법 투여 후 생쥐로부터 혈액이 샘플링되었다. 샘플이 10,000 RCF에서 5 분 동안 원심분리되었고, 그리고 결과의 혈청 분획물이 Discovery Pharmacology, Roche Innovation Center Zurich에 의해 수행된 효소 결합 면역흡착측정법 (ELISA)에 의한 후속 분석을 위해 단리되고, 동결되고, -20℃에서 보관되었다.

[1131] 또한, 안락사의 시점에 경부 탈구를 통한 종료 전, 마취된 생쥐에서 안와후 출혈을 이용하여 혈액이 정맥동으로부터 수집되었다. 이것 이후에, 프로토콜에 규정된 대로, 방사능 계측 및/또는 조직학적 분석을 위한 추가 조직 수확이 뒤따랐다. 예상치 못한 또는 비정상적인 상태는 문서화되었다. 포르말린 고정을 위해 수집된 조직이 10% 중성으로 완충된 포르말린 (NBF; 4℃)에 즉시 넣어지고, 그리고 24 시간 후 PBS (4℃)로 이전되었다. 생체분포 목적을 위해 수집된 장기와 조직이 계량되고 2470 WIZARD^2 자동 감마 계수기 (PerkinElmer)를 이용하여 방사능에 대해 계측되었고, 그리고 붕괴 및 배경에 대한 교정을 포함하는, 조직 그램당 주사된 선량 퍼센트 (% ID/g)가 차후에 계산되었다.

[1132] ***통계학적 분석***

[1133] 통계학적 분석이 GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc.), JMP 12 (SAS Institute Inc.) 및 DOPsa (인하우스 출원)를 이용하여 수행되었다. 종양 성장 저해 (TGI)의 곡선 분석이 아래의 공식을 이용하여 평균 종양 용적에 근거하여 수행되었고:

[1134] $$TGI = 100 - \frac{\overline{v_{처치,d}} - \overline{v_{처치,0}}}{\overline{v_{기준,d}} - \overline{v_{기준,0}}} \times 100$$

[1135] 여기서 *d*는 연구 일을 표시하고 *0*은 기준선 값을 표시한다. "운반제"가 기준 집단으로서 선택되었다.

[1136] **1.1 검사 화합물**

[1137] CEA-DOTAM (mu) (P1AD8758)은 CEA의 CH1A1A 에피토프를 표적으로 하는 뮤린화 BsAb이다. 이것은 아래의 폴리펩티드 사슬로 구성된다:

[1138] >LC

[1139] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

[1140] >HC 1

[1141] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYDNTQPIMDTDGSYFVYSDLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSTYSMSWVRQAPGKGLEW

IGFIGSRGDTYYASWAKGRFTVSRTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARERDPYGGGAYPPHLWGPGTLVTVSS

[1142] >HC 2C

[1143] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFA YYVEAMDYWGQGTTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCN VAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPI MHQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKKQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMKTDGSYFVYSKL NVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAVLTQTPSPVSPAVGGTVTISCQSSHSVYSDNDLAWYQQKLGQPPK LLIYQASKLASGVSSRFSGSGSGTQFTLTISGVQSDDAATYYCLGGYDDESDTYGFGGGTEVVVK

[1144] 프로토콜 195에서 이용된 바와 같은 CEA-분할-DOTAM-VL은 본 출원의 다른 곳에서 설명된 P1AD8592이다 (예를 들면 실시예 1을 참조한다). 프로토콜 195에서 이용된 바와 같은 CEA-분할-DOTAM-VH-AST는 본 출원의 다른 곳에서 설명된 P1AF0171이다 (예를 들면 실시예 4를 참조한다).

[1145] DIG-DOTAM (RO7204012)은 음성 대조로서 이용된 비-CEA 결합 BsAb (표적 = 디곡시제닌)이다.

[1146] 항-CD40 항체는 muIgG1 CD40 FGK4.5 B6 CHO W(9)이다. 이것은 WO2018/189220의 서열 넘버링을 이용하여, 상기 문서에서 교시된 바와 같이 서열 번호: 61의 중쇄 및 서열 번호: 62의 경쇄를 갖는다. 프로토콜 119에서 이용된 항-PD-L1은 6E11 muIgG1 GNE w(1) ("뮤린 IgG1, 클론 6E11, Genentech"로 또한 명명됨)이다. 예를 들면 WO2018/055145를 참조한다. 프로토콜 136 및 195에서 이용된 항-PD-L1은 6E11.mIgG2a.LALAPG이다.

[1147] 모든 항체 작제물은, 그들이 해동되고 정맥내 (IV) 또는 복막내 (IP) 투여를 위해 표준 운반제 완충액 (20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl; pH 6.0) 또는 0.9% NaCl에서 그들의 최종 개별 농도로 희석되는 주사의 일자 때까지 -80℃에서 보관되었다. 유사하게, 항-CD40 및 항-PD-L1 항체가 -80℃에서 보관되고, 그리고 IP 주사 당일에 히스티딘 완충액에서 200 μL당 200 μg으로 희석되었다.

[1148] Pb-DOTAM-덱스트란-500 및 Ca-DOTAM-덱스트란-500 CA (RO7201869)가, 이들이 해동되고 IV 또는 IP 투여를 위해 PBS에서 희석되는 주사의 일자 때까지 -20℃에서 보관되었다.

[1149] 방사성-표지화를 위한 DOTAM 킬레이트는 Macrocyclics에 의해 제공되었고, 그리고 Orano Med (Razès, France)에 의해 수행된 방사성-표지화 전, -20℃에서 유지되었다. ^{212}Pb-DOTAM (RO7205834)이 토륨 발생기로부터 DOTAM으로 용리에 의해 생성되었고, 그리고 차후에 표지화 후 Cu 또는 Ca로 퀀칭되었다. IV 주사를 위한 원하는 ^{212}Pb 활성 농도를 획득하기 위해, ^{212}Pb-DOTAM 용액이 PBS 또는 0.9% NaCl로 희석되었다.

[1150] 운반제 대조군에서 생쥐는 BsAb, CA 및 ^{212}Pb-DOTAM 대신에 운반제 완충액의 복수의 주사를 제공받았다.

[1151] **종양 모형**

[1152] 생쥐에서 접종에 이용된 종양 세포주는 Panc02-huCEA-luc 또는 MC38-huCEA이다.

[1153] Panc02는 University of Texas MD Anderson Cancer Center (Houston, TX)로부터 획득된 생쥐 췌장 관 선암종 세포로부터 유래되고 인간 CEA (huCEA) 및 루시페라아제 (luc)를 발현하도록 Roche에 의해 조작되어 Panc02-huCEA-luc를 생산하는 세포주이다. 세포가 1% GlutaMAX (Gibco, 카탈로그 번호 72400-021), 10% 소 태아 혈청 (GE Healthcare, 카탈로그 번호 SH30088.03), 4 μg/mL의 푸로마이신 (VWR, 카탈로그 번호 J593) 및 50 μg/mL의 히그로마이신 (Cayman Chemicals, 카탈로그 번호 14291)으로 강화된 RPMI-1640 배지에서 배양되었다.

[1154] MC38-huCEA는 City of Hope, CA, USA로부터 획득된, huCEA를 발현하도록 조작된 뮤린 결장 선암종 세포주이다. 세포가 GlutaMAX (Gibco, 카탈로그 번호 61965-026), 10% 소 태아 혈청 (GE Healthcare, 카탈로그 번호 SH30088.03) 및 500 μg/mL의 제네티신 (Gibco, 카탈로그 번호 10131-027)으로 강화된 DMEM 배지에서 배양되었다.

[1155] 연구 0일 자에 Corning® Matrigel® 기저막 매트릭스 (성장 인자 감소됨; 카탈로그 번호 354230)와 1:1 혼합된 배지에서 세포를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, SC 이종이식편이 각 생쥐에서 확립되었다. 동소이식 모형에서, 배지에서 세포의 췌장 내로의 직접적인 주입을 통해, 일차성 고형 췌장내 이종이식편이 각 생쥐에서 확립되었다.

[1156] **실시예 9b: 프로토콜 119**

[1157] 프로토콜 119의 목적은 췌장 선암종의 동계 동소 뮤린 모형에서 치료에 대한, 단독으로 및 암 면역요법 (CIT)과 병용으로 CEA-사전-표적화된 방사면역요법 (PRIT)의 3회 주기 이후에 효능을 사정하는 것이었다.

[1158] 면역적격 유전자도입 B6-huCEA 생쥐의 췌장에 Panc02-huCEA-luc 종양 세포 (10 μL에서 $0.2x10^6$개 세포)가 주입되었고, 그리고 종양 발달이 BLI에 위해 추적되었다. CEA-PRIT 섭생은 CEA-DOTAM (mu) BsAb (100 μL에서 100 μg)의 IV 주사를 포함하였고, 4 일 후 Pb-DOTAM-덱스트란-500 CA (100 μL에서 25 μg)의 IV 투여가 뒤따랐고, 차례로 CA 2 시간 후에 Cu-퀀칭된 ^{212}Pb-DOTAM 효과기 분자 (100 μL에서 20 μCi)의 IV 주사가 뒤따랐다. 항-CD40 항체의 1회 투여 및 항-PD-L1 항체의 복수 주사 (200 μL에서 200 μg의 각 항체)로 구성되는 CIT 치료가 방사선 주사 24 시간 후에 IP 투여되었다. 일차 치료 주기 동안 ^{212}Pb-DOTAM 표적화 및 청소를 확증하기 위한 생체분포 사정을 위해 스카우트 생쥐가 취해졌다. 치료 효능이 TGI (BLI에 근거됨) 및 생존의 관점에서 사정되었다.

[1159] 연구 개요는 도 29에서 도시된다.

[1160] 프로토콜 119의 시간 경과 및 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[1161] **프로토콜 119의 시간 경과**

연구 일	일자	실험 절차
0	2017-06-08	Panc02-huCEA-luc 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	2017-06-08	Panc02-huCEA-luc 세포의 SC 주입
6	2017-06-14	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
7	2017-06-15	BsAb의 IV 주사
11	2017-06-19	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
11	2017-06-19	CA의 IV 주사
11	2017-06-19	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
11	2017-06-19	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
12	2017-06-20	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수
12	2017-06-20	항-CD40 및 항-PD-L1의 IP 주사
13	2017-06-21	안와후 출혈
14	2017-06-22	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
18	2017-06-26	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
21	2017-06-29	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
22	2017-06-30	BsAb의 IV 주사
25	2017-07-03	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
26	2017-07-04	CA의 IV 주사
26	2017-07-04	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
26	2017-07-04	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
27	2017-07-05	항-PD-L1의 IP 주사
28	2017-07-06	안와후 출혈
28	2017-07-06	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
32	2017-07-10	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
35	2017-07-13	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
36	2017-07-14	BsAb의 IV 주사
39	2017-07-17	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
40	2017-07-18	CA의 IV 주사
40	2017-07-18	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
40	2017-07-18	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
41	2017-07-19	항-PD-L1의 IP 주사
42	2017-07-20	안와후 출혈
43	2017-07-21	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
46	2017-07-24	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
49	2017-07-27	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
53	2017-07-31	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
53	2017-08-03	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
60	2017-08-07	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
63	2017-08-10	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)

[1162]

[1163] **프로토콜 119에서 연구 군**

군	BsAb	BsAb (μg)	CA (μg)	^{212}Pb (μCi)	항-CD40* (μg)	항-PD-L1 (μg)	주기	n (생쥐)
A	-	0	0	0	0	0	3	8
B	-	0	0	0	200	200	3	8
C	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	3	8
D	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	200	200	3	8
E	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	1	3
F	DIG-DOTAM	100	25	20	0	0	1	3

[1164]

[1165] *일차 치료 주기에서 단지 1회 투여된 항-CD40

[1166] 연구 0일 자에 췌장 내로 직접적으로 RPMI-1640 배지에서 Panc02-huCEA-luc 세포 (계대 19) (10 μL에서 0.2x10^{6}개 세포)의 주입을 통해, 일차 고형 이종이식편이 각 B6-huCEA 생쥐 (10 주령)에서 확립되었다. 종양 진행이 6, 11, 14, 18, 21일 자에, 이후 접종 후 63일 자 때까지 주 2회 계측으로, BLI를 통해 모든 생쥐에서 사정되었다.

[1167] 연구의 종료 때까지 또는 종료 기준 중에서 한 가지 또는 몇몇이 도달될 때까지 치료 효능을 사정하기 위해 군 A-D의 생쥐가 추적되었다. ELISA를 통한 혈청 분획물의 분석에 의해 항-CD40 및 항-PD-L1 주사를 검증하기 위해, 면역요법의 투여 후 24 시간째에 군 B 및 D의 생쥐로부터 혈액이 샘플링되었다. 혈청이 또한, 안와후 혈액 수집을 통해 안락사 전에 단리되고, 이후 동결되고 -20℃에서 보관되었다. 조직학적 처리 및 분석을 위해 아래의 조직이 수집되었고, 그리고 1X PBS 용액으로 이전되기 전 24 시간 동안 10% NBF에 즉시 집어넣어졌다: 혈청, 간, 비장, 신장, 그리고 종양이 있는 췌장.

[1168] 종양 흡수 및 정상 조직으로부터 청소를 확증하기 위해, ^{212}Pb-DOTAM 주사 24 시간 후에 군 E 및 F의 생쥐가 희생되고 부검되었다. 아래의 장기와 조직이 이를 통해 수확되고 방사성에 대해 계측되었다: 혈액, 방광, 비장, 췌장 (종양 없음), 신장, 간, 근육, 피부, 꼬리, 그리고 종양.

[1169] **결과**

[1170] **생체분포 및 ELISA**

[1171] 일차 ^{212}Pb-DOTAM 주사 후 24 시간째에 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 축적 및 청소가 도 30에서 나타내진다. DIG-DOTAM에서 0.6% ID/g와 비교하여, CEA-DOTAM (mu)으로 사전-표적화 후 종양에서 16.5% ID/g으로, 종양 흡수가 특이적이었다. 종양이 없는 췌장 조직에서는 ^{212}Pb 축적이 1.9% ID/g이었다.

[1172] 면역요법 투여 후 24 시간째에 항-CD40 및 항-PD-L1 항체의 혈청 농도는 도 31에서 도시된다.

[1173] **종양 발달과 생존**

[1174] CEA-PRIT 및 대조 치료 후 평균 배경 차분 BLI 신호가 도 32에서 도시된 mm^{2}당 초당 광자로서 표현된다. 상응하는 개별 곡선은 도 33에서 도시된다. 평균 신호는 치료되지 않은 대조 생쥐에서는 지수적으로 강화되었고, 반면 단일요법 (면역요법 또는 CEA-PRIT) 중 어느 한 가지로 치료된 생쥐 사이에서는 이러한 증가가 더 느리고 개체 변이가 더 컸다. CEA-PRIT/면역요법 병용 군에서는 BLI 신호가 다른 군과 비교하여 더 느린 속도로 증가되거나 또는 배경 수준으로 축소되었다. 영상화의 최종일인 88일 자에, 3/8마리의 CEA-PRIT/면역요법 치료된 생쥐에서 배경 잡음과 식별 가능한 신호가 없었다.

[1175] 생존 곡선은 도 34에서 도시된다. 연구가 세포 주입 후 103일 자에 종료되었는데, 이 시점에서 CEA-PRIT/면역요법 병용 군에서 2/8마리의 생쥐가 생존하고 종양이 없었다. 다른 군에서는 종양이 없거나 또는 생존하는 생쥐가 없었다. 개별 치료군에 대한 시간 대 사건 통계치 (사건 = 안락사/사망)가 아래의 표에서 도시되는데, 이것은 사분위수 생존 기간 (25% 및 75%)과 함께, 상위와 하위 95% 신뢰 한계에서 중앙 생존 기간을 보여준다.

[1176] **시간 대 사건* 통계치를 갖는 변위치 (일)**

군	중위 시간	하위 95%	상위 95%	25% 실패	75% 실패
운반제	27.5	11	33	23.5	33
항-CD40+항-PD-L1	36.5	11	46	27.5	46
CEA-PRIT	46.5	14	60	30	56
CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	73	50	-	59	-

[1177]

[1178] * 사건 = 종양 부담으로 인한 안락사/사망.

[1179] 어떤 군이 생존의 관점에서 매우 상이한지를 특정하기 위해 쌍별 검정: 로그 순위 검정 (후기 생존 사건에 더 많은 비중) 및 윌콕슨 검정 (초기 생존 기간에 더 많은 비중)이 수행되었는데, 이들 둘 모두 복수의 검사를 위해 본페로니 교정을 이용하였다. 결과는 아래의 표에서 도시된다. CEA-PRIT/면역요법 병용은 단일요법 및 운반제 군 중 어느 하나와 비교하여 생존을 유의미하게 증가시켰다.

[1180] **쌍별 로그 순위 검정 (다중 검정 수준 = 0.00833)**

군	운반제	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0341	0.0131	<0.0001*
항-CD40+항-PD-L1	0.0341	1.0000	0.7100	0.0004*
CEA-PRIT	0.0131	0.7100	1.0000	0.0029*
CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	<0.0001*	0.0004*	0.0029*	1.0000

[1181]

[1182] **쌍별 윌콕슨 검정 (다중 검정 수준 = 0.00833)**

군	운반제	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0864	0.0396	0.0002*
항-CD40+항-PD-L1	0.0864	1.0000	0.5250	0.0007*
CEA-PRIT	0.0396	0.5250	1.0000	0.0065*
CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	0.0002*	0.0007*	0.0065*	1.0000

[1183]

[1184] **부작용 및 독성**

[1185] 모든 요법 군에서 평균 BW 발달은 도 35에서 도시된다. 항-CD40의 투여는 주사된 생쥐에서 예상된 급성 체중 감소를 촉발하였는데, 이것은 주사 후 대략 1 주 이내에 해소되었다. ^{212}Pb-DOTAM의 주사는 방사선조사된 생쥐에서 일시적인 체중 감소를 야기하였는데, 이것은 항-CD40 주사 이후에 것보다 덜 심각하였다. 급성 주사후 BW 감소로 인해 안락사된 생쥐는 없었다.

[1186] CEA-PRIT 단일요법 군에서, 1마리의 생쥐가 ^{212}Pb-DOTAM 주사 실패로 인해 삼차 치료 주기 동안 프로토콜로부터 배제되었다; 동일한 군에서 1마리의 생쥐가 BLI 획득 동안 마취 상태에서 죽었다. CEA-PRIT/면역요법 병용 군에서, 1마리의 생쥐가 꼬리의 괴사로 인해 안락사되었다.

[1187] **프로토콜 119에서 부작용**

군	희생된 생쥐 (군마다 n)	연구 일	종료의 원인
C: CEA-PRIT	1(8)	42	실패한 ^{212}Pb-DOTAM 주사
C: CEA-PRIT	1(8)	56	마취/BLI 획득 동안 생쥐 사망
D: CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	1(8)	53	괴사성 꼬리

[1188]

[1189] ^{212}Pb 방사선조사 (20 μCi)가 연구 11, 26 및 40일 자에 수행되었다. 면역요법이 연구 12일 자 (항-CD-40 + 항-PD-L1), 27일 자 (항-PD-L1) 및 41일 자 (항-PD-L1)에 투여되었다.

[1190] **조직병리학적 조사**

[1191] 모든 생쥐에서 아래의 조직: 신장, 간, 폐, 비장 및 일차 종양 (췌장내)이 조사되었다. 조직 절편이 헤마톡실린 및 에오신 (H&E) 또는 과요오드산-쉬프 (PAS, 신장에서만)로 염색되고 Leica Diaplan 현미경에서 광학 검경에 의해 조사되었다. 조직병리학적 조사 결과는 최소 (1 등급), 경미 (2 등급), 중간 (3 등급), 현저 (4 등급) 또는 심각 (5 등급)의 5-포인트 시스템을 이용하여 심각도에서 등급 분류되었다.

[1192] **종양**

[1193] 군 A, B 및 C에서 모든 생쥐 (8/8)의 췌장 내에 이식된 종양이 존재하였고, 반면 군 D의 경우에는 상응하는 숫자가 5/8이었다. 전이성 착상이 군 B, C 및 D의 1/8마리의 생쥐의 간에서, 그리고 군 B의 1마리의 생쥐의 비장에서 기록되었다. 크기, 괴사 및 출혈은 집단간에 전체적으로 유사하였다 (아래의 표). 유사분열상의 개수는 아래와 같았고: 군 A > 군 B > 군 C > 군 D, 반면 아폽토시스상은 군 C 및 D와 비교할 때 군 A 및 B에서 더 적었다.

[1194] **이식된 췌장 종양에서 출혈, 유사분열상 및 아폽토시스상의 크기 및 평균 점수***

군 *조사된 n*	A: 운반제 *8*	B: 항-CD40 + 항-PD-L1 *8*	C: CEA-PRIT *8*	D: CEA-PRIT + 항-CD40+ 항-PD-L1 *5*
평균 크기 (cm) ± SD	11.13 ± 1.89	14.13 ± 5.69	10.63 ± 4.14	14.00 ± 3.39
괴사	2.5	2.5	2.1	2.6
출혈	1.9	0.9	1.3	1.2
유사분열상	4	2.9	2.5	0.8
아폽토시스상	1.5	1.4	2.5	2.4

[1195]

[1196] *평균 점수 = 군에서 Σ 동물의 수 x 심각도 / 종양의 수

[1197] **장기**

[1198] 주된 치료 관련 효과는 군 C 및 D의 생쥐의 신장에 존재하였고, 그리고 외부 수질의 바깥줄무늬층 내에 주로 근위 세뇨관 (S3 분절)을 수반하는 변성/재생 및 핵부동으로 구성되었다.

[1199] **군 C 및 D의 신장 내에 변성/재생 및 핵부동, 근위 세뇨관**

군	C: CEA-PRIT	D: CEA-PRIT + 항-CD40+ 항-PD-L1
조사된 n	*8*	*5*
	변성/재생, 근위 세뇨관	
최소	4	5
경미	0	1
중간	0	2
평균 점수*	0.5	1.6
	핵부동, 근위 세뇨관	
최소	3	0
경미	3	5
중간	1	2
현저	0	1
평균 점수*	1.5	2.5

[1200]

[1201] *평균 점수 = 군에서 Σ 동물의 수 x 심각도 / 종양의 수

[1202] **결론**

[1203] CEA-PRIT 및 CIT (항-CD40 + 항-PD-L1)의 병용은 운반제 및 어느 한쪽 단일요법과 비교하여 생존을 유의미하게 증가시켰고, 그리고 초기에 확립된 동소 종양을 갖는 2/8마리의 CEA-PRIT/면역요법 치료된 생쥐는 연구의 종료 시점에 종양이 없었다. BLI는 병용 치료를 이용한 향상된 종양 제어를 확증하였다.

[1204] 양쪽 군 모두 BW 감소로 인해 안락사된 생쥐가 없었는데, 이것은 치료에 대한 우수한 내약성을 나타낸다. 하지만, 대다수의 동물은 반복된 영상화 세션 동안 이소플루란 매개 마취를 겪었고, 깨어나거나/회복하는 데 연장된 시간을 필요로 하며, 외관상 더 빨리 노화되었다 (털 회색화). 1마리의 생쥐가 마취로부터 깨어나지 않았고 이미지 획득 후 죽었다.

[1205] CEA-PRIT를 이용한 치료는 신장 (근위 세뇨관) 내에 세뇨관 변성/재생 및 핵부동을 유도하였는데, 신장 조사 결과의 심각도는 면역요법과 병용 후 약간 더 높았다. 종양에 대한 주된 효과는 CEA-PRIT/면역요법 병용 치료로 발생률의 감소, CEA-PRIT 및/또는 면역요법 치료로 유사분열상 감소, 그리고 CEA-PRIT로 아폽토시스상 증가이었다.

[1206] **실시예 9c: 프로토콜 136**

[1207] 프로토콜 136의 목적은 면역적격 유전자도입 생쥐에서 SC Panc02-huCEA-luc 종양의 치료를 위한, 단독으로 및 CIT와 병용으로 CEA-PRIT의 3회 주기 이후에 효능을 사정하는 것이었다.

[1208] PRIT 섭생이 CEA-DOTAM (mu) BsAb (200 μL에서 100 μg)의 IP 주사, 7 일 후 Pb-DOTAM-덱스트란-500 CA (200 μL에서 25 μg), 차례로 24 시간 후 효과기 분자 ^{212}Pb-DOTAM (20 μCi)의 IP 투여를 포함하는 3회 반복된 주기에서 투여되었다.

[1209] 항-CD40 항체의 1회 투여 및 항-PD-L1 항체의 복수 주사 (200 μL에서 200 μg의 각 항체)로 구성되는 면역요법 치료가 방사선 주사 24 시간 후에 IP 투여되었다. 이차 주기 후 면역약역학적 (immuno-PD) 효과의 유세포 계측 분석을 위해 희생된 생쥐에 더하여, 일차 치료 주기 동안 ^{212}Pb-DOTAM 표적화 및 청소를 확증하기 위한 생체분포 사정을 위해 스카우트 생쥐가 취해졌다. CEA-PRIT/면역요법 병용, CEA-PRIT 단독, 면역요법 단독, 그리고 치료 없음 사이에 비교가 만들어졌다. 치료 효능이 TGI, 생존 및 면역 기억의 관점에서 사정되었다. 캘리퍼링에 더하여, 종양 성장이 BLI를 통해 추적되었다.

[1210] 연구 개요는 도 36에서 도시된다.

[1211] 프로토콜 136의 시간 경과 및 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[1212] **프로토콜 136의 시간 경과**

연구 일	일자	실험 절차
0	2018-01-12	Panc02-huCEA-luc 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	2018-01-12	Panc02-huCEA-luc 세포의 SC 주입
10	2018-01-22	BsAb의 IP 주사
11	2018-01-23	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
14	2018-01-26	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
17	2018-01-29	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
17	2018-01-29	CA의 IP 주사
18	2018-01-30	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
18	2018-01-30	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
19	2018-01-31	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수
19	2018-01-31	항-CD40 및 항-PD-L1의 IP 주사
20	2018-02-01	안와후 출혈
20	2018-02-01	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
24	2018-02-05	BsAb의 IP 주사
24	2018-02-05	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
27	2018-02-08	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
31	2018-02-12	CA의 IP 주사
31	2018-02-12	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
31	2018-02-12	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
32	2018-02-13	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
33	2018-02-14	항-PD-L1의 IP 주사
34	2018-02-15	안와후 출혈
34	2018-02-15	안락사 및 immuno-PD (FACS)를 위한 조직 수확
35	2018-02-16	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
38	2018-02-19	BsAb의 IP 주사
38	2018-02-19	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
41	2018-02-22	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
45	2018-02-26	CA의 IP 주사
45	2018-02-26	D-루시페린의 SC 주입 + 영상화 (BLI)
46	2018-02-27	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
46	2018-02-27	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
47	2018-02-28	항-PD-L1의 IP 주사
48	2018-03-01	안와후 출혈

[1213]

[1214] **프로토콜 136에서 연구 군**

군	BsAb	BsAb (μg)	CA (μg)	^{212}Pb (μCi)	항-CD40* (μg)	항-PD-L1 (μg)	주기	n (생쥐)
A	-	0	0	0	0	0	3	9
B	-	0	0	0	200	200	3	9
C	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	3	9
D	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	200	200	3	9
E	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	1	3
F	DIG-DOTAM	100	25	20	0	0	1	3
G	-	0	0	0	0	0	2	4
H	-	0	0	0	200	200	2	4
I	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	2	4
J	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	200	200	2	4

[1215]

[1216] *일차 치료 주기에서 단지 1회 투여된 항-CD40

[1217] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 0.5x10^{5}개 세포 (계대 18)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 일차 고형 이종이식편이 각 B6-huCEA 생쥐 (11-12 주령)에서 확립되었다. 종양 세포 주입 10 일 후에, 생쥐가 114 mm^{3}의

평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. CA가 접종 후 17일 자에 주사되었는데, 이 시점에서 평균 종양 용적은 233 mm^3이었다. ^{212}Pb-DOTAM 주사 다음 날인 19일 자에, 평균 종양 용적은 326 mm^3이었다.

[1218] 연구의 종료 때까지 또는 종료 기준 중에서 한 가지 또는 몇몇이 도달될 때까지 치료 효능을 사정하기 위해 군 A-D의 생쥐가 추적되었다. ELISA를 통한 혈청 분획물의 분석에 의해 항-CD40 및 항-PD-L1 주사를 검증하기 위해, 면역요법의 투여 후 24 시간째에 군 B 및 D의 생쥐로부터 혈액이 샘플링되었다. 혈청이 또한, 안와후 혈액 수집을 통해 안락사 전에 모든 생쥐로부터 단리되고, 이후 동결되고 -20℃에서 보관되었다. 조직학적 처리 및 분석을 위해 아래의 조직이 수집되었고, 그리고 1X PBS 용액으로 이전되기 전 24 시간 동안 10% NBF에 즉시 집어넣어졌다: 혈청, 간, 비장, 신장, 췌장 및 종양.

[1219] 종양 흡수 및 정상 조직으로부터 청소를 확증하기 위해, ^{212}Pb-DOTAM 주사 24 시간 후에 군 E 및 F의 생쥐가 희생되고 부검되었다. 아래의 장기와 조직이 이를 통해 수확되고 방사성에 대해 계측되었다: 혈액, 방광, 비장, 신장, 간, 폐, 근육, 꼬리, 피부 및 종양.

[1220] 상이한 구획으로부터 T 세포 및 DC의 기능적 및 표현형적 특징화에 의해 항종양 T 세포 및 수지상 세포 (DC) 반응의 생성을 사정하기 위해, 군 G-J는 두 번째 항-PD-L1 주사 24 시간 후에 안와후 출혈 후 희생되고 부검된 immuno-PD 스카우트 생쥐를 포함하였다. 모든 immuno-PD 생쥐로부터 종양, 비장 및 배수 림프절 (DLN; 종양 쪽으로부터)이 수확되었다.

[1221] T 세포 효과기 및 기억 생성을 사정하기 위해, 탈체 PMA/이오노마이신 (Thermo Fisher, 카탈로그 번호 00-4970-03, 00-4980-03) 재자극 분석이 비장 샘플에서 수행되었다. 이에 더하여, 유세포분석 (형광 활성화 세포 분류 [FACS])이 MACSQuant 분석기 10 (Miltenyi Biotec)을 이용하여 수행되었고, 그리고 결과의 분석이 FlowJo 10.5.3 소프트웨어를 이용하여 수행되었다. 염색 패널 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[1222] **프로토콜 136에 대한 FACS 패널 설계**

[1223]

T 세포	DC	오량체	Treg	PMA/이오노마이신
마커	마커	마커	마커	마커
live/dead	live/dead	live/dead	live/dead	live/dead
CD45	CD45	오량체 p15E	CD45	CD45
CD3	음성 선택 (CD19, Gr1, F4/80)	CD45	CD3	CD3
CD4	CD11c	CD3	CD4	CD4
CD8a	MHC 클래스 II	CD8	CD8	CD8
41BB	CD86	CD4	CD25	CD44
Lag3	CD11b	CD11b	CD11b	IFNγ
PD-1	CD317	B220	FoxP3	IL-2

[1224] IFNγ = 인터페론 감마; IL-2 = 인터류킨-2; MCH = 주요 조직적합성 복합체; PMA = 포르볼 12-미리스트산염-13-아세트산염; Treg = 조절 T 세포

[1225] **결과**

[1226] **생체분포 및 ELISA**

[1227] ^{212}Pb-DOTAM 주사 (1차 주기) 후 24 시간째에 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 축적 및 청소가 도 37에서 나타내진다. 모든 수집된 정상 조직에 대한 <2.5 %ID/g와 비교하여, CEA-DOTAM (mu)으로 사전-표적화 후 종양에서 14.7 %ID/g로, 종양 흡수가 특이적이었다. DIG-DOTAM을 이용하면, 결과의 종양 축적이 1.9 %ID/g이었다.

[1228] 면역요법 투여 24 시간 후에 항-CD40 및 항-PD-L1 항체의 혈청 농도는 도 38에서 도시된다.

[1229] **종양 발달과 생존**

[1230] CEA-PRIT 및 대조 치료 후 평균 Panc02-huCEA-luc 종양 발달은 도 39에서 도시되며, 모든 치료군에 대한 개별 종양 성장 곡선은 도 40에서 나타내진다. 어느 한쪽 단일요법 (CIT 또는 CEA-PRIT)으로 치료된 생쥐에서 종양은 비록 운반제 대조와 비교하여 지연되긴 하지만, 꾸준히 성장하였다; CEA-PRIT는 면역요법보다 강한 효과를 나타

냈다. CEA-PRIT/면역요법 병용 군에서, 8/9마리의 생쥐가 감소하는 종양 용적의 관점에서 치료에 초기 반응을 나타냈다; 요법의 개시 시점에서 반응의 강도/지속 기간 및 종양 크기 사이에 어떤 상관도 목격되지 않았다.

[1231] 모든 치료군이 평균에 기초하여 분석될 수 있는 최종일인 47일 자에, TGI는 운반제 대조와 비교하여, 면역요법, CEA-PRIT, 그리고 CEA-PRIT 및 면역요법의 병용 각각에 대해 34.0%, 81.4% 및 89.7%이었다. 일차 연구는 세포 주입 후 140일 자에 종료되었는데, 이 시점에서 CEA-PRIT/면역요법 병용 군에서 4/9마리의 생쥐가 생존하고 종양이 없었다. PRIT 단일요법 군에서는 1/9마리의 생쥐에서 종양이 완전히 퇴행하긴 했지만, 상기 생쥐는 BW 감소로 인해 117일 자에 안락사되었다.

[1232] CEA-PRIT 및 대조 치료 후 평균 배경 차분 BLI 신호가 도 41에서 도시된 mm^2당 초당 광자로서 표현된다. 상응하는 개별 곡선은 도 42에서 도시된다. 상응하는 동소 종양 모형 (프로토콜 119)과 비교하여, 결과가 더 가변적이었다; 면역요법이 있는 경우 및 없는 경우의 CEA-PRIT는 개별 생쥐에서 BLI 신호의 강한 감소를 보여주었고, 반면 면역요법 생쥐는 초기 신호가 더 낮아 감소를 식별하기 어려웠다.

[1233] 전체 생존은 ≥ 3000 mm^3의 종양 용적의 종료 기준에 근거하여, 도 43에서 도시된다. 개별 치료군에 대한 시간 대 사건 (3000 mm^3을 초과하는 종양 용적) 통계치는 아래의 표에서 도시되는데, 이것은 사분위수 생존 기간 (25% 및 75%)과 함께, 상위와 하위 95% 신뢰 한계에서 중앙 생존 기간을 보여준다.

[1234] **시간 대 사건* 통계치를 갖는 변위치 (일)**

[1235]

군	중위 시간	하위 95%	상위 95%	25% 실패	75% 실패
운반제	38	33	48	38	45
항-CD40+항-PD-L1	54	47	70	48	60
CEA-PRIT	73	70	91	70	91
CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	103	59	-	80	-

[1236] * 사건 = ≥ 3000 mm^3의 종양 용적.

[1237] 어떤 군이 생존의 관점에서 매우 상이한지를 특정하기 위해 쌍별 검정: 로그 순위 검정 (후기 생존 사건에 더 많은 비중) 및 윌콕슨 검정 (초기 생존 기간에 더 많은 비중)이 수행되었는데, 이들 둘 모두 복수의 검사를 위해 본페로니 교정을 이용하였다. 결과는 아래의 표에서 도시된다. 모든 치료는 운반제 군과 비교하여 생존을 유의미하게 증가시켰다.

[1238] **쌍별 로그 순위 검정 (다중 검정 수준 = 0.00833)**

[1239]

군	운반제	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0023*	0.0002*	0.0001*
항-CD40+항-PD-L1	0.0023*	1.0000	0.0006*	0.0001*
CEA-PRIT	0.0002*	0.0006*	1.0000	0.1242
CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	0.0001*	0.0001*	0.1242	1.0000

[1240] **쌍별 윌콕슨 검정 (다중 검정 수준 = 0.00833)**

군	운반제	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0018*	0.0005*	0.0003*
항-CD40+항-PD-L1	0.0018*	1.0000	0.0011*	0.0004*
CEA-PRIT	0.0005*	0.0011*	1.0000	0.1085
CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	0.0003*	0.0004*	0.1085	1.0000

[1241]

[1242] **면역약력학**

[1243] 조절 T 세포 (Treg) 또는 오량체 염색을 이용하여, 어떤 유의미한 결과도 달성되지 않았다. CEA-PRIT + CIT 병용은 모든 다른 치료와 비교하여, 활성화된 종양내 CD8 T 세포 (41BB 발현의 상향조절에 의해 계측될 때), 종양, 비장 및 배수 림프절 (DLN)에서 활성화된 형질세포양 DC (pDC)와 고전적 DC (cDC) (CD86 발현의 상향조절에 의해 계측될 때)의 유의미하게 증가된 빈도, 그리고 전체 면역 세포에서 T 세포의 증가된 빈도와 상관하였다. 핵심 결과는 도 44, 도 45 및 도 46에서 도시된다.

[1244] **재공격**

[1245] 일차 종양에 대한 항종양 면역 기억 반응의 발달을 사정하기 위해, 치료 후 종양이 없는 생쥐가 첫 번째 주입의 반대쪽 옆구리에 Panc02-huCEA-luc 세포로 재공격되었다. 2개의 치료되지 않은 대조군: 11 주령의 B6-huCEA 생쥐의 대조군 및 재공격된 생쥐 (33 주)와 동일 연령의 B6-huCEA 생쥐의 다른 대조군이 접종되었다. 재공격은 첫 번째 종양 세포 주입 후 140일 자에 수행되었다.

[1246] 5마리의 치료된 (종양이 없는) 생쥐 (31-32 주령) 및 5마리의 대조 생쥐 (11 주령)의 재공격을 위해, 종양 이식 편이 왼쪽 옆구리 내로 $0.5x10^5$개 세포 (계대 18)의 SC 주입에 의해 확립되었다. 추후 시점에서, 5마리의 동일 연령 (33 주령) 비치료된 대조 생쥐의 왼쪽 옆구리 내로 $0.5x10^5$개 세포 (계대 22)가 SC 주입되었다. 재공격/대조의 연구 군 및 시간 경과는 아래의 표에서 도시된다.

[1247] **프로토콜 136 (재공격)에서 연구 군**

군	제공된 치료	연령 (주)	세포주	세포/생쥐	n (생쥐)
D*	CEA-PRIT x 3 + 항-CD40 x 1 + 항-PD-L1 x 3	31-32	Panc02-huCEA-luc	$0.5x10^6$	4+1**
K	치료되지 않은 대조	11	Panc02-huCEA-luc	$0.5x10^6$	5
L	치료되지 않은 동일 연령 대조	33	Panc02-huCEA-luc	$0.5x10^6$	5

[1248]

[1249] *프로토콜 136으로부터 유지된 군 지정; **군 D의 생쥐처럼 치료되지만 일차 효능 연구에 포함되지 않는 추가의 생쥐.

[1250] **프로토콜 136 (재공격)의 시간 경과**

연구 일	일자	실험 절차
140	2018-06-01	Panc02-huCEA-luc 세포의 준비 및 주입기의 충전
140	2018-06-01	Panc02-huCEA-luc 세포의 SC 주입 (군 D* 및 K)
172	2018-07-03	안락사 및 조직 샘플링 (군 D* 및 K)
-	2018-12-04	Panc02-huCEA-luc 세포의 준비 및 주입기의 충전
-	2018-12-04	Panc02-huCEA-luc 세포의 SC 주입 (군 L)
-	2019-01-03	안락사 (군 L)

[1251]

[1252] 종료 시에 유세포 분석을 위해, 혈액, 비장 및 DLN이 군 D 및 K로부터 수집되었다. T 세포의 특징화가 혈액, 비장 및 DLN에서 수행되었고, 그리고 탈체 PMA/이오노마이신 재자극 분석이 비장에서 수행되었다.

[1253] **재공격 결과**

[1254] 재공격된 생쥐 및 미경험 생쥐에서 종양 성장은 도 47에서 도시된다. 모든 비치료된 생쥐 (5/5 + 5/5)는 비록 성장 동역학이 동일 연령 대조 생쥐에서 더 느리긴 하지만, 종양이 발달하였다. 재공격된 생쥐 중에서, 4/5마리는 두 번째 접종 후 32 일 (초기 접종 후 172 일)째인, 실험의 종료 때까지 종양이 없는 상태로 남아있었다; 1/5마리는 재공격 후 28 일째에 종양이 성장하기 시작하였다. 1마리의 종양이 없는 재공격된 생쥐는 BW의 갑작스러운 감소로 인해 두 번째 접종 후 24일 자 (초기 접종 후 164 일)에 안락사되었다.

[1255] 재공격된 생쥐 및 미경험 (동일 연령 아님) 생쥐로부터 획득된 샘플의 FACS 분석은 대조와 비교하여 재공격된 군의 혈액 및 비장에서 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 증가된 모집단을 드러냈다. 다른 조사 결과는 비장에서 증가된 CD4+ 효과 기억 세포 모집단 (CD44+), 탈체 PMA/이오노마이신 자극 시에 인터류킨-2 (IL-2) 생성, 그리고 탈체 PMA/이오노마이신 자극 시에 IL-2 및 인터페론 감마 (IFNγ)를 생성하는 DLN에서 증가된 CD4+ 효과 기억 세포 모집단 (CD44+)을 포함하였다. 핵심 결과는 도 48에서 도시된다.

[1256] **부작용 및 독성**

[1257] 모든 요법 군에서 평균 BW 발달은 도 49에서 도시된다. 항-CD40의 투여는 주사된 생쥐에서 예상된 급성 체중 감소를 촉발하였는데, 이것은 주사 후 1 주 이내에 해소되었다. ^{212}Pb-DOTAM의 주사는 방사선조사된 생쥐에서 일시적인 체중 감소를 야기하였는데, 이것은 항-CD40 주사로 인한 것보다 덜 심각하였다. 급성 주사후 BW 감소로 인해 안락사된 생쥐는 없었다; 1마리의 종양이 없는 CEA-PRIT 생쥐는 전체 상태의 갑작스러운 저하 후 117일 자에 안락사되었다.

[1258] 모든 군으로부터, 총 2마리 생쥐가 나빠지는 종양 상태 (악화의 위험이 있는 개방 종양)으로 인해 안락사되었고; 1마리의 추가 생쥐가 나빠지는 전체 상태와 조합으로 악화되는 종양으로 인해 안락사되었다. 연구의 일차 및 재공격 부분에서 모든 부작용은 아래의 표에서 설명된다.

[1259] **프로토콜 136 및 136b에서 부작용**

군	희생된 생쥐 (군마다 n)	연구 일	종료의 원인
A: 운반제	1(9)	48	나빠지는 종양/전체 상태
C: CEA-PRIT	2(9)	44, 46	나빠지는 종양 상태
C: CEA-PRIT	1(9)	117	≥ 20%의 BW 감소
D*: CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1	1(5)	164	≥ 20%의 BW 감소

[1260]

[1261] ^{212}Pb 방사선조사 (20 μCi)가 연구 18, 32 및 46일 자에 수행되었다. 면역요법이 연구 19일 자 (항-CD-40 + 항-PD-L1), 33일 자 (항-PD-L1) 및 47일 자 (항-PD-L1)에 투여되었다.

[1262] * 140일 자에 재공격됨.

[1263] **결론**

[1264] CEA-PRIT 및 CIT (항-CD40 + 항-PD-L1)의 병용은 대조 생쥐 및 면역요법 단독으로 치료된 생쥐와 비교하여 유의미하게 향상된 생존을 야기하였다. 병용 치료는 여러 마리의 종양이 없는 생쥐를 야기하였고, 그리고 면역 기억의 강한 표시는 재공격된 생쥐에서 immuno-PD 및 축소된 종양 발달에 의해 증명되었다.

[1265] **실시예 9d: 프로토콜 150**

[1266] 프로토콜 150의 목적은 면역적격 유전자도입 생쥐에서 SC MC38-huCEA 종양의 치료를 위한, 단독으로 및 CIT와 병용으로 CEA-PRIT의 3회 주기 이후에 효능을 사정하는 것이었다.

[1267] PRIT 섭생이 CEA-DOTAM (mu) BsAb (200 μL에서 100 μg)의 IP 주사, 7 일 후 Ca-DOTAM-덱스트란-500 CA (200 μL에서 25 μg), 차례로 24 시간 후 효과기 분자 ^{212}Pb-DOTAM (20 μCi)의 IP 투여를 포함하는 3회 반복된 주기에서 투여되었다.

[1268] 항-CD40 항체의 1회 투여, 또는 항-CD40 항체의 1회 투여, 그 이후에 항-PD-L1 항체의 복수 주사 (200 μL에서 200 μg의 각 항체)로 구성되는 면역요법 치료가 방사선 주사 24 시간 후에 IP 투여되었다. 이차 주기 후 immuno-PD 효과의 유세포 계측 분석을 위해 희생된 생쥐에 더하여, 일차 치료 주기 동안 ^{212}Pb-DOTAM 표적화 및 청소를 확증하기 위한 생체분포 사정을 위해 스카우트 생쥐가 취해졌다. CEA-PRIT/면역요법 병용, CEA-PRIT 단독, 면역요법 단독, 그리고 치료 없음 사이에 비교가 만들어졌다. 치료 효능이 TGI, 생존 및 면역 기억의 관점에서 사정되었다.

[1269] 연구 개요는 도 50에서 도시된다.

[1270] 프로토콜 150의 시간 경과 및 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[1271] **프로토콜 150의 시간 경과**

[1272]

연구 일	일자	실험 절차
0	2018-09-05	MC38-huCEA 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	2018-09-05	MC38-huCEA 세포의 SC 주입
13	2018-09-18	BsAb의 IP 주사
20	2018-09-25	CA의 IP 주사
21	2018-09-26	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
21	2018-09-26	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
22	2018-09-27	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수
22	2018-09-27	항-CD40 및 항-PD-L1의 IP 주사
23	2018-09-28	설하 출혈
27	2018-10-02	BsAb의 IP 주사
33	2018-10-08	CA의 IP 주사
33	2018-10-08	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
34	2018-10-09	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
35	2018-10-10	항-PD-L1의 IP 주사
36	2018-10-11	설하 출혈
36	2018-10-11	안락사 및 immuno-PD (FACS)를 위한 조직 수확
41	2018-10-16	BsAb의 IP 주사
48	2018-10-23	CA의 IP 주사
48	2018-10-23	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
49	2018-10-24	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
50	2018-10-25	항-PD-L1의 IP 주사
51	2018-10-26	안와후 출혈

[1273] **프로토콜 150에서 연구 군**

군	BsAb	BsAb (μg)	CA (μg)	^{212}Pb (μCi)	항-CD40* (μg)	항-PD-L1 (μg)	주기	n (생쥐)
A	-	0	0	0	0	0	3	9
B	-	0	0	0	200	0	3	9
C	-	0	0	0	200	200	3	9
D	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	3	9
E	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	200	200	3	9
F	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	1	4
G	DIG-DOTAM	100	25	20	0	0	1	4
H	-	0	0	0	0	0	2	4
I	-	0	0	0	200	0	2	4
J	-	0	0	0	200	200	2	4
K	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	0	0	2	4
L	CEA-DOTAM (mu)	100	25	20	200	200	2	4

[1274]

[1275] *일차 치료 주기에서 단지 1회 투여된 항-CD40

[1276] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 0.5x10^{6}개 세포 (계대 17)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 일차 고형 이종이식편이 각 B6-huCEA 생쥐 (10-12 주령)에서 확립되었다. 종양 세포 주입 12 일 후에, 생쥐가 103 mm^{3}의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. CA가 1 주 후 주사되었다; 19일 자에 평균 종양 용적은 효능 군 (A-E)에서 284 mm^{3}, 생체분포 스카우트 군 (F, G)에서 303 mm^{3}, 그리고 immuno-PD 스카우트 군 (H-L)에서 262 mm^{3}이었다.

[1277] 연구의 종료 때까지 또는 종료 기준 중에서 한 가지 또는 몇몇이 도달될 때까지 치료 효능을 사정하기 위해 군 A-E의 생쥐가 추적되었다. ELISA를 통한 혈청 분획물의 분석에 의해 항-CD40 및 항-PD-L1 주사를 검증하기 위해, 면역요법의 투여 후 24 시간째에 군 B, C 및 E의 생쥐로부터 혈액이 샘플링되었다. 혈청이 또한, 안와후 혈액 수집을 통해 안락사 전에 모든 생쥐로부터 단리되고, 이후 동결되고 -20℃에서 보관되었다. 조직학적 처리 및 분석을 위해 아래의 조직이 수집되었고, 그리고 1X PBS 용액으로 이전되기 전 24 시간 동안 10% NBF에 즉시 집어넣어졌다: 혈청, 간, 비장, 신장, 췌장 및 종양.

[1278] 종양 흡수 및 정상 조직으로부터 청소를 확증하기 위해, ^{212}Pb-DOTAM 주사 24 시간 후에 군 F 및 G의 생쥐가 희생되고 부검되었다. 아래의 장기와 조직이 수확되고 방사성에 대해 계측되었다: 혈액, 피부, 방광, 비장, 췌장, 신장, 간, 근육, 꼬리 및 종양.

[1279] 상이한 구획으로부터 T 세포 및 DC의 기능적 및 표현형적 특징화에 의해 항종양 T 세포 및 DC 반응의 생성을 사정하기 위해, 군 H-L은 두 번째 항-PD-L1 주사 24 시간 후에 안와후 출혈 후 희생되고 부검된 immuno-PD 스카우트 생쥐를 포함하였다. 모든 immuno-PD 생쥐로부터 종양, 비장 및 DLN (종양 쪽으로부터)이 수확되었다.

[1280] T 세포 기억을 사정하기 위해, 탈체 PMA/이오노마이신 (Thermo Fisher, 카탈로그 번호 00-4970-03, 00-4980-03) 재자극 분석이 비장 샘플에서 수행되었다. 이에 더하여, FACS가 MACSQuant 분석기 10 (Miltenyi Biotec)을 이용하여 수행되었고, 그리고 결과의 분석이 FlowJo 10.5.3 소프트웨어를 이용하여 수행되었다. 염색 패널 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[1281] **프로토콜 150에 대한 FACS 패널 설계**

T 세포	DC	Treg	PMA/이오노마이신	분화
마커	마커	마커	마커	마커
live/dead	live/dead	live/dead	live/dead	live/dead
CD45	CD45	CD45	CD45	CD45
CD3	음성 선택 (CD19, Gr1, F4/80)	CD3	CD3	CD3
CD4	CD11c	CD4	CD4	CD4
CD8a	MHC 클래스 II	CD8	CD8	CD8a
41BB	CD86	CD25	CD44	CD62L
Lag3	CD11b	CD11b	IFNγ	CD127
PD-1	CD317	FoxP3	IL-2	CD44

[1282]

[1283] IFNγ = 인터페론 감마; IL-2 = 인터류킨-2; MCH = 주요 조직적합성 복합체; PMA = 포르볼 12-미리스트산염-13-아세트산염; Treg = 조절 T 세포

[1284] **결과**

[1285] **생체분포 및 ELISA**

[1286] ^{212}Pb-DOTAM 주사 (1차 주기) 후 24 시간째에 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 축적 및 청소가 도 51에서 나타내진다. 모든 수집된 정상 조직에 대한 <2.0 %ID/g와 비교하여, CEA-DOTAM (mu)으로 사전-표적화 후 종양에서 16.9 %ID/g로, 종양 흡수가 특이적이었다. DIG-DOTAM을 이용하면, 결과의 종양 축적이 1.8 %ID/g이었다.

[1287] 면역요법 투여 24 시간 후에 항-CD40 및 항-PD-L1 항체의 혈청 농도는 도 52에서 도시된다.

[1288] **종양 발달과 생존**

[1289] CEA-PRIT 및 대조 치료 후 평균 MC38-huCEA 종양 발달은 도 53에서 도시되며, 모든 치료군에 대한 개별 종양 성장 곡선은 도 54에서 나타내진다. 모든 치료군이 평균에 기초하여 분석될 수 있는 최종일인 42일 자에, TGI는 운반제 대조와 비교하여, 항-CD40, 항-CD40 + 항-PD-L1, CEA-PRIT, 그리고 CEA-PRIT 및 항-CD40 + 항-PD-L1의 병용 각각에 대해 57.8%, 54.5%, 82.8% 및 99.6%이었다. 일차 연구는 세포 주입 후 103일 자에 종료되었는데, 이 시점에서 항-CD40 군에서 2/9마리의 생쥐가 생존하고 종양이 없었고 (또는 극소의 종양만 있었고); 항-CD40 + 항-PD-L1 및 CEA-PRIT 군에서 각각 상응하는 숫자는 2/9마리 및 1/9마리이었다. CEA-PRIT 및 항-CD40 + 항-PD-L1의 병용은 7/9마리 생쥐의 상응하는 숫자를 야기하였다.

[1290] 전체 생존은 ≥ 3000 mm^3의 종양 용적의 종료 기준에 근거하여, 도 55에서 도시된다. 개별 치료군에 대한 시간 대 사건 (3000 mm^3을 초과하는 종양 용적) 통계치는 아래의 표에서 도시되는데, 이것은 사분위수 생존 기간 (25% 및 75%)과 함께, 상위와 하위 95% 신뢰 한계에서 중앙 생존 기간을 보여준다.

[1291] **시간 대 사건* 통계치를 갖는 변위치 (일)**

군	중위 시간	하위 95%	상위 95%	25% 실패	75% 실패
운반제	39	33	41	35	41
항-CD40	43	36	-	39	70
항-CD40+PD-L1	51	37	-	43	-
CEA-PRIT	83	44	-	77	-
CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	-	61	-	-	-

[1292]

[1293] * 사건 = ≥ 3000 mm^3의 종양 용적.

[1294] 어떤 군이 생존의 관점에서 매우 상이한지를 특정하기 위해 쌍별 검정: 로그 순위 검정 (후기 생존 사건에 더 많은 비중) 및 윌콕슨 검정 (초기 생존 기간에 더 많은 비중)이 수행되었는데, 이들 둘 모두 복수의 검사를 위해 본페로니 교정을 이용하였다. 결과는 아래의 표에서 도시된다. 후기 생존 기간을 살펴보면, 항-CD40 단독을 제외한 모든 치료가 운반제 군과 비교하여 생존을 유의미하게 증가시켰다.

[1295] **쌍별 로그 순위 검정 (다중 검정 수준 = 0.005)**

군	운반제	항-CD40	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0210	0.0008*	<0.0001*	<0.0001*
항-CD40	0.0210	1.0000	0.6349	0.1300	0.0075
항-CD40+ 항-PD-L1	0.0008*	0.6349	1.0000	0.2792	0.0167
CEA-PRIT	<0.0001*	0.1300	0.2792	1.0000	0.0992
CEA-PRIT + 항-CD40+ 항-PD-L1	<0.0001*	0.0075	0.0167	0.0992	1.0000

[1296]

[1297] **쌍별 윌콕슨 검정 (다중 검정 수준 = 0.005)**

군	운반제	항-CD40	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0470	0.0019*	<0.0001*	<0.0001*
항-CD40	0.0470	1.0000	0.4428	0.0297	0.0063
항-CD40+ 항-PD-L1	0.0019*	0.4428	1.0000	0.1052	0.0129
CEA-PRIT	<0.0001*	0.0297	0.1052	1.0000	0.1550
CEA-PRIT + 항-CD40+ 항-PD-L1	<0.0001*	0.0063	0.0129	0.1550	1.0000

[1298]

[1299] **면역약력학**

[1300] CEA-PRIT/면역요법 병용은 프로토콜 136 (Panc02-huCEA-luc)으로부터 조사 결과와 일관하게, 림프절에서 pDC, 활성화된 pDC 및 cDC (CD86 표면 발현의 증가에 의해 계측될 때)의 증가와 상관하였다. 이것은 도 56에서 도시된다.

[1301] <u>재공격</u>

[1302] 일차 종양에 대한 항종양 면역 기억 반응의 발달을 사정하기 위해, 치료 후 종양이 없는 생쥐가 첫 번째 주입의 반대쪽 옆구리에 MC38-huCEA 세포로 재공격되었다. 대조로서, 치료되지 않은 동일 연령 B6-huCEA 생쥐가 동시에 주입되었다.

[1303] 총 12마리의 치료된 (종양이 없는) 생쥐가 프로토콜 150의 초기 시작 후 98일 자에 재공격되었다: 2마리는 항-CD40으로 치료되고, 2마리는 항-CD40 + 항-PD-L1로 치료되고, 1마리는 CEA-PRIT 단독으로 치료되고, 그리고 7마리는 CEA-PRIT/면역요법 병용으로 치료되었다. 이종이식편이 왼쪽 옆구리 내로 $0.5x10^5$개 세포 (계대 17)의 SC 주입에 의해 확립되었다. 재공격/대조의 연구 군 및 시간 경과는 아래의 표에서 도시된다.

[1304] **프로토콜 150 (재공격)에서 연구 군**

군	제공된 치료	연령 (주)	세포주	세포/생쥐	n (생쥐)
B*	항-CD40 x 1	24-26	MC38-huCEA	$0.5x10^6$	2
C*	항-CD40 x 1 + 항-PD-L1 x 3	24-26	MC38-huCEA	$0.5x10^6$	2
D*	CEA-PRIT x 3	24-26	MC38-huCEA	$0.5x10^6$	1
E*	CEA-PRIT x 3 + 항-CD40 x 1 + 항-PD-L1 x 3	24-26	MC38-huCEA	$0.5x10^6$	7
M	치료되지 않은 동일 연령 대조	24-26	MC38-huCEA	$0.5x10^6$	5

[1305]

[1306] *프로토콜 150으로부터 유지된 군 지정

[1307] **프로토콜 150 (재공격)의 시간 경과**

[1308]

연구 일	일자	실험 절차
98	2018-12-12	MC38-huCEA 세포의 준비 및 주입기의 충전
98	2018-12-12	MC38-huCEA 세포의 SC 주입 (군 B*, C*, D*, E* 및 M)
125	2019-01-08	안락사 및 immuno-PD (FACS)를 위한 조직 수확 (군 B*, C* 및 M)
127	2019-01-10	안락사 및 immuno-PD (FACS)를 위한 조직 수확 (군 D* 및 E*)

[1309] 종료 시에 유세포 분석을 위해, 혈액, 비장 및 DLN이 모든 생쥐로부터 수집되었다. T 세포의 특징화가 혈액 및 DLN에서 수행되었고, 그리고 탈체 PMA/이오노마이신 재자극 분석이 비장 및 DLN에서 수행되었다.

[1310] **재공격 결과**

[1311] 재공격된 생쥐 및 미경험 생쥐에서 종양 성장은 도 57에서 도시된다. 미경험 대조 생쥐 중에서, 단지 3/5마리만 종양이 발달하였다 (이러한 생체내 모형에서 공지된 가변성). 재공격된 생쥐 중에서, CEA-PRIT 군에서 단지 1마리 생쥐만 두 번째 접종 후 28 일째에 실험이 종료될 때 종양의 용적이 100 mm^3을 초과하였다; 모든 다른 재공격된 생쥐는 본질적으로 종양이 없는 상태로 남아있었다.

[1312] 재공격된 생쥐 및 미경험 생쥐로부터 획득된 샘플의 FACS 분석은 CEA-PRIT/면역요법 병용으로 치료된 생쥐의 DLN에서 CD44+/IL-2 및 CD44+/IFNγ CD4+ 세포의 증가를 드러냈는데, 이것은 도 58에서 도시된, 프로토콜 136 (Panc02-huCEA-luc)으로부터 조사 결과와 일관하게, 효과 기억 T 세포 반응의 생성을 암시하였다.

[1313] **부작용 및 독성**

[1314] 모든 요법 군에서 평균 BW 발달은 도 59에서 도시된다. 항-CD40의 투여는 주사된 생쥐에서 예상된 급성 체중 감소를 촉발하였는데, 이것은 주사 후 1 주 이내에 해소되었다. ^{212}Pb-DOTAM의 주사는 방사선조사된 생쥐에서 일시적인 체중 감소를 야기하였는데, 이것은 항-CD40 주사로 인한 것보다 덜 심각하였다. 급성 주사후 BW 감소로 인해 안락사된 생쥐는 없었다.

[1315] 단독으로 또는 CEA-PRIT 이후에, 항-PD-L1의 3차 주기를 제공받는 모든 동물 (14/14)은 Panc02-huCEA-luc 모형 (프로토콜 119 및 136)에서는 이전에 목격되지 않았던, 주사 후 수 분 내에 강한 반응을 나타냈다. 반응은 느릿느릿한 동작, 기면, 그리고 1/14마리의 생쥐에서 사망을 포함하였다. 항-PD-L1 주사 후 대략 15-40 분 후에 회복이 뒤따랐다; 주사 20-30 분 후에 단일 사망이 발생하였다.

[1316] 모든 군으로부터, PRIT 군에서 1마리의 생쥐가 나빠지는 종양 상태 (악화의 위험이 있는 개방 종양)로 인해 안락사되었고; PRIT 군에서 다른 생쥐가 꼬리 문제로 인해 연구로부터 배제되어, 추가의 IV 주사가 중단되었다. 모든 부작용은 아래의 표에서 설명된다.

[1317] **프로토콜 150에서 부작용**

[1318]

군	영향을 받은 생쥐 (군마다 n)	연구 일	관찰(들)
C: 항-CD40 + 항-PD-L1	5(5)	50	3번째 항-PD-L1 주사 후 졸림, 기면, 사망 (1마리의 생쥐)
D: CEA-PRIT	1(9)	44	나빠지는 종양 상태 → 안락사
D: CEA-PRIT	1(9)	49	손상된 꼬리 → 안락사
E: CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1	9(9)	50	3번째 항-PD-L1 주사 후 졸림, 기면

[1319] ^{212}Pb 방사선조사 (20 μCi)가 연구 21, 34 및 49일 자에 수행되었다. 면역요법이 연구 22일 자 (항-CD-40 + 항-

PD-L1), 35일 자 (항-PD-L1), 그리고 50일 자 (항-PD-L1)에 투여되었다.

[1320] **결론**

[1321] Panc02-huCEA-luc와 비교하여, 면역요법 단독이 MC38-huCEA 모형에서 더 효율적이었다. 어느 한쪽 단일요법 (면역요법 또는 CEA-PRIT)은 다수의 종양이 없는 생쥐를 야기하였지만, 종양 제어의 관점에서 항-CD40 및 항-PD-L1을 방사선 치료와 병용하는 것에는 명확한 유익성이 있었다.

[1322] 재공격 실험의 결과는 MC38-huCEA의 더 가변적인 종양 흡수로 인해, Panc02-huCEA-luc 등가물과 비교하여 해석하기 더 어려웠다. 추가적으로, 단일요법 치료된 군으로부터 적은 샘플 수로 인해, CEA-PRIT/면역요법 병용 군과의 후속 비교를 해석하기 어려웠다.

[1323] **실시예 9e: 프로토콜 195**

[1324] 프로토콜 195의 목적은 면역적격 유전자도입 생쥐에서 SC Panc02-huCEA-Fluc 종양의 치료를 위한, 단독으로 및 CIT와 병용으로, 분리된 v-도메인 연쇄 기술 (SPLIT) 사전-표적화 항체 ("SPLIT PRIT")를 이용하여 CA (제거제) 독립성 PRIT 이후에 효능을 사정하는 것이었다.

[1325] PRIT 치료가 상보성 SPLIT BsAb (총 200 μL에서 각각 100 μg)의 IP 주사, 7 일 후 효과기 분자 ^{212}Pb-DOTAM (20 μCi)의 IV 투여를 포함하였다.

[1326] 항-CD40 항체의 1회 투여 및 항-PD-L1 항체의 복수 주사 (200 μL에서 200 μg의 각 항체)로 구성되는 면역요법 치료가 방사선 주사 24 시간 후에 IP 투여되었다. PRIT 치료 후 ^{212}Pb-DOTAM 표적화를 확증하기 위한 생체분포 사정을 위해 스카우트 생쥐가 취해졌다. SPLIT PRIT/면역요법 병용, SPLIT PRIT 단독, 면역요법 단독, 그리고 치료 없음 사이에 비교가 만들어졌다. 치료 효능이 TGI, 생존 및 면역 기억 (재공격)의 관점에서 사정되었다.

[1327] 연구 개요는 도 60에서 도시된다.

[1328] 프로토콜 195의 시간 경과 및 설계는 아래의 표에서 도시된다.

[1329] **프로토콜 195의 시간 경과**

[1330]

연구 일	실험 절차
0	Panc02-huCEA-Fluc 세포의 준비 및 주입기의 충전
0	Panc02-huCEA-Fluc 세포의 SC 주입
14	SPLIT 항체의 IP 주사
21	^{212}Pb-DOTAM의 용리 및 주입기의 충전
21	^{212}Pb-DOTAM의 IV 주사
22	안락사 및 조직 수확 (p.i. 24 시간) + 감마 계수
22	항-CD40 및 항-PD-L1의 IP 주사
23	ELISA를 위한 하악하 출혈
36	항-PD-L1의 IP 주사
37	ELISA를 위한 하악하 출혈
50	항-PD-L1의 IP 주사
51	ELISA를 위한 하악하 출혈

[1331] **프로토콜 195에서 연구 군**

군	P1AD8592 (VL) (μg)	P1AF0171 (VH-AST) (μg)	^{212}Pb (μCi)	PRIT 주기	항-CD40* (μg)	항-PD-L1 (μg)	CIT 주기	n (생쥐)
A	0	0	0	0	0	0	0	10
B	0	0	0	0	200	200	3	10
C	100	143	20	1	0	0	0	10
D	100	143	20	1	200	200	3	10
E	100	143	20	1	0	0	0	3

[1332]

[1333] *일차 CIT 주기에서 단지 1회 투여된 항-CD40

[1334] 연구 0일 자에 RPMI/매트리겔에서 0.5x10^{6}개 세포 (계대 28)를 오른쪽 옆구리 내로 SC 주입함으로써, 일차 고형 이종이식편이 각 huCEACAM5 생쥐 (9-12 주령)에서 확립되었다. 종양 세포 주입 14 일 후에, 생쥐가 102 mm^{3}의 평균 종양 용적을 갖는 실험군으로 분류되었다. ^{212}Pb-DOTAM이 7 일 후 주사되었다; 20일 자에 평균 종양 용적은 효능 군 (A-D)에서 196 mm^{3} 및 생체분포 스카우트 군 (E)에서 187 mm^{3}이었다.

[1335] 연구의 종료 때까지 또는 종료 기준 중에서 한 가지 또는 몇몇이 도달될 때까지 치료 효능을 사정하기 위해 군 A-D의 생쥐가 추적되었다. ELISA를 통한 혈청 분획물의 분석에 의해 항-CD40 및 항-PD-L1 주사를 검증하기 위해, 면역요법의 투여 후 24 시간째에 군 B 및 D의 생쥐로부터 혈액이 샘플링되었다.

[1336] 종양 흡수 및 정상 조직으로부터 청소를 확증하기 위해, ^{212}Pb-DOTAM 주사 24 시간 후에 군 E의 생쥐가 희생되고 부검되었다. 아래의 장기와 조직이 수확되고 방사성에 대해 계측되었다: 혈액, 비장, 위, 소장, 결장, 췌장, 신장, 간, 폐, 근육, 꼬리 및 종양.

[1337] **결과**

[1338] **생체분포**

[1339] ^{212}Pb-DOTAM 주사 후 24 시간째에 모든 수집된 조직에서 평균 ^{212}Pb 축적 및 청소가 도 61에서 나타내진다. 모든 수집된 정상 조직에 대한 <1.4 %ID/g와 비교하여, SPLIT PRIT 후 종양에서 5.4 %ID/g로, 종양 흡수가 특이적이었다.

[1340] **종양 발달과 생존**

[1341] 모든 치료군에 대한 평균 Panc02-huCEA-Fluc 종양 발달은 도 62에서 도시되며, 개별 종양 성장 곡선은 도 63에서 나타내진다. 모든 치료군이 평균에 기초하여 분석될 수 있는 최종일인 48일 자에, TGI는 운반제 대조와 비교하여, 항-CD40 + 항-PD-L1, SPLIT CEA-PRIT, 그리고 SPLIT CEA-PRIT 및 항-CD40 + 항-PD-L1의 병용 각각에 대해 78.9%, 58.6% 및 100%이었다. 일차 연구는 세포 주입 후 94일 자에 종료되었는데, 이 시점에서 항-CD40 + 항-PD-L1 및 SPLIT CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1 군 각각에서 1/10마리 및 6/10마리의 생쥐가 생존하고 종양이 없었다 (또는 극소의 종양만 있었다). 운반제 및 SPLIT CEA-PRIT 군은 종양이 없는 생쥐가 없었다.

[1342] 전체 생존은 ≥ 2000 mm^{3}의 종양 용적의 종료 기준에 근거하여, 도 64에서 도시된다.

[1343] 개별 치료군에 대한 시간 대 사건 (2000 mm^{3}을 초과하는 종양 용적) 통계치는 아래의 표에서 도시되는데, 이것은 사분위수 생존 기간 (25% 및 75%)과 함께, 상위와 하위 95% 신뢰 한계에서 중앙 생존 기간을 보여준다.

[1344] **시간 대 사건* 통계치 (일)**

군	n	사건	중위 시간	하위 95%	상위 95%
운반제	10	10	45.5	43	-
항-CD40+PD-L1	10	7	62	61	-
SPLIT CEA-PRIT	10	9	54.5	46	-
SPLIT CEA-PRIT + 항-CD40+항-PD-L1	10	4	-	71	-

[1345]

[1346] * 사건 = ≥ 2000 mm^3의 종양 용적.

[1347] 어떤 군이 생존의 관점에서 매우 상이한지를 특정하기 위해 쌍별 검정: 로그 순위 검정 (후기 생존 사건에 더 많은 비중) 및 윌콕슨 검정 (초기 생존 기간에 더 많은 비중)이 수행되었는데, 이들 둘 모두 복수의 검사를 위해 본페로니 교정을 이용하였다. 결과는 아래의 2개의 표에서 도시된다. 후기 생존 기간을 살펴보면, 항-CD40 단독을 제외한 모든 치료가 운반제 군과 비교하여 생존을 유의미하게 증가시켰다.

[1348] **쌍별 로그 순위 검정 (다중 검정 수준 = 0.005)**

군	운반제	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0003*	0.001*	0*
항-CD40+ 항-PD-L1	0.0003*	1.0000	0.0453	0.0291
CEA-PRIT	0.001*	0.0453	1.0000	0.0004*
CEA-PRIT + 항-CD40+ 항-PD-L1	0*	0.0291	0.0004*	1.0000

[1349]

[1350] **쌍별 윌콕슨 검정 (다중 검정 수준 = 0.005)**

군	운반제	항-CD40 + 항-PD-L1	CEA-PRIT	CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1
운반제	1.0000	0.0019*	0.0035*	0.0001*
항-CD40+ 항-PD-L1	0.0019*	1.0000	0.0469	0.0301
CEA-PRIT	0.0035*	0.0469	1.0000	0.0011*
CEA-PRIT + 항-CD40+ 항-PD-L1	0.0001*	0.0301	0.0011*	1.0000

[1351]

[1352] **재공격**

[1353] 일차 종양에 대한 항종양 면역 기억 반응의 발달을 사정하기 위해, 치료 후 종양이 없는 생쥐가 첫 번째 주입의 반대쪽 옆구리에 Panc02-huCEA-Fluc 세포로 재공격되었다. 대조로서, 치료되지 않은 동일 연령 huCEACAM5 생쥐가 동시에 주입되었다.

[1354] 총 6마리의 치료된 (종양이 없는) 생쥐가 프로토콜 195의 초기 시작 후 94일 자에 재공격되었다: 이들 모두 SPLIT PRIT/면역요법 병용으로 치료되었다. 이종이식편이 왼쪽 옆구리 내로 $0.5x10^5$개 세포 (계대 30)의 SC 주입에 의해 확립되었다. 재공격/대조의 연구 군 및 시간 경과는 아래의 2개의 표에서 도시된다. 재공격 후 13 일째에, 군마다 3마리의 생쥐가 안락사되었고 immuno-PD 분석을 위해 샘플이 채취되었다 (데이터 제시되지 않음).

이런 이유로, 군마다 단지 3마리의 생쥐만 연구의 종료 때까지 추적 조사되었다.

[1355] **프로토콜 195 (재공격)에서 연구 군**

군	제공된 치료	연령 (주)	세포주	세포/생쥐	n (생쥐)
D*	SPLIT CEA-PRIT x 1 + 항-CD40 x 1 + 항-PD-L1 x 3	22-25	Panc02-huCEA-Fluc	$0.5x10^6$	6
F	치료되지 않은 동일 연령 대조	26-27	Panc02-huCEA-Fluc	$0.5x10^6$	6

[1356]

[1357] *프로토콜 195에서 이전부터 유지된 군 지정

[1358] **프로토콜 195 (재공격)의 시간 경과**

연구 일	실험 절차
94	Panc02-huCEA-Fluc 세포의 준비 및 주입기의 충전
94	Panc02-huCEA-Fluc 세포의 SC 주입 (일차 주사의 반대쪽 옆구리)
107	군마다 3마리의 생쥐의 안락사 및 immuno-PD 분석을 위한 조직 수확 (데이터 제시되지 않음)
157	연구의 종료

[1359]

[1360] **재공격 결과**

[1361] 재공격된 생쥐 및 미경험 생쥐에서 종양 성장은 도 65 및 66에서 도시된다. 미경험 대조 생쥐 중에서, 6/6마리에서 종양이 발달하였다. 재공격된 생쥐 중에서, 6/6마리의 생쥐가 본질적으로 종양이 없는 상태로 남아있었다.

[1362] ***부작용 및 독성***

[1363] 모든 요법 군에서 평균 BW 발달은 도 67에서 도시된다. 항-CD40의 투여는 주사된 생쥐에서 예상된 급성 체중 감소를 촉발하였는데, 이것은 주사 후 1 주 이내에 해소되었다. ^{212}Pb-DOTAM의 주사는 그 자체로는 어떤 유의미한 체중 감소도 야기하지 않았다. 급성 주사후 BW 감소로 인해 안락사된 생쥐는 없었다.

[1364] 단독으로 또는 CEA-PRIT 이후에 항-PD-L1의 복수 투여를 제공받는 생쥐는 주사 후 대략 10 분 이내에 반응을 나타냈다: 두 번째와 세 번째 투여 후 각각 ca 40% 및 80%; 첫 번째 항-PD-L1 주사 후 어떤 특이적 반응도 목격되지 않았다. 반응은 피부 자극, 적열상태, 감소된 활동, 경련, 헝클어진 털, 활처럼 구부린 등을 포함하였다. 모든 생쥐는 항-PD-L1 주사 1-2 시간 후에 회복하였다.

[1365] 모든 군으로부터, 2마리의 생쥐가 나빠지는 종양 상태 (악화의 위험이 있는 개방 종양)로 인해 안락사되었다. 이에 더하여, 항-CD40 + 항-PD-L1 군에서 1마리의 생쥐가 알 수 없는 이유로, 세 번째 항-PD-L1 주사 1 일 후에 죽은 채로 발견되었다. 모든 부작용은 아래의 표에서 설명된다.

[1366] **프로토콜 195에서 부작용**

군	영향을 받은 생쥐 (군마다 n)	연구 일	관찰(들)
B: 항-CD40 + 항-PD-L1	1(10)	47	나빠지는 종양 상태
B: 항-CD40 + 항-PD-L1	~40-80%	36, 51	반복된 항-PD-L1 주사 후 반응
B: 항-CD40 + 항-PD-L1	1(10)	51	생쥐가 죽은 채로 발견됨; 명백한 이유 없음
B: 항-CD40 + 항-PD-L1		36, 50	
C: SPLIT CEA-PRIT	1(10)	62	나빠지는 종양 상태
D: SPLIT CEA-PRIT + 항-CD40 + 항-PD-L1	~40-80%	36, 51	반복된 항-PD-L1 주사 후 반응

[1367]

[1368] ^{212}Pb 방사선조사 (20 μCi)가 연구 21일 자에 수행되었다. 면역요법이 연구 22일 자 (항-CD-40 + 항-PD-L1), 36일 자 (항-PD-L1), 그리고 50일 자 (항-PD-L1)에 투여되었다.

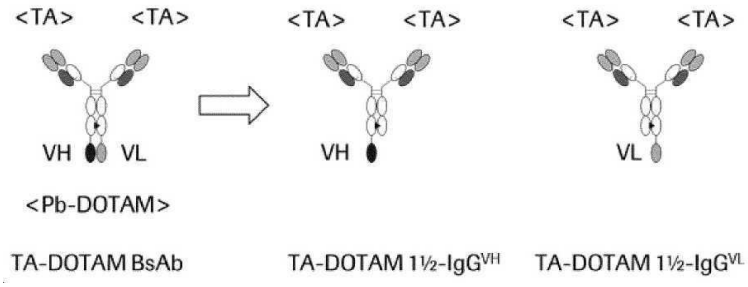
[1369] ***결론***

[1370] 2 단계 SPLIT CEA-PRIT의 1회 주기 및 면역요법의 3회 주기의 병용은 SC Panc02-huCEA-luc 모형에서 면역요법과 병용된 3-단계 CEA-PRIT의 3회 완전 주기만큼 효율적이었고 (프로토콜 136 참조), 그리고 60% (6/10마리)의 치유된 생쥐를 야기하였다. 면역 기억의 존재가 재공격 실험에 의해 강하게 암시되었는데, 여기서 100%의 미경험 대조 생쥐와 비교하여, 선치료되고 재공격된 생쥐 중 어느 것도 종양이 발달하지 않았다.

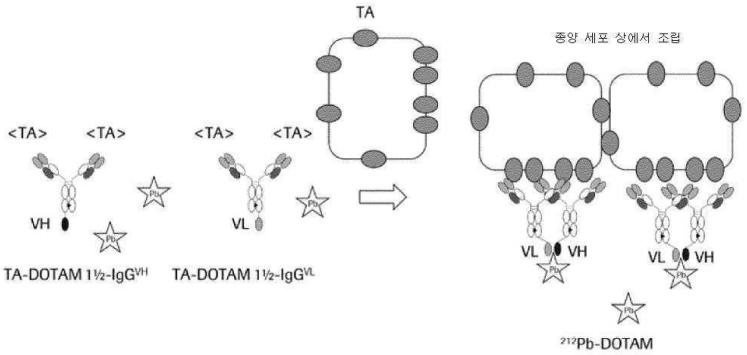
[1371] 비록 전술된 발명이 이해의 명료함을 위해 예시와 실례로서 일부 상세하게 설명되긴 했지만, 이들 설명과 실례는 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에서 인용된 모든 특허와 과학 문헌의 개시는 명시적으로 온전히 참조로서 편입된다.

도면

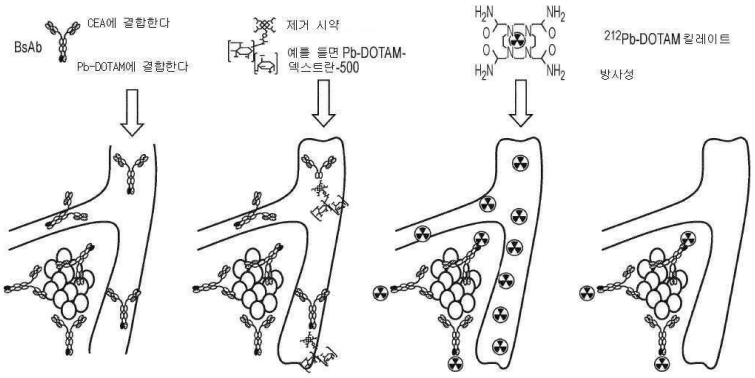
도면1



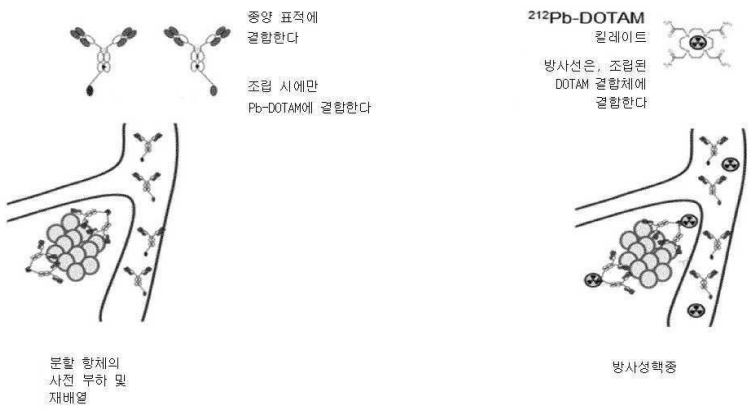
도면2


TA
<TA>
<TA>
VH
TA-DOTAM 1½-IgG^VH
<TA>
<TA>
VL
TA-DOTAM 1½-IgG^VL
종양 세포 상에서 조립
VL
VH
VL
VH
212Pb-DOTAM

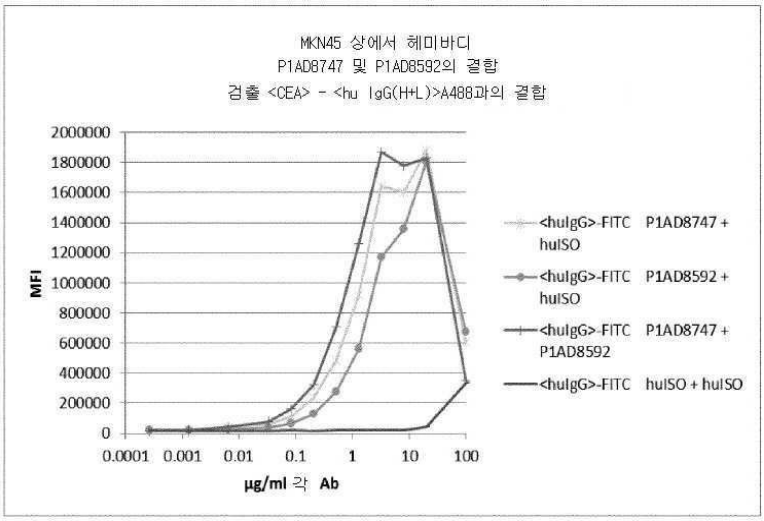
도면3


BsAb
CEA에 결합한다
Pb-DOTAM에 결합한다
제거 시약
예를 들면 Pb-DOTAM-
덱스트란-500
212Pb-DOTAM 킬레이트
방사성

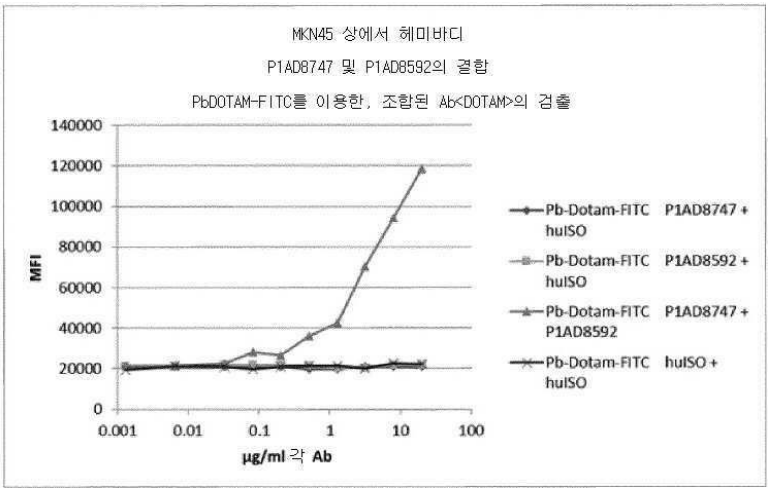
도면4


종양 표적에
결합한다
조립 시에만
Pb-DOTAM에 결합한다
212Pb-DOTAM
킬레이트
방사선은, 조립된
DOTAM 결합체에
결합한다
분할 항체의
사전 부하 및
재배열
방사성핵종

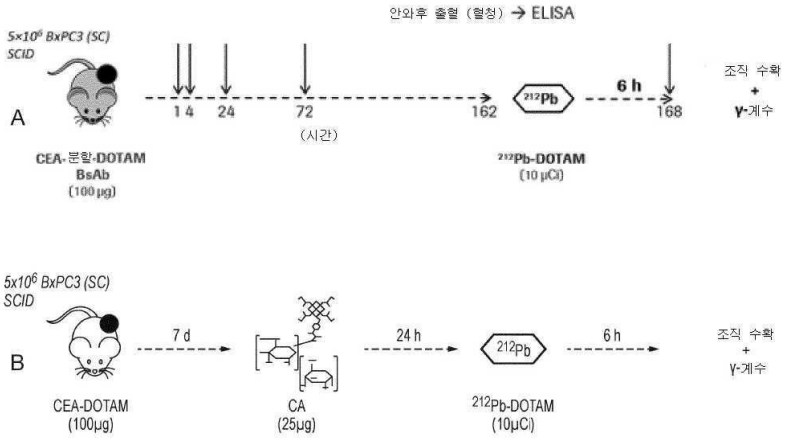
도면5


MKN45 상에서 헤미바디
P1AD8747 및 P1AD8592의 결합
검출 <CEA> - <hu IgG(H+L)>A488과의 결합
MFI
2000000
1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100
μg/ml 각 Ab
<huIgG>-FITC P1AD8747 + huISO
<huIgG>-FITC P1AD8592 + huISO
<huIgG>-FITC P1AD8747 + P1AD8592
<huIgG>-FITC huISO + huISO

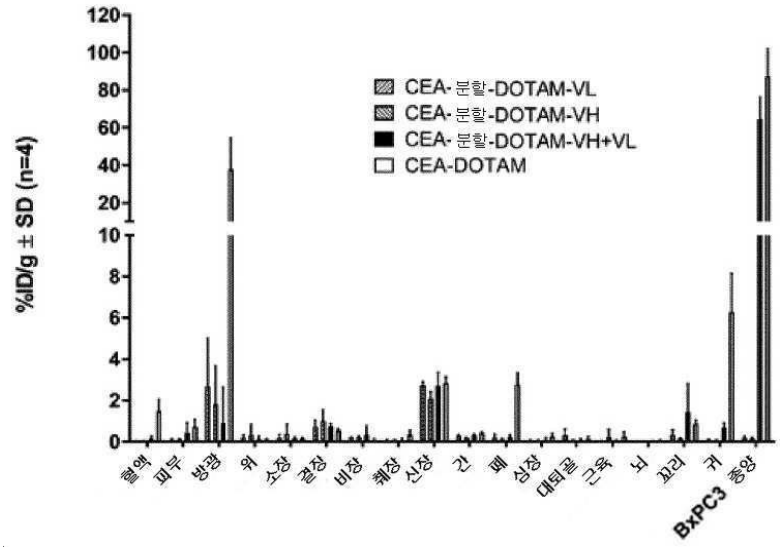
도면6


MKN45 상에서 헤미바디
P1AD8747 및 P1AD8592의 결합
PbDOTAM-FITC를 이용한, 조합된 Ab<DOTAM>의 검출
MFI
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.001 0.01 0.1 1 10 100
μg/ml 각 Ab
Pb-Dotam-FITC P1AD8747 + huISO
Pb-Dotam-FITC P1AD8592 + huISO
Pb-Dotam-FITC P1AD8747 + P1AD8592
Pb-Dotam-FITC huISO + huISO

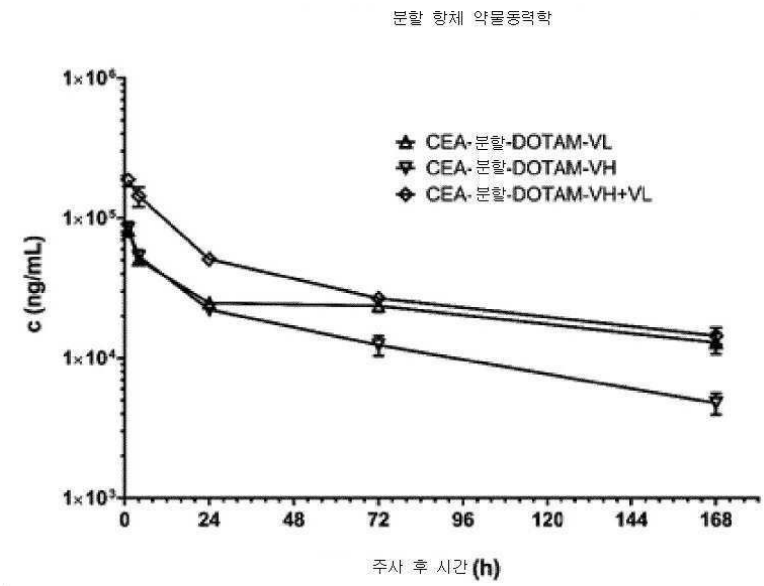
도면7


안와후 출혈 (혈청) → ELISA
5×10⁶ BxPC3 (SC)
SCID
A
1 4 24 72
(시간)
162
212Pb
6 h
168
조직 수확
+
γ-계수
CEA-분할-DOTAM
BsAb
(100 μg)
212Pb-DOTAM
(10 μCi)
5x10⁶ BxPC3 (SC)
SCID
B
7 d
24 h
212Pb
6 h
조직 수확
+
γ-계수
CEA-DOTAM
(100μg)
CA
(25μg)
212Pb-DOTAM
(10μCi)

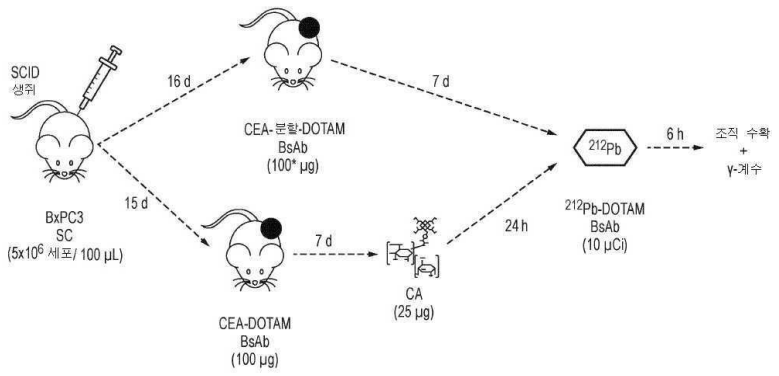
도면8


%ID/g ± SD (n=4)
CEA-분할-DOTAM-VL
CEA-분할-DOTAM-VH
CEA-분할-DOTAM-VH+VL
CEA-DOTAM
혈액
피부
방광
위
소장
결장
비장
췌장
신장
간
폐
심장
대퇴골
근육
뇌
꼬리
귀
종양
BxPC3

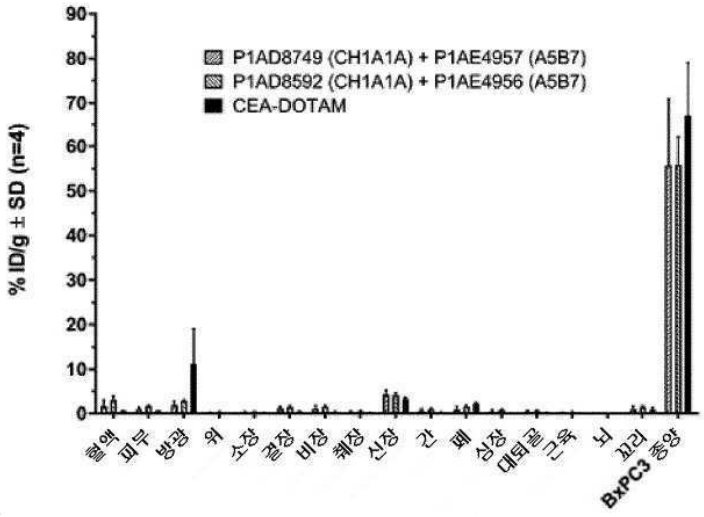
도면9


분할 항체 약물동력학
c (ng/mL)
CEA-분할-DOTAM-VL
CEA-분할-DOTAM-VH
CEA-분할-DOTAM-VH+VL
주사 후 시간 (h)

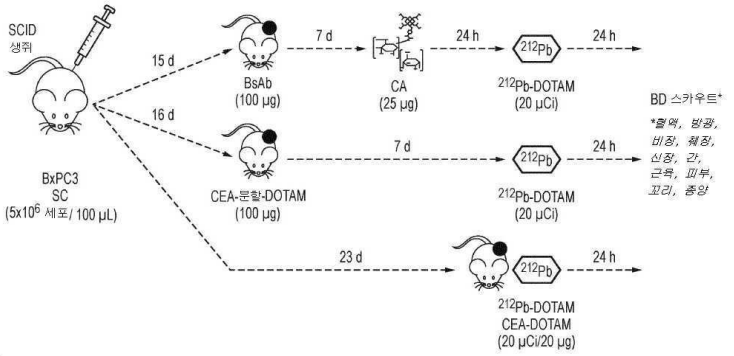
도면10


SCID
생쥐
BxPC3
SC
(5x10⁶ 세포/ 100 µL)
16 d
15 d
CEA-분할-DOTAM
BsAb
(100* µg)
CEA-DOTAM
BsAb
(100 µg)
7 d
7 d
CA
(25 µg)
24 h
212Pb
212Pb-DOTAM
BsAb
(10 µCi)
6 h
조직 수확
+
γ-계수

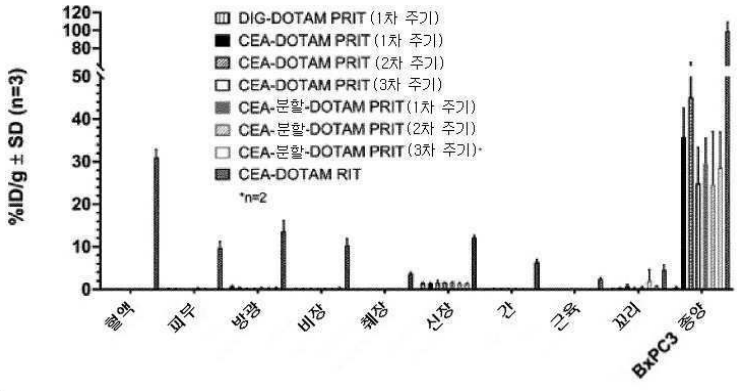
도면11



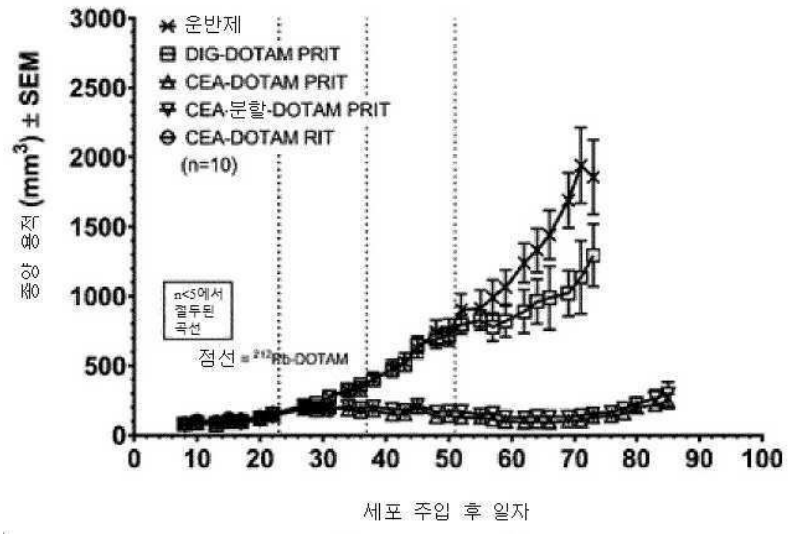
도면12



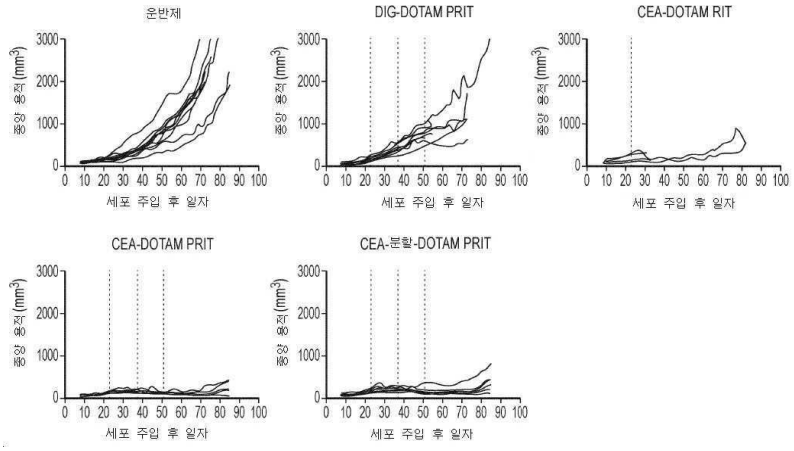
도면13



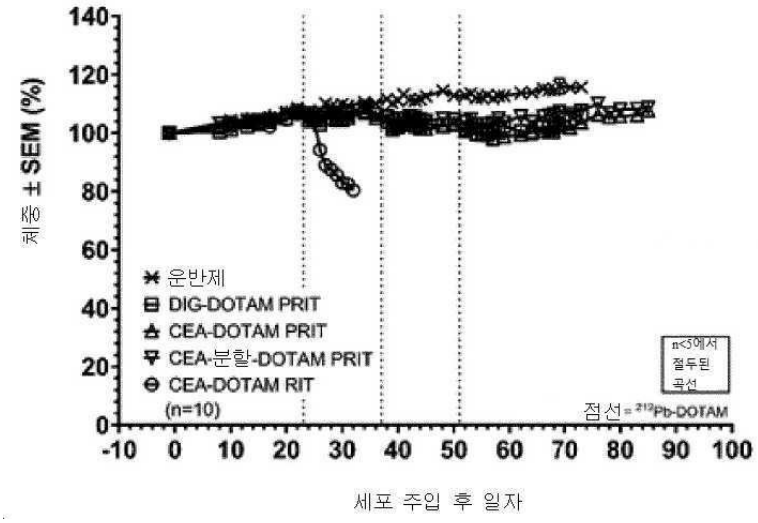
도면14



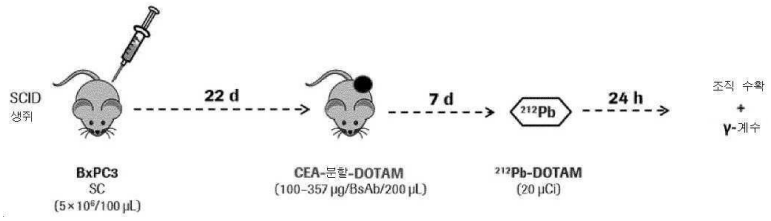
도면15



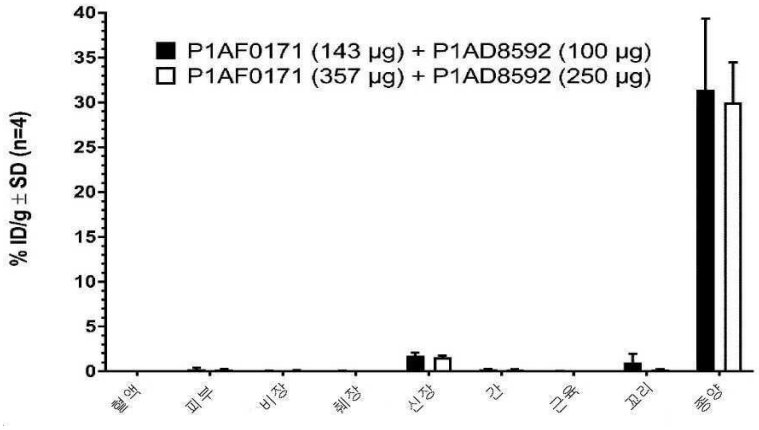
도면16



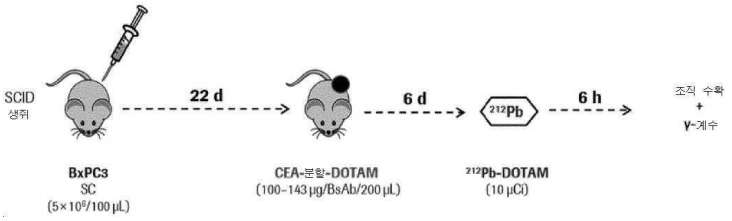
도면17



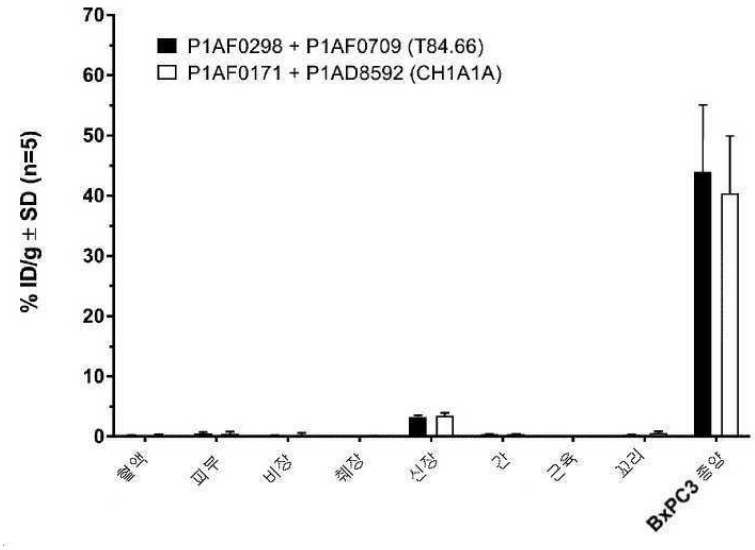
도면18



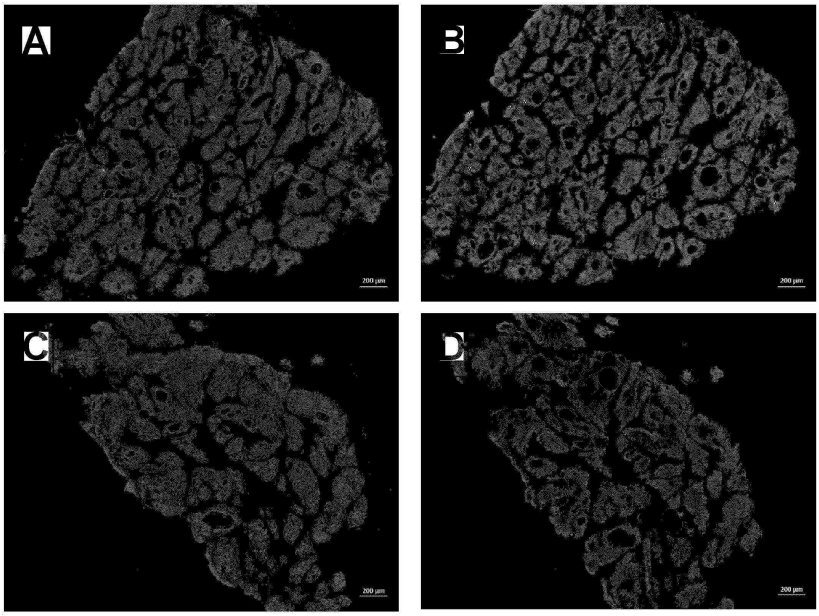
도면19



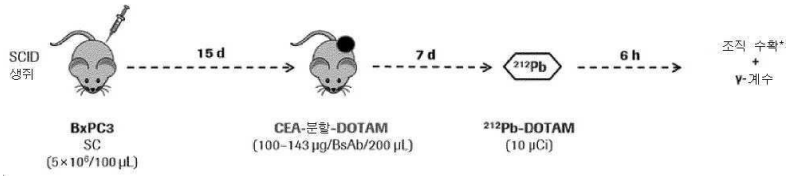
도면20



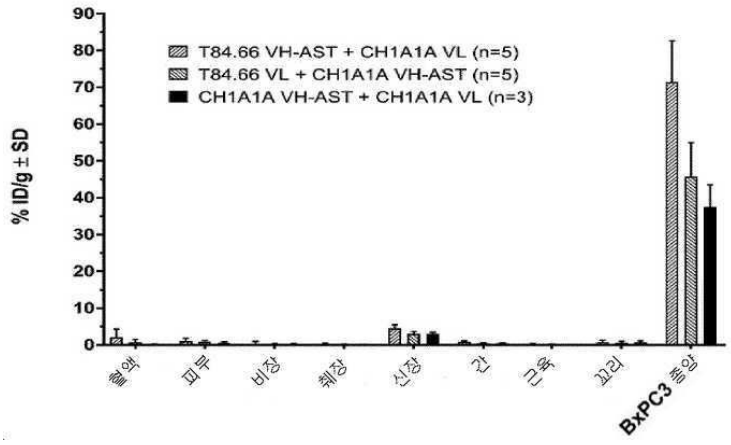
도면21



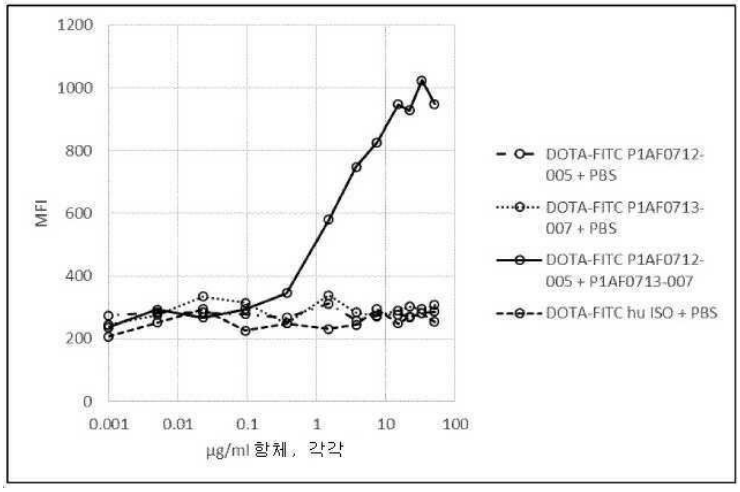
도면22



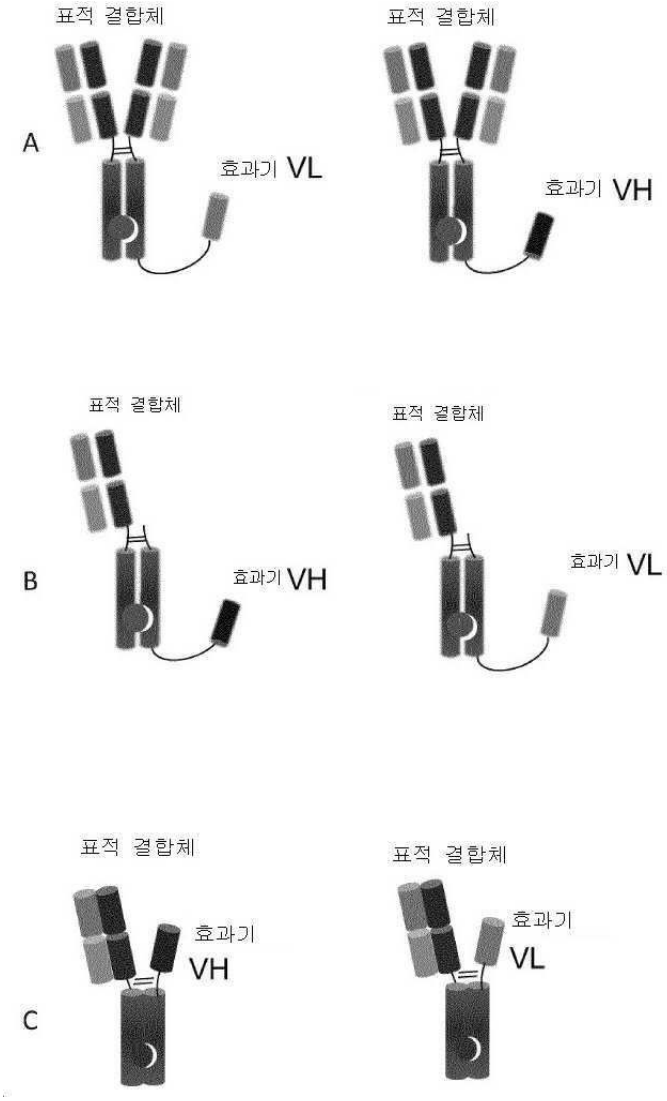
도면23



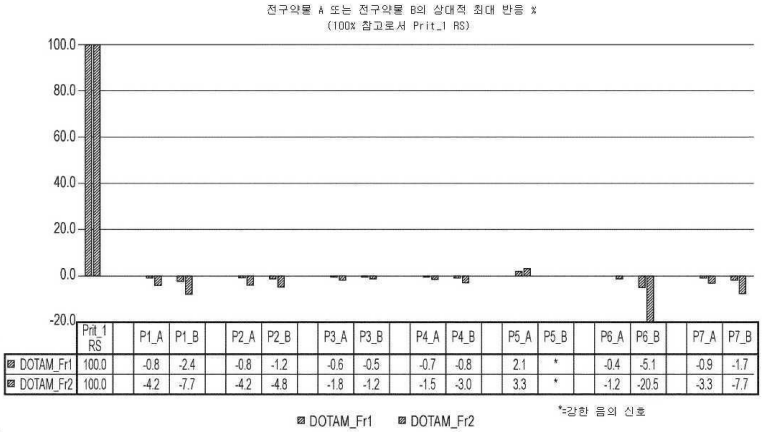
도면24


1200
1000
800
600
400
200
0
MFI
0.001
0.01
0.1
1
10
100
μg/ml 항체, 각각
DOTA-FITC P1AF0712-005 + PBS
DOTA-FITC P1AF0713-007 + PBS
DOTA-FITC P1AF0712-005 + P1AF0713-007
DOTA-FITC hu ISO + PBS

도면25

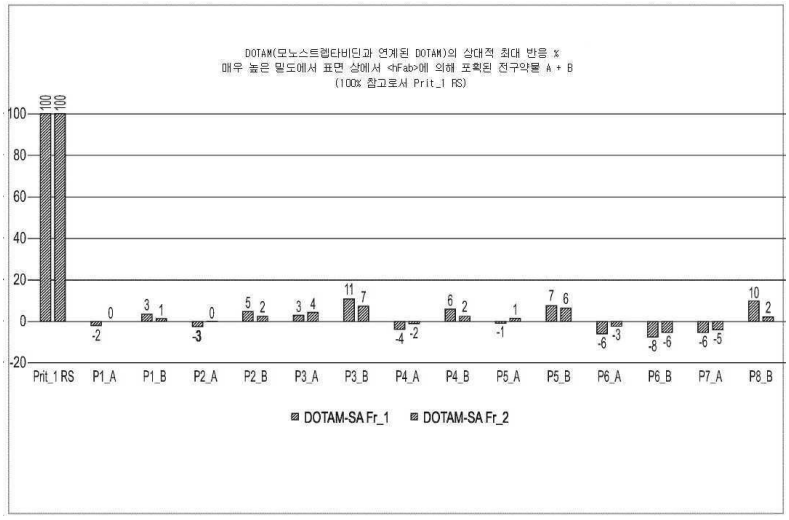

A
표적 결합체
효과기 VL
표적 결합체
효과기 VH
B
표적 결합체
효과기 VH
표적 결합체
효과기 VL
C
표적 결합체
효과기
VH
표적 결합체
효과기
VL

도면26

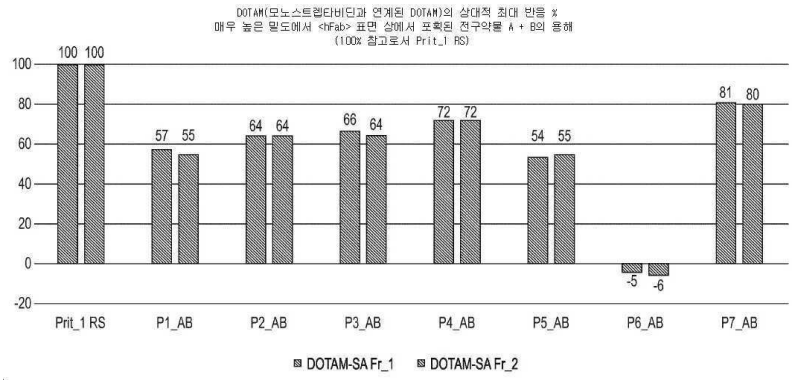


	Prit_1 RS	P1_A	P1_B	P2_A	P2_B	P3_A	P3_B	P4_A	P4_B	P5_A	P5_B	P6_A	P6_B	P7_A	P7_B
DOTAM_Fr1	100.0	-0.8	-2.4	-0.8	-1.2	-0.6	-0.5	-0.7	-0.8	2.1	*	-0.4	-5.1	-0.9	-1.7
DOTAM_Fr2	100.0	-4.2	-7.7	-4.2	-4.8	-1.8	-1.2	-1.5	-3.0	3.3	*	-1.2	-20.5	-3.3	-7.7

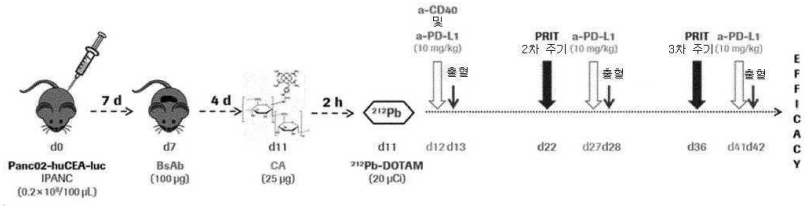
도면27



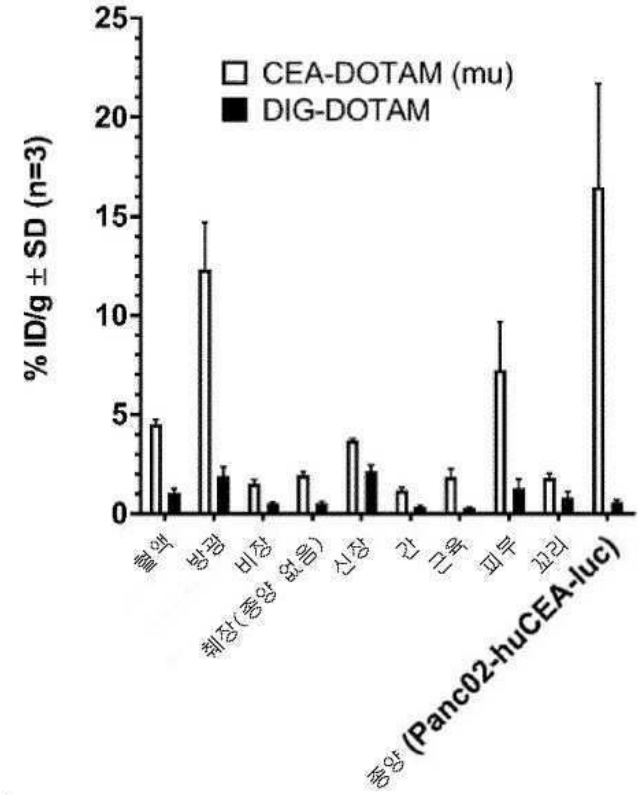
도면28



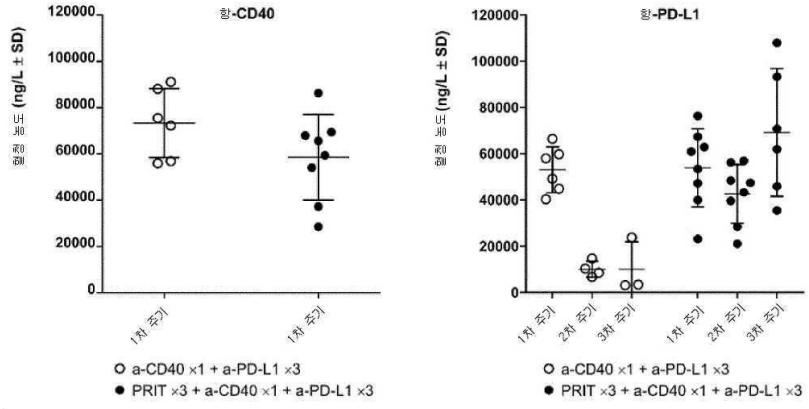
도면29



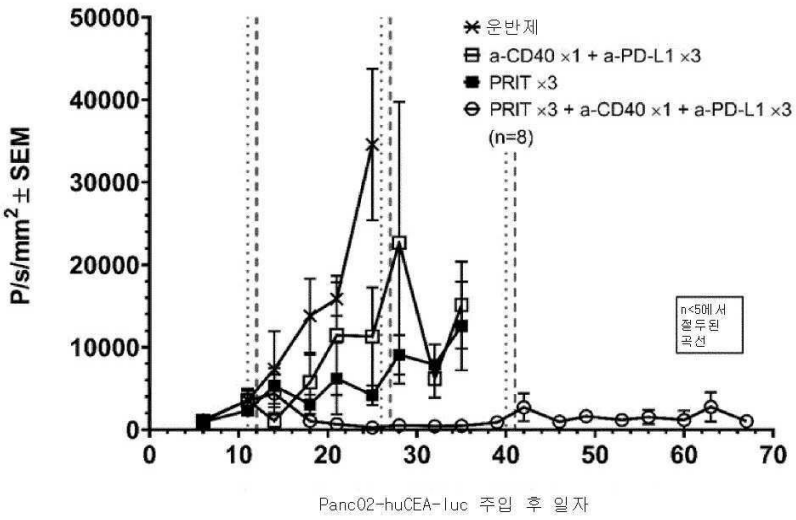
도면30



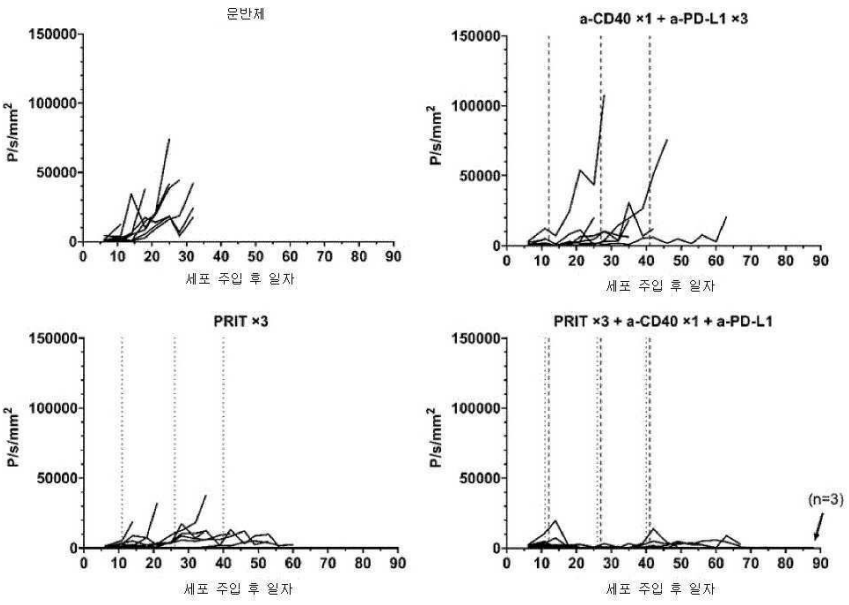
도면31



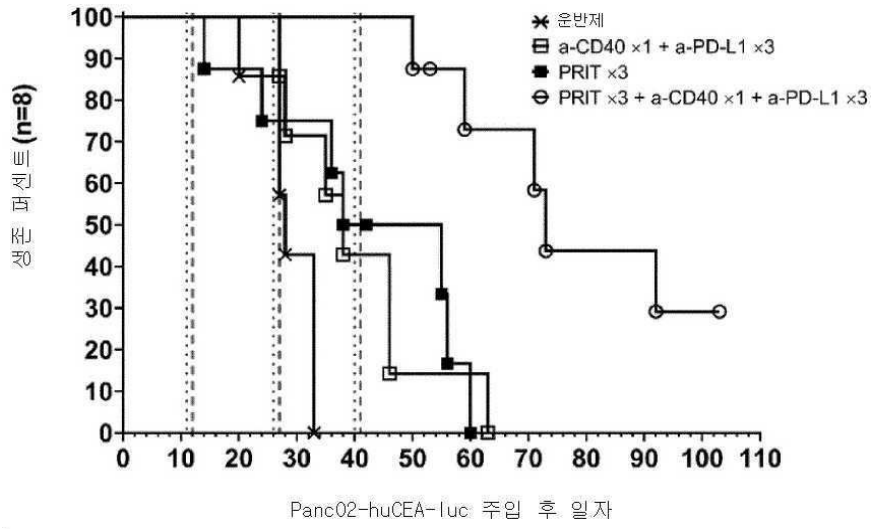
도면32


운반제
a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3
PRIT ×3
PRIT ×3 + a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3
(n=8)
n<5에서 절두된 곡선
P/s/mm² ± SEM
Panc02-huCEA-luc 주입 후 일자

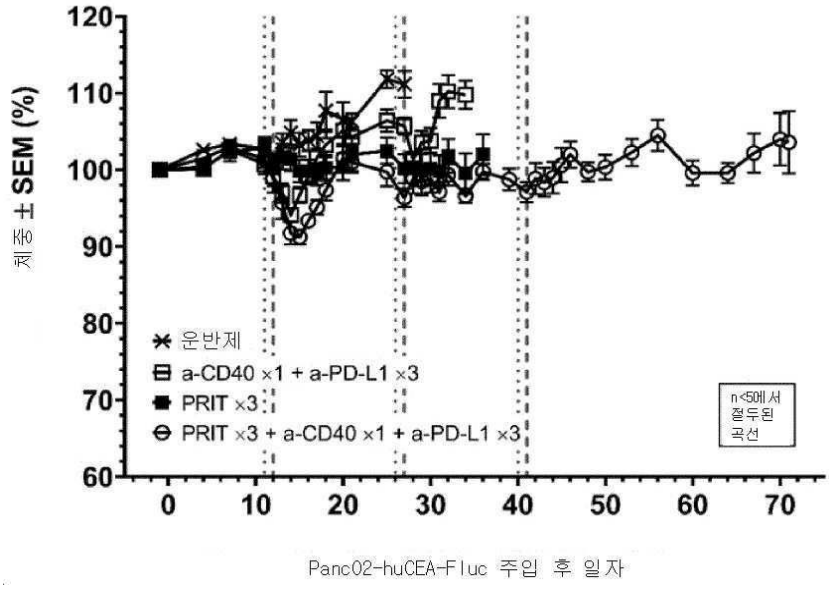
도면33


운반제
a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3
PRIT ×3
PRIT ×3 + a-CD40 ×1 + a-PD-L1
(n=3)
P/s/mm²
세포 주입 후 일자

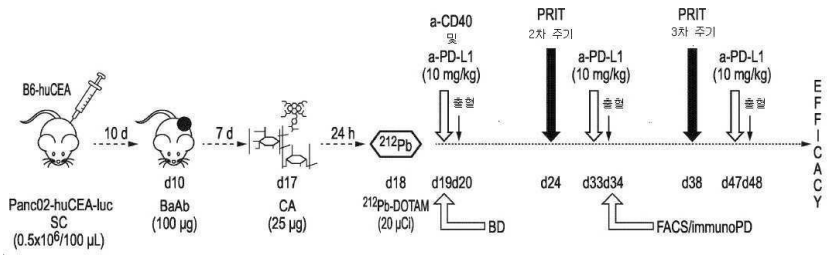
도면34



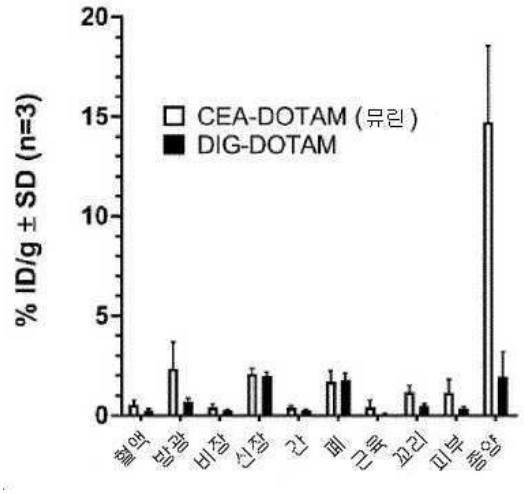
도면35



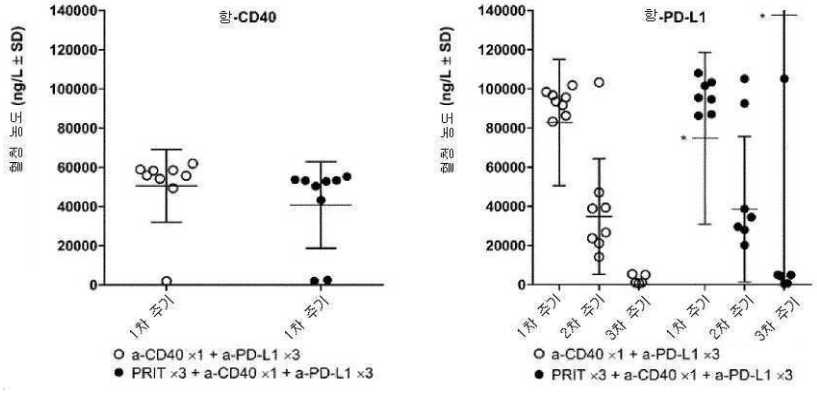
도면36



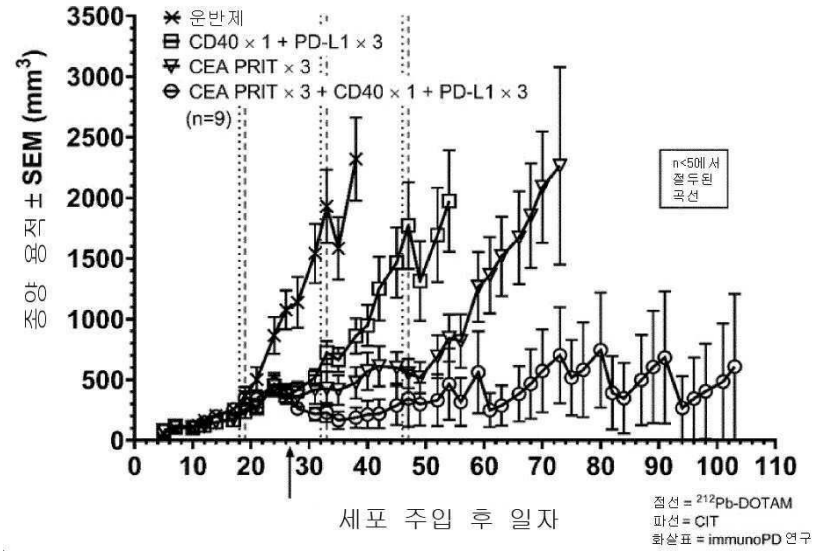
도면37



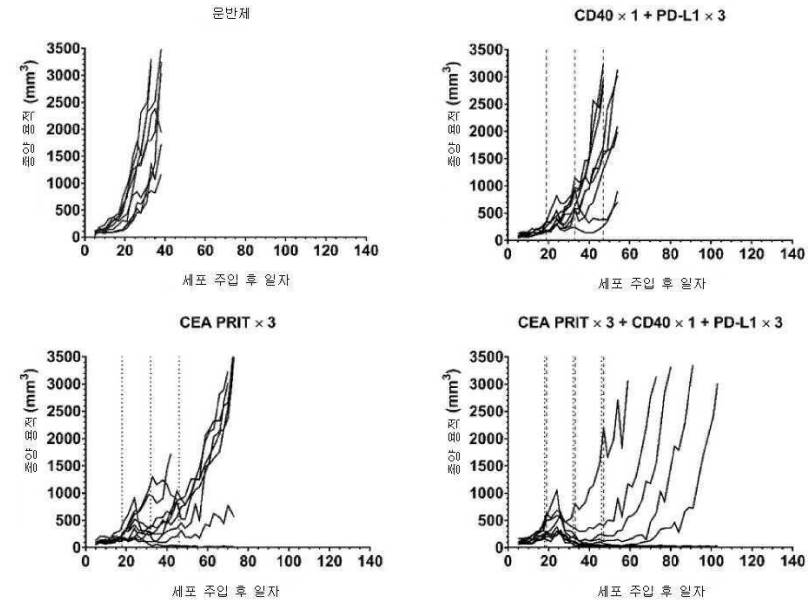
도면38



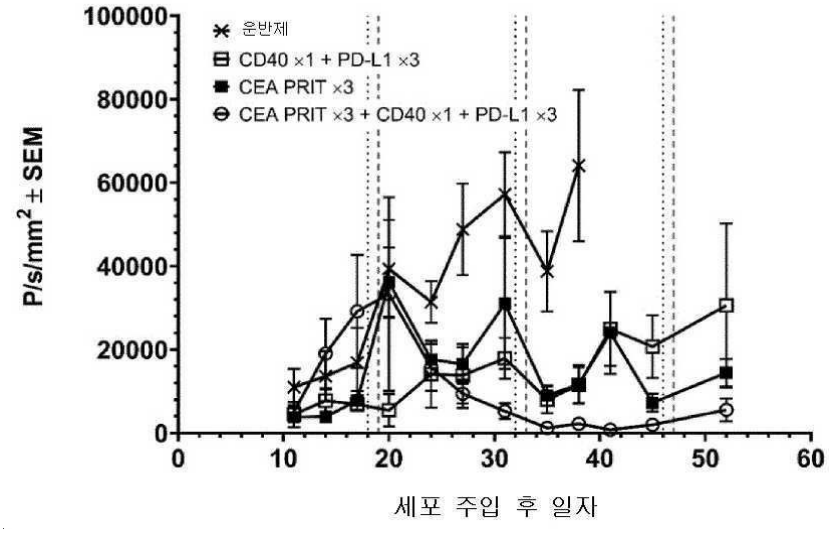
도면39



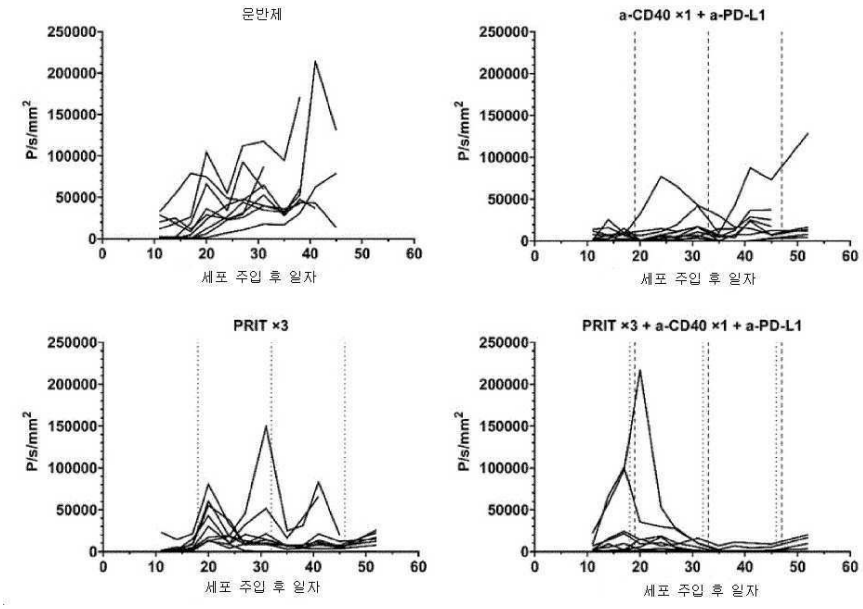
도면40


운반제
CD40 × 1 + PD-L1 × 3
CEA PRIT × 3
CEA PRIT × 3 + CD40 × 1 + PD-L1 × 3
종양 용적 (mm³)
세포 주입 후 일자

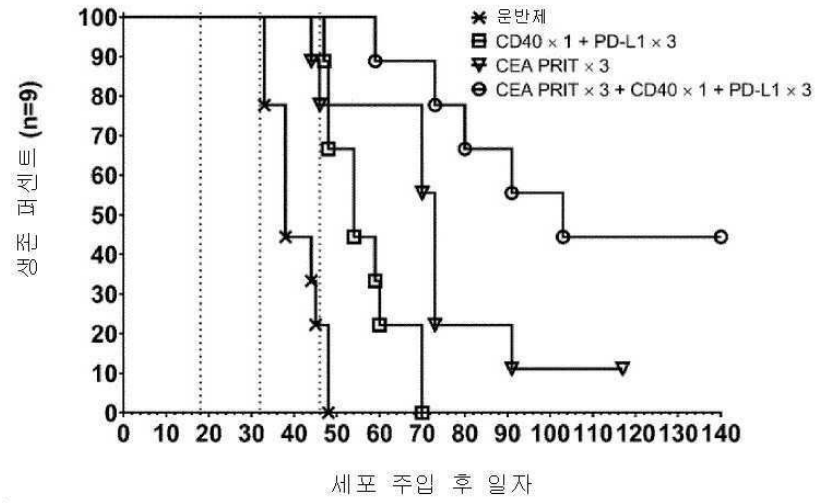
도면41


운반제
CD40 ×1 + PD-L1 ×3
CEA PRIT ×3
CEA PRIT ×3 + CD40 ×1 + PD-L1 ×3
P/s/mm² ± SEM
세포 주입 후 일자

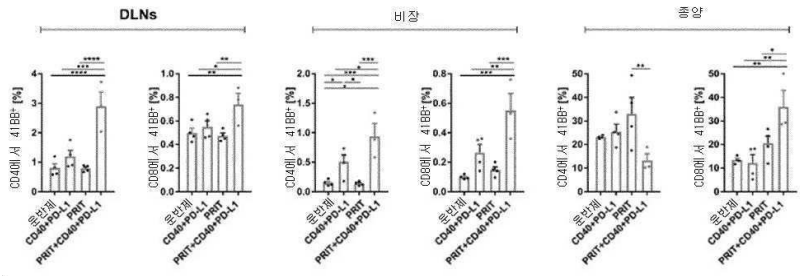
도면42



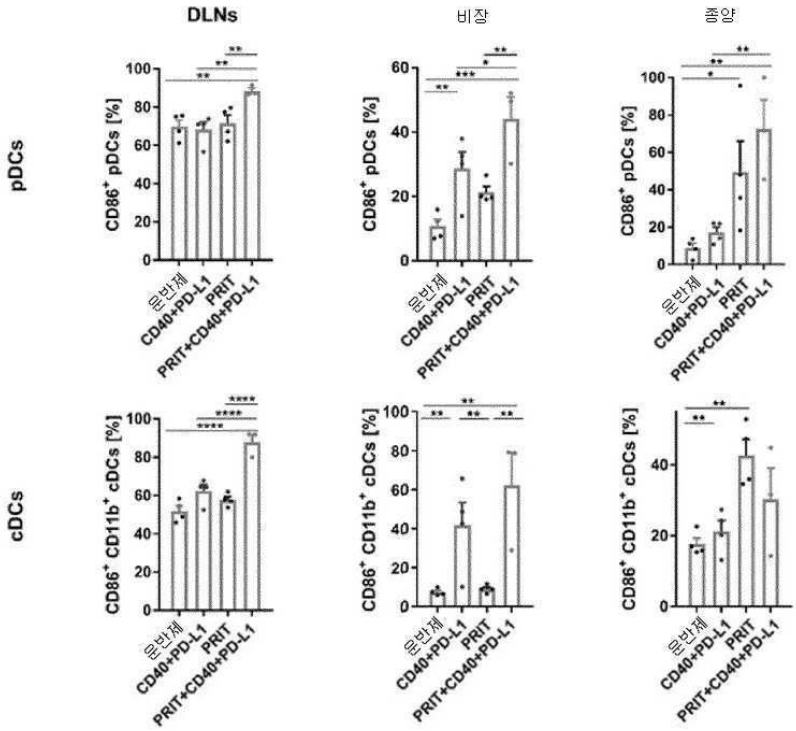
도면43



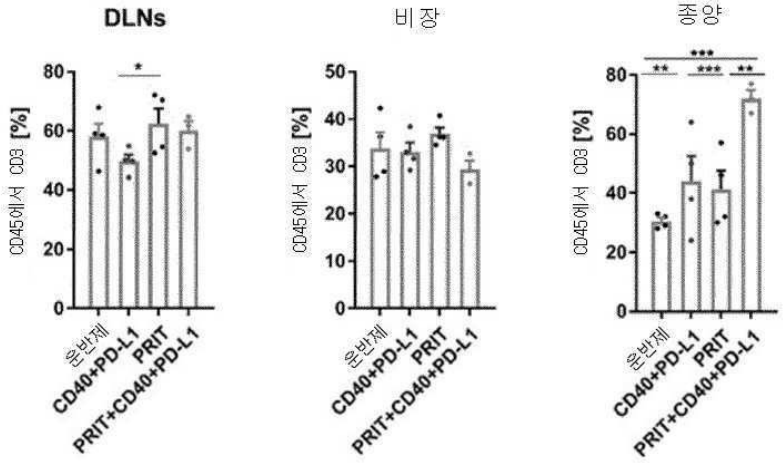
도면44



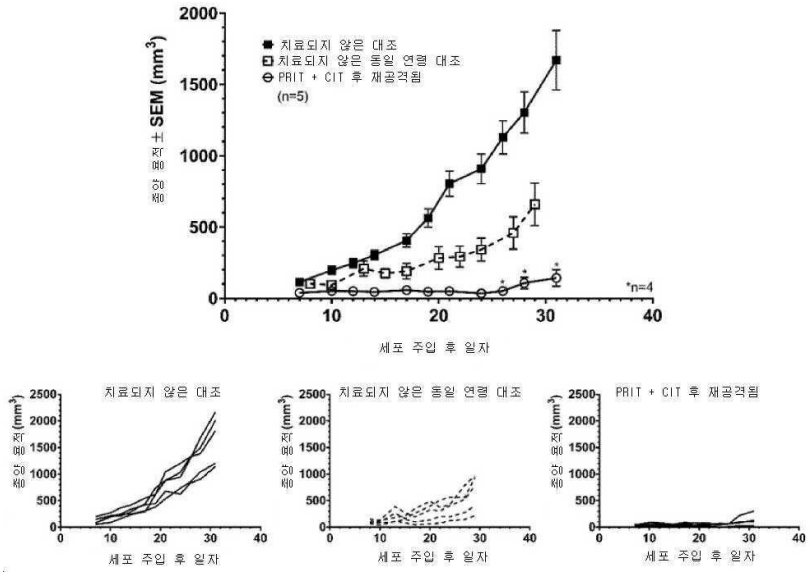
도면45


DLNs
비장
종양
pDCs
cDCs
CD86+ pDCs [%]
CD86+ CD11b+ cDCs [%]
운반체
CD40+PD-L1
PRIT
PRIT+CD40+PD-L1

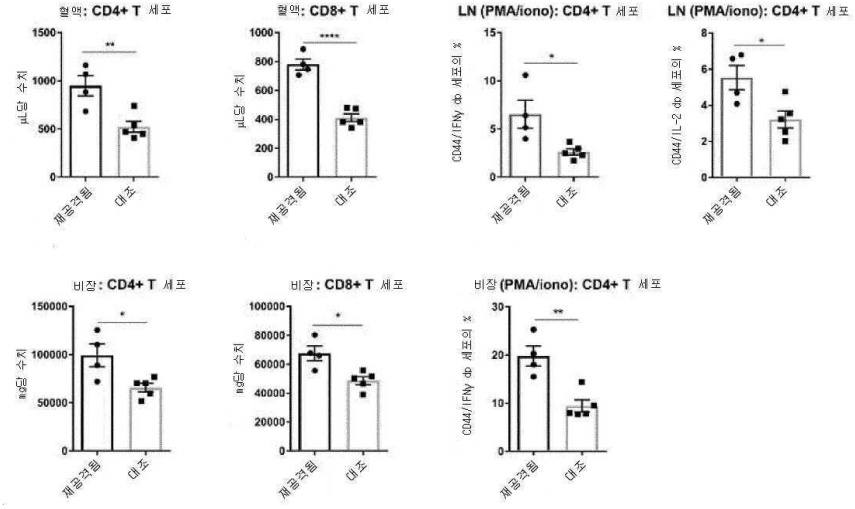
도면46


DLNs
비장
종양
CD45에서 CD3 [%]
운반체
CD40+PD-L1
PRIT
PRIT+CD40+PD-L1

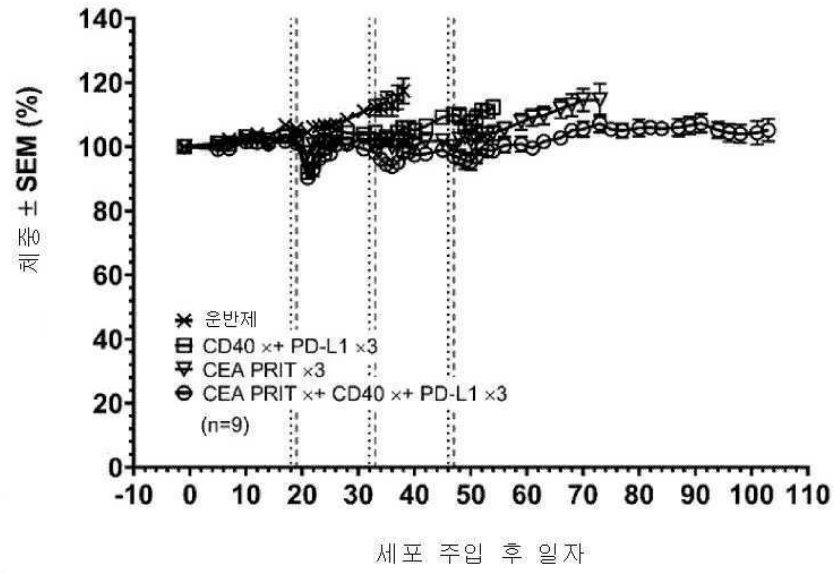
도면47


치료되지 않은 대조
치료되지 않은 동일 연령 대조
PRIT + CIT 후 재공격됨
(n=5)
종양 용적 ± SEM (mm3)
*n=4
세포 주입 후 일자
치료되지 않은 대조
치료되지 않은 동일 연령 대조
PRIT + CIT 후 재공격됨
종양 용적 (mm3)
세포 주입 후 일자

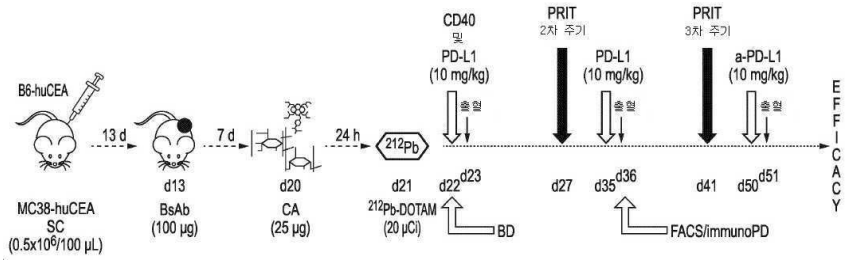
도면48


혈액: CD4+ T 세포
혈액: CD8+ T 세포
LN (PMA/iono): CD4+ T 세포
LN (PMA/iono): CD4+ T 세포
비장: CD4+ T 세포
비장: CD8+ T 세포
비장 (PMA/iono): CD4+ T 세포
μL당 수치
CD44/IFNγ dp 세포의 %
CD44/IL-2 dp 세포의 %
재공격됨
대조

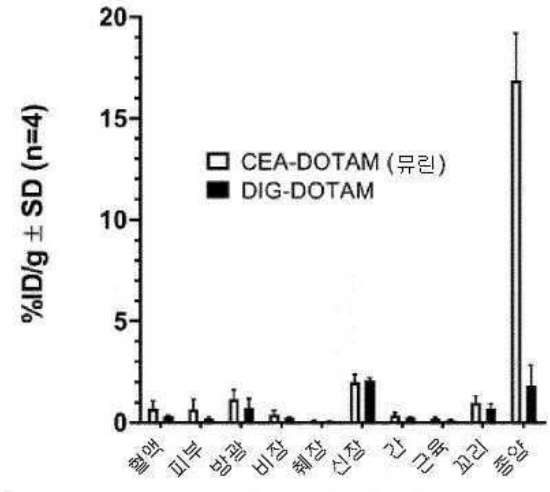
도면49



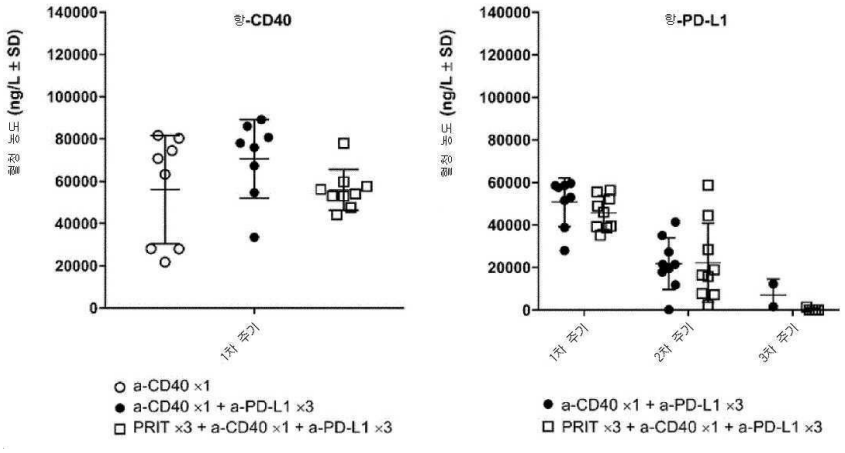
도면50



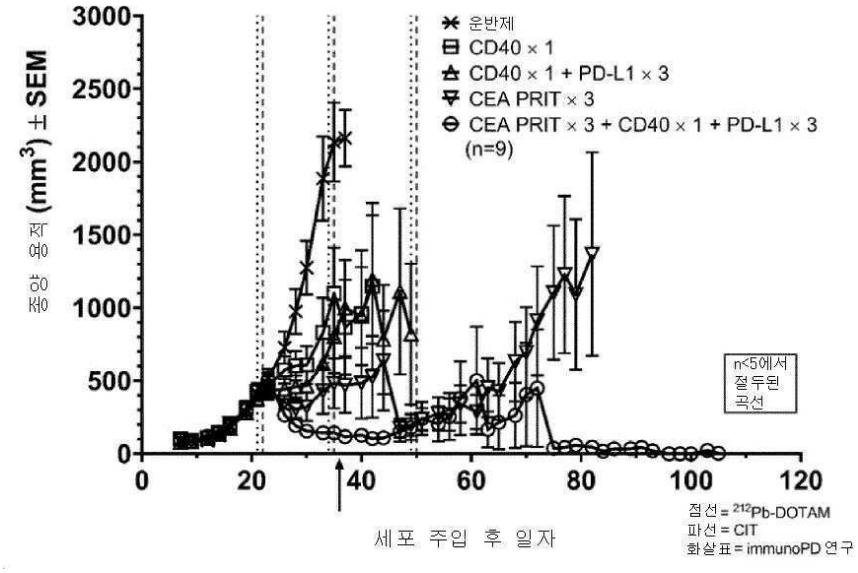
도면51



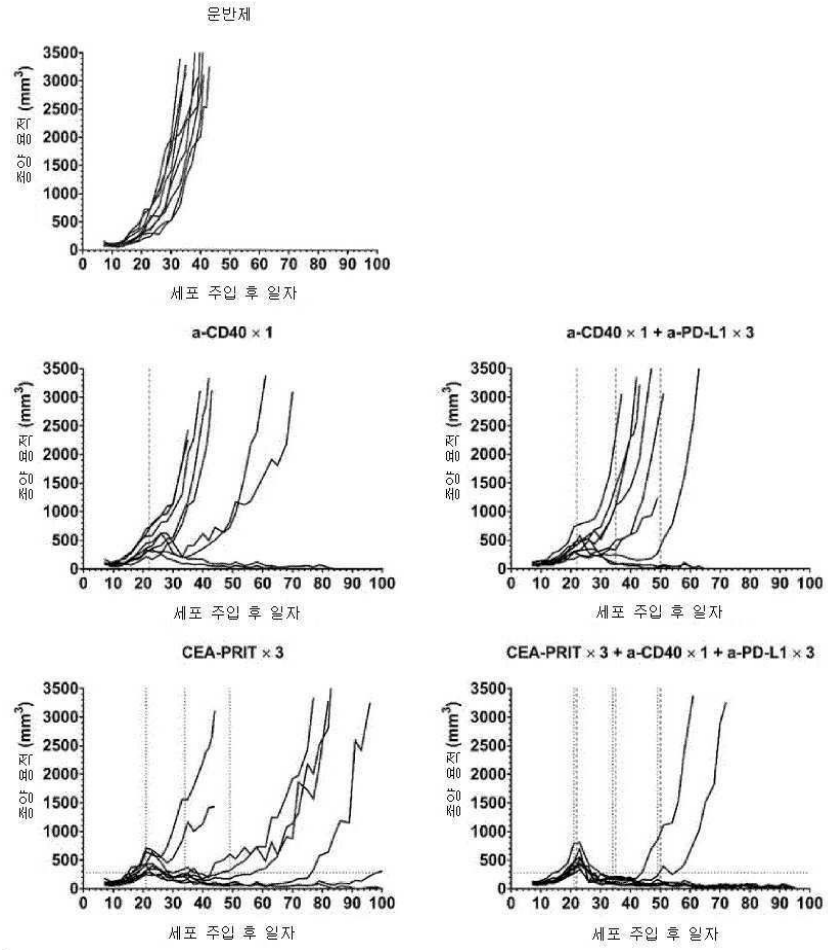
도면52


항-CD40
항-PD-L1
혈청 농도 (ng/L ± SD)
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
1차 주기
2차 주기
3차 주기
a-CD40 ×1
a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3
PRIT ×3 + a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3

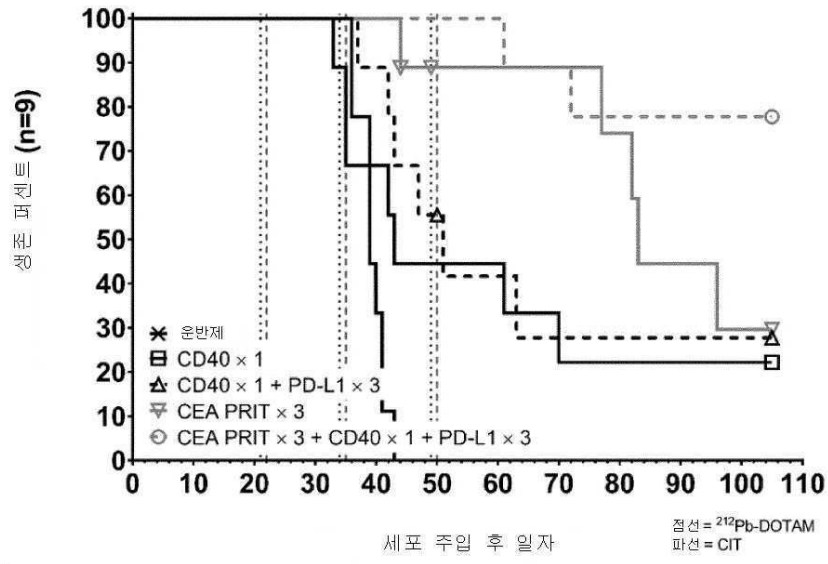
도면53


종양 용적 (mm³) ± SEM
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
100
120
세포 주입 후 일자
운반제
CD40 × 1
CD40 × 1 + PD-L1 × 3
CEA PRIT × 3
CEA PRIT × 3 + CD40 × 1 + PD-L1 × 3
(n=9)
n<5에서 절두된 곡선
절선 = 212Pb-DOTAM
파선 = CIT
화살표 = immunoPD 연구

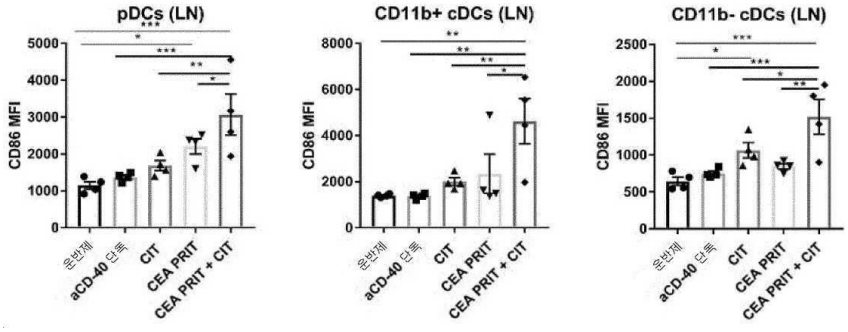
도면54


운반제
a-CD40 × 1
a-CD40 × 1 + a-PD-L1 × 3
CEA-PRIT × 3
CEA-PRIT × 3 + a-CD40 × 1 + a-PD-L1 × 3
종양 용적 (mm³)
세포 주입 후 일자

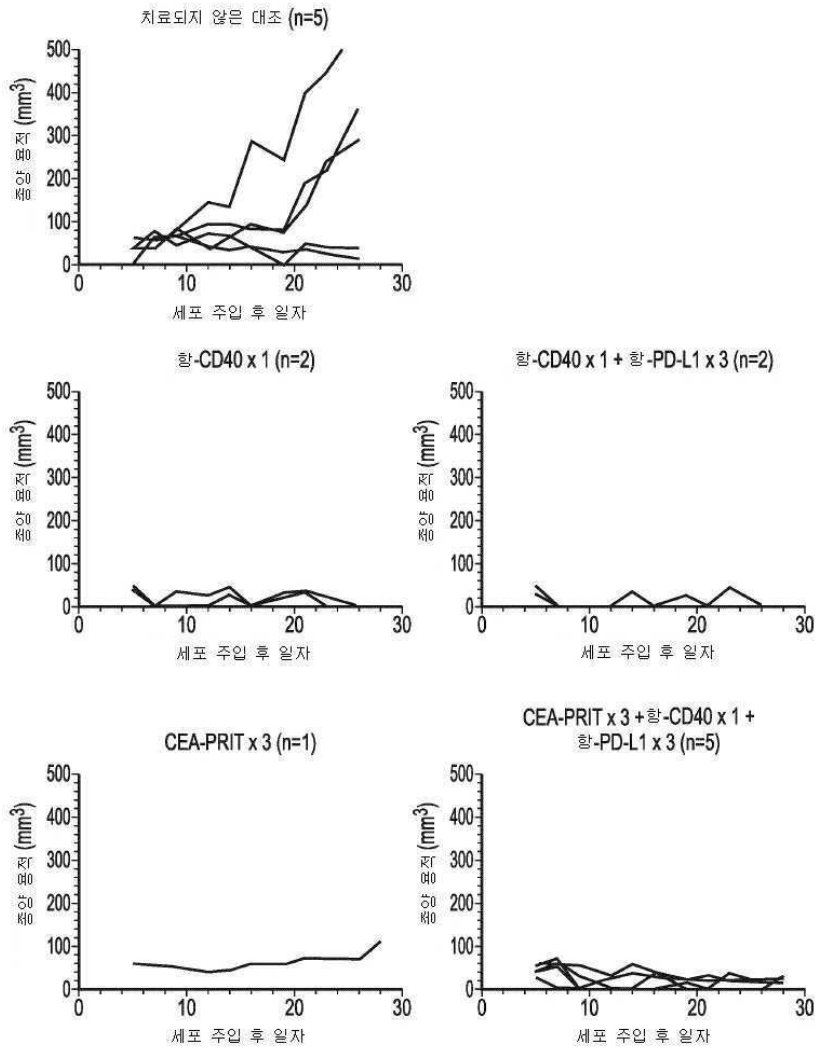
도면55


생존 퍼센트 (n=9)
운반제
CD40 × 1
CD40 × 1 + PD-L1 × 3
CEA PRIT × 3
CEA PRIT × 3 + CD40 × 1 + PD-L1 × 3
세포 주입 후 일자
절선 = 212Pb-DOTAM
파선 = CIT

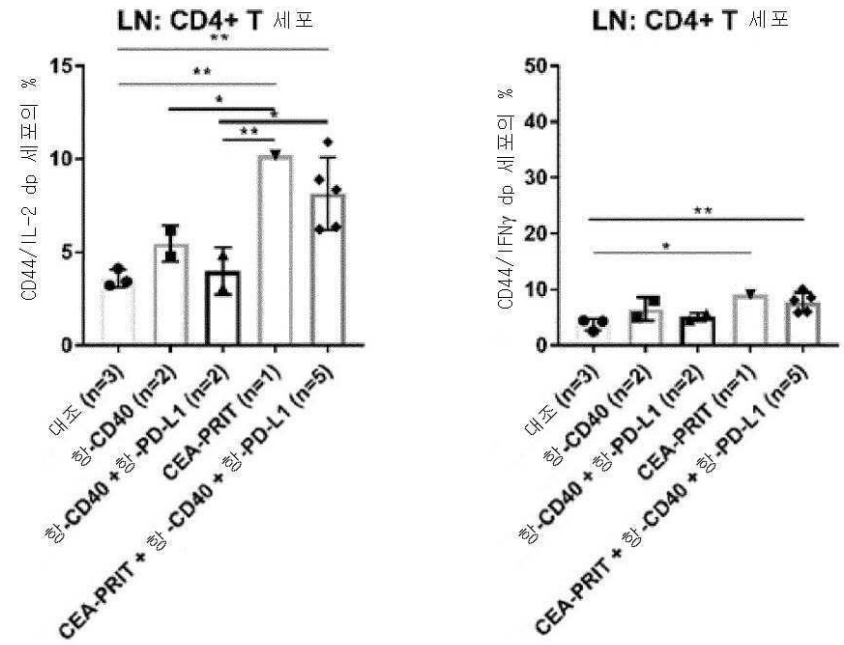
도면56


pDCs (LN)
CD11b+ cDCs (LN)
CD11b- cDCs (LN)
CD86 MFI
은반제
aCD-40 단독
CIT
CEA PRIT
CEA PRIT + CIT

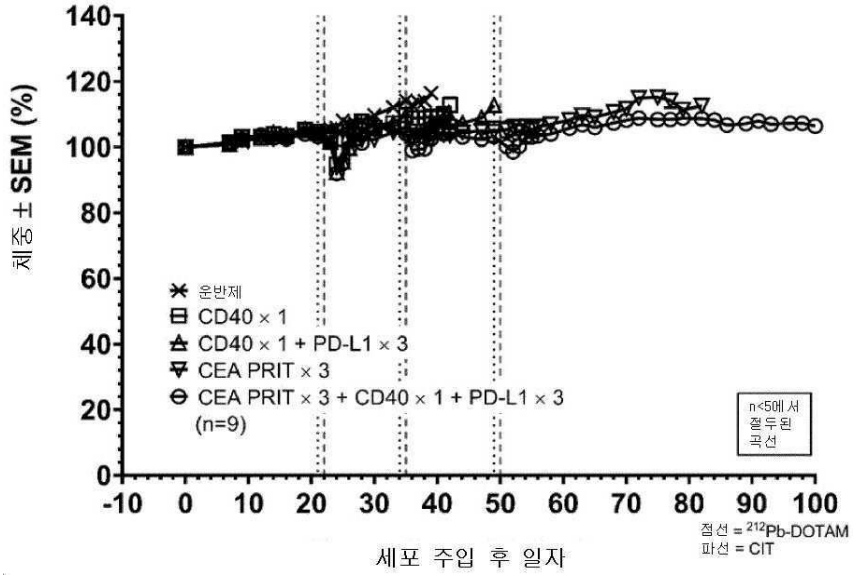
도면57


치료되지 않은 대조 (n=5)
항-CD40 x 1 (n=2)
항-CD40 x 1 + 항-PD-L1 x 3 (n=2)
CEA-PRIT x 3 (n=1)
CEA-PRIT x 3 + 항-CD40 x 1 + 항-PD-L1 x 3 (n=5)
종양 면적 (mm3)
세포 주입 후 일자

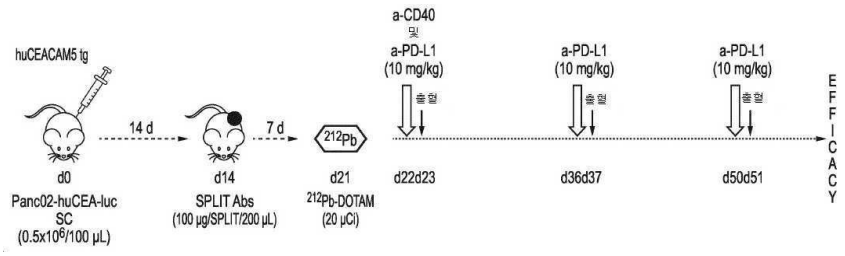
도면58



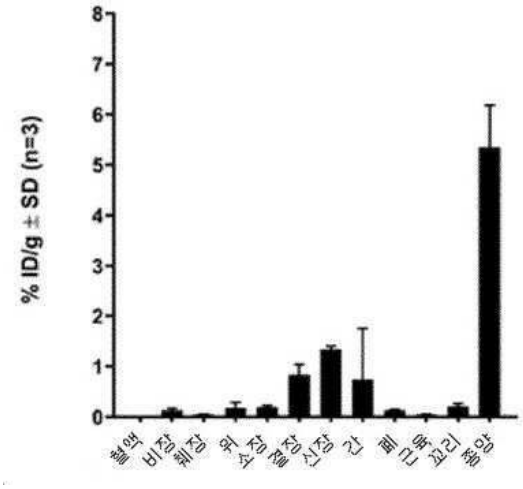
도면59



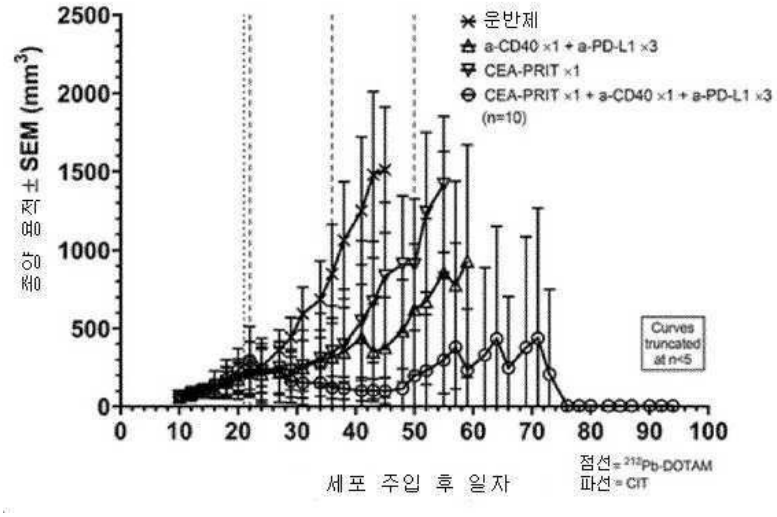
도면60



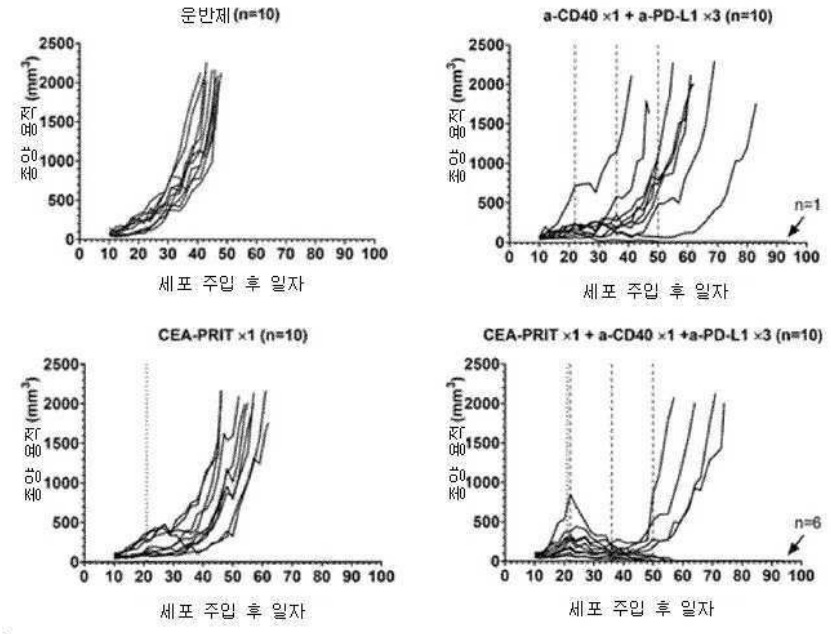
도면61


% ID/g ± SD (n=3)
8
7
6
5
4
3
2
1
0
혈액
비장
췌장
위
소장
결장
신장
간
폐
근육
뇌
골
장

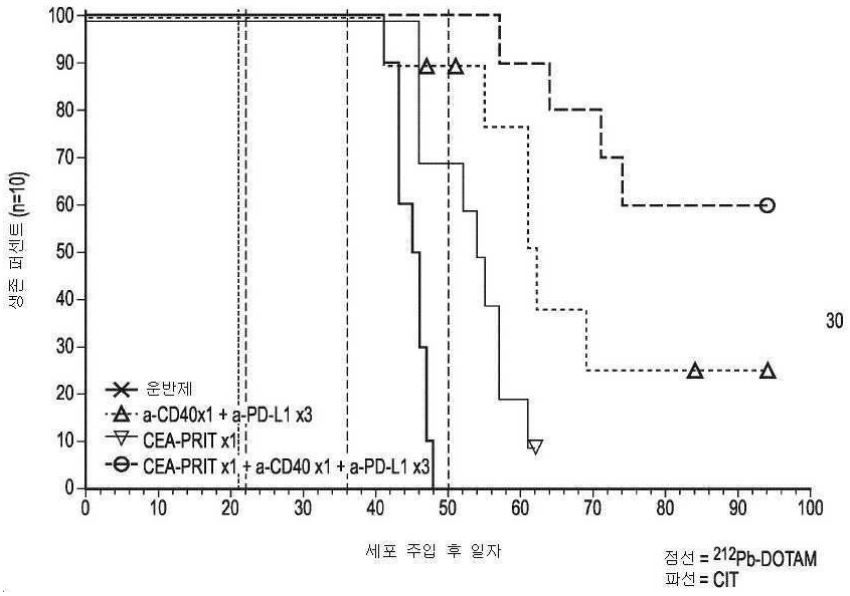
도면62


종양 면적 ± SEM (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
세포 주입 후 일자
운반제
a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3
CEA-PRIT ×1
CEA-PRIT ×1 + a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3
(n=10)
Curves truncated at n<5
점선 = 212Pb-DOTAM
파선 = CIT

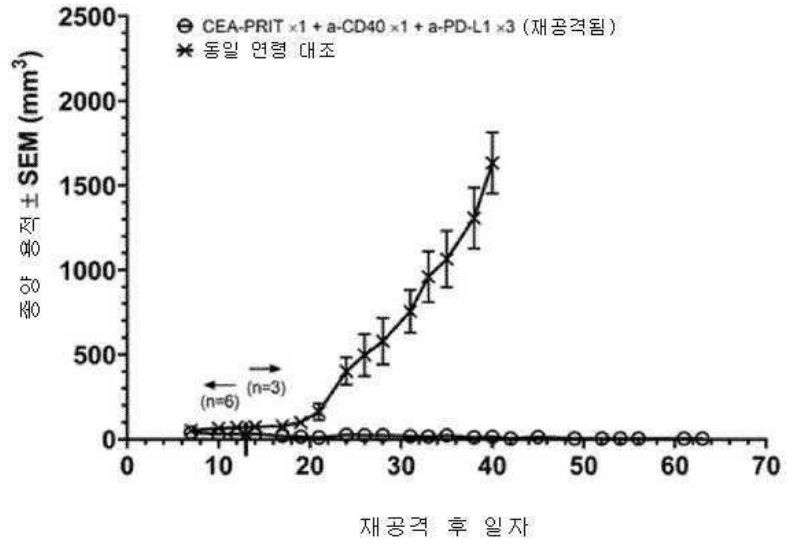
도면63


운반제 (n=10)
a-CD40 ×1 + a-PD-L1 ×3 (n=10)
CEA-PRIT ×1 (n=10)
CEA-PRIT ×1 + a-CD40 ×1 +a-PD-L1 ×3 (n=10)
종양 용적 (mm³)
세포 주입 후 일자
n=1
n=6

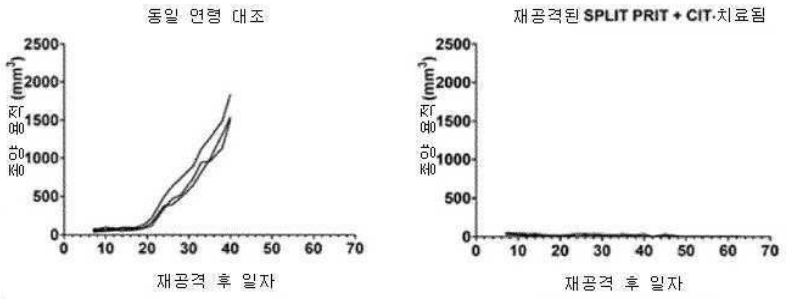
도면64


생존 퍼센트 (n=10)
운반제
a-CD40x1 + a-PD-L1 x3
CEA-PRIT x1
CEA-PRIT x1 + a-CD40 x1 + a-PD-L1 x3
세포 주입 후 일자
점선 = 212Pb-DOTAM
파선 = CIT
30

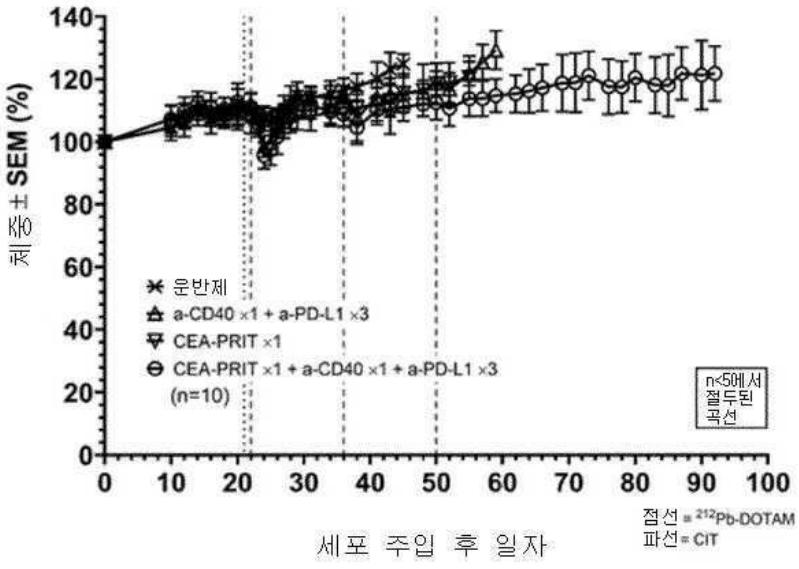
도면65



도면66



도면67



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> F. Hoffmann-La Roche AG

<120> COMBINATION THERAPY

<130> 008132011

<140> PCT/EP2022/050453

<141> 2022-01-11

<150> EP21151407.0

<151> 2021-01-13

<150> EP21184780.1

<151> 2021-07-09

<160> 157

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 1

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser

1 5 10

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<

213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 2

Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 3

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 3

Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr Pro Pro His Leu

1 5 10

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 4

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

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 5

Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 6

Leu Gly Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly

1 5 10

<210> 7

<

211> 122

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 7

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

1 5 10 15

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

50 55 60
Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
65 70 75 80
Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr Pro Pro His Leu Trp
100 105 110
Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 8
Ala 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 Ser Ser His Ser Val Tyr Ser Asp
20 25 30
Asn Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

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

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

<210> 9

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 9

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

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

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

Gly Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

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

Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr Pro Pro His Leu Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10

<211> 112

<212

> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 10

Ala 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 Ser Ser His Ser Val Tyr Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Tyr Asp Asp

85 90 95

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

100 105 110

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 11

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Met His

1 5 10

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 12

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 13

Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr

1 5 10

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 14

Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe Gly Val Gly Phe Leu His

1 5 10 15

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 15

Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 16

Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 17

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 17

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 18

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe
20 25 30

Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 19
Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe Gly Met Asn
1 5 10

<210> 20
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 20
Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 21
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 21
Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 22

Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 23

Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg

1 5

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 24

His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu Phe Thr

1 5 10

<210> 25

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 26

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 26

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 Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 27

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

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

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

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

Pro Gly

450

<210> 28

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 28

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

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

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

180 185 190

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

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

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly
450

<210> 29
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 29

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

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

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly
450

<210> 30

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 30

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

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

<210> 31
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 31
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 32
<211> 591
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 32
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

485 490 495

Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

500 505 510

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

515 520 525

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys

530 535 540

Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala

545 550 555 560

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr
565 570 575
Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 33
<211> 581
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

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

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

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

405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Gly Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly Gly Thr

565 570 575

Lys Val Glu Ile Lys

580

<210> 34

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 34

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 Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 35

Asp Tyr Gly Val His

1 5

<210> 36

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 36

Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Thr Ala Leu Ile Ser

1 5 10 15

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 37

Arg Gly Ser Tyr Pro Tyr Asn Tyr Phe Asp Ala

1 5 10

<210> 38

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 38

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ala Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 39

Gly His Asn Asn Arg Pro Pro

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 40

Ala Leu Trp Tyr Ser Asp His Trp Val

1 5

<210> 41

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Thr Ala Leu Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Met Asn Ser Leu Gln Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Arg Gly Ser Tyr Pro Tyr Asn Tyr Phe Asp Ala Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 42

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 42

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

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

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly His Asn Asn Arg Pro Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ala Gly Thr
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asp
85 90 95

His Trp Val Ile Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 43

Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5

<210> 44

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 44

Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 45

Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 46

Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile His

1 5 10

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 47

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 48

Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr

1 5

<210> 49

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 49

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

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

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

<210> 50

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 50

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Ser Trp Ile Tyr

35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 51

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 52

<211> 591

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

485 490 495

Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

500 505 510

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

515 520 525

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys

530 535 540

Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala

545 550 555 560

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr

565 570 575

Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

580 585 590

<210> 53

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 53

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro

<210> 54
<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 54

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Ser Trp Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 55

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220

><223> synthetic construct

<400> 55

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 56

<211> 581

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 56

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

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

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Gly Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly Gly Thr

565 570 575

Lys Val Glu Ile Lys

580

<210> 57

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Ala Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

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

<210> 58
<211> 213
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 58
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr
85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 59
Gly Gly Thr Phe Ser Tyr Tyr Ala Ile Ser
1 5 10
<210> 60
<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 60

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

1 5 10 15

Gly

<210> 61

<

211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 61

Leu Pro Pro Leu Pro Gly Ala Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 62

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 63

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 64

Gln Gln Asn Thr Gln Tyr Pro Met Thr

1 5

<210> 65

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Pro Pro Leu Pro Gly Ala Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 66

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 66

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Thr Gln Tyr Pro Met
85 90 95

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

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 67

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr Ala Met Ala
1 5 10

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 68

Ser Ile Ser Thr Gly Gly Val Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 69

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 69

His Thr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 70

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 70

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ile Ser Gly Ile Asn Leu Met Asn

1 5 10 15

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 71

His Ala Ser Ile Leu Ala Ser

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 72

Gln Gln Thr Arg Glu Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 73

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 73

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ser Ile Ser Thr Gly Gly Val Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr His Thr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 74

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 74

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 75

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5 10

<210> 76

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 76

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

1 5 10 15

Gly

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 77

Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr

1 5

<210> 78

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223

> synthetic construct

<400> 78

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

1 5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 79

Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 80

Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 81

<211

> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 81

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

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

<210
> 82
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 82
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 83

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 83

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

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

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

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 84

<211> 581

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
465 470 475 480
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser His
485 490 495

Ser Val Tyr Ser Asp Asn Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
500 505 510
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly
515 520 525
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
530 535 540
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu
545 550 555 560

Gly Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly Gly Thr
565 570 575
Lys Val Glu Ile Lys
580

<210> 85
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 85
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

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

<210> 86
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 86
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

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

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

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

<210> 87
<211> 594
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct

<400> 87

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

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

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

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

245 250 255

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu
465 470 475 480
Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe
485 490 495

Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
500 505 510

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

Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
580 585 590
Ser Thr

<210> 88
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 88
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

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

<210> 89
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 89
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

65 70 75 80

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

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 90

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 90

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

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

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

35 40 45

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

100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu

325 330 335

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

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly

<210> 91

<211> 580

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Pro Pro Leu Pro Gly Ala Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

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

405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
450 455 460
Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly Gly Thr Lys

565 570 575

Val Glu Ile Lys

580

<210> 92

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Pro Pro Leu Pro Gly Ala Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

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

385 390 395 400

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

<210> 93
<211> 449
<212> PRT

<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 93
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Leu Pro Ala Phe Gly Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

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

115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

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

180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly

<210> 94

<211> 593

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Pro Pro Leu Pro Gly Ala Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu

325 330 335

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

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
450 455 460
Gly Gly Gly Gly Ser Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val
465 470 475 480
Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser

485 490 495
Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala
500 505 510
Leu Glu Trp Leu Gly Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala
515 520 525
Ser Trp Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser
530 535 540
Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr

545 550 555 560
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr Pro
565 570 575
Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
580 585 590
Thr

<210> 95
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 95

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Leu Pro Pro Leu Pro Gly Ala Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu

325 330 335

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

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly

<210> 96

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 96

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

50 55 60

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Thr Gln Tyr Pro Met
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 97

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 97

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe

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

85 90 95
Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 98

<211> 579

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Ile Gln Glu Ser Ala Leu

465 470 475 480

Thr Thr Pro Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr

485 490 495

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

500 505 510

Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly His Asn Asn Arg Pro Pro

515 520 525

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala

530 535 540

Leu Thr Ile Ala Gly Thr Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys

545 550 555 560

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

565 570 575

Thr Val Leu

<210> 99

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 99

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

115 120 125

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

180 185 190

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 100

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 100

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly

450

<210> 101

<211> 592

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly

500 505 510

Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Ala
515 520 525
Tyr Asn Thr Ala Leu Ile Ser Arg Leu Asn Ile Tyr Arg Asp Asn Ser

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

<210> 102
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct
<400> 102
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

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

115 120 125

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

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

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

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

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

Pro Gly
450

<210> 103
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 103
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 Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

100 105 110

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

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

<210> 104
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 104

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Thr His Thr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

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

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

325 330 335

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

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

<210> 105
<211> 359
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 105

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

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

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

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

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

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

325 330 335

Cys Leu Gly Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly

340 345 350

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

355

<210> 106

<211> 369

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 106

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser

305 310 315 320

Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr

325 330 335

Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala

340 345 350

Tyr Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

355 360 365

Ala

<210> 107

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 107

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ile Ser

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

85 90 95
Glu Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 108

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 108

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 109
<211> 359
<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 109

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala

290 295 300

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

305 310 315 320

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

325 330 335

Cys Leu Gly Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly

340 345 350

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

355

<210> 110

<211> 369

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 110

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val
245 250 255

Leu Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly
260 265 270

Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly
275 280 285

Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr
290 295 300

Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser
305 310 315 320
Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr
325 330 335
Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala
340 345 350
Tyr Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
355 360 365

Ala

<210> 111
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 111
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

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

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

<210> 112
<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 112

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

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

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

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

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 113

<211> 359

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 113

Ser 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 Ser Ser His Ser Val Tyr Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Tyr Asp Asp

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

225 230 235 240

Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

245 250 255

Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355

<210> 114

<211> 369

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 114

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr Pro Pro His Leu Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Asp Lys
130 135 140

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
145 150 155 160

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
165 170 175

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
180 185 190

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
195 200 205

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
340 345 350
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360 365
Lys

<210> 115
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 115
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 Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95
Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 116
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 116

Asp Ser Tyr Met His

1 5

<210> 117

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 117

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

1 5 10 15

Gly

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 118

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

1 5 10 15

Gly

<210> 119

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 119

Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 120

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 121

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 122

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Met

1 5 10

<210> 123

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 123

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 124

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 124

Tyr Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 125

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 125

Ser Thr Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 126

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 127

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 127

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

Asn Glu Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 128
<211> 106
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 128
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

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

85 90 95
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105
<210> 129
<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 129

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser
20 25 30

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

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

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

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

Asn Glu Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 130

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 130

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

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

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

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

85 90 95
Asn Glu Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 131
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 131
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

<210> 132

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 132

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 133

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 133

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser

20 25 30

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

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

<210> 134
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct
<400> 134
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 135

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 136

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 136

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

<210> 137
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 137
Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

<210> 138
<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 138

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met

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

85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 139

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

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

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 140
<211> 106
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 140

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

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

<210> 141
<211> 88
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 141

Pro Lys Pro Phe Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln

35 40 45

Leu Ser Asn Asp Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

His Ser Asp Pro Val Ile Leu Asn

85

<210> 142

<211> 88

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 142

Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln

35 40 45

Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr Arg Asn

50 55 60

Asp Thr Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg

65 70 75 80

Arg Ser Asp Ser Val Ile Leu Asn

85

<210> 143

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 143

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ser
20 25 30

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

Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

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

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
85 90 95

Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr Pro Pro His Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 144

<211> 592

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 144

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

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

275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

485 490 495

Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

500 505 510

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

515 520 525

Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys

530 535 540

Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala
545 550 555 560
Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr
565 570 575
Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
580 585 590

<210> 145
<211> 21
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct
<400> 145
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Ser Gly Gly Ser
20

<210> 146
<211> 21
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 146
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Ser Gly Gly Gly
20

<210> 147
<211> 277
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 147
Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr
1 5 10 15

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

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

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

180 185 190
Arg Ala Leu Val Val Ile Pro Ile Ile Phe Gly Ile Leu Phe Ala Ile
195 200 205
Leu Leu Val Leu Val Phe Ile Lys Lys Val Ala Lys Lys Pro Thr Asn
210 215 220
Lys Ala Pro His Pro Lys Gln Glu Pro Gln Glu Ile Asn Phe Pro Asp
225 230 235 240
Asp Leu Pro Gly Ser Asn Thr Ala Ala Pro Val Gln Glu Thr Leu His

245 250 255
Gly Cys Gln Pro Val Thr Gln Glu Asp Gly Lys Glu Ser Arg Ile Ser

260 265 270

Val Gln Glu Arg Gln

275

<210> 148

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn

85 90 95

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

100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val

115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser

165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn

180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
195 200 205
Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu

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

275 280 285
Glu Thr
290

<210> 149
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 149
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe
20 25 30
Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

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

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 150

<211> 591

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu
465 470 475 480
Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe
485 490 495
Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
500 505 510

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

565 570 575

Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 151

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

<210> 152

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 152

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly
20

<210> 153

<211> 594

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 153

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

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

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

35 40 45

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

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu
465 470 475 480
Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe
485 490 495

Ser Leu Ser Thr Tyr Ser Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
500 505 510
Ala Leu Glu Trp Leu Gly Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr Tyr
515 520 525
Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys

530 535 540

Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala
545 550 555 560

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Arg Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr
565 570 575

Pro Pro His Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
580 585 590

Ser Thr

<210> 154

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 154

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala
100 105 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
115 120 125

Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp

130 135 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
145 150 155 160
Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
180 185 190
Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 155
<211> 583
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 155
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro
195 200 205
Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly
210 215 220
Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270
Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu
290 295 300

Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg
305 310 315 320
Val Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro
340 345 350
Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr

355 360 365

Asn Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Ala Glu Asn Tyr Asp Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly
385 390 395 400
Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu
405 410 415
Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn
420 425 430

His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
435 440 445
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
450 455 460
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
465 470 475 480
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ser
485 490 495

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
500 505 510
Phe Ile Gly Ser Arg Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
515 520 525
Arg Phe Thr Val Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
530 535 540
Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Arg
545 550 555 560

Asp Pro Tyr Gly Gly Gly Ala Tyr Pro Pro His Leu Trp Gly Pro Gly
565 570 575
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580

<210> 156
<211> 575

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic construct

<400> 156

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser
115 120 125

Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val
130 135 140

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro
195 200 205

Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly

210 215 220

Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270
Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu
290 295 300
Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg
305 310 315 320
Val Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro
340 345 350

Lys Lys Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr
355 360 365
Asn Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Lys Thr Asp Gly
385 390 395 400
Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu
405 410 415

Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn
420 425 430
His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
435 440 445
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
450 455 460

Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Pro Ala Val Gly Gly
465 470 475 480

Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser His Ser Val Tyr Ser Asp Asn
485 490 495
Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu
500 505 510
Ile Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser
515 520 525
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln
530 535 540

Ser Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Tyr Asp Asp Glu
545 550 555 560
Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
565 570 575

<210> 157
<211> 581
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic construct
<400> 157

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

85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Gly Gly Tyr Asp Asp Glu Ser Asp Thr Tyr Gly Phe Gly Gly Gly Thr

565 570 575

Lys Val Glu Ile Lys

580