



등록특허 10-2702620



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월05일
(11) 등록번호 10-2702620
(24) 등록일자 2024년08월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 31/357* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/6889 (2017.08)
A61K 31/357 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7000482(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년03월02일
심사청구일자 2024년01월05일
- (85) 번역문제출일자 2024년01월05일
- (65) 공개번호 10-2024-0007722
- (43) 공개일자 2024년01월16일
- (62) 원출원 특허 10-2022-7022691
원출원일자(국제) 2017년03월02일
심사청구일자 2022년07월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/020529
- (87) 국제공개번호 WO 2017/151979
국제공개일자 2017년09월08일
- (30) 우선권주장
62/302,562 2016년03월02일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020150131210 A
Benedikt Sammet, et al., Antibody-drug conjugates in tumor therapy, Pharmaceutical Patent Analyst, 2013, 1(1), 65-73

- (73) 특허권자
에자이 알앤드디 매니지먼트 가부시키가이샤
일본국 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4쵸메 6반 10고
(72) 발명자
알본, 열, 에프.
미국 19422 펜실베니아주 블루 벨 위트페인 힐즈
2105
청, 신
미국 19086 펜실베니아주 월링포드 세이브룩 레인
373
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장수길, 이유리, 이석재

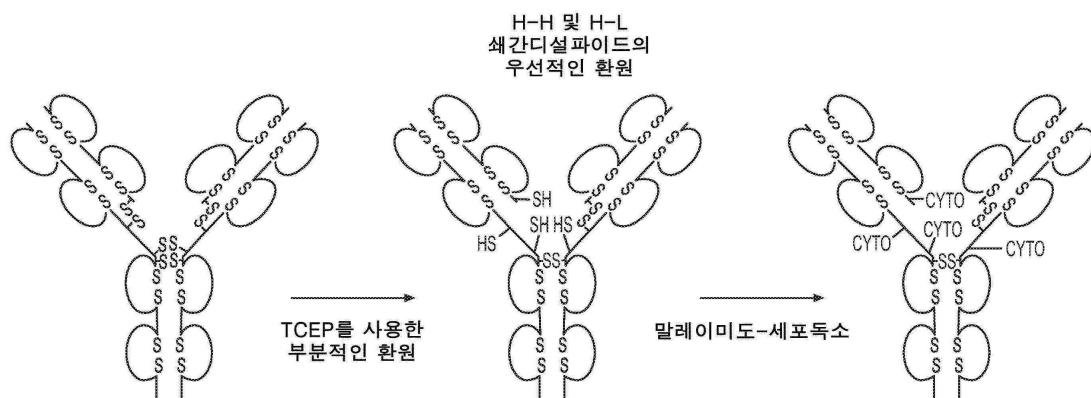
전체 청구항 수 : 총 5 항

심사관 : 나영국

(54) 발명의 명칭 에리불린-기반 항체-약물 콘주게이트 및 사용 방법

(57) 요약

인간 종양학 항원 표적 예컨대 폴레이트 수용체 알파에 결합하고/하거나 항-튜불린 약물 활성을 제공하는 링커 독소 및 항체-약물 콘주게이트가 개시된다. 링커 독소 및 항체-약물 콘주게이트는 에리불린 약물 모이어티를 포함하고 및 표적 항원-발현 세포 속으로 내재화될 수 있다. 본 개시내용은 추가로 본 명세서에서 제공된 항체-약물 콘주게이트 투여에 의해 암의 치료에서 사용하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

대표도

(52) CPC특허분류

A61K 47/6803 (2023.08)

A61K 47/6849 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

커스타, 다니엘, 더블유.

미국 01845 매사추세츠주 노스 앤도버 피치트리 레
인 105

후루우치, 케이지

미국 19096 펜실베니아주 윈우드 유닛 101 웨스트
윈우드 로드 1219

리, 정

미국 01810 매사추세츠주 앤도버 링던 서클 이스트
40

메이줌더, 우트팔

미국 01810 매사추세츠주 앤도버 하이 플레인 로드
137

우에나카, 토시미쓰

미국 19382 펜실베니아주 웨스트 체스터 #333
에스. 매트랙 스트리트 890

명세서

청구범위

청구항 1

-L-D를 포함하는 조성물이며, 여기서 D는 에리불린이고; L은 D에 공유적으로 부착된 절단가능한 링커이고, 여기서 절단가능한 링커는 Mal-(PEG)_m-Val-Cit-pAB를 포함하고, m은 정수 1 내지 6이고,

상기 Mal (말레이미드)은 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 부착되고, 상기 Mal 내의 질소 원자는 PEG에 부착되어 있고,

상기 pAB (p-아미노벤질옥시카보닐)는 C-35 아민을 통해 에리불린에 부착되어 있고, 상기 pAB 내의 아미노 기는 Cit에 부착되어 있는 것인,

조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, m이 2 내지 5의 정수인, 조성물.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, m이 2, 3 또는 4인 조성물.

청구항 4

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 상기 절단가능한 링커가 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 5

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 상기 Mal이 항체 또는 항원-결합 단편 상의 시스테인 잔기에 부착되는 것인, 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본원은 하기에 우선권의 이점을 주장한다: 미국특허 출원 번호 62/302,562 (2016년 3월 2일 출원, 그 전체 내용은 본 명세서에서 참고로 편입됨).

[0002]

본 개시내용은 인간 종양학 항원 표적 예컨대 폴레이트 수용체 알파를 결합시키고/시키거나 항-튜불린 약물 활성을 제공하는 항체 약물 콘주케이트 (ADCs)에 관한 것이다. 본 개시내용은 추가로 튜불린 방해에 의해 폴레이트 수용체 알파를 발현시키고/시키거나 치료를 잘 받아들이는 암의 치료 및 진단에서 유용한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0003]

암은, 2012년에 대략 14 백만 신규한 사례 및 8.2 백만 암-관련된 사망으로, 전세계적인 이환율 및 사망률의 주된 원인 중에 있다. 암 사망의 가장 흔한 원인은 하기의 암이다: 폐 (1.59 백만 사망); 간 (745,000 사망); 위 (723,000 사망); 결장직장 (694,000 사망); 유방 (521,000 사망); 및 식도 (400,000 사망). 신규한 암 사례의 수는, 해마다 대략 22 백만 신규한 암 사례 (World Cancer Report 2014)로, 다음의 20여년 동안 약 70%만큼 오를 것으로 기대된다.

[0004]

미세소관은, 세포내 이동 및 수송, 세포 신호전달, 및 세포 형상의 유지를 포함하는, 다양한 세포 기능에서 관여되는 동적 섬유상 세포골격 단백질이다. 미세소관은 또한 2 딸 세포에 염색체를 격리시키도록 요구된 유사분열 스피나들을 형성함으로써 유사분열 세포 분할에서 중대한 역할을 한다. 모든 세포에서 미세소관의 생물학적 기능은, 미세소관의 양쪽 단부에서 α 및 β 튜불린 이량체의 가역적, 비-공유 첨가에 의해 발생하는, 그것의 중

합 동력학에 의해 대부분 조절된다. 미세소관 길이에 대한 이러한 동적 행동 및 결과적 제어는 유사분열 스픈들의 적절한 기능화에 필수적이다. 심지어 미세소관 동력학의 소수의 변경이 스픈들 체크포인트를 관여시킬 수 있고, 유사분열에서 세포 사이를 진행을 정지시킬 수 있고, 후속적으로 세포 사망으로 이어질 수 있다 (Mukhtar 등. (2014) Mol. Cancer Ther. 13:275-84). 그것의 급속 세포 분할로 인해, 암 세포는 일반적으로, 정상 세포에 비교된 경우, 투불린에 결합하고 그것의 정상 기능을 방해하는 화합물에 더욱 민감성이다. 이러한 이유로, 투불린 억제제 및 다른 미세소관-표적화된 제제는 암의 치료에 대하여 유망한 부류의 약물이 되어 왔다 (Dumont et and Jordan (2010) Nat. Rev. Drug Discov. 9:790-803).

[0005] 폴레이트 수용체 알파 (FRA)는 폴레이트를 결합시키는 글리코포스파티딜이노시톨 (GPI)-연결된 막 단백질이다. 정상 및 암성 조직의 생물학에서 FRA의 역할이 완전하게 이해되지 않는 동안, 하기에서 고도로 과-발현된다: 상피성 기원의 난소 암의 높은 백분율에서 (O'Shannessy 등. (2013) Int. J. Gynecol. Pathol. 32(3):258-68), 뿐만 아니라 비-소 세포 폐 암종의 백분율에서 (Christoph 등. (2014) Clin. Lung Cancer 15(5):320-30). FRA는 또한 정상 조직에서 제한된 발현을 갖는다. 이들 특성은 FRA를 암 면역요법용 매력적인 표적으로 만든다.

[0006] 원종양유전자 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (HER2)는 인간 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 계열에 속하는 막관통 티로신 키나제 수용체를 인코딩한다 (King 등. (1985) Science 229:974-6). HER2의 과발현은 성장 인자 신호전달 경로, 예컨대 PI3K-AKT-mTOR 경로의 구성적 활성화를 가능하게 하고, 그렇게 함으로써, 침습성 유방 암 종의 대략 20%를 포함하는, 몇 개의 유형의 암에서 종양발생 드라이버로서 이용한다 (Slamon 등. (1989) Science 244:707-12; Gajria and Chandarlapaty (2011) Expert Rev. Anticancer Ther. 11:263-75). HER2 증폭이 전환된 표현형을 매개한다는 것을 감안하면, HER2는 암 치료를 위하여 또 다른 유망한 표적이다.

[0007] 본 개시내용은, 부분적으로, 종양 세포에 대한 생물학적 활성을 가진 신규한 화합물을 제공한다. 화합물은 포유동물에서 종양 성장을 억제시킬 수 있고, 인간 암 환자 치료에 유용할 수 있다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0008] 본 개시내용은 더욱 구체적으로 종양 세포 (예를 들면, FRA-발현 종양 세포)를 결합, 내재화, 및 사멸시킬 수 있는 항체-약물 콘주게이트 화합물에 관한 것이다. 항체 모이어티에 약물 모이어티를 부착시키는 링커를 포함하는 항체-약물 콘주게이트 화합물은 개시된다. 항체-약물 콘주게이트 (ADC) 화합물은 식 I에 의해 표시될 수 있다:

[0009] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0010] 여기서 Ab는 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0011] D는 에리불린이고;

[0012] L은 Ab를 D에 공유적으로 부착시키는 절단가능한 링커이고;

[0013] p 는 정수 1 내지 20임.

[0014] 일부 구현예에서, 링커는 세포 외부에서 안정적이어서, 이로써 ADC가 세포외 조건에서 존재한 경우 온전하게 남아있지만 세포, 예를 들면, 암 세포에서 내재화시 절단될 수 있다. 일부 구현예에서, 에리불린 약물 모이어티는 ADC의 항체 모이어티에 대하여 특이적인 항원을 발현시키는 세포에 ADC가 진입하는 경우 항체 모이어티로부터 절단되고, 절단은 에리불린의 미변형된 형태를 방출시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 링커 또는 항체 모이어티의 일부가 절단시 에리불린 약물 모이어티에 결합된 채 남아있지 않도록 배치되는 절단가능한 모이어티를 포함한다.

[0015] 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 절단가능한 펩타이드 모이어티이다. 일부 구현예에서, 절단 가능한 펩타이드 모이어티를 포함하는 ADC는 대안적 절단가능한 모이어티를 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준, 개선된 항체:약물 비, 암 세포의 증가된 정확한 사멸, 비-암 세포의 감소된 부정확한 사멸, 및/또는 더 높은 약물 장입 (p)을 입증한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 모이어티의 첨가는 비-절단가능한 링커에 비해 세포독성 및/또는 효력을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 증가된 효력 및/또는 세포독성은 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원의 중간 정도 수준을 발현시키는 (예를 들면, 중간 정도 FRA 발현) 암에서이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 펩타이드 모이어티는 효소에 의해 절단가능하고, 링커는 효소-절단가능한 링커이다. 일부

구현예에서, 효소는 카텝신이고, 링커는 카텝신-절단가능한 링커이다. 특정 구현예에서, 효소-절단가능한 링커(예를 들면, 카텝신-절단가능한 링커)는, 대안적 절단 기전에 비교된 경우, 상기 언급된 하나 이상의 개선된 특성을 나타낸다.

[0016] 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 발린-시트룰린 (Val-Cit)를 포함한다. 일부 구현예에서, Val-Cit를 포함하는 ADC는 대안적 아미노산 유닛 또는 대안적 절단가능한 모이어티를 포함하는 ADC에 비해 증가된 안정성, 감소된 부정확한 세포 사멸, 증가된 정확한 세포 사멸, 더 낮은 응집 수준, 및/또는 더 높은 약물 장입을 입증한다.

[0017] 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 모이어티에 항체 모이어티를 결합하는 적어도 하나의 스페이서 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티를 포함할 수 있다. PEG 모이어티는, 예를 들어, $-(PEG)_m-$ 를 포함할 수 있고, 여기서 m 은 정수 1 내지 10이다. 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 $(PEG)_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, 더 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_2$)를 포함하는 ADC는 더 짧은 링커 길이에도 불구하고 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_8$)을 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입을 입증한다.

[0018] 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 말레이미드 모이어티 (Mal)을 통해 ADC의 항체 모이어티에 부착한다. 일부 구현예에서, Mal을 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC는 대안적 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC에 비해 더 높은 약물 장입을 입증한다. 일부 구현예에서, 링커에서 Mal은 항체 모이어티에서 시스테인 잔기와 반응성이다. 일부 구현예에서, 링커에서 Mal은 시스테인 잔기를 통해 항체 모이어티에 연결된다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_m$, 예를 들면, Mal-(PEG) $_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 링커에서 절단가능한 모이어티에 항체 모이어티를 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 절단가능한 웨타이드 모이어티, 예를 들면, 아미노산 유닛이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit를 포함한다.

[0019] 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 ADC의 에리불린 약물 모이어티에 직접적으로 연결되고, 절단 가능한 모이어티는 항체 모이어티에 직접적으로 연결되거나 스페이서 유닛을 통해 연결된다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 또한 링커에서 절단가능한 모이어티를 에리불린 약물 모이어티에 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티를 에리불린 약물 모이어티에 부착시키는 스페이서 유닛은 자기-희생적이다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서는 표적 세포에서 미변형된 에리불린을 방출시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질 알코올을 포함한다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)를 포함한다. 링커에서 pAB는, 일부 구현예에서, 절단가능한 모이어티를 에리불린 약물 모이어티에 부착시킨다. 일부 구현예에서, 절단가능한 모이어티는 절단가능한 웨타이드 모이어티, 예를 들면, 아미노산 유닛이다. 일부 구현예에서, 링커는 Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal을 통해 항체 모이어티에 링커를 결합시키는 Val-Cit-pAB 및 PEG 스페이서 유닛을 포함한다.

[0020] 일부 구현예에서, p 는 정수 1 내지 6, 2 내지 5, 또는 바람직하게는, 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p 는 4이다. 일부 구현예에서, ADCs의 풀은 제공되고, 및 풀에서 평균 p 는 약 4 (예를 들면, 3.5-4.5, 예컨대 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit-pAB를 포함하고 p 는 4이다. 일부 구현예에서, ADCs의 풀은 제공되고, 여기서 각각의 ADC는 Mal-(PEG) $_2$ -Val-Cit-pAB 링커를 포함하고, 풀에서 평균 p 는 약 4 (예를 들면, 3.5-4.5, 예컨대 약 3.8)이다.

[0021] 일부 구현예에서, ADC의 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편 (Ab 또는 Ab 모이어티)는 항-플레이트 수용체 알파 (FRA) 항체 또는 내재화 항체 단편이고, FRA-발현 종양 세포를 결합시킬 수 있다 (즉, ADC는 FRA-발현 세포를 표적한다). 일부 구현예에서, 항-FRA Ab 모이어티 및 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함하는 ADC는 비-절단가능한 링커 또는 대안적 절단 기전에 비해 더 낮은 응집 수준, 개선된 항체:약물 비, 암 세포의 증가된 정확한 사멸, 비-암 세포의 감소된 부정확한 사멸, 더 높은 약물 장입 (p), 증가된 세포독성, 및/또는 효력을 입증한다. 일부 구현예에서, 증가된 효력 및/또는 세포독성은 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원의 중간 정도 수준을 발현시키는 (예를 들면, 중간 정도 FRA 발현) 암에서이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 효소에 의해 절단가능하고, 링커는 효소-절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 효소는 카텝신이고, 링커는 카텝신-절단가능한 링커이다. 특정 구현예에서, 효소-절단가능한 링커 (예를 들면, 카텝신-

절단가능한 링커)는, 대안적 절단 기전에 비교된 경우, 상기 언급된 하나 이상의 개선된 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)_m-Val-Cit-pAB이다.

[0022] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 폴레이트 수용체 알파 (FRA)에 결합하고 FRA-발현 종양 세포를 표적한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:2로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:3으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:4로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:7로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:8로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:9로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:13으로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:14로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:15로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:16으로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:17로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:18로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 프레임워크 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 알라닌-히스타딘-리신-아스파르트산 (AHKD) (서열 식별 번호:365)를 포함하는 에피토프에 결합한다 (O' Shannessy 등, (2011) Oncotarget 2:1227-43). 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 NTSQEAHKDVSY (서열 식별 번호:366)을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0023] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 내재화 항-FRA 항체 또는 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:2로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:3으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:4로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:7로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:8로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:9로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:13으로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:14로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:15로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:16으로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:17로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:18로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하고; 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-Pab를 포함하고; p는 4이다. 일부 구현예에서, 그와 같은 ADCs의 풀은 제공되고 p는 약 4 (예를 들면, 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:365를 포함하는 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:366를 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0024] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (her2)에 결합하고 her2-발현 종양 세포를 표적한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:71로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:72로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:73으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:74로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:75로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:76으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:191로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:192로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:193으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:194로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:195로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:196으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 프레임워크 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원

-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.

[0025]

일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 내재화 항-her2 항체 또는 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:71로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:72로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:73으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:74로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:75로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:76으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:191로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:192로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:193으로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:194로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:195로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:196으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하고; 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하고; p 는 4이다. 일부 구현예에서, 그와 같은 ADCs의 풀은 제공되고 p 는 약 4 (예를 들면, 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.

[0026]

일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 메소텔린 (MSLN)에 결합하고 MSLN-발현 종양 세포를 표적한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:65로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:66으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:67로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:68로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:69로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:70으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:185로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:186으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:187로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:188로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:189로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:190으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.

[0027]

일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 내재화 항-MSLN 항체 또는 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하고, 여기서, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:65로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:66으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:67로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 3 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:68로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:69로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:70으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하거나; 또는 여기서, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 중쇄 CDRs는 서열 식별 번호:185로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:186으로 구성되는 중쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:187로 구성되는 중쇄 CDR3을 포함하고; 경쇄 CDRs는 서열 식별 번호:188로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:189로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:190으로 구성되는 경쇄 CDR3을 포함하고; 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하고; p 는 4이다. 일부 구현예에서, 그와 같은 ADCs의 풀은 제공되고 p 는 약 4 (예를 들면, 약 3.8)이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 내재화 항원-결합은 서열 식별 번호:25의 중쇄 가변 도메인 및 서열 식별 번호:26의 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체와 동일한 에피토프를 결합시키고/시키거나 결합에 대하여 경쟁한다.

[0028]

임의의 기재된 ADCs의 다중 카페를 포함하는 조성물은 본 명세서에서 또한 제공되고, 여기서 조성물에서 ADCs의 평균 약물 장입 (평균 p)는 약 3 내지 4, 또는 약 3.5 내지 약 4.5, 또는 약 4이다. 일부 구현예에서, 평균 p 는

약 3.2 내지 3.8이다. 일부 구현예에서, 평균 p 는 약 3.6 내지 4.4이다.

[0029] -L-D를 포함하는 조성물이 본 명세서에서 또한 제공되고, 여기서 D는 에리불린이고; L은 D에 공유적으로 부착하는 절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 에리불린상의 C-35 아민에 공유적으로 부착한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 PEG 스페이서 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함한다.

[0030] ADC 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 캐리어, 및/또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물은 본 명세서에서 추가로 제공된다.

[0031] 본 개시내용의 또 다른 측면은, 예를 들면, 암 치료에서 기재된 ADC 화합물 및 조성물에 대하여 치료 및 진단 용도를 포함한다. 또 다른 측면은 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원, 예컨대 FRA를 발현시키는 암의 치료 방법을 포함한다. 다양한 구현예에서, 기재된 ADCs 중 어느 하나의 치료적 유효량 및/또는 레지멘을 투여 함으로써 종양 세포 또는 암 세포의 증식 억제 또는 사멸 방법은 제공된다. 또 다른 측면은 개시된 ADCs를 사용하여 FRA를 발현시키는 종양 세포 또는 암 세포의 검출 방법, 및 기재된 ADCs로 치료에 반응성일 암 환자용 선별 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 암은 위암, 장액 난소 암, 투명 세포 난소 암, 비-소 세포 폐 암, 결장 직장 암, 삼중 음성 유방 암, 자궁내막 암, 장액 자궁내막 암종, 폐 카르시노이드, 또는 골육종이다. 기재된 ADCs의 생산 방법은 또한 개시된다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은, 특정 구현예에서 개시된 바와 같이, MORAb-003 ADCs를 제조하는데 사용된 방법론 중 하나를 도시한다. 이 접근법에서, 짹짓기되지 않은 시스테인은 비-티올 환원제 TCEP의 제한된 몰 당량으로 부분적 환원을 통해 생성된다. 이 접근법은 힌지 영역에서 2 중쇄 (인간 IgG1의 경우에서 2 쌍 / H-H 짹짓기) 그리고 경쇄 및 중쇄 (1 쌍 / H-L 짹짓기)를 연결하는 쇄간 디설파이드 결합을 우선적으로 환원시키면서, 쇄내 디설파이드 결합을 온전하게 남겨둔다.

도 2는, 특정 구현예에서 개시된 바와 같이, 말레이미드-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린 (mal-(PEG)₂-VCP-에리불린)의 합성 방법을 보여준다.

도 3은 MORAb-003용 환원 조건의 SDS-PAGE 분석을 보여준다. 레인은 도의 우측에 명시된다. 레인 M은 단백질 표준에 상응하고; 레인 1은 미처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 2는 70.6 μ M TCEP에서 환원된 5.3 mg/mL에 상응하고; 레인 3은 141.2 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 5.3 mg/mL에 상응하고; 레인 4는 20 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 1.5 mg/mL에 상응하고; 레인 5는 40 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 1.5 mg/mL에 상응한다. 각각의 밴드의 동일성을 우하측 겸상에 명시된다. “H”는 중쇄를 명시한다. “L”은 경쇄를 명시한다.

도 4는 MORAb-003용 환원 조건의 SDS-PAGE 분석을 도시한다. 레인 1은 단백질 표준에 상응하고; 레인 2는 미처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 3은 1:1의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 4는 1:2의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 5는 1:3의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응하고; 레인 6은 1:4의 MORAb-003:TCEP 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다.

도 5는, M-MMAE (레인 2), M-DM1 (레인 3), M-0026 (레인 4), M-0260 (레인 5), M-0267 (레인 6), M-0272 (레인 7), M-0285 (레인 8), M-0292 (레인 9), M-027-0381 (레인 10), 및 M-0284 (레인 11)을 포함하는, 선택 MORAb-003 ADCs의 비-환원 SDS-PAGE 분석을 도시한다.

도 6A는 MORAb-003-말레이미도-PEG2-Val-Cit-pAB-에리불린 (M3-VCP-에리불린, 또는 “MORAb-202”)의 방관자 세포독성 검정의 결과를 도시한다. 도 6B는 MORAb-003-말레이미도-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB-ER-001150828 (M3-ER-61318)의 방관자 세포독성 검정의 결과를 도시한다. 도 6C는 MORAb-003-PEG-pAB-듀오스타틴 3 (M3-027-0285)의 방관자 세포독성 검정의 결과를 도시한다. 각각의 도 범례에서 도시된 정보는 시험된 세포주:제제 (배양된 세포주/세포주, 1^{번제}/2^{번제} 세포주의 씨딩 밀도)를 제공한다.

도 7A 및 7B는, 특정 구현예에서 개시된 바와 같이, 미콘주게이션된 MORAb-003에 비해 ADCs MORAb-003-VCP-에리불린 (도 7A) 및 MORAb-003-0285 (도 7B)용 약물-대-항체 비 (DAR) 분포를 도시한다. 각각의 피크 위 수는 개별 종의 DAR을 명시한다.

도 8은 IGROV1 또는 SJS-1 세포에서 미콘주게이션된 MORAb-003 (2 μ M)과 MORAb-003-VCP-에리불린의 경쟁 -

세포독성 분석의 결과를 도시한다.

도 9는 10, 20, 40, 또는 80 mg/kg에서 비히클 (PBS), 또는 MORAb-202의 단일 정맥내 용량으로 처리된 CD-1 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 동력학을 도시한다.

도 10은, q4dx3 투약 레지멘 (총 3 용량에 대하여 매 4 일 1회 투여된 용량)에 따라, 0.4, 0.8, 1.6, 또는 3.2 mg/kg에서 PBS로, 또는 에리불린으로 정맥내로 처리된 CD-1 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 동력학을 도시한다.

도 11은 PBS, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-0285의 단일 정맥내 용량으로 처리된 그리고 hNSCLC NCI-H2110 세포로 이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 12는, 일 17에서, hNSCLC NCI-H2110 세포로 이식된 개별 CB17-SCID 마우스의 종양 용적, 뿐만 아니라 그룹 평균 및 SEM을 도시한다. 그룹은 PBS, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-0285의 단일 정맥내 용량으로 처리되었다.

도 13은 PBS, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-0285의 단일 정맥내 용량으로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 동력학을 도시한다.

도 14는, q4dx3 투약 레지멘에 따라, 비히클 (PBS)로, 또는 0.5, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리불린으로 정맥내로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 15는, 일 24에서, 개별 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 종양 용적, 뿐만 아니라 그룹 평균 및 SEM을 도시한다. 그룹은, q4dx3 투약 레지멘에 따라, 비히클 (PBS)로, 또는 0.5, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리불린으로 정맥내로 처리되었다.

도 16은, q4dx3 투약 레지멘에 따라, 비히클 (PBS)로, 또는 0.5, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리불린으로 정맥내로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학을 도시한다.

도 17은, 크리스탈 바이올렛 세포독성 검정에 의해 측정된 바와 같이, IGROV1, OVCAR3, NCI-H2110, A431-A3, 및 SJS-1 세포에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)의 효력을 도시한다.

도 18은 PBS의 단일 정맥내 용량, 또는 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 19A 및 19B는 비히클 (PBS)의 단일 정맥내 용량, 5 mg/kg에서 MORAb-003, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 NSCLC PDx (LXFA-737) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학 (도 19A) 및 체중 변화 동력학 (도 19B)를 도시한다.

도 20A 및 20B는 PBS의 단일 정맥내 용량, 0.1 또는 3.2 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 자궁내막 암 PDx (Endo-12961) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 개별 종양 용적 비 (도 20A) 및 체중 변화 동력학 (도 20B)를 도시한다. 도 20C 및 20D는 PBS의 단일 정맥내 용량, 0.1 또는 3.2 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 자궁내막 암 PDx (Endo-10590) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학 (도 20C) 및 체중 변화 동력학 (도 20D)를 도시한다.

도 21A는 항-인간 IgG 항체를 가진 TNBC PDx (OD-BRE-0631) 종양-보유 마우스에서 종양 조직의 면역조직화학 (IHC) 염색을 도시한다. 비히클의 단일 정맥내 용량 (우), 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202) (좌)로 처리된 마우스로부터 종양 조직은 처리후 5 일 염색되었다. 도 21B는 α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체를 가진 TNBC PDx (OD-BRE-0631) 종양-보유 마우스에서 종양 조직의 IHC 염색을 보여준다. 미처리된 마우스로부터 종양 조직은 처리에 앞서 2 일 수집되었고 (좌), 반면에 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)의 단일 정맥내 용량으로 처리된 마우스로부터 종양 조직은 처리후 5 일 수집되었다 (우). 도 21C는 비히클 (PBS)의 단일 정맥내 용량, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 TNBC PDx (OD-

BRE-0631) 종양-보유 마우스의 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학을 도시한다.

도 22는, 유세포측정 분석에 의해 측정된 경우, 비히클 (PBS 또는 에탄올), 에리불린, MORAb-003, 또는 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리 이후 MKN-74 세포를 가진 배양물에서 인간 골수-간엽 줄기 세포 (BM-MSCs)의 분화를 도시한다. Stro-1⁺/CD105⁺, CD34⁺/CD31⁻, 및 NG2⁺는 MSCs, 지방세포, 및 혈관주위세포, 각각의 마커이다.

도 23은, α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체로 염색된, 비히클 (PBS)의 단일 정맥내 용량, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)로 처리된 NCI-H2110-이식된 CB17-SCID 마우스로부터 종양 조직의 시간 경과 분석을 도시한다. 종양 조직은 수집되었고 일 0에서, 그리고 처리후 일 3, 5, 7 및 9에서 염색되었다. Y-축: % = [카운트된 염색된 세포 / 카운트된 총 세포] * 100. X-축: 일 (카운트된 총 세포).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033]

개시된 조성물 및 방법은, 개시내용의 일부를 형성하는, 수행하는 도와 함께 실시된 하기 상세한 설명을 참고로 더욱 쉽게 이해될 수 있다. 개시된 조성물 및 방법이 본 명세서에서 기재된 및/또는 나타난 특정한 조성물 및 방법에 제한되지 않는다는 것, 그리고 본 명세서에서 사용된 전문용어가 단지 예로써 특정 구현예 기재의 목적을 위한 것이고 청구된 조성물 및 방법의 제한이도록 의도되지 않는 것이 이해되어야 한다.

[0034]

이 본문 전반에 걸쳐, 설명은 조성물 및 상기 조성물의 사용 방법을 참조한다. 본 개시내용이 조성물과 관련된 피쳐 또는 구현예를 기재하거나 청구하는 경우, 그와 같은 피쳐 또는 구현예는 동등하게 상기 조성물의 사용 방법에 적용가능하다. 마찬가지로, 본 개시내용이 조성물의 사용 방법과 관련된 피쳐 또는 구현예를 기재하거나 청구하는 경우, 그와 같은 피쳐 또는 구현예는 동등하게 조성물에 적용가능하다.

[0035]

값의 범위가 표현되는 경우, 그 범위 안에 임의의 특정 값을 사용하는 구현예를 포함한다. 또한, 범위에서 언급된 값 참조는 그 범위 안에 각각의 및 모든 값을 포함한다. 모든 범위는 그것의 종점을 포함하고 조합가능하다. 값이, 선행된 “약”의 사용에 의해, 근사치로서 표현되는 경우, 특정한 값이 또 다른 구현예를 형성한다는 것이 이해될 것이다. 특정 수치 참조는, 문맥이 명확히 달리 지시하지 않는 한, 적어도 그 특정 값을 포함한다. “또는”의 사용은 그것의 사용의 특이적 문맥이 달리 지시하지 않는 한 “및/또는”을 의미할 것이다. 본 명세서에서 인용된 모든 참조는 임의의 목적을 위하여 참고로 편입된다. 참조 및 명세서가 상충하는 경우, 명세서가 지배할 것이다.

[0036]

명백하게 하기 위해, 별개의 구현예의 문맥에서 본 명세서에서 기재되는, 개시된 조성물 및 방법의 특정 피쳐가 또한 단일 구현예에서 조합으로 제공될 수 있다는 것이 인정되어야 한다. 반대로, 간결하게 하기 위해, 단일 구현예의 문맥에서 기재되는 개시된 조성물 및 방법의 다양한 피쳐는 또한 별도로 또는 임의의 하위조합으로 제공될 수 있다.

[0037]

정의

[0038]

설명의 측면에 관한 다양한 용어는 명세서 및 청구항 전반에 걸쳐 사용된다. 그와 같은 용어는 달리 나타내지 않는 한 당해 분야에서 그것의 통상적인 의미로 주어져야 한다. 다른 구체적으로 정의된 용어는 본 명세서에서 제공된 정의와 일치하는 방식으로 해석되어야 한다.

[0039]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, 단수 형태 “한”, “하나”, 및 “그”는 문맥이 명확히 달리 지시하지 않는 한 복수 형태를 포함한다.

[0040]

수치 및 범위의 문맥에서 용어 “약” 또는 “대략”은, 본 명세서에서 함유된 교시로부터 숙련가에 분명한 바와 같이, 구현예가 의도된, 예컨대 반응 혼합물에서 혼산 또는 폴리펩타이드의 원하는 양을 갖는 것으로 수행할 수 있는 정도로 인용된 값 또는 범위에 가까운 또는 근사하는 값 또는 범위를 지칭한다. 이것은, 적어도 부분적으로, 혼산 조성물, 연령, 인종, 성별, 해부적 및 생리적 변화 그리고 생물학적 시스템의 부정확성의 다양한 특성 때문이다. 따라서, 이를 용어는 시스템 오차에서 비롯하는 것을 넘는 값을 포함한다.

[0041]

용어 “항체-약물 콘주케이트”, “항체 콘주케이트”, “콘주케이트”, “면역접합체”, 및 “ADC”는 상호교환적으로 사용되고, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체)에 연결되는 그리고 일반식에 의해 정의되는 화합물 또는 이의 유도체를 지칭한다: $Ab-(L-D)_p$ (식 I), 여기서 Ab = 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편), L = 링커 모이어티, D = 약물 모이어티, 및 p = 항체 모이어티당 약물 모이어티의 수.

- [0042] 용어 "항체"는 면역글로불린 분자의 가변 영역 안에 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 표적, 예컨대 단백질, 폴리펩타이드, 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 또는 전술한 것의 조합에 특이적으로 결합하고 인식하는 면역글로불린 분자를 지칭하기 위해 가장 넓은 의미로 사용된다. 항체의 중쇄는 중쇄 가변 도메인 (V_H) 및 중쇄 불변 영역 (C_H)로 구성된다. 경쇄는 경쇄 가변 도메인 (V_L) 및 경쇄 불변 도메인 (C_L)로 구성된다. 본원의 목적을 위하여, 성숙한 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 각각은 N-말단으로부터 C-말단까지 배열된 4 프레임워크 영역 (FR1, FR2, FR3 및 FR4) 안에 3 상보성 결정 영역 (CDR1, CDR2 및 CDR3)을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4. "항체", 예컨대 종래의 하이브리도마 기술에 의해 생산된 단클론성 항체는 자연 발생일 수 있거나 인공일 수 있다. 용어 "항체"는 전장 단클론성 항체 및 전장 다클론성 항체, 뿐만 아니라 항체 단편 예컨대 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, 및 단일 쇄 항체를 포함한다. 항체는 면역글로불린의 5 주요 부류 중 어느 하나일 수 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 또는 이의 하위부류 (예를 들면, 아이소타입 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). 용어는, 원하는 생물학적 활성을 입증하는 한, 항원 인식 부위를 함유하는 인간 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체 및 임의의 변형된 면역글로불린 분자를 추가로 포함한다.
- [0043] 용어 "단클론성 항체"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 실질적으로 균질한 항체의 모집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다, 즉, 모집단을 포함하는 개별 항체가 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론성 항체는, 단일 항원성 애피토프에 관하여, 고도로 특이적이다. 그에 반해서, 종래의 (다클론성) 항체 제제는 전형적으로 상이한 애피토프에 관한 (또는 특이적인) 다수의 항체를 포함한다. 변형제 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질한 모집단으로부터 수득된 경우 항체의 특성을 명시하고, 임의의 특정 방법에 의해 항체의 생산을 요구하는 것으로서 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 본 개시내용에 따라 사용될 단클론성 항체는 Kohler 등. (1975) Nature 256:495에 의해 최초 기재된 하이브리도마 방법에 의해 만들어질 수 있거나, 하기에 의해 만들어질 수 있다: 재조합 DNA 방법 (참고, 예를 들면, 미국특허 번호 4,816,567). 단클론성 항체는 또한, 예를 들어 Clackson 등. (1991) Nature 352:624-8, 및 Marks 등. (1991) J. Mol. Biol. 222:581-97에 기재된 기술을 이용하여 파아지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.
- [0044] 본 명세서에서 기재된 단클론성 항체는 구체적으로 "키메라" 항체를 포함하고, 여기에서 중쇄 및/또는 경쇄의 한 부분은 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 또는 특정 종에서 유래된 항체내 상응하는 서열에 상동성이거나 상기와 동일하고, 반면 쇄(들)의 나머지는 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 또는 또 다른 종에서 유래된 항체에서 상응하는 서열에 상동성이거나 상기와 동일하고, 뿐만 아니라, 이들이 표적 항원을 특이적으로 결합시키고/시키거나 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 상기 항체의 단편을 포함한다.
- [0045] 용어 "인간 항체"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 인간에 의해 생산된 항체 또는 인간에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열을 갖는 항체를 지칭한다.
- [0046] 용어 "키메라 항체"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이 2 이상의 종에서 유래되는 항체를 지칭한다. 일부 사례에서, 양쪽 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 원하는 특이성, 친화성, 및 활성을 하나의 종에서 유래된 항체의 가변 영역에 상응하고 반면 불변 영역은 후자 종에서 면역 반응을 최소화하기 위해 또 다른 종 (예를 들면, 인간)에서 유래된 항체에 상동성이다.
- [0047] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "인간화된 항체"는 비-인간 (예를 들면, 젖과) 항체 뿐만 아니라 인간 항체로부터 서열을 함유하는 항체의 형태를 지칭한다. 그와 같은 항체는 비-인간 면역글로불린에서 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 일반적으로, 인간화된 항체는 적어도 하나의, 및 전형적으로 2, 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기에서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변성 루프는 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 (FR) 영역은 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 인간화된 항체는 선택적으로 또한 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 한 부분, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 것이다. 인간화된 항체는, 항체 특이성, 친화성, 및/또는 활성을 개선 및 최적화하기 위해 Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 대체된 비-인간 잔기 안에서, 잔기의 치환에 의해 추가로 변형될 수 있다.
- [0048] 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항원-결합 부분"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체 (예를 들면, FRA)의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항원-결합 단편은 바람직하게는 또한 항원-발현 세포 속으로 내재화하는 능력을 보유한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단편은 또한 면역 효과기 활성을 보유한다. 전장 항체의 단편이 전장 항체의 항원-결합 기능을 수행할 수 있다는 것이 나타났다. 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항원-결합 부분" 안에 포함된 결합 단편의 예는 하기를 포함한다: (i) V_L , V_H , C_L , 및 C_H 도메인으로 구성되는 1가 단편인, Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설파이드 브릿지에 의해 연결되는 경쇄 단편인, Fv 단편.

된 2 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인, $F(ab')_2$ 단편; (iii) V_L 및 C_{H1} 도메인으로 구성되는 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 구성되는 Fv 단편; (v) 단일 가변 도메인, 예를 들면, V_H 도메인을 포함하는, dAb 단편 (참고, 예를 들면, Ward 등. (1989) Nature 341:544-6; 및 Winter 등, WO 90/05144); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR). 게다가, Fv 단편의 2 도메인, V_L 및 V_H 가 별개의 유전자에 의해 코딩되어도, 이들은, 재조합 방법을 이용하여, V_L 및 V_H 영역이 짹짓기하여 (단일 쇄 Fv (scFv)로서 공지된) 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇄로서 만들어지도록 이들을 가능하게 하는 합성 링커에 의해 연결될 수 있다. 참고, 예를 들면, Bird 등. (1988) Science 242:423-6; 및 Huston 등. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-83. 그와 같은 단일 쇄 항체는 또한 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항원-결합 부분" 안에 포함되도록 의도되고, 결합 시 세포 속으로 내재화할 수 있는 결합 단편의 예시적 유형으로서 당해 기술에 공지되어 있다. 참고, 예를 들면, Zhu 등. (2010) 9:2131-41; He 등. (2010) J. Nucl. Med. 51:427-32; 및 Fitting 등. (2015) Mabs 7:390-402. 특정 구현예에서, scFv 분자는 융합 단백질 속으로 편입될 수 있다. 단일 쇄 항체의 다른 형태, 예컨대 디아바디는 또한 포함된다. 디아바디는 V_H 및 V_L 도메인이 단일 폴리펩타이드 쇄에서 발현되는 2가, 이중특이적 항체이지만, 동일한 쇄에서 2 도메인 사이 짹짓기를 허용하기에 너무 짧은 링커를 사용하고, 그렇게 함으로써 상기 도메인을 또 다른 쇄의 상보적 도메인과 강제로 짹짓기시키고 2 항원 결합 부위를 창출한다 (참조 예를 들면, Holliger 등. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-8; 및 Poljak 등. (1994) Structure 2:1121-3). 항원-결합 단편은 당해 분야의 숙련가에 공지된 종래의 기술을 사용하여 수득되고, 결합 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성 (예를 들면, 결합 친화성, 내재화)을 위하여 선별된다. 항원-결합 단편은 온전한 단백질의 절단에 의해, 예를 들면, 프로테아제 또는 화학 절단에 의해 제조될 수 있다.

[0049]

항체 또는 항원-결합 단편과 관련하여 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "내재화"는 세포에, 바람직하게는 세포에서 분해적 구획 속에 결합시 내부 구획에 (즉, "내재화된") 세포의 지질 이중층 막을 통해 취득될 수 있는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다. 예를 들어, 내재화 항-FRA 항체는 세포 막에서 FRA에 결합 후 세포 속으로 취득될 수 있는 것이다.

[0050]

용어 "플레이트 수용체 알파" 또는 "FRA"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 인간 FRA의 임의의 원상태 형태를 지칭한다. 용어는 하기를 포함한다: 전장 FRA (예를 들면, NCBI 참조 서열:NP_000793; 서열 식별 번호:19), 뿐만 아니라 세포 가공에서 비롯하는 인간 FRA의 임의의 형태. 용어는 또한, 비제한적으로 스플라이스 변이체, 대립유전자 변이체, 및 동형체를 포함하는, FRA의 자연 발생 변이체를 포함한다. FRA는 인간으로부터 단리될 수 있거나, 재조합으로 또는 합성 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0051]

용어 "항-FRA 항체" 또는 "FRA를 특이적으로 결합시키는 항체"는 FRA를 특이적으로 결합시키는 항체 또는 이의 단편의 임의의 형태를 지칭하고, 이들이 FRA를 특이적으로 결합하는 한 (전장 단클론성 항체를 포함하는) 단클론성 항체, 다클론성 항체, 및 생물학적으로 기능성 항체 단편을 포함한다. 바람직하게는 본 명세서에서 개시된 ADCs에서 사용된 항-FRA 항체는 내재화 항체 또는 내재화 항체 단편이다. MORAb-003은 예시적 내재화 항-인간 FRA 항체이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "특이적", "특이적으로 결합한다", 및 "결합한다 특이적으로"는 표적 항원 애피토프에 항체의 선택적 결합을 지칭한다. 항체는 주어진 세트의 조건 하에 무관한 항원 또는 항원 혼합물에 결합과 적절한 항원에 결합을 비교함으로써 결합의 특이성에 대하여 시험될 수 있다. 항체가 무관한 항원 또는 항원 혼합물보다 적어도 2, 5, 7, 및 바람직하게는 10배 더 친화성으로 적절한 항원에 결합하면, 특이적인 것으로 간주된다. 일 구현예에서, 특이적 항체는 FRA 항원을 단지 결합시키지만, 다른 항원에 결합하지 않는 (또는 최소 결합을 나타내는) 것이다.

[0052]

용어 "인간 표피 성장 인자 수용체 2", "her2", 또는 "her2/neu"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 인간 her2의 임의의 원상태 형태를 지칭한다. 용어는 하기를 포함한다: 전장 her2 (예를 들면, NCBI 참조 서열:NP_004439.2; 서열 식별 번호:21), 뿐만 아니라 세포 가공에서 비롯하는 인간 her2의 임의의 형태. 용어는 또한, 비제한적으로 스플라이스 변이체, 대립유전자 변이체, 및 동형체를 포함하는, her2의 자연 발생 변이체를 포함한다. Her2는 인간으로부터 단리될 수 있거나, 재조합으로 또는 합성 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0053]

용어 "항-her2 항체" 또는 "her2를 특이적으로 결합시키는 항체"는 her2를 특이적으로 결합시키는 항체 또는 이의 단편의 임의의 형태를 지칭하고, 이들이 her2를 특이적으로 결합시키는 한 (전장 단클론성 항체를 포함하는) 단클론성 항체, 다클론성 항체, 및 생물학적으로 기능성 항체 단편을 포함한다. 미국특허 번호 5,821,337 (본 명세서에서 참고로 편입됨)은, 예시적 항-her2 항체 서열을 포함하는, 예시적 her2-결합 서열을 제공한다. 바람직하게는 본 명세서에서 개시된 ADCs에서 사용된 항-her2 항체는 내재화 항체 또는 내재화 항체 단편이다.

트라스투주맙은 예시적 내재화 항-인간 her2 항체이다.

- [0054] 용어 “에피토프”는 항체에 의해 구체적으로 결합될 수 있고 인식될 수 있는 항원의 부분을 지칭한다. 항원이 폴리펩타이드인 경우, 에피토프는 폴리펩타이드의 3차 폴딩에 의해 나란히 놓인 인접 아미노산 또는 비인접 아미노산으로부터 형성될 수 있다. 항체에 의해 결합된 에피토프는, 항원-항체 복합체의 직접적인 가시화에 의한 에피토프 확인용 X-선 결정학, 뿐만 아니라 단편에 항체의 모니터링 결합 또는 항원의 돌연변이된 변화, 또는 항체 및 항원의 상이한 부분의 모니터링 용매 접근성을 포함하는, 당해 분야에서 공지된 임의의 에피토프 맵핑 기술을 사용하여 확인될 수 있다. 항체 에피토프를 맵핑하는데 사용된 예시적 전략은, 비제한적으로, 어레이-기반 올리고-펩타이드 스캐닝, 제한된 단백질분해, 부위 지향적 돌연변이유발, 고-처리량 돌연변이유발 맵핑, 수소-중수소 교환, 및 질량 분광분석법을 포함한다 (참조, 예를 들면, Gershoni 등. (2007) 21:145-56; 및 Hager-Braun and Tomer (2005) Expert Rev. Proteomics 2:745-56).
- [0055] 경쟁적 결합 및 에피토프 결합은 또한 동일한 또는 중첩 에피토프를 공유하는 항체를 결정하는데 사용될 수 있다. 경쟁적 결합은 교차-차단 검정, 예컨대 하기에서 기재된 검정을 사용하여 평가될 수 있다: “Antibodies, A Laboratory Manual,” Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow and Lane (1st edition 1988, 2nd edition 2014). 일부 구현예에서, 경쟁적 결합은 시험 항체 또는 결합 단백질이 표적 항원 예컨대 FRA 또는 her2에 참조 항체 또는 결합 단백질 (예를 들면, 표 2, 4, 및 6에서 확인된 것으로부터 선택된 CDRs 및/또는 가변 도메인을 포함하는 결합 단백질)의 결합을 교차-차단 검정에서 적어도 약 50% (예를 들면, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 99.5%, 또는 초과, 또는 그사이 임의의 백분율)만큼 감소하는 경우, 및/또는 그 반대인 경우 확인된다. 일부 구현예에서, 경쟁적 결합은 공유된 또는 유사한 (예를 들면, 부분적으로 중첩) 에피토프 때문일 수 있거나, 항체 또는 결합 단백질이 근처 에피토프에서 결합하는 입체 장애 때문일 수 있다. 참조, 예를 들면, Tzartos, Methods in Molecular Biology (Morris, ed. (1998) vol. 66, pp. 55-66). 일부 구현예에서, 경쟁적 결합은 유사한 에피토프를 공유하는 결합 단백질의 그룹을 분류하는데 사용될 수 있고, 예를 들면, 결합에 대하여 경쟁하는 것은 중첩 또는 근처 에피토프를 갖는 결합 단백질의 그룹으로서 “비닝” 될 수 있고, 반면 경쟁하지 않는 것은 중첩 또는 근처 에피토프를 갖지 않는 결합 단백질의 별개의 그룹에서 배치된다.
- [0056] 용어 “ k_{on} ” 또는 “ k_a ”는 항체/항원 복합체를 형성하기 위해 항원에 항체의 회합용 온 속도 상수를 지칭한다. 속도는 표준 검정, 예컨대 Biacore 또는 ELISA 검정을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0057] 용어 “ k_{off} ” 또는 “ k_d ”는 항체/항원 복합체로부터 항체의 해리용 오프 속도 상수를 지칭한다. 속도는 표준 검정, 예컨대 Biacore 또는 ELISA 검정을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0058] 용어 “ K_D ”는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭한다. K_D 는 k_a/k_d 에 의해 계산된다. 속도는 표준 검정, 예컨대 Biacore 또는 ELISA 검정을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0059] 용어 “ p ” 또는 “항체:약물 비” 또는 “약물-대-항체 비” 또는 “DAR”은 항체 모이어티당 약물 모이어티의 수, 즉, 약물 장입, 또는 식 I의 ADCs에서 항체 또는 항원-결합 단편 (Ab)당 -L-D 모이어티의 수를 지칭한다. 식 I의 ADCs의 다중 카페를 포함하는 조성물에서, “ p ”는, 또한 평균 약물 장입으로서 지칭된, 항체 또는 항원-결합 단편당 -L-D 모이어티의 평균 수를 지칭한다.
- [0060] “링커” 또는 “링커 모이어티”는, 또 다른 모이어티 예컨대 항체 모이어티에, 화합물을 공유적으로 결합할 수 있는 임의의 화학 모이어티, 일반적으로 약물 모이어티 예컨대 화학치료제이다. 링커는, 화합물 또는 항체가 활성이 남아있는 조건에서, 산-유도된 절단, 펩티다제-유도된 절단, 광-기반된 절단, 에스테라제-유도된 절단, 및/또는 디설파이드 결합 절단에 민감성일 수 있거나 실질적으로 저항성일 수 있다.
- [0061] 용어 “제제”는 화학 화합물, 화학 화합물의 혼합물, 생물학적 거대분자, 또는 생물학적 물질로부터 만들어진 추출물을 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 용어 “치료제”, “약물”, 또는 “약물 모이어티”는 생물학적 공정을 조절할 수 있는 및/또는 생물학적 활성을 갖는 제제를 지칭한다.
- [0062] 용어 “화학치료제” 또는 “항-암 제제”는 작용 기전과 무관하게 암 치료에 효과적인 모든 화학 화합물을 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 전이 또는 혈관신생의 억제는 빈번하게 화학치료제의 특성이다. 화학치료제의 비-제한 예는 하기를 포함한다: 알킬화제, 예를 들어, 질소 머스타드, 에틸렌이민 화합물, 및 알킬 설포네이트; 항대사물질, 예를 들어, 엽산, 퓨린 또는 피리미딘 길항제; 항-유사분열 제제, 예를 들어, 항-튜불린 제제 예컨대 에리불린 또는 에리불린 메실레이트 (Halaven™) 또는 이의 유도체, 빈카 알카로이드, 및 아우리스타틴; 세포독성 항생제; DNA 발현 또는 복제를 손상시키거나 방해하는 화합물, 예를 들어, DNA 춥은 흄 결합제; 및 성

장 인자 수용체 길항제. 게다가, 화학치료제는 항체, 생물학적 분자, 및 소 분자를 포함한다. 화학치료제는 세포 독성제 또는 세포증식억제제일 수 있다. 용어 “세포증식억제제”는 세포 성장 및/또는 세포의 증배를 억제 또는 억압시키는 제제를 지칭한다.

[0063] 용어 “세포독성 약물”은 세포의 발현 활성 및/또는 기능화를 주로 방해함으로써 세포사를 야기시키는 서브스턴스를 지칭한다. 세포독성 약물의 예는, 비체한적으로, 하기를 포함한다: 항-유사분열 제제, 예컨대 에리불린, 아우리스타틴 (예를 들면, 모노메틸 아우리스타틴 E (MMAE), 모노메틸 아우리스타틴 F (MMAF)), 메이탄시노이드 (예를 들면, 메이탄신), 돌라스타틴, 듀오스타틴, 크립토파이신, 빈카 알카로이드 (예를 들면, 빈크리스틴, 빈 블라스틴), 탁산, 탁솔, 및 콜히친; 안트라사이클린 (예를 들면, 다우노루비신, 독소루비신, 디하이드록시안트라신디온); 세포독성 항생제 (예를 들면, 미토마이신, 악티노마이신, 듀오카르마이신 (예를 들면, CC-1065), 아우로마이신, 듀오마이신, 칼리키아마이신, 엔도마이신, 페노마이신); 알킬화제 (예를 들면, 시스플라틴); 개재 물질 (예를 들면, 에티듐 브로마이드); 토포이소머라제 억제제 (예를 들면, 에토포시드, 테노포사이드); 방사선 동위원소, 예컨대 At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹² 또는²¹³, P³², 및 루테튬의 방사성 동위원소 (예를 들면, Lu¹⁷⁷); 및 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 독소 (예를 들면, 리신 (예를 들면, 리신 A-쇄), 디프테리아 독소, 슈도모나스 외독소 A (예를 들면, PE40), 내독소, 마이토겔린, 콤브레스타틴, 레스트릭토신, 젤로닌, 알파-사르신, 아브린 (예를 들면, 아브린 A-쇄), 모덱신 (예를 들면, 모덱신 A-쇄), 큐리신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 글루코코르티코이드).

[0064] 용어 “에리불린”은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 해양 스펜지 할리콘드리아 오카다이스로부터 본래 단리된 거대환형 화합물인, 할리콘드린 B의 합성 유사체를 지칭한다. 용어 “에리불린 약물 모이어티”는 에리불린의 구조를 갖는 ADC의 성분을 지칭하고, 그것의 C-35 아민을 통해 ADC의 링커에 부착된다. 에리불린은, 유사분열 스펜들 어셈블리를 억제시킴으로써 G2/M 상에서 세포 사이를 정지를 유도하고 투불린을 결합시킨다고 생각되는, 미세소관 동력학 억제제이다. 용어 “에리불린 메실레이트”은 상표명 Halaven™하에 시판되는, 에리불린의 메실레이트 염을 지칭한다.

[0065] 용어 “동족체”는, 예를 들어, 상응하는 위치에서 동일한 또는 유사한 것인 화학 잔기의 서열을 가짐으로써, 또 다른 분자에 상동성을 나타내는 분자를 지칭한다.

[0066] 용어 “억제한다” 또는 “의 억제”는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 측정가능한 양에 의해 감소하는 것을 의미하고, 완전한 예방 또는 억제를 포함할 수 있지만 요구하지 않는다.

[0067] 용어 “표적-음성” 또는 “표적 항원-음성”은 세포 또는 조직에 의한 표적 항원 발현의 부재를 지칭한다. 용어 “표적-양성” 또는 “표적 항원-양성”은 표적 항원 발현의 존재를 지칭한다. 예를 들어, 표적 항원을 발현시키지 않는 세포 또는 세포주는 표적-음성으로서 기재될 수 있고, 반면에 표적 항원을 발현시키는 세포 또는 세포주는 표적-양성으로서 기재될 수 있다.

[0068] 용어 “방관자 사멸” 또는 “방관자 효과”는 표적-양성 세포의 존재 하에 표적-음성 세포의 사멸을 지칭하고, 여기서 표적-음성 세포의 사멸은 표적-양성 세포의 부재 하에 관측되지 않는다. 세포-대-세포 접촉, 또는 적어도 표적-양성과 표적-음성 세포 사이 근접은 방관자 사멸을 가능하게 한다. 이러한 유형의 사멸은, 표적-음성 세포의 무차별적인 사멸을 지칭하는, “부정확한 사멸”과 구별할 수 있다. “부정확한 사멸”은 표적-양성 세포의 부재 하에 관측될 수 있다.

[0069] 용어 “암”은 세포의 모집단이 조절되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서 생리적 병태를 지칭한다. 암의 예는, 비체한적으로, 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병을 포함한다. 상기 암의 더욱 특정한 예는 하기를 포함한다: 편평상피 세포 암, 소 세포 폐 암, 비소 세포 폐 암, 폐의 선암종, 폐의 편평상피 암종, 복막의 암, 간세포 암, 위장 암, 췌장 암, 교모세포종, 자궁경부 암, 난소 암, 간 암, 방광 암, 간종양, 유방 암 (예를 들면, 삼중 음성 유방 암), 골육종, 흑색종, 결장 암, 결장직장 암, 자궁내막 (예를 들면, 장액) 또는 자궁 암, 타액샘 암종, 신장 암, 간 암, 전립선 암, 외음부 암, 갑상선 암, 간 암종, 및 다양한 유형의 두경부 암. 삼중 음성 유방 암은 에스트로겐 수용체 (ER), 프로게스테론 수용체 (PR), 또는 Her2/neu용 유전자의 발현에 대하여 음성인 유방 암을 지칭한다.

[0070] 용어 “종양” 및 “신생물”은, 전암성 병변을 포함하는, 어느 한쪽 양성 또는 악성인, 과도한 세포 성장 또는 증식에서 비롯하는 조직의 임의의 덩어리를 지칭한다.

[0071] 용어 “암 세포” 및 “종양 세포”는, 양쪽 비-종양형성 세포 및 암 줄기 세포를 포함하는, 종양에서 유래된

세포의 총 모집단 또는 개별 세포를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 “종양 세포”는 암 줄기 세포로부터 그들 종양 세포를 식별하기 위해 재개 및 분화하는 수용력이 부족한 그들 종양 세포를 단독으로 지칭하는 경우 용어 “비-종양형성”에 의해 변형될 것이다.

[0072] 용어 “대상체” 및 “환자”는, 임의의 동물, 예컨대, 비체한적으로, 인간, 비-인간 영장류, 설치류, 및 기타를 포함하는, 임의의 포유동물을 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. 일부 구현예에서, 포유동물은 마우스이다. 일부 구현예에서, 포유동물은 인간이다.

[0073] 용어 “공-투여” 또는 하나 이상의 치료제”와 조합으로” 투여는 임의의 순서로 동반 및 연속 투여를 포함한다.

[0074] “약제학적 조성물”은 투여를 허용하고 후속적으로 활성 성분(들)의 의도된 생물학적 활성을 제공하기 위한 및 /또는 치료 효과를 달성하기 위한 그와 같은 형태인, 그리고 제형이 투여될 대상체에 허용불가능한 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다. 약제학적 조성물은 멸균될 수 있다.

[0075] “약제학적 부형제”는 물질 예컨대 아쥬반트, 캐리어, pH-조정제 및 완충제, 긴장성 조정제, 습윤제, 보존제, 및 기타를 포함한다.

[0076] “약제학적으로 허용가능한”은 연방 또는 주 정부의 관리 기관에 의해 승인된 또는 승인가능한, 또는 하기에서 열거된 것을 의미한다: 미국약전 또는 다른 일반적으로 인식된 약전, 동물에서, 및 더 상세하게는 인간에서 사용을 위하여.

[0077] 본 명세서에서 개시된 바와 같이 ADC의 “유효량”은 구체적으로 언급된 목적을 수행하는데, 예를 들어 투여후 치료 효과, 예컨대 종양 성장 속도 또는 종양 용적에서 감소, 암의 증상, 또는 치료 효능의 일부 다른 증상에서 감소를 생산하는데 충분한 양이다. 유효량은 언급된 목적에 관하여 일상적인 방식으로 결정될 수 있다. 용어 “치료적 유효량”은 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는데 효과적인 ADC의 양을 지칭한다. 암의 사례에서, ADC의 치료적 유효량은 암 세포의 수를 감소시킬 수 있고, 종양 크기를 감소시킬 수 있고, 종양 전이를 억제 (예를 들면, 저속화 또는 중지)시킬 수 있고, 종양 성장을 억제 (예를 들면, 저속화 또는 중지)시킬 수 있고/있거나, 하나 이상의 증상을 완화시킬 수 있다. “예방적 유효량”은, 원하는 예방적 결과를 달성하기 위해, 필요한 기간 동안 그리고 투약량에서, 효과적인 양을 지칭한다. 전형적으로, 예방적 용량이 질환에 앞서 또는 질환의 초기 단계에서 대상체에 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 더 적을 것이다.

[0078] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, “치료하기 위한” 또는 “치료” 및 문법적으로 관련 용어는 질환의 임의의 결과의 임의의 개선, 예컨대 장기적인 생존, 더 적은 이환율, 및/또는 대안적인 치료 양식의 부산물인 부작용의 축소를 지칭한다. 당해 분야에서 쉽게 인정되는 바와 같이, 질환의 전체 박멸은 바람직할지라도 치료 행위를 위한 요건은 아니다. “치료” 또는 “치료한다”는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 대상체, 예를 들면, 환자에 기재된 ADC의 투여를 지칭한다. 치료는 장애, 장애의 증상 또는 장애를 향한 소인, 예를 들면, 암을 치유, 힐링, 경감, 완화, 변경, 구제, 호전, 일시적 완화, 개선 또는 영향을 주기 위한 것일 수 있다.

[0079] 일부 구현예에서, 표지된 ADC는 사용된다. 적합한 “표지”는 방사선핵종, 효소, 기질, 보조인자, 억제제, 형광모이어티, 화학발광 모이어티, 자기 입자, 및 기타를 포함한다.

[0080] “단백질”은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 적어도 2 공유적으로 부착된 아미노산을 의미한다. 상기 용어는 폴리펩타이드, 올리고펩타이드, 및 펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 2 이상 공유적으로 부착된 아미노산은 펩타이드 결합에 의해 부착된다. 단백질은, 예를 들어 단백질이 발현 시스템 및 숙주 세포를 사용하여 재조합으로 만들어지는 경우 자연 발생 아미노산 및 펩타이드 결합으로 구성될 수 있다. 대안적으로, 단백질은 합성 아미노산 (예를 들면, 호모페닐알라닌, 시트룰린, 오르니틴, 및 노르류신), 또는 펩타이드모사체 구조, 즉, “펩타이드 또는 단백질 유사체,” 예컨대 펩토이드를 포함할 수 있다. 펩토이드는, 측쇄가 (이들이 아미노산에서 처럼) α -탄소 보다는, 펩타이드 골격의 질소 원자에 첨부되는 펩타이드모사체의 예시적 부류이고, 펩타이드에 비교하여 상이한 수소 결합 및 형태적 특징을 갖는다 (참고, 예를 들면, Simon 등. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9367). 이와 같이, 펩토이드는 단백질분해 또는 다른 생리적 또는 보관 조건에 저항성, 그리고 세포 막 침투에 효과적일 수 있다. 그와 같은 합성 아미노산은 특히 항체가 당해 분야에서 잘 알려진 종래의 방법에 의해 시험관내 합성되는 경우 편입될 수 있다. 게다가, 펩타이드모사체, 합성 및 자연 발생 잔기/구조의 임의의 조합은 사용될 수 있다. “아미노산”은 또한 아미노 산 잔기, 예컨대 프롤린 및 하이드록시프롤린을 포함한다. 아미노산 “R 기” 또는 “측쇄”는 어느 한쪽으로 (L)- 또는 (S)-배치형태일 수 있다. 특이적 구현예에서, 아미노산은 (L)- 또는 (S)-배치형태이다.

- [0081] "재조합 단백질"은 당해 분야에서 공지된 임의의 기술 및 방법을 사용하는 재조합 기술을 사용하여, 즉, 재조합 핵산의 발현을 통해 만들어진 단백질이다. 재조합 단백질의 생산 방법 및 기술은 당해 기술에 공지되어 있다.
- [0082] "단리된" 단백질은 그것의 천연 상태에서 정상적으로 관련되는 것을 가진, 예를 들어 주어진 샘플에서 총 단백질의 적어도 약 5%, 또는 적어도 약 50중량 %를 구성하는 물질의 적어도 일부에 의해 동반되지 않는다. 단리된 단백질이 상황에 의존하여 총 단백질 함량의 5 내지 99.9중량 %를 구성할 수 있다는 것이 이해된다. 예를 들어, 단백질은 유도성 프로모터 또는 고 발현 프로모터의 사용을 통해 상당히 더 높은 농도에서 만들어질 수 있어서, 이로써 단백질은 증가된 농도 수준에서 만들어진다. 상기 정의는 당해 기술에 공지되어 있는 다양한 유기체 및/ 또는 숙주 세포에서 항체의 생산을 포함한다.
- [0083] 아미노산 서열에 대하여, 서열 동일성 및/또는 유사성은, 비제한적으로, 하기를 포함하는, 당해 분야에서 공지된 표준 기술을 사용하여 결정될 수 있다: 하기의 국부 서열 동일성 알고리즘: Smith and Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482, Needleman and Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443의 서열 동일성 정렬 알고리즘, Pearson and Lipman (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444의 유사성 검색 방법, 이를 알고리즘 (GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.)의 컴퓨터화된 실행, 하기에 의해 기재된 최적 서열 프로그램: Devereux 등. (1984) *Nucl. Acid Res.* 12:387-95, 바람직하게는 디폴트 설정을 사용하여, 또는 점검에 의해. 바람직하게는, 동일성 퍼센트는 하기 파라미터에 기반하여 FastDB에 의해 계산된다: 미스매치 패널티 1; 캡 패널티 1; 캡 크기 패널티 0.33; 및 연결 패널티 30 ("Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," *Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, pp. 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.).
- [0084] 유용한 알고리즘의 예는 PILEUP이다. PILEUP은 진행성, 쌍별 정렬을 사용하여 관련된 서열의 그룹으로부터 다중 서열 정렬을 창출한다. 정렬을 창출하는데 사용된 클러스터링 관계를 도시하는 트리를 또한 플로팅할 수 있다. PILEUP은 하기의 진행성 정렬 방법의 단순화를 사용하고: Feng & Doolittle (1987) *J. Mol. Evol.* 35:351-60; 상기 방법은 Higgins and Sharp (1989) CABIOS 5:151-3에 의해 기재된 것과 유사하다. 3.00의 디폴트 캡 중량, 0.10의 디폴트 캡 길이 중량, 및 계량된 단부 캡을 포함하는 유용한 PILEUP 파라미터.
- [0085] 유용한 알고리즘의 또 다른 예는, 하기에 기재된, BLAST 알고리즘이다: Altschul 등. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10; Altschul 등. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402; 및 Karin 등. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-87. 특히 유용한 BLAST 프로그램은 Altschul 등. (1996) *Methods in Enzymology* 266:460-80으로부터 수득된 WU-BLAST-2 프로그램이다. WU-BLAST-2는 몇 개의 검색 파라미터를 사용하고, 대부분의 이들은 디폴트 값으로 설정된다. 조정 가능한 파라미터는 하기 값으로 설정된다: 중첩 기간=1, 중첩 분획=0.125, 단어 역치 (T)=II.HSP S 및 HSP S2 파라미터는 동적 값이고 관심 서열이 검색되고 있는 것에 대한 특정한 데이터 베이스의 조성물 및 특정한 서열의 조성물에 의존하여 프로그램 자체에 의해 확립되지만; 그 값은 민감성을 증가시키기 위해 조정될 수 있다.
- [0086] 추가의 유용한 알고리즘은 하기에 의해 보고된 바와 같이 캡핑된 BLAST이다: Altschul 등. (1993) *Nucl. Acids Res.* 25:3389-402. 캡핑된 BLAST는 BLOSUM-62 치환 스코어; 9로 설정된 역치 T 파라미터; 미캡핑된 연장을 유발시키기 위한 2-히트 방법, 10+k의 k a 비용의 전하 캡 길이; 16으로 설정된 Xu, 및 데이터베이스 검색 단계에 대하여 40으로 그리고 알고리즘의 출력 단계에 대하여 67로 설정된 Xg. 캡핑된 정렬은 약 22 비트에 상응하는 스코어에 의해 유발된다.
- [0087] 일반적으로, FRA의 변이체, her2의 변이체, 투불린 서열의 변이체, 및 (개별 변이체 CDRs를 포함하는) 항체 가변 도메인의 변이체를 포함하는, 본 명세서에서 개시된 단백질과 이의 변이체 사이 아미노산 상동성, 유사성, 또는 동일성은 본 명세서에서 묘사된 서열에 적어도 80%이고, 더욱 전형적으로 바람직하게는 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 및 거의 100% 또는 100%의 상동성 또는 동일성을 증가시킨다.
- [0088] 유사한 방식으로, 본 명세서에서 확인된 항체 및 다른 단백질의 핵산 서열에 관하여 "퍼센트 (%) 핵산 서열 동일성"은 항원 결합 단백질의 코딩 서열에서 뉴클레오타이드 잔기와 동일한 후보 서열에서 뉴클레오타이드 잔기의 백분율로서 정의된다. 특이적 방법은, 1 및 0.125, 각각으로 설정된 중첩 기간 및 중첩 분획으로, 디폴트 파라미터로 설정된 WU-BLAST-2의 BLASTN 모듈을 사용한다.
- [0089] 아미노산 서열 변화 도입용 부위 또는 영역이 예정되는 동안, 돌연변이 자체는 예정될 필요가 없다. 예를 들어, 주어진 부위에서 돌연변이의 성능을 최적화하기 위해, 랜덤 돌연변이 유발은 상기 표적 코돈 또는 영역 및 원하는 활성의 최적의 조합을 위하여 선별된 발현된 항원 결합 단백질 CDR 변이체에서 수행될 수 있다. 공지된 서열

을 갖는 DNA내 예정된 부위에서 치환 돌연변이 제조 기술, 예를 들어, MI3 프라이머 돌연변이유발 및 PCR 돌연변이유발은 잘 알려진다.

[0090] 항체-약물 콘주케이트

본 개시내용의 화합물은 항-암 활성을 가진 것을 포함한다. 특히, 화합물은 약물 모이어티에 콘주케이션된 (즉, 링커에 의해 공유적으로 부착된) (이의 항원-결합 단편을 포함하는) 항체 모이어티를 포함하고, 여기서 항체 모이어티에 콘주케이션되지 않은 상기 약물 모이어티는 세포독성 또는 세포증식억제성 효과를 갖는다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 콘주케이트에서 결합된 경우 감소된 또는 무 세포독성을 나타내지만 링커 및 항체 모이어티로부터 절단후 세포독성을 재개한다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 (예를 들면, 비-절단가능한 링커를 사용하는) 콘주케이트에서 결합된 경우 감소된 또는 무 방관자 사멸을 나타내지만 콘주케이트 (예를 들면, 절단가능한 Val-Cit 절단가능한 모이어티를 갖는 콘주케이트)로부터 절단후 증가된 방관자 사멸을 나타낸다.

인간 치료제로서, 예를 들면, 종양 제제로서 사용을 위하여 ADC의 개발 및 생산은 원하는 표적 또는 표적들에 결합할 수 있는 그리고 암을 치료하는데 독자적으로 사용된 약물에 부착할 수 있는 항체의 확인 이상으로 요구할 수 있다. 약물에 항체 연결은 항체 및 약물의 한쪽 또는 양쪽에서 상당한 및 예측할 수 없는 효과를 가질 수 있고, 이 효과는 선택된 링커 및/또는 약물의 유형에 의존하여 다양할 것이다. 일부 구현예에서, 따라서, ADC의 성분은 하기를 하기 위해 선택된다: (i) 단리에서 항체 및 약물 모이어티에 의해 나타난 하나 이상의 치료 특성을 보유하기 위해, (ii) 항체 모이어티의 특이적 결합 특성을 유지하기 위해; (iii) 약물 장입 및 약물-대-항체 비를 최적화하기 위해; (iv) 항체 모이어티에 안정적인 부착을 통해 약물 모이어티의 전달, 예를 들면, 세포내 전달을 허용하기 위해; (v) 표적 부위에 수송 또는 전달까지 온전한 콘주케이트로서 ADC 안정성을 보유하기 위해; (vi) 투여에 앞서 또는 이후 ADC의 응집을 최소화하기 위해; (vii) 세포 환경에서 절단후 약물 모이어티의 치료 효과, 예를 들면, 세포독성 효과를 허용하기 위해; (viii) 단리에서 항체 및 약물 모이어티의 것에 비교할 만한 또는 우월한 생체내 항-암 치료 효능을 나타내기 위해; (ix) 약물 모이어티에 의해 부정확한 사멸을 최소화하기 위해; 및/또는 (x) 바람직한 약동학적 및 약력학 특성, 제형가능성, 및 독물학적/면역적 프로파일을 나타내기 위해. 각각의 이를 특성의 선별은 치료 용도를 위하여 개선된 ADC를 확인하는데 필요할 수 있다 (Ab 등. (2015) Mol. Cancer Ther. 14:1605-13).

다양한 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 ADCs는 상기 열거된 일부 또는 각각의 카테고리에서 예상외로 양호한 특성을 나타낸다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 항체, PEG 스페이서 유닛 (바람직하게는 짧은 PEG 스페이서 유닛), 및/또는 웨타이드 절단가능한 링커 (예를 들면, Val-Cit 링커)에 Mal 부착을 포함하는 ADC 자체물은 놀랍게도 양호한 약물 장입, 응집, 및/또는 안정성 프로파일을 나타내고/내거나, 항체 결합 기능, 약물 활성, 및/또는 개선된 방관자 사멸을 보존하면서, 다른 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커 구조를 사용하는 ADCs에 비교된 경우, 부정확한 사멸을 감소시킨다.

일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003)에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 항체 모이어티에 에리불린을 결합시키는 다른 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커에 비교된 경우, 열거된 카테고리를 거쳐 특히 양호한 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003)에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는 절단불가능한 ADC에 비교된 경우 특히 양호한 방관자 사멸 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 항체 (예를 들면, 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003)에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는 대안적 절단가능한 링커 구조를 사용하는 ADC에 비교된 경우 특히 양호한 방관자 사멸 특성을 나타낸다.

일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 대안적 모이어티 (예를 들면, 석신이미드 모이어티)를 통해 항체에 부착된 링커를 포함하는, ADC에 비해 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비 (즉, 약 3-4의 비)를 나타낸다. 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, (PEG)₈)을 포함하는, ADC에 비해, 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비, 및/또는 더 낮은 응집 수준을 나타낸다. 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 대안적 절단가능한 모이어티 (즉, 비-웨타이드 절단가능한 모이어티, 예컨대 절단가능한 디설파이드 또는 셀론아미드)를 포함하는, ADC에 비해 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비, 더 낮은 응집 수준, 증가된

정확한 사멸, 및/또는 감소된 부정확한 사멸을 입증한다. 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADC는, 예를 들면, 대안적 아미노산 유닛 (예를 들면, Ala-Ala-Asn) 또는 대안적 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 디설파이드 또는 셀폰아미드)를 포함하는, ADC에 비해 증가된 안정성, 증가된 정확한 사멸, 감소된 부정확한 사멸, 더 낮은 응집 수준, 및/또는 더 높은 및 더 바람직한 약물:항체 비를 입증한다.

[0096] 일부 구현예에서, MORAb-003에 에리불린을 결합시키는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커를 포함하는 ADCs에 대하여 상기 기재된 일부 또는 모든 바람직한 피쳐는 항-her2 항체 예컨대 트라스투주맙, 또는 항-메소텔린 항체에 콘주게이션된 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린 링커-독소를 포함하는 ADCs로 판측될 수 있다.

[0097] 본 개시내용의 ADC 화합물은 암 세포에 또는 종양 조직에 세포독성제 또는 세포증식억제제의 효과적인 용량을 선택적으로 전달할 수 있다. 개시된 ADCs가 각각의 표적 항원 (예를 들면, FRA 또는 her2)를 발현시키는 세포에 대한 강력한 세포독성 및/또는 세포증식억제성 활성을 갖는다는 것이 밝혀졌다. 일부 구현예에서, ADC의 세포독성 및/또는 세포증식억제성 활성은 세포에서 표적 항원 발현 수준에 의존적이다. 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는, 저 수준에서 동일한 항원을 발현시키는 암 세포에 비교된 경우, 표적 항원의 고 수준을 발현시키는 암 세포 사멸에 특히 효과적이다. 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는, 저 수준에서 동일한 항원을 발현시키는 암 세포에 비교된 경우, 중간 정도 수준에서 표적 항원을 발현시키는 암 세포 사멸에 특히 효과적이다. 예시적 고 FRA-발현 암은 비제한적으로 난소 암 (예를 들면, 장액 난소 암, 투명 세포 난소 암), 폐 카르시노이드, 삼중 음성 유방 암, 자궁내막 암, 및 비소 세포 폐 암 (예를 들면, 선암종)을 포함한다. 예시적 중간 정도 FRA-발현 암은 비제한적으로 위암 및 결장직장 암을 포함한다. 예시적 저 FRA-발현 암은 비제한적으로 흑색종 및 림프종을 포함한다. 예시적 고 her2-발현 암은 비제한적으로 유방 암, 위 암, 식도 암, 난소 암, 및 자궁내막 암을 포함한다. 예시적 중간 정도 her2-발현 암은 비제한적으로 폐 암 및 방광 암을 포함한다.

[0098] 일부 구현예에서, ADC의 절단은 항체 모이어티 및 링커로부터 에리불린을 방출시킨다. 일부 구현예에서, 절단 및 에리불린의 방출은 ADC의 세포독성을 개선한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커를 포함하는 ADC는, 비-절단가능한 링커를 포함하는 ADC로 비교할만한 치료에 비교된 경우, 방관자 사멸을 포함하는, 암 세포 사멸에 특히 효과적이다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커 (예를 들면, Val-Cit 링커)를 포함하는 ADC는 비-절단가능한 링커 (예를 들면, 비-절단가능한 (PEG)₂ 또는 (PEG)₄ 링커)를 포함하는 ADC에 비해 증가된 정확한 세포 사멸 및/또는 감소된 부정확한 세포 사멸을 입증하고, 특히 여기서 ADC로 처리된 상기 세포 및/또는 암은 표적 항원의 고 수준을 발현시키지 않는다.

[0099] 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는 또한 방관자 사멸 활성, 그러나 낮은 부정확한 세포독성을 입증한다. 이론에 의한 구속됨 없이, ADC의 방관자 사멸 활성은 고체 종양 속으로 그것의 침투가 제한되고/되거나 종양 세포 중에서 표적 항원 발현이 불균질한 경우 특히 유익할 수 있다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커를 포함하는 ADC는 방관자 사멸에 특히 효과적이고/이거나, 비-절단가능한 링커를 포함하는 ADC로 비교할만한 치료에 비교된 경우, 개선된 방관자 사멸 활성을 입증한다.

[0100] 종양 세포를 표적하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 (Ab), 약물 모이어티 (D), 및 Ab를 D에 공유적으로 부착시키는 링커 모이어티 (L)을 포함하는 ADC 화합물은 본 명세서에서 제공된다. 특정 측면에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 고 특이성 및 고 친화도를 가진 종양-관련된 항원 (예를 들면, FRA 또는 her2)에 결합시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들면, 세포에서 분해적 구획 속으로 결합시 표적 세포 속으로 내재화된다. 바람직한 ADCs는 따라서 표적 세포에 결합시 내재화하는, 열화를 경험하는, 그리고 암 세포를 사멸시키기 위해 약물 모이어티를 방출시키는 것이다. 약물 모이어티는 효소 작용, 가수분해, 산화, 또는 임의의 다른 기전에 의해 ADC의 링커 모이어티 및/또는 항체로부터 방출될 수 있다.

[0101] 예시적 ADC는 식 I을 갖는다:

[0102] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0103] 여기서 Ab = 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편), L = 링커 모이어티, D = 약물 모이어티, 및 p = 항체 모이어티당 약물 모이어티의 수.

[0104] 항체

[0105] 식 I의 항체 모이어티 (Ab)는 암 세포에서 표적 항원에 특이적으로 결합하는 그것의 범위 임의의 항체 또는 항

원-결합 단편 안에 포함한다. 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들면, BIAcore® 분석에 의해 측정된 경우, $\leq 1 \text{ mM}$, $\leq 100 \text{ nM}$ 또는 $\leq 10 \text{ nM}$, 또는 그 사이 임의의 양의 해리 상수 (K_D)를 가진 표적 항원에 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, K_D 는 1 pM 내지 500 pM 이다. 일부 구현예에서, K_D 는 500 pM 내지 $1 \mu\text{M}$, $1 \mu\text{M}$ 내지 100 nM , 또는 100 mM 내지 10 nM 이다.

[0106] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는, 2 중쇄 및 2 경쇄를 포함하는, (또한 면역글로불린으로서 지칭된) 4-쇄 항체이다. 일부 구현예에서 항체 모이어티는 면역글로불린의 2-쇄 절반 바디 (1 경쇄 및 1 중쇄), 또는 항원-결합 단편이다.

[0107] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 세포의 표면에서 발현된 표적 암 항원에 결합하고 결합시 세포에 진입한다. 일부 구현예에서, ADC의 약물 모이어티는 ADC가 진입한 후 ADC의 항체 모이어티로부터 방출되고 (즉, ADC가 내재화된 후) 상기 표적 암 항원을 발현시키는 세포에서 존재한다.

[0108] 본 개시내용의 예시적 항체의 아미노산 및 핵산 서열은 표 1-9에서 제시된다.

표 1. 항체

mAb	부류/아이소타입	표적
MORAb-003	인간화된	인간 폴레이트 수용체 알파
MORAb-009	마우스-인간 키메라	인간 메소텔린
트라스투주맙	인간화된	인간 her2/neu
33011-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
33011-zu	인간화된	인간 메소텔린
111B10-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
111B10-zu	인간화된	인간 메소텔린
201C15-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
201C15-zu	인간화된	인간 메소텔린
346C6-xi	토끼-인간 키메라	인간 메소텔린
346C6-zu	인간화된	인간 메소텔린

약어: xi – 키메라; zu – 인간화된.

[0109]

표 2. mAb 가변 영역의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	중쇄	23	EVQLVESGGVVQPGRSRLSCSAGFTFSGYGLSWVRQAPGKGL EWVAMISGGSYTYYADSVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPED TGVYFCARHGDDPAWFAYWQGTPVTVSS
2	MORAb-003	경쇄	24	D1QLTQSPSSLASVGDRVTITCSVSSSISSNNLHWYQQKPGKAP KPWIVGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYFTTISSLQPEDIATYYCQ QWSSYPYMYTFGQGTTKVEIK
3	MORAb-009	중쇄	25	QVQLQQSGPPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSL EWIGLITPYNGASSYNNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSED SAVYFCARGGYDGRGFDYWGSGTPVTVSS
4	MORAb-009	경쇄	26	DIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKR WIYDTSKLASGVPGFRSGSGSGNSYSLTISSVEAEDATYYCQQW SKHPLTFGSGTKVEIK
5	트라스투주맙	중쇄	27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWWGGDFYAMDYWGQGTLVTVSS
6	트라스투주맙	경쇄	28	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTTKVEIK
7	33011-xi	중쇄	29	QSVEESGGLRVTPTPLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKLE YIGIINGGGNTYYASWAKGRFTISKTTVDLK1PTPTEDTATYF CARGIQHGGGNSDYYYYGMDLWGPGLTVTSS
8	33011-xi	경쇄	30	EVLMQTPTPSSVAAVGDTVTIKCQASQSISSVLSWYQQKPGQPPK LLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISDLECDAAATYYCQT NYGTSSNYGFAFGGGTEVVVK
9	33011-zu	중쇄	31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIGSISLSSDAISWVRQAPGKGL EYIGIINGGGNTYYASWAKGRFTISRHNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGIQHGGGNSDYYYYGMDLWGPGLTVTSS
10	33011-zu	경쇄	32	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQSISSVLSWYQQKPGKAPK LLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQCEDIAATYYCQT NYGTSSNYGFAFGGGTKEIK
11	111B10-xi	중쇄	33	QSVEESGGLRVTPTPLTLCTVSGFSLNYYAMSWVRQAPGKLE WIGSISTGGLAFYANWAKGRFTISRTSTTVDLKMTSLTTEDTATY FCGRNGGGSYIFYYFDLWGPGLTVTSS
12	111B10-xi	경쇄	34	AFELTQTPSSVAAVGTTITIKCQASQSISSYLSWYQQKPGQPPK LLIYSASTLASGVSSRFKGSGSGTEYTLTISDLECADAATYFCQS YYDIGTSTFGGGTEVVVK
13	111B10-zu	중쇄	35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLNNYAMSWVRQAPGKGL EWIGSISTGGLAFYANWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARNNGGSYIFYYFDLWGPGLTVTSS
14	111B10-zu	경쇄	36	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPK LLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQCEDIAATYYCQS YYDIGTSTFGGGTTKVEIK
15	201C15-xi	중쇄	37	QSVKESGGGLRVTPTPLTLCTVSGIDLSSYAMGWRQAPGKLE YIGTINIGGRVYVYASWAKGRFTISRTSTTVDLKAPSLTAEDTATY FCARYYNGGSYD1WGPGLTVTSS
16	201C15-xi	경쇄	38	DVVMQTPTPASAEVPGGTVTIKCOASESIYRVLAWYQQKPGQPPK LLIYDTSTLASGAPRFKGSGSGTEFTLTISGVQCEDAAATYYCQGG YYADSYGIAFGGGTEVVVK

17	201C15-zu	중쇄	39	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGIDLSSYAMGWVRQAPGKGL EYIGTINIGGRVYYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARYYNGGSYDIWGQQLTVTVSS
18	201C15-zu	경쇄	40	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASESIYRVLAWYQQKPGKAPK LLIYDTSTLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQCDAAATYYCQG GYYADSYGIAFGGGTKVEIK
19	346C6-xi	중쇄	41	QSVEESGGRLVKPDESLLTCTASGFSLSSYAMIWVRQAPGEGLE WIGTISTGGITYYASWAKGRFTISKTSTTVDLKITPTTEDTATYF CARGGYAASSAYLPYFSDLWGQQLTVTVSS
20	346C6-xi	경쇄	42	AAVLQTQSPVSAAVGGTVTISQSSQS VYNNNNLAWFQQKPGQP PKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDAAATYYC LGGCDDDA DTFAGGGTEVVVK
21	346C6-zu	중쇄	43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAGFSLSSYAMIWVRQAPGKGL EWIGTISTGGITYYASWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGGYAASSAYLPYFSDLWGQQLTVTVSS
22	346C6-zu	경쇄	44	DIQMTQSPSLSASVGDRVTITCQSSQS VYNNNNLAWYQQKPGKV PKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISLQCDAAATYYC LGGCDDDA DTFAGGGTKVEIK

표 3.mAb 가변 영역을 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	중쇄	45	GAGGTCCA ACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGTGTTGTCACCTGGC CGGTCCCTGCGCCTGCTCTGCTCCGCATCTGGCTTACCTTCAGC GGCTATGGTTGCTTGGGTGAGACAGGCACCTGGAAAAGGTCTT GAGTGGTTGCAATGATTAGTAGTGGTGGTAGTTACCTACTAT GAGACAGTGTGAAGGGTAGATTGCAATATGGCAGAGAACGCC AAGAACACATTGTTCTGCAATGGACAGCCTGAGACCCGAAGAC ACGGGGTCTATTTTGTGCAAGACATGGGACGATCCGCCCTGG TTCGCTTATTGGGGCCAAGGGACCCCGTCACCGTCTCCTCA
2	MORAb-003	경쇄	46	GACATCCAGCTGACCCAGAGGCCAACGAGCCTGAGGCCAGCGT GGTACAGAGT GACCATCACCTGTA GTGTCAGCTCAAGTATAAGT TCCAAACAATTCGACTGGTACCGAGCAGAACGGTAAGGCTCCA AAGCCATGGATCTACGGCACATCCAACCTGGCTTCTGGTGTGCCA AGCAGATTCA CGCGTAGCGGTAGCGGTACCGACTACACCTTACCC ATCAGCAGCTCCAGCCAGGGACATCGCCACCTACTACTGCCA CAGTGGAGTAGTTACCGTACATGTACACGTTGCCAAGGGACC AAGGTGAAATCAA
3	MORAb-009	중쇄	47	CAGGTACA ACTGCAGCAGTCTGGGCTGAGCTGGAGAACGCTGGC GCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTCTGGTTACTCATTCACT GGCTACACCATGAACCTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAAGGCCTT GAGTGGATTGGACTTAACTCCTTACAATGGTGTCTAGCTAC AACCCAGAAGTTCA GGGGCAAGGCCACATTAACTGTAGACAAGTCA TCCAGCACAGCCTCATGGACCTCCTCAGTCTGAGATCTGAAGAC TCTGCAGTCTATTTCTGCAAGGGGGTTACGACGGGAGGGT TTGACTACTGGGGATCCGGACCCCGTCACCGTCTCCTCA
4	MORAb-009	경쇄	48	GACATCGAGCTCACTCAGTCTCCAGCAATCATGTCCTGCATCTCCA GGGGAGAAGGTACCATGACCTGCACTGAGCTCAAGTGTAAAGT TACATGCACTGGTACCGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGA TGGATTATGACACATCCAAACTGGCTTCTGGAGTCCCAGGTGCG TTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAAACTCTTACTCTCTACAATCAGC

				AGCGTGGAGGCTGAAGATGATGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGG AGTAAGCACCCCTCACGTTGGATCCGGGACCAAGGTGAAATC AAA
5	33011-xi	중쇄	49	CAGTCGGTGGAGGAGTCGGGGGTGCCCTGGTCACGCCCTGGGACA CCCTGACACTCACCTGCACCGTCTCTGGAATCTCCCTCAGTAGC GATGCAATAAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTCGAA TACATCGGAATCATTATGGTGGTGGTAACACATACTACCGCAGC TGGCGAAAGGCCATTACCATCTCCAAAACCTCGACCACGGTG GATCTAAAATCACCACTGGCACACCGGAGGACACGGCCACCTAT TTCTGTGCCAGAGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGTGATTAT TATTATTACGGCATGGACCTCTGGGCCAGGCACCCCTGGTCACT GTCCTTCA
6	33011-xi	경쇄	50	GAAGTGGTGTGACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCAGCTGTG GGAGACACAGTCACCATCAAGTGCAGGCCAGTCAGAGCATTAGT AGTGTCTGTCTGGTATCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCAAAG CTCCTGATCTATCTGGCATCCACTCTGGCATCTGGGTCCATCG CGGTTCAAGCGGAGTAGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCAC AGGGACCTGGAGTGTGACGATGCTCCACTTACTACTGTCAAAC AATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTTTGCTTCGGCGGA GGGACCGAGGTGGTGTCAA
7	33011-zu	중쇄	51	GAAGTCCAAGTGGGAAAGCGGGGGAGGACTGGTGCAGCCGGC GGATCCCTCCGGCTGTATGTCAGTCAGCAGGAAATTCCCTCTCC TCCGAOGCAGTAGCTGGTCAAGCAGGGCCCCGGAAAGGGGCTG GAGTACATCGGTATCATCAACGGCGCGGAAACACCTACTACGCC TCCCTGGCCAAGGGCCGCTTACCATCTCGCGGCATAATTCCAAG AACACTCTGTACTTGCATTAACACTCCCTGAGGGCCGAGGACACC GCCGTGACTACTCGCGCGCGGCATCCAGCACGGTGGTGGAAAC AGGGACTACTACTATGGGATGGATCTGTGGGCCAGGGAACT CTTGTGACCGTGTGCGTCA
8	33011-zu	경쇄	52	GACATTAGATGCCAGCTCCCAAGCTCGCTGTCGCCCTCCGTG GGCGACCGCGTGCACCATCACGTGCCAGGCCTCCAGTCATTAGC AGCGTGTCTCTGGTACCAACAGAAGCCGGGAAAGCACCCAAAG CTGCTGATCTACTGGGCTCCACTCTGGCCTGGGAGTGCCTTCA CGGTTCTCGGATGGGATCTGGTACTGATTTCACCCCTCACCAC TCGAGCCTTCAGTGCAGGACATCGCTACTTACTATTGTCAAACC AACTACGGAACCTCCAGCTCAACTACGGCTTGCCTCGGTGCC GGGACCAAGGTGCAAATCAA
9	111B10-xi	중쇄	53	CACTCGGTGGAGGAGTCGGGGGTGCCCTGGTCACCCCTGGGACA CCCTGACACTCACCTGCACAGTCTGTGATCTCCCTCAAAC TATGCAATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGAA TGGATCGGATCCATTAGTACTGGTGGTCTCGCATCTACGCCAAC TGGGCAAAGGCCATTACCATCTCCAGAACCTCGACCACGGTG GATCTAAAATGACCGAGTCTGACACCCAGGAGCACGGCCACCTAT TTCTGTGGCAGAAATGGTGGTGGTAGTTATTTCTATTATTT GACTTGTGGGCCAGGCACCCCTCGTCACTGTCTCTTCA
10	111B10-xi	경쇄	54	GCATTGAAATTGACCCAGACTCCATCCTCCGTGGAGGCAGCTGTG GGAGGGCACAATCACCATCAAGTGCAGGCCAGTCAGAGCATTAGT AGTTACTTATCTGGTATCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCAAAG CTCCTGATCTATTCTGCATCCACTCTGGCATCTGGGTCTCATCG CGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCAC AGGGACCTGGAGTGTGCCAGTGCCTCCACTTACTCTGTCAAAGC TATTATGATATTGGTACTAGTAGTACTTCGGCGGAGGGACCGAGGTG

				GTCGTAAA
11	111B10-zu	중쇄	55	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGGGCGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGTCTTGCCGCTCCGGCTTCCCTGAAC AACTACGCCATGTCTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGCAAAGGCCTG GAATGGATCGGCTCCATCAGCACAGGCGGCCCTGGCCTTACGCC AATTGGCCAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACCTCAAG AACACCTGTACCTCCAGATGAACCTCCGTGGGCCAGGGACACC GCCGTGTACTACTGTGCGAGAAACGGCGAGGCTTACATCTC TACTACTTCGACCTGTGGGCCAGGGCACCCCTCGTGAACAGTGTCA TCT
12	111B10-zu	경쇄	56	GATATTCAAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCGTGTCGCTTCTGTG GGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCAGGCCTCCAGTCCATCTCC TCCTACCTGTCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGGCCCCAAG CTGCTGATCTACTGCTCCACACTGGCCTCCGGGTGCCCT AGATTCCGGCTCGGCTGGCACCGACTTACCCGTACCATC AGCTCCCTCAGTGCAGGATGCCGCCACCTACTACTGCCAGTCC TACTACGACATGGCACCTCACCTCGCGGAGGGCACCAAGGTG GAAATCAA
13	201C15-xi	중쇄	57	CAGTCAGTGAAGGAGTCGGGGGTCGCCCTGGTCACCCCTGGGACA CCCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTGGATCAGCTCAGTAGC TATGCAATGGGCTGGTCTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGAA TACATCGGAACCATTAATATTGGTGGTGCCTATATTACCGCAGC TGGGCAAAGGCCGATTACCATCTCCAGAACCTCGACCACGGT GATCTGAAAGC GCCCAGTCTGACAGCCGAGGACACGCCACCTAT TTCTGTGCCAGATAATAATGGTGGTAGTTATGACATCTGGGC CCAGGCACCCCTGGTACCGTCTTTA
14	201C15-xi	경쇄	58	GATTTGTGATGACCCAGACTCCAGCCTCCGCGTCTGAACCTGTG GGAGGCACAGTCACCATCAAGTGCAGGCCAGTGAAGGCAATTAT CGGGTATTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCAGGGCAGCCTCCAAAG CTCCTGATCTATGATACATCACTCTGGCATCTGGGCCATCG CGGTTCAAAGGCAGTGGATATGGGACAGAGTTCACTCTACCAC AGGGGGTGGAGTGTGAAGATGCTGCCACTTACTACTGTCAAGGC GGTTATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCTTCCGGGGAGGGACC GAGGTGGTGGTCAA
15	201C15-zu	중쇄	59	CAGGTGCAGCTGGTGAATCTGGGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGCTCTGAGACTGTCTGTCCGCTCCGAATGGACCTGTCC TCCTACGCTATGGCCTGGGTGCGACAGGCTCTGGCAAGGGCTG GAGTACATCGGACCCATCAACATCGGCCAGAGTGTACTACGCC TCCTGGGCCAAGGGCCGGTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAG AACACCTGTACCTCCAGATGAACCTCCGTGGGCCAGGACACC GCCGTGTACTACTGCGCCGGTACTACACGGCGGCTTACGAT ATCTGGGGCCAGGGCACACTCGTGAACCGTGTCTCT
16	201C15-zu	경쇄	60	GATATTCAAGATGACCCAGTCCCCCTCACCTGTCTGCCTCTGTG GGCGACAGAGTGCACCATCACCTGTCAGGCCTCCGAGTCCATCTAC CGGGTGCCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGGCCCCAAG CTGCTGATCTACGACACAGCACACTGGCCTCCGGGTGCCCT AGATTCTCCGGCTGGCTGGCACCGAGTTACCCGTACCATC TCAGCCTCCAGTGCAGCAGGCCACCTACTATTGTAGGGC GGCTACTACGCCACTCTACGGAATCGCTTCCGGGGAGGCACC AAGGTGGAAATCAA
17	346C6-xi	중쇄	61	CAGTCGGTGGAGGAGTCGGGGTGCCTGGTAAAGCCTGACGAA TCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCGGATTCTCCCTCAGTAGT

				TATGCAATGATCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGCTGGAA TGGATCGAACCATAGTACTGGTGGTATCACATACTACCGCAGC TGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCAAAACCTCGACCACGGTG GACTGAAAATCACCACTCCGACAAACCGAGGACACGCCACCTAT TTCTGTGCCAGAGGGGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATCTC CCGTACTACTTTGACTTGTGGGCCAAGGGACCCCTGGTCACCGTC TCCTCA
18	346C6-xi	경쇄	62	GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCACCGTGCTGCAGCTGTG GGAGGCACAGTCACCATCAGTTGCCAGTCAGTGTTAT AATAATAACAACCTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCCGGGAGCCT CCCAAGCTTCTGATCTATCGCATCCACTCTGGCATCTGGGTC CCATCACGGGTCAGGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTC ACCATCAGCGGCGTGCAGTGTGACGATGCTGCCACTTAACTGT CTAGGTGGTTGTGATGATGCTGATACCTTGCTTGGCGGA GGGACTGAGGTGGGGTCAA
19	346C6-zu	중쇄	63	GAAGTCCAGCTGGTGAATCTGGCGCGGACTGGTGAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGCTTGTGCCGCTCCGCTTCCCTGTC TCCTACGCTATGATCTGGGTGCGACAGGCCCTGGCAAGGGCTG GAATGGATCGGCACCATCTTACCGGCGGAATTACCTACTACGCC TCCTGGCCAAGGGCGGTTACCATCTCCAGAGACAACCTCAAG AACACCTGTACCTCCAGATGAACCTCCCTGGGGCCGAGGACACC GCCGTGACTATTGTGCTAGAGGGGGCTACGCCGCCAGCTCCGCT TACTACCTGCCCTACTACTTCGACCTGTGGGCCAGGGCACCCCT GTGACAGTGTCACT
20	346C6-zu	경쇄	64	GATATTCAAGATGACCCAGTCCTCCAGCCTGTCCGCTTCTGT GGCGACAGAGTGCACATCACCTGTCAGTCCTCCAGTCGGTGAT AACAAACAACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCGGCAAGGTG CCCAAGCTGCTGATCTACCTGGCTCCACACTGGCCTGGCGTG CCCTAGATTCTCCGGCTGGCTGGCACCAGTGGGACTTACCTG ACCATCAGCTCCCTCCAGTGCAGGATGCCGCCACCTACTATTGC CTGGGCCGCTGCGACGACGCCGACACCTTGCTTGGCGGA GGCACCAAGGTGAAATCAA

[0114]

표 4.mAb 카반 CDRs 의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	2	GYGLS
2	MORAb-003	HC CDR2	3	MISSGGSYTYYADSVKG
3	MORAb-003	HC CDR3	4	HGDPAWFAY
4	MORAb-003	LC CDR1	7	SVSSSISSNNLH
5	MORAb-003	LC CDR2	8	GTSNLAS
6	MORAb-003	LC CDR3	9	QQWSSYPYMYT
7	MORAb-009	HC CDR1	65	GYTMN
8	MORAb-009	HC CDR2	66	LITPYNGASSYNQKFRG
9	MORAb-009	HC CDR3	67	GGYDGRGFDY
10	MORAb-009	LC CDR1	68	SASSSVSYMH
11	MORAb-009	LC CDR2	69	DTSKLAS
12	MORAb-009	LC CDR3	70	QQWSKHPLT
13	트라스투주맙	HC CDR1	71	DTYIH
14	트라스투주맙	HC CDR2	72	RIYPTNGYTRYADSVKG
15	트라스투주맙	HC CDR3	73	WGGDGFYAMDY
16	트라스투주맙	LC CDR1	74	RASQDVNTAVA
17	트라스투주맙	LC CDR2	75	SASFLYS
18	트라스투주맙	LC CDR3	76	QQHYTTPPT
19	33011-xi	HC CDR1	77	SDAIS
20	33011-xi	HC CDR2	78	IINGGGNTYYASWAKG
21	33011-xi	HC CDR3	79	GIQHGGGNSDYYYYGMDL
22	33011-xi	LC CDR1	80	QASQSISSVLS
23	33011-xi	LC CDR2	81	LASTLAS
24	33011-xi	LC CDR3	82	QTNYGTSSSNYGFA
25	33011-zu	HC CDR1	83	SDAIS
26	33011-zu	HC CDR2	84	IINGGGNTYYASWAKG
27	33011-zu	HC CDR3	85	GIQHGGGNSDYYYYGMDL
28	33011-zu	LC CDR1	86	QASQSISSVLS
29	33011-zu	LC CDR2	87	LASTLAS
30	33011-zu	LC CDR3	88	QTNYGTSSSNYGFA
31	111B10-xi	HC CDR1	89	NYAMS
32	111B10-xi	HC CDR2	90	SISTGGLAFYANWAKG
33	111B10-xi	HC CDR3	91	NGGGSYIFYFDL
34	111B10-xi	LC CDR1	92	QASQSISSYLS
35	111B10-xi	LC CDR2	93	SASTLAS
36	111B10-xi	LC CDR3	94	QSYYDIGTST
37	111B10-zu	HC CDR1	95	NYAMS
38	111B10-zu	HC CDR2	96	SISTGGLAFYANWAKG
39	111B10-zu	HC CDR3	97	NGGGSYIFYFDL
40	111B10-zu	LC CDR1	98	QASQSISSYLS
41	111B10-zu	LC CDR2	99	SASTLAS
42	111B10-zu	LC CDR3	100	QSYYDIGTST
43	201C15-xi	HC CDR1	101	SYAMG

[0115]

44	201C15-xi	HC CDR2	102	TINIGGRVYYASWAKG
45	201C15-xi	HC CDR3	103	YYNNGGSYDI
46	201C15-xi	LC CDR1	104	QASESIYRVLA
47	201C15-xi	LC CDR2	105	DTSTLAS
48	201C15-xi	LC CDR3	106	QGGYYADSYGIA
49	201C15-zu	HC CDR1	107	SYAMG
50	201C15-zu	HC CDR2	108	TINIGGRVYYASWAKG
51	201C15-zu	HC CDR3	109	YYNNGGSYDI
52	201C15-zu	LC CDR1	110	QASESIYRVLA
53	201C15-zu	LC CDR2	111	DTSTLAS
54	201C15-zu	LC CDR3	112	QGGYYADSYGIA
55	346C6-xi	HC CDR1	113	SYAMI
56	346C6-xi	HC CDR2	114	TISTGGITYYASWAKG
57	346C6-xi	HC CDR3	115	GGYAASSAYLPYYFDL
58	346C6-xi	LC CDR1	116	QSSQS VYNNNNLA
59	346C6-xi	LC CDR2	117	LASTLAS
60	346C6-xi	LC CDR3	118	LGGCDDADTFA
61	346C6-zu	HC CDR1	119	SYAMI
62	346C6-zu	HC CDR2	120	TISTGGITYYASWAKG
63	346C6-zu	HC CDR3	121	GGYAASSAYLPYYFDL
64	346C6-zu	LC CDR1	122	QSSQS VYNNNNLA
65	346C6-zu	LC CDR2	123	LASTLAS
66	346C6-zu	LC CDR3	124	LGGCDDADTFA

표 5.mAb 카방 CDRs 를 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	125	GGCTATGGGTTGTCT
2	MORAb-003	HC CDR2	126	ATGATTAGTAGTGGTGGTAGTTACCTACTATGCAGA CAGTGTGAAGGGT
3	MORAb-003	HC CDR3	127	CATGGGGACGATCCGCGCTGGGTCGCTTAT
4	MORAb-003	LC CDR1	128	AGTGTCAAGCTCAAGTATAAGTCCAACAACTTGAC
5	MORAb-003	LC CDR2	129	GGCACATCCAACCTGGCTCT
6	MORAb-003	LC CDR3	130	CAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACATGTACACG
7	MORAb-009	HC CDR1	131	GGCTACACCATGAAC
8	MORAb-009	HC CDR2	132	CTTATTACTCCTTACAATGGTGCTCTAGCTACAACCA GAAGTTCAAGGGC
9	MORAb-009	HC CDR3	133	GGGGGTTACGACGGGAGGGGTTTGACTAC
10	MORAb-009	LC CDR1	134	AGTGCCAGCTCAAGTGTAAAGTTACATGCAC
11	MORAb-009	LC CDR2	135	GACACATCCAACACTGGCTCT
12	MORAb-009	LC CDR3	136	CAGCAGTGGAGTAAGCACCCCTCTACG
13	33011-xi	HC CDR1	137	AGCGATGCAATAAGC
14	33011-xi	HC CDR2	138	ATCATTAATGGTGGTGGTAACACATACTACGCGAGCTG GGCGAAAGGC
15	33011-xi	HC CDR3	139	GGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGTGATTATTATTA TTACGGCATGGACCTC
16	33011-xi	LC CDR1	140	CAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTGTCTTGCC
17	33011-xi	LC CDR2	141	CTGGCATCCACTCTGGCATCT

18	33011-xi	LC CDR3	142	CAAACCAATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTT TGCT
19	33011-zu	HC CDR1	143	TCCGACCGCGATTAGC
20	33011-zu	HC CDR2	144	ATCATCAACGGCGCGGAAACACCTACTACGCCCTCTG GGCCAAGGGC
21	33011-zu	HC CDR3	145	GGCATCCAGCACGGTGGTGGAAACAGCGACTACTA CTATGGGATGGATCTG
22	33011-zu	LC CDR1	146	CAGGCGTCCCAGTCATTAGCAGCGTGCTCTCC
23	33011-zu	LC CDR2	147	TTGGCCTCCACTCTGGCCTCG
24	33011-zu	LC CDR3	148	CAAACCAACTACGGAACCTCCAGCTCCAACTACGGCTT TGCC
25	111B10-xi	HC CDR1	149	AACTATGCAATGAGC
26	111B10-xi	HC CDR2	150	TCCATTAGTACTGGTGGTCTCGCATTCTACGCGAACTG GGCAAAGGC
27	111B10-xi	HC CDR3	151	AATGGTGGTAGTTATTTCTATTATTTGACTT G
28	111B10-xi	LC CDR1	152	CAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTTACTTATCC
29	111B10-xi	LC CDR2	153	TCTGCATCCACTCTGGCATCT
30	111B10-xi	LC CDR3	154	CAAAGCTATTATGATATTGGTACTAGTACT
31	111B10-zu	HC CDR1	155	AACTACGCCATGTCC
32	111B10-zu	HC CDR2	156	TCCATCAGCACAGGGCGCTGGCCTTACGCCAATTG GGCCAAGGGC
33	111B10-zu	HC CDR3	157	AAACGGCGGAGGCTCTACATCTTACTACTTCGACCT G
34	111B10-zu	LC CDR1	158	CAGGCCCTCCAGTCATCTCTCCTACCTGTCC
35	111B10-zu	LC CDR2	159	TCTGCCTCCACACTGGCCTCC
36	111B10-zu	LC CDR3	160	CAGTCCTACTACGACATCGGCACCTCCACC
37	201C15-xi	HC CDR1	161	AGCTATGCAATGGGC
38	201C15-xi	HC CDR2	162	ACCATTAAATTGGTGGTGGTATATTACGCGAGCTG GGCAAAGGC
39	201C15-xi	HC CDR3	163	TATTATAATGGTGGTAGTTATGACATC
40	201C15-xi	LC CDR1	164	CAGGCCAGTGAGAGCATTATCGCGTATTGGCC
41	201C15-xi	LC CDR2	165	GATACATCCACTCTGGCATCT
42	201C15-xi	LC CDR3	166	CAAGGCCTTATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCT
43	201C15-zu	HC CDR1	167	TCCTACGCTATGGGC
44	201C15-zu	HC CDR2	168	ACCATAACATCGGGGGCAGAGTGTACTACGCCCTCTG GGCCAAGGGC
45	201C15-zu	HC CDR3	169	TAATACACGGCGGCTCTACGATATC
46	201C15-zu	LC CDR1	170	CAGGCCCTCGAGTCATCTACGGGTGCTGGCC
47	201C15-zu	LC CDR2	171	GACACCAAGCACACTGGCCTCC
48	201C15-zu	LC CDR3	172	CAGGGCGGCTACTACGCCGACTCCTACGGAATCGCT
49	346C6-xi	HC CDR1	173	AGTTATGCAATGATC
50	346C6-xi	HC CDR2	174	ACCATTAGTACTGGTGGTATCACATACTACGCGAGCTG GGCGAAAGGC
51	346C6-xi	HC CDR3	175	GGGGGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATCTCCCGTA CTACTTTGACTT
52	346C6-xi	LC CDR1	176	CAGTCCTCCAGTCGGTGTATAACAACAACACCTGGC C
53	346C6-xi	LC CDR2	177	CTGGCATCCACTCTGGCATCT

54	346C6-xi	LC CDR3	178	CTAGGTGGTTGTGATGATGCTGATACTTTGCT
55	346C6-zu	HC CDR1	179	TCCTACGCTATGATC
56	346C6-zu	HC CDR2	180	ACCATCTCTACCGGCCGAATTACCTACTACGCCCTCTGGCCAAGGGC
57	346C6-zu	HC CDR3	181	GGGGGCTACGCCGCCAGCTCCGCTTACTACCTGCCCTACTACTTCGACCTG
58	346C6-zu	LC CDR1	182	CAGTCCTCCCAGTCGTGTATAACAACAACCTGGCC
59	346C6-zu	LC CDR2	183	CTGGCCTCCACACTGGCCCTCT
60	346C6-zu	LC CDR3	184	CTGGGCGGCTGCGACGACGACGCCGATACCTTGCT

표 6.mAb IMGT CDRs 의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	13	GFTFSGYG
2	MORAb-003	HC CDR2	14	ISSGGSYT
3	MORAb-003	HC CDR3	15	ARHGDDPAWFAY
4	MORAb-003	LC CDR1	16	SSISSNN
5	MORAb-003	LC CDR2	17	GTS
6	MORAb-003	LC CDR3	18	QQWSSYPYMYT
7	MORAb-009	HC CDR1	185	GYSFTGYT
8	MORAb-009	HC CDR2	186	ITPYNGAS
9	MORAb-009	HC CDR3	187	ARGGYDGRGFDY
10	MORAb-009	LC CDR1	188	SSVSY
11	MORAb-009	LC CDR2	189	DTS
12	MORAb-009	LC CDR3	190	QQWSKHPLT
13	트라스투주맙	HC CDR1	191	GFNIKDTY
14	트라스투주맙	HC CDR2	192	IYPTNGYT
15	트라스투주맙	HC CDR3	193	SRWGGDGFYAMDY
16	트라스투주맙	LC CDR1	194	QDVNTA
17	트라스투주맙	LC CDR2	195	SAS
18	트라스투주맙	LC CDR3	196	QQHYTTPPPT
19	33011-xi	HC CDR1	197	GISLSSDA
20	33011-xi	HC CDR2	198	INGGGNT
21	33011-xi	HC CDR3	199	ARGIQHGGGNSDYYYYGMDL
22	33011-xi	LC CDR1	200	QSISSV
23	33011-xi	LC CDR2	201	LAS
24	33011-xi	LC CDR3	202	QTNYGTSSNYGFA
25	33011-zu	HC CDR1	203	GISLSSDA
26	33011-zu	HC CDR2	204	INGGGNT
27	33011-zu	HC CDR3	205	ARGIQHGGGNSDYYYYGMDL
28	33011-zu	LC CDR1	206	QSISSV
29	33011-zu	LC CDR2	207	LAS
30	33011-zu	LC CDR3	208	QTNYGTSSNYGFA
31	111B10-xi	HC CDR1	209	GFSLNNYA
32	111B10-xi	HC CDR2	210	ISTGGLA
33	111B10-xi	HC CDR3	211	GRNNGGSYIFYFDL

34	111B10-xi	LC CDR1	212	QSISSY
35	111B10-xi	LC CDR2	213	SAS
36	111B10-xi	LC CDR3	214	QSYYDIGTST
37	111B10-zu	HC CDR1	215	GFSLNNYA
38	111B10-zu	HC CDR2	216	ISTGGGLA
39	111B10-zu	HC CDR3	217	ARNGGGSYIFYYFDL
40	111B10-zu	LC CDR1	218	QSISSY
41	111B10-zu	LC CDR2	219	SAS
42	111B10-zu	LC CDR3	220	QSYYDIGTST
43	201C15-xi	HC CDR1	221	GIDLSSYA
44	201C15-xi	HC CDR2	222	INIGGRV
45	201C15-xi	HC CDR3	223	ARYYNGGSYDI
46	201C15-xi	LC CDR1	224	ESIYRV
47	201C15-xi	LC CDR2	225	DTS
48	201C15-xi	LC CDR3	226	QGGYYADSYGIA
49	201C15-zu	HC CDR1	227	GIDLSSYA
50	201C15-zu	HC CDR2	228	INIGGRV
51	201C15-zu	HC CDR3	229	ARYYNGGSYDI
52	201C15-zu	LC CDR1	230	ESIYRV
53	201C15-zu	LC CDR2	231	DTS
54	201C15-zu	LC CDR3	232	QGGYYADSYGIA
55	346C6-xi	HC CDR1	233	GFSLSSYA
56	346C6-xi	HC CDR2	234	ISTGGIT
57	346C6-xi	HC CDR3	235	ARGGYAASSAYYLPIYYFDL
58	346C6-xi	LC CDR1	236	QSVYNNNN
59	346C6-xi	LC CDR2	237	LAS
60	346C6-xi	LC CDR3	238	LGGCDDDAATFA
61	346C6-zu	HC CDR1	239	GFSLSSYA
62	346C6-zu	HC CDR2	240	ISTGGIT
63	346C6-zu	HC CDR3	241	ARGGYAASSAYYLPIYYFDL
64	346C6-zu	LC CDR1	242	QSVYNNNN
65	346C6-zu	LC CDR2	243	LAS
66	346C6-zu	LC CDR3	244	LGGCDDDAATFA

표 7.mAb IMGT CDRs를 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쪽	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	HC CDR1	245	GGCTTCACCTTCAGCGGTATGGG
2	MORAb-003	HC CDR2	246	ATTAGTAGTGGTGGTAGTTATACC
3	MORAb-003	HC CDR3	247	GCAAGACATGGGACGATCCCGCCTGGTCGCTTAT
4	MORAb-003	LC CDR1	248	TCAAGTATAAGTTCCAACAAAC
5	MORAb-003	LC CDR2	249	GGCACATCC
6	MORAb-003	LC CDR3	250	CAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACATGTACACG
7	MORAb-009	HC CDR1	251	GGTTACTCATTCACTGGCTACACC
8	MORAb-009	HC CDR2	252	ATTACTCCTTACAATGGTGCCTCT
9	MORAb-009	HC CDR3	253	GCAAGGGGGGGTTACGACGGGAGGGGTTTGAATAC
10	MORAb-009	LC CDR1	254	TCAAGTGTAAAGTTAC

11	MORAb-009	LC CDR2	255	GACACATCC
12	MORAb-009	LC CDR3	256	CAGCAGTGGAGTAAGCACCCCTCTCACG
13	33011-xi	HC CDR1	257	GGAATCTCCCTCAGTAGGGATGCA
14	33011-xi	HC CDR2	258	ATTAATGGTGGTGGTAACACA
15	33011-xi	HC CDR3	259	GCCAGAGGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGTGATTA TTATTATTACGGCATGGACCTC
16	33011-xi	LC CDR1	260	CAGAGCATTAGTAGTGTC
17	33011-xi	LC CDR2	261	CTGGCATTCT
18	33011-xi	LC CDR3	262	CAAACCAATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTT TGCT
19	33011-zu	HC CDR1	263	GGAATTCCCTCTCCTCCGACGCG
20	33011-zu	HC CDR2	264	ATCAACGGCGGCCGAAACACC
21	33011-zu	HC CDR3	265	GCGCGGGCATCCAGCACGGTGGTGGAAACAGCGACTA CTACTACTATGGATGGATCTG
22	33011-zu	LC CDR1	266	CAGTCATTAGCAGCGTG
23	33011-zu	LC CDR2	267	TTGGCCTCC
24	33011-zu	LC CDR3	268	CAAACCAACTACGGAACCTCCAGCTCCAACACTACGGCTT TGCC
25	111B10-xi	HC CDR1	269	GGATTCTCCCTCAATAACTATGCA
26	111B10-xi	HC CDR2	270	ATTAGTACTGGTGGTCTCGCA
27	111B10-xi	HC CDR3	271	GGCAGAAATGGTGGTGGTAGTTATTTCTATTATT TGACTTG
28	111B10-xi	LC CDR1	272	CAGAGCATTAGTAGTTAC
29	111B10-xi	LC CDR2	273	TCTGCATCC
30	111B10-xi	LC CDR3	274	CAAAGCTATTATGATATTGGTACTAGTACT
31	111B10-zu	HC CDR1	275	GGCTTCTCCCTGAACAACTACGCC
32	111B10-zu	HC CDR2	276	ATCAGCACAGGGGGCTGGCC
33	111B10-zu	HC CDR3	277	GCCAGAAACGGCGGAGGCTCCATCTTACTACTT CGACCTG
34	111B10-zu	LC CDR1	278	CAGTCATCTCCTCTAC
35	111B10-zu	LC CDR2	279	TCTGCCTCC
36	111B10-zu	LC CDR3	300	CAGTCCTACTACGACATCGGCACCTCCACC
37	201C15-xi	HC CDR1	301	GGAATCGACCTCAGTAGCTATGCA
38	201C15-xi	HC CDR2	302	ATTAATTTGGTGGTGGTA
39	201C15-xi	HC CDR3	303	GCCAGATATTATAATGGTGGTAGTTATGACATC
40	201C15-xi	LC CDR1	304	GAGAGCATTATCGCGTA
41	201C15-xi	LC CDR2	305	GATACATCC
42	201C15-xi	LC CDR3	306	CAAGGCCATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCT
43	201C15-zu	HC CDR1	307	GGAATCGACCTGTCCTCCTACGCT
44	201C15-zu	HC CDR2	308	ATCAACATCGGCCGAGACTG
45	201C15-zu	HC CDR3	309	GCCCCGTACTACAACGGCGGCTCCACGATATC
46	201C15-zu	LC CDR1	310	GAGTCATCTACCGGGTG
47	201C15-zu	LC CDR2	311	GACACCAGC
48	201C15-zu	LC CDR3	312	CAGGGCGGCTACTACGCCGACTCCTACGGAATCGCT
49	346C6-xi	HC CDR1	313	GGATTCTCCCTCAGTAGTTATGCA
50	346C6-xi	HC CDR2	314	ATTAGTACTGGTGGTATCACA
51	346C6-xi	HC CDR3	315	GCCAGAGGGGGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATCT CCCGTACTACTTTGACTTG

[0120]

52	346C6-xi	LC CDR1	316	CAGAGTGTATAATAATAACAAC
53	346C6-xi	LC CDR2	317	CTGGCATCC
54	346C6-xi	LC CDR3	318	CTAGGTGGTTGTGATGATGCTGATACCTTTGCT
55	346C6-zu	HC CDR1	319	GGCTTCTCCCTGCTCTACGCT
56	346C6-zu	HC CDR2	320	ATCTCTACCGCGGAATTAC
57	346C6-zu	HC CDR3	321	GCTAGAGCGCCTACGCCAGCTCCGTTACTACCT GCCCTACTACTTCGACCTG
58	346C6-zu	LC CDR1	322	CAGTCCTGTATAACAACAAC
59	346C6-zu	LC CDR2	323	CTGGCCTCC
60	346C6-zu	LC CDR3	324	CTGGCGGCTGCGACGACGCCGATACCTTGCT

표 8. 전장 mAb Ig 쇄의 아미노산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열식별 번호	아미노산 서열
1	MORAb-003	중쇄	1	EVQLVESGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISGGSY TYYADSVVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARHGDDPAWFAYWGQGTP VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPEELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVE VHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASK GQPREPQVTLPSSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	MORAb-003	경쇄	6	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSISSNNLHWYQQKPGKAPKPVWYGTTSNLAS GVPSRFGSGSGTDYTFITSSLQPEDIATYYCQQWSSYPYMTFGQGTKEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
3	MORAb-009	중쇄	325	QVQLQSGPELEKPGASVKISCKASGYSGFTGYTMMWVKOSHGKSLEWIGLITPYNGA SSYNQKFRGKATLTVKDSSTAYMDLLSLTSEDAVYFCARGGYDGRGFYDWSGTP VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPEELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVE VHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASK GQPREPQVTLPSSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
4	MORAb-009	경쇄	326	DIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSVSYMHWYQQKSGTSPKRWYDTSKLASGV PGRFSGSGSGNSYSLTISSEVAEDDATYYCQQWVKHPLTFGSGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
5	트라스 투주맙	중쇄	327	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGY TRYADSVVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVWSNSGALTSGVHT TFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPPKSCDKTHTC TCPGPCAPEELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVG VEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASK AKGQPREPQVTLPSSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV PVLDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
6	트라스 투주맙	경쇄	328	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLIYSASFLYSG VPSRFGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQWHTPPTFQGQGTKEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

7	33011-xi	중쇄	329	QSVEESGGLVTPGPTLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKGLEYIGIINGGGNTY YASWAKGRFTISRTSTTVDLKITPTTEDTATYFCARGIQHGGGNSDYYYYGMDL WGPGLTVTSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE TISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
8	33011-xi	경쇄	330	EVLMQTQPSVSAAVGDTVTIKCQASQSISSVLSWYQQKPGQPPKLLIYLASTLASG VPSRFSGRSGTEFTLTISDLECDDAATYYCQNTYGTSSSNYGFAGGGTEVVVKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDTSTSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
9	33011-zu	중쇄	331	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAAGFSLNYYAMSWVRQAPGKGLEYIGIINGGGNT YYASWAKGRFTISRHNSKNLTYLQMNSLRAEDTAVYYCARGIQHGGGNSDYYYYGMDL LWGQGTLTVTSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSC CDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE TISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNY YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	33011-zu	경쇄	332	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISSVLSWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASG VPSRFSGSGSTDFTLTISLQLCEDIATYYCQNTYGTSSSNYGFAGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDTSTSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
11	111B10-xi	중쇄	333	QSVEESGGLVTPGPTLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKGLEWIGSISTGGAF YANWAKGRFTISRTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCGRNGGSIYFYFDLWGQGTLV TVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTPP DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
12	111B10-xi	경쇄	334	AFELTQTPSSVEAAVGGTTIKCQASQSISSYLSWYQQKPGQPPKLLIYASTLASG VSSRFKGSGSGTEYTLTISDLECADAATYYCQSYDIDGTSTFGGGTEVVVKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
13	111B10-zu	중쇄	335	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAAGFSLNYYAMSWVRQAPGKGLEWIGSISTGGLAF YANWAKGRFTISRDNSKNLTYLQMNSLRAEDTAVYYCARNNGGSIYFYFDLWGQG TLTVTSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPCCPAPELLGGPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
14	111B10-zu	경쇄	336	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYASTLASG VPSRFSGSGSTDFTLTISLQLCEDIATYYCQSYDIDGTSTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STSLSSTLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	201C15-xi	중쇄	337	QSVEESGGLVTPGPTLTLCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKGLEYIGTINIIGRVY YASWAKGRFTISRTSTTVDLKAPSLTAEDTATYFCARYNGGSDIWGPGLTVSL ASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKVEPKSCDKTHCPCPA

				PELLGGPSVLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
16	201C15-xi	경 쇄	338	DVMMTQTPASASEPVGTVTIKCOASESIYRVLAWYQQKPGQPPKLLIYDTSTLASG APRFKGSGYGYTEFTLTIISGVQCEDAATYYCQGGYYADSYGIAFGGGTEVVVKRTVA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
17	201C15-zu	중 쇄	339	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASCIDLSSYAMGWVRQAPGKGLEYIGTINIGRV YYASWAKGRFTISRDN SKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARYYNGGSYDIWQGQTLVT VSSASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSNKALPAPIEKTISAKGQ CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQ PREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
18	201C15-zu	경 쇄	340	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASESIYRVLAWYQQKPGKAPKLLIYDTSTLASG VPSRFSGS GSGTEFTLTISSLCQDAAATYYCQGGYYADSYGIAFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS KDTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	346C6-xi	중 쇄	341	QSVEESGGLVKPDESLTLCAGFSLSSYAMIVRQAPGEGLEWIGTISTGGITY YASWAKGRFTISKTSTVDLKITPTTEDTATYFCARGGYAASSAYYLPIYFDLWGQG TLTVSSASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSNKALPAPIEKTISAKGQ TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQ AKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
20	346C6-xi	경 쇄	342	AAVLQTTPSPVSAAVGGTVTIQCQSSQSYNNNNLAWFQQKPGQPPKLLIYLASTLA SGVPSRFSGS GSGTQFTLTISGVQCEDAATYYCLGGCDDDADTFAGGGTEVVVKRT VAAPSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS D SKDTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
21	346C6-zu	중 쇄	343	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAGFSLSSYAMIVRQAPGKGLEYIGTISTGGITY YASWAKGRFTISRDN SKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARGGYAASSAYYLPIYFDL WGQGTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSNKALPAPIEKTISAKGQ TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQ KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
22	346C6-zu	경 쇄	344	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQSSQSYNNNNLAWYQQKPGKVPKLLIYLASTLA SGVPSRFSGS GSGTQFTLTISGVQCEDAATYYCLGGCDDDADTFAGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVVDNALQSGNSQESVTEQDS D SKDTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

표 9. 전장 mAb Ig 쇄⁺를 인코딩하는 핵산 서열

	mAb	IgG 쇄	서열 식별 번호	핵산 서열
1	MORAb-003	중 쇄	345	GAGGTCCAACCTGGTGGAGAGCGGTGGAGGTGTTGTGCAACCTGGCG GTCCCTGCGCCTGCTCCTGCTCCGCATCTGGCTTCACCTTCAGCGGCT ATGGGTTGCTTGGGTGAGACAGGACACCTGGAAAAGGTCTTGAGTGG GTTCAATGATTAGTAGTGGTGGTAGTTATACCTACTATGCAGACAG TGTGAAGGGTAGATTGCAATATCGCAGACACGCGAACAGAACAT TGTCTGCAAATGGACAGGCTGAGACCCGAAGACACCGGGGTCTAT TTTGTGCAAGACATGGGACATGGGACATCCCGCTGGTTCGCTATTGGGG CCAAGGGGACCCGGTCACCGCTCCTCAGCCTCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACA GCGGCCCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGAC GGTCTGTTGAAACTCAGGCGCCCTGAGCAGCGGTGACACCTTCC CGCGTGTCTCACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT ACCGTGCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCAGCAACACAAGGGACAAGAAAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAGAAACTCACACATGCCAACCGTGTCCCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTCCCCAAAACCCAAGGA CACCCCTCATGACTCCCGAACCTGGTAGGTCAAGTCAACTGGTACGGAC ACGTGAGCCAGAACGGCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGAC GGCGTGGAGGTGCAATATGCCAACAGACAAGGGGGAGGAGCAGTA CAACAGCACGCTACCGTGTTGTCAGCGTCCCTCACCGTCCCTGACCAAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGCTCTCAAACAAAGCC CTCCCTAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCC CCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCGGATGAGCTGA CCAAGAACAGGTGACGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGGCACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGAACAGCCTCCCGTGTGGACTCCGAGGCTCTTCTTCT TATATTCAAAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAAC GTCTTCTCATGCTCCGTATGAGGCTCTGCACAAACCAACTACAC GCAGAAGAGGCTCTCCCTGTCTCCGGAAATGAA
2	MORAb-003	경 쇄	346	GACATCCAGCTGACCCAGAGCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGG TGAGCAGAGTGAACCATCACCTGTAGTGTCAAGCTAAAGTCCA ACAACCTTGCACTGGTACCCAGAGGAGGCTCAAAGCCA TGGATCTACGCCACATCCAAACCTGGCTCTGGTGTGCCAAGCAGATT CAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGACTACACCTTCACCATCAGCAGCC TCCAGCGAGGGACATGCCACCTACTACTGCAACAGTGGAGTAGT TACCGTGTACATGTACACGTTGCCAACAGGGGACCAAGGTGGAATCAA ACGAACATGTCGCTGACCATCTGTCTTCTATCTCCGCCATCTGATG AGCAGTTGAAACTTGGAAACTGCCCTGTGGTGTGCTGCTGAATAAC TTCTATCCAGAGGGCAAAGGCTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCT CCAATGGGTAAACTCCAGGAGGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACCGAGAAACACAAAGCTACGCCCTGCGAAGTCAACCCATCAGGGCCT GAGCTGCCGTGACAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTAA
3	MORAb-009	중 쇄	347	CAGGTACAACCTGCAGCAGTCTGGGCTGAGCTGGAGAAGCTGGCG TTCACTGAAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCT ACACCATGAACTGGGTGAGCAGAGGCTATGGAAAGAGGCCCTGAGTGG ATTGGACTTATTACTCCCTACATGGTGTCTAGCTACACAGGAA GTTCAAGGGGACCCGCCACATTAACTGTAGACAAGTCACTCAGCACAG CCTACATGGACCTCCTCAGTCTGACATCTGAAGACTCTGCACTCTAT TTCTGTGCAAGGGGGGGTACAGCAGGGGGTTTGACTACTGGGG ATCCGGGACCCGGTCAACGCTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCAGGACTACTTCCCGAACCGGTGAC GGTCTGTTGAAACTCAGGCCCTGAGCAGGGGGCTGCCACACCTTCC CGCGTGTCTCACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT ACCGTGCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGGCCA AATCTTGTGACAAGAAACTCACACATGCCAACCGTGTCCCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGA CACCCCTCATGATCTCCCGAACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGG ACGTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCAATGCCAACAGACAAGGCCGGAGGAGCAGTA

				CAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCATCTCCAAACAAAGCC CTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC CCAAGAACCCAGGTCAAGCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGGGACATCCGGTGGAGTGGAGAGACCAATGGGAGCCGGAGAACAA CTACAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCC TCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAAC GTCTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGGCTCTGCACAACCAACTACAC GCAGAACAGGCTCTCCGTCTCCGGAAATGA
4	MORAb-009	경쇄	348	GACATCGAGCTCACTCAGTCTCCAGCAATCATGTCATCTCAGGGAGAGTC ACCATGACCTGCGTCAAGTGTAAAGTTACATGCACTGGTACCGCAGAAG TCAGGCACCTCCCCAAAGATGGATTATGACACATCCAAACTGGCTCTGGAGTC CCAGGTCGCTTCACTGGCAGTGGCTGGAAACTCTACTCTCACAACTCAGCAGC GTGGAGGCTGAAGATGTGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAAAGCACCTCTC ACCTGGATCCGGACCAAGGTGGAACTAAACGAACGTGTGGCTGACCATCTGTC TTGATCTTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAATCTGGAACGTGCTCTGTTGTGCT CTGCTGAATAACTCTATCCAGAGAGGCAAAAGTACAGTGGAGGTTAAACGCC CTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC TACGGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTGCCGTACAAGAGCTTCAAC AGGGAGAGTGTAA
5	33011-xi	중쇄	349	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGTCGCCCTGGTCACGCCCTGGACACCCCTGACACTC ACCTGCACCGTCTCTGGAATCTCCCTCAGTAGCGATGCAATAAGCTGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAAAGGGCTCGAACATCGGAATCTTAACTGGTGGTAAACACATAC TACGGAGCTGGCAGAACGGCAGTACCCATCTCCAAACCTCGACACGGTGGAT CTGAAAATCACCAGTCCGACAAACCGAGGACACGGCACCTATTCTGTCAGAGGGC ATTCACATGGTGGTGAATAGTGTATTATTACGGCATGGACCTCTGGGG CCAGGCACCTCTGTCAGTCTCTGACATCCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCC CTGGCACCTCTCCAAAGACCCCTCGGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCCTGGTC AAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACCGC GGCGTGACACCTTCCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTAGCAGC GTGGTGGACCTGCGCCCTCAGCAGCTGGGACCCAGCCTACATCTGCAACGTGAAT CACAAGCCCAGAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTGGGGGACCGTCAGTCTC CTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACA TGGCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCAATGCGAACAGAACGGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCACTGGTCTGCCAGCAGCTGGCTGAATGCCAG GAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGGCTCCAGGCCCATCGAGAAAACCATC TCCAAGGCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCCAGGTGACACCTGCCCATCCGG GATGAGCTGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC ACGCACATGCCGTGGAGTGGAGAGGAATGGGAGCCGGAGAACAACTACAAGACC ACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTATTCAGGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTCTCATGCTCGTGTGAGGCT CTGACAAACACTACACCGCAGAACAGGCCCTCCCGTGTCCGGAAATGA
6	33011-xi	경쇄	350	GAAGTGTGATGACCCAGACTCCATCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGAGACACAGTC ACCATCAAGTGCAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTGTCTGTCTGGTACAGCAG AAACAGGGCAGCCCTCCAAGCTCTGTATCTATGCACTCCACTCTGGCATCTGG GTCCCATCGCGTTCAGCGCAGTAGATCTGGGAGCAGAGTTCACTCTCACCATCAGC GACCTGGAGTGTGACGATGCTGCCACTACTACTGTCACCAACAAATTATGGTACTAGT AGTAGAATTATGGTTGTGGTCTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGTCAAACGAACGT GTGGCTGACCATCTGTCTTCACTTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCTCTGTTGTGCGCTGCTGATAACTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAG

				TGGAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGC TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCC GTACACAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTGA
7	33011-zu	중쇄	351	GAAGTCCAACTGGTGGAAAGCGGGGGAGGACTGGTGCAGCCGGGATCCCTCGG CTGTATGTGCTGCATGGGAATTCCCTCTCCCGACGGATTAGCTGGGTAGA CAGGCCCGGAAAGGGCTGGACTACATCGTATCATCACGGCGGAAACACC TACTACGCCCTCGGCCAAGGGCCGCTTACCATCTCGCGATAATTCAAAGAAC ACTCTGACTTGAATGAACCTCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTACTACTGC GCGCGCGCATCCACGACGGTGGAAACAGCAGACTACTACTATGGATGGAT CTGTGGGCCAGGAACTCTTGACCGTGTGCAGCATCCACCAAGGGCCATCG GTCTCCCCCTGGCACCCCTCCAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGG TGCGTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTGGAAACTCAGGCC CTGACAGCGGCGTGCACACCTCCCGCTGTCATCAGTCTCAGGACTCTAC CTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATCTG AACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTAGCCAAATCT TGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCTGAACCTCTGGGGGACCG TCAGTCTTCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGGACCCCT GAGGTACATGCGTGGTGGACGCTGAGCCACGAAAGCCCTGAGGTCAAGTTAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGCG TACAAACAGCACGTACCGTGTGGTCAACGCTCACCAGGACTGGCTG AATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAG AAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCC CCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAC TACAAGACCACCGCTCCGTGCTGACTCCGACGGCTCCTCTTATATTCAAAG CTCACCGTGGACAAGGAGCAGGTGGACGAGGGAAACGTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTGTCACACCAACTACACCGAGAACGCTCTCCGTCTCCGGGAAA TGA
8	33011-zu	경쇄	352	GACATTCAAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCGTGTCCGCCCTCGTGGGACCGCGT ACCATCACGTGCCAGCGTCCAGTCATTAGCAGCGTGTCTCCGTACCAACAG AAGCGGGAAAGCACCAGCTGCTGATCTACTTGGCTCCACTOTGGCTCGGA GTGCCCTCACGGTCTCGGATCGGATCTGTACTGATTTCACCCCTACCATCTG AGCCTCAGTGCAGGACATCGTACTTACTATTGTCACCAACTACGGAACCTCC AGCTCAACTACGGCTTGCTCGGGGACCAAGGTGAAATCAAACGAAC GTGGCTGCACCATCTGCTTCATCTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAATCTGGA ACTGCCTCTTGTGTGCTGTAATAACTCTATCCCAGAGGGCAAAGTACAG TGGAAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCC GTACACAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGTGA
9	111B10-xi	중쇄	353	CAGTCGGTGGAGGAGTCGGGGGTCGCCCTGGTCACGCCCTGGGACACCCCTGACACT ACCTGCACAGTCTCGGATTCTCCCTCAATAACTATGCAATGAGCTGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAAAGGGCTGAAATGGATCGGATCCATTAGTACTGGTGTCTCGCATTC TACCGGAACTGGCAAAGGCCGATTACCATCTCAGAACCTCGACACGGTGGAT CTGAAAATGACCGACTGACAACCGAGGACACGGCACCTATTCTGTGGCAGAAAT GGTGGTGGTAGTTATTTCTATTATTTGACTTGTGGGGCAAGGCACCCCTGTC ACTGTCTCTCAGCATCCACCAAGGGCCATCGGTCTCCCCCTGGCACCCCTCTCC AAGAGCACCTCTGGGGCACAGGGCCCTGGGCTGCGTGGCAAGGACTACTTCCC GAACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCCCTGACGAGCGGTGACACCTTC CCGGCTGCTCTACAGCTCAGGACTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGGACCGTGGCC TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAGCCAGAAC

				ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGACAAAACTCACACATGCCA CCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCCTCTTCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTCACTGTCAGTACGGTGGGAC GTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAAATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCTGCACCGAGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCAGGGTACACCCCTGCCCATCCGGATGAGCTGACCAAG AACCAAGGTCACTGGTCAAGGCTCTTATCCAGGGACATGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCACGCCCTCCGTG GACTCGACGGCTCTCTTATATTCAAAGTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGAAACGCTCTCATGCTCCGTGATGCAAGGGCTGACAACCAACTAC ACGAGAAGAGCCTCTCCGTCTCCGGAAATGA
10	111B10-xi	경 쇄	354	GCATTCGAATTGACCCAGACTCCATCTCCGTGGAGGGAGCTGTGGGAGGCACAAATC ACCATCAAGTGCAGGCCAGTCAGAGGATTAGTAGTTACTTATCCTGGTATCAGCAG AAACACAGGGCAGCCTCCCAAGCTCTGATCTTCTGCATCCACTCTGGCATCTGGG GTCTCATCGCGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGC GACCTGGAGTGTGCCATGTCGCACTTACTCTGTCAGGCTTATTATGATATTGGT ACTAGTACTTCGGCGAGGGACCGAGGTGGTGTGTCAAACGAACCTGTGGCTGACCA TCTGCTTCATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGAACTGCTCTGTT GTGTGCGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGAT AACGCCCTCAATCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTCAAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGCTACGCCGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCGTACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTGA
11	111B10-zu	중 쇄	355	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGCGGACTGGTCAGCCTGGGGATCTCTGAGA CTGCTTGTGCCGCCCTCCGGCTCTCCCTGAACAAACTACGCCATGTCCTGGGTGCGA CAGGCCCTGGCAAAGGCCCTGGAATGGATGGCTCCATCAGCACAGGCCCTGGCC TTCTACGCCAATTGGCCAAAGGCCGTTACCATCAGCCGGACAACCTCAAAGAAC ACCTGTACCTCCAGATGAACTCCCTGCGGGCGAGGACACCGCCGTGACTACTGT GCCGAAACAGGGAGGCTCTACATCTTACTACTTCGACCTGTGGGGCAGGGC ACCTCTGIGACAGTGTCACTGCACTCCACCAAGGGCCATGGTCTCCCCCTGGCA CCCTCTCCAAAGAGCACCTGGGGCACGGGCCCTGGGCTGCCGTGCAAGGAC TACTCTCCGAACGGTGACGGTGTGGAACTCAGGGCCCTGACCGCCGTG CACACCTCCGGCTGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT ACCGTGCCTCCAGCAGCTGGCACCCAGCTACATCTGCAAGTGAATCAAAG CCCAGAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAAACCTAC ACATGCCAACCGTGGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCCGTCAGTCCTCTT CCCCAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGAGGTGCTGAGGACCGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCTGAGGACCGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGC CGTGTGGTCACTGGCTCTCACCGTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCCCTGAGGTACAGTGGTACGTGGACGGC GCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCCAGGTGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGC CTGACCAAGAACAGGTCACTGGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTATCCAGCGAC ATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCACGCC CCCGTGCTGACTCCGACGGCTCTTCTTATATTCAAAGCTACCCGTGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTGATGCAAGGGCTGCAAC AACCAACTACACCGAGAGAGGCCCTCCCTGTCCTCCGGAAATGA
12	111B10-zu	경 쇄	356	GATATTCAAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCGGCTTCTGTGGGGGACAGAGT ACCATCACCTGTCAGGCCCTCCAGTCCATCTCTCTACCTGTCCTGGTATCAGCAG AAGCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACTCTGCTCCACACTGGCCTCCGGC

				GTGCCCTCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCCGACTTACCCCTGACCATCAGC TCCCTCCAGTGCAGGATGCCGCCACTACTCTGCACTGCTACTACGACATCGGC ACCTCCACCTCGCGGGAGGCCACCAAGGTGAAATCAACGAACGTGGACTGACCA TCTGTCTTATCTTCCGCATCTGATGAGCAGTTGAATCTGAACTGCCTGTGTT GTGTGCCTGCTGAATAACTCTATCCAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGAT AACGCCCTCAATCGGGTACTCCAGGAGGTGACAGAGCAGGCCAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCGTACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTAGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTGCCGTCAAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTG
13	201C15-xi	중쇄	357	CACTGAGTGAAGGAGTCGGGGGTCGCCCTGGCACGCCCTGGACACCCCTGACACTC ACCTGCACAGTCTCTGGAATCGACCTCAGTAGCTATGCAATGGCTGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAATACATCGGAACCTTAATATTGGTGGTCCGTATAT TACGCGAGCTGGCAAAGGCCGATTACCATCTCCAGACCTCGACCCGACGGTGAT CTGAAAGGCCAGTCTGACAGCCGAGGACACGCCACCTATTCTGTGCCAGATAT TATAATGGTGTAGTTATGACATCTGGGGCCAGGCACCCCTGGTACCCGTCTTTA GCATCCACCAAGGGCCATGGCTCTCCCTGGCACCCCTCTCCAGACCCCT GGGGCACAGCGCCCTGGCTGGTCAAGGACTTCTCCGAACGGTGAC GTGTCGTGAACTCAGGCCCTGACCGCCGTGACACCTTCCCGCTGTCTTA CAGTCCTCAGGACTCTACCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTCCAGCAGCTT GGCACCCAGACCTACATGCACTGAAATACAAGCCAGAACACCAAGGTGGAC AAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGACAAAATCACACATGCCACCGTCCAGCA CCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCTCTCTCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATCGCTGGTGGTGGACGTGAGCCAGAA GACCTGAGGTCAAGTCACTGTCAGGCTGACGCCGTGGAGGTGATAATGCCAG ACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCACTGCCCTC GTCCCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCAAACAAA GCCCTCCAGCCCCATCGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCAGAA CCACAGGTGTACACCCCTGCCCATCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGC CTGACCTGGCTGGTCAAAGCTTATCTCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGAGAGC AATGGGAGCCGGAGAACACTACAAGACCAGCCTCCGTCTGGACTCCGAGGGC TCCTCTTATTATCAAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGAGCAGGGAAAC GTCTCTCATGCTCCGTGATGCACTGAGGCTGACAAACCACTACACGCAAGAGC CTCTCCCTGCTCCGGGAAATGA
14	201C15-xi	경쇄	358	GATGTTGTATGACCCAGACTCCAGCCTCCCGCTGACCTGTGGAGGCACAGTC ACCATCAAGTGCAGGCCAGTGAGAGCATTTATCGCTATTGGCTGGTATCAGCAG AAACCCAGGGCAGCCTCCAAAGCTCCTGATCTATGATACTCCACTGGCATCTGG GCCCATCCGGTCAAAGCGAGTGGATATGGCAGAGGTTACTCTCACCACATCAGC GGCGTGCAGTGTGAAGATGCTGCCACTTACTACTGTCAGGGCGTTATTATGCTGAT AGTTATGGTATTGCTTCCGGCGAGGACCGAGGTGGTCAAAGCAACTGTGGCT GCACCATCTGCTTCTCATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTTAAATCTGAACTGCC TCTGTTGTGCTGCTGAATAACTCTATCCAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAG GTGGATAACGCCCTCAAATGGTAACTCCAGGAGGTGACAGAGCAGGCCAGC AAGGACAGACCTACGCCCTCAGCAGCACCCGTACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTGCCGTACA AAGAGCTTAAACAGGGGAGAGTGTG
15	201C15-zu	중쇄	359	CAGGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCTGGGCTCTGAGA CTGTCCTGTCGCCCTCGGAATCGACCTGCTCTCATGCTATGGCTGGTGCAG CAGGCTCTGGCAAGGGCCTGGAGTACATCGGCACCATCAACATCGCGGCCAGAGTG TACTACGCCCTCGGGCAAGGGCCTGGTACCCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAAC ACCCGTACCTCAGATGAACCTCTGCCGCCAGGACACCCCGTGTACTACTG GCCCGTACTACACAGCGCCTCTAGGATCTGGGGCAGGGCACACTCGTGCAGC GTGTCCTGTCATCCACCAAGGGCCATCGGCTTCTCCCTGGCACCCCTCTCCAAG

				AGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTACGGTGTCTGGAACTCAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCG GCTGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTAACTCAAGCCCAGCAACCC AAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCACCG TGCCCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAAGTCTTCCTTCCCCAAAACCC AAGGACACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGTGCA AATGCCAAGACAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCTCACCGTCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTACAAGTGCAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCACAAGGGCAG CCCCGAGAACCCAGCGTACACCCCTGCCCTATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAAGCTGACTGCCTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGCGACATGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAAACTACAAGACACGCCCTCCGTGCTGGAC TCCGACGGTCCTCTCTTATATTCAAAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACTCTCATGCTCGTGTGATGCGTGGAGGCTCTGCACAAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCGTCTCCGGGAAATGA
16	201C15-zu	경 쇄	360	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCTCTGTGCGCTCTGTGGCGACAGAGTG ACCATCACCTGTCAAGGCTCGAGTCATCTACCGGGTCTGCCCTGGTATCAGCAG AAGCCTGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGACACAGCACACTGGCTCGGC GTGCCCTCTAGTTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCCGAGTTACCGTACCATCTCC AGCCTCCAGTGCAGCACGCCGCCACCTACTATTGTGAGGGCGGACTACGCCGAC TCCTACGGAATCGCTTCCGGAGGACCAAGGTGAAATCAAAGAACTGTGGCT GCACCATCTGTTCTATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGAACTGCC TCTGTTGTGCTGCTGTAATACTTATCCAGAGGAGGCAAAGTACAGTGGAAAG GTGGATAACGCCCTCAATCGGTTAATCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGAGCCTGAGCAAAGCAGACTACAG AAACACAAAGTCTACGCTCGGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCGTACA AAGACCTTAAACAGGGAGAGTGTGA
17	346C6-xi	중 쇄	361	CAGTCGGTGGAGGAGTCCCGCGGTCGCTGGTAAAGCCTGACGAATCCCTGACACTC ACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCCCTCAGTAGTTGCAATGATCTGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAGGGCTGGAATGGATGGAACCTAGTACTGGTGGTACACATAC TACCGCGAGCTGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGACCCAGGGT CTGAAAATCACCAGTCCGACAAACCGAGGACACGCCACCTATTCTGTGCCAGAGGG GGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTCTCCCGTACTACTTTGACTTGTGGGCCAA GGGACCTGGTACCGTCTCTCAGCATCCACCAAGGGCCATCGCTTCCCGT GCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCAGCGGCCCTGGCTGCCGTCAAG GACTACTTCCCCAACCGGTGACGGTGTGGAACCTAGCGCCCTGACCGGGC GTGCACCCCTTCCCGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGGCCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGGCCAAATCTTGTGACAAAAC CACACATGCCACCGTCCCCAGCACCTGACTCTGGGGGACCGTCACTTCTC TTCCCCCCTAACCCAAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGC GTGGTGGTGGAGCTGAGGCCAGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAGCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG TACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGACCCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCAGGCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAACACACAGCTGACACCCCTGCCCATCCGGGAT GAGCTGACCAAGAACCCAGGTCAACGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGC GACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAAACTACAAGACCCAG CCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTTCTCATGCTCCGTGATGCGTGGAGGCTG

				CACAAACCACTACACCGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAAATGA
18	346C6-xi	경쇄	362	GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCACCGTGTCTGAGCTGTGGGAGGCACAGTC ACCATCAGTTGCGAGTCAGAGTGTATAATAACAACCTAGCCTGGTT CAGCAGAAACCCGGCAGCCTCCAGCTCTGATCTATCTGGCATCCTGGCA TCTGGGGTCCCACAGGTTAGCAGGGAGTGGATCTGGGACACAGTCACTCTCACC ATCAGCGGTGAGCTGTGACGATGTCGCACTTATTACTGTCTAGGTGGTTGAT GATGATGCTGATCACTTTGCTTCAGCGGAGGGACTGAGGTGGTCAAACGA GTGGCTGCACCATCTGCTTCATCTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTCGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGGAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCC GTCACAAAGAGCTAACAGGGAGAGTGTGA
19	346C6-zu	중쇄	363	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGGGGACTGGTGCAGCCTGGGGATCTCTGAGA CTGTCCTGCGCCCTCCGGCTCTCCCTGTCCTCCAGCTATGATCTGGGTCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGCACCATCTACCGGCGGAATTACC TACTACGCCCTCCGGCCAAGGGCGGTTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAAC ACCCGTGACCTCCAGATGAACCTCTCGGGCCGAGGACACCGCGGTGACTATTG GCTAGAGGGGGTACGCCGCCAGCTCGCTACTACCTGCCCTACTACTTCGACCTG TGGGCCAGGGCACCCCTGTCAGCTGTCATCTGCATCCACCAAGGGCCATGGTC TTCCCCCTGGCACCCCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGAACTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGTGACACCTCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACCCCTC AGCAGCGTGGTGCACGCTGCCCTCACGAGCTGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTG GACAAAACACACATGCCACCGTGCCTCACCTGAACCTCTGGGGACCGTCA GTCCTCCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCATGATCTCCGGACCCCTGAG GTCACATGGTGGTGGACGTCAGCTGGGACAGCAGCTGGGACGGTCAAGTCAACTGG TACGGTGGACGGCGTGGAGGTGCAATAATGCCAAGACAAGCCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGGCCCCATCGAGAAA ACCACCTCCAAGGCAAGGGCACCCGGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCTCA TCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCGGTGACGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCAGCATCGCCGTGGAGTGGAGGCAATGGGAGCCGGAGAACACTAC AAGACACGCGCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTATATTCAAAGCTC ACCGTGGACAAGGACAGGTGGCACGGGAACTGCTCTCATGTCCTGTGATGCA GAGGCTCTGACAAACCACTACACCGAGAAGGCCCTCCTGCTCCGGAAATGA
20	346C6-zu	경쇄	364	GATATTAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCGGCTTCTGTGGGAGCAGAGTG ACCATCACCTGTCAGTCCTCCAGTCGGTGTATAACACAAACACTGGCCTGGTAT CAGCAGAAACCCGGCAGGTGCCAGCTGCTGATCTACCTGGCCTCACACTGGCC TCTGGCGTGCCTCTAGATTCTCCGGCTCGCTCTGGCACCTACCTTACCCCTGACC ATCAGCTCCCTCAGTCGCGAGGATGCCGCCACCTACTATTGCTGGCGGCTGCAC GACCGACGCCGATACCTTGTGTTGGCGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAACGA GTGGCTGCACCATCTGCTTCATCTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTCGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGGAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCC GTCACAAAGAGCTAACAGGGAGAGTGTGA

⁺ 열거된 핵산 서열은 리더 서열을 포함하지 않는다.

[0130]

다양한 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 ADC는 상기 표에서 열거된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 (예를 들면, MORAB-003 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 트拉斯투주맙 중쇄 및 경쇄 가변 도메인)의 임의의 세트, 또는 중쇄 및 경쇄 세트로부터 6 CDR 서열의 세트를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, ADC는 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 추가로 포함한다. 예를 들면, ADC는 인간 IgG 중쇄 불변 도메인 (예컨대 IgG1) 및 인간 카파 또는 람다 경쇄 불변 도메인을 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 기재된 ADCs의 항체 모이어티는 인간 Ig 카파 경쇄 불변 도메인과 인간 면역글로불린 G 하위유형 1 (IgG1) 중쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0132]

다양한 구현예에서, ADC용 상기 표적 암 항원은 플레이트 수용체 알파 ("FRA")이다.

[0133]

다양한 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: 카밧 님버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:2로 구성되는 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열 식별 번호:3으로 구성되는 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열 식별 번호:4로 구성되는 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열 식별 번호:7로 구성되는 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열 식별 번호:8로 구성되는 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:9로 구성되는 경쇄 CDR3 (LCDR3), (카밧, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National

Institutes of Health, Bethesda, Md.(1987 및 1991))).

[0134] 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:13으로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:14로 구성되는 중쇄 CDR2, 서열 식별 번호:15로 구성되는 중쇄 CDR3; 서열 식별 번호:16으로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:17로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:18로 구성되는 경쇄 CDR3 (International ImMunoGeneTics Information System (IMGT®)).

[0135] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:24의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:24에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는다.

[0136] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 인간 Ig 카파 경쇄 불변 도메인과 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0137] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 서열 식별 번호:1의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:1에 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열 식별 번호:6의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:6에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 특정한 구현예에서, 항체는 서열 식별 번호:1의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:6의 경쇄 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체는 서열 식별 번호:1에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및/또는 서열 식별 번호:6에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체는 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 있는) 서열 식별 번호:11, 또는 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 없는) 서열 식별 번호:345의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 중쇄; 및 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 있는) 서열 식별 번호:12, 또는 (리더 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드가 없는) 서열 식별 번호:346의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 경쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 중쇄 아미노산 서열은 C-말단 리신이 부족하다. 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 하기와 부다페스트 조약에 따른 조건 하에 기탁된 세포주에 의해 생산된 항체의 아미노산 서열을 갖는다: 미국 종균 협회 (ATCC, 10801 University Blvd., Manassas, Va.20110-2209) (2006년 4월 24일에, 수탁 번호 PTA-7552로, 또는 중쇄 C-말단 리신이 부족한 그와 같은 서열로). 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체는 MORAb-003 (USAN 명칭: 파를레투주맙) (Ebel 등. (2007) Cancer Immunity 7:6), 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0138] 다양한 다른 구현예에서, ADC용 표적 암 항원은 인간 표피 성장 인자 수용체 2 ("her2")이다.

[0139] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:71로 구성되는 중쇄 CDR1 (HCDR1), 서열 식별 번호:72로 구성되는 중쇄 CDR2 (HCDR2), 서열 식별 번호:73으로 구성되는 중쇄 CDR3 (HCDR3); 서열 식별 번호:74로 구성되는 경쇄 CDR1 (LCDR1), 서열 식별 번호:75로 구성되는 경쇄 CDR2 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:76으로 구성되는 경쇄 CDR3 (LCDR3).

[0140] 일부 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 아래와 같이 포함한다: IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:191로 구성되는 중쇄 CDR1, 서열 식별 번호:192로 구성되는 중쇄 CDR2, 서열 식별 번호:193으로 구성되는 중쇄 CDR3; 서열 식별 번호:194로 구성되는 경쇄 CDR1, 서열 식별 번호:195로 구성되는 경쇄 CDR2, 및 서열 식별 번호:196으로 구성되는 경쇄 CDR3.

[0141] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:28의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 가변 영역 아미노산 서열 및/또는 서열 식별 번호:28에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 갖는다.

[0142] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체는 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 인간 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을

포함한다.

[0143] 다양한 구현예에서, 항-her2 항체는 서열 식별 번호:327의 중쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:327에 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열 식별 번호:328의 경쇄 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호:328에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 특정한 구현예에서, 항체는 서열 식별 번호:327의 중쇄 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:328의 경쇄 아미노산 서열, 또는 상기-언급된 서열에 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-her2 항체는 서열 식별 번호:327에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 중쇄 아미노산 서열 및 서열 식별 번호:328에 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. 다양한 구현예에서, 항-her2 항체는 트拉斯투주맙, 또는 이의 항원-결합 단편이다.

[0144] 다양한 구현예에서, 항-FRA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 MORAb-003의 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하거나 여기서 CDRs는 HCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:2, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:13), HCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:3, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:14), HCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:4, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:15); LCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:7, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:16), LCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:8, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:17), 및 LCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:9, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:18)의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 이하 아미노산 부가, 결실 또는 치환을 포함한다.

[0145] 다양한 다른 구현예에서, 항-her2 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 트拉斯투주맙의 3 중쇄 CDRs 및 3 경쇄 CDRs를 포함하거나 여기서 CDRs는 HCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:71, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:191), HCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:72, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:192), HCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:73, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:193); LCDR1 (카밧에 따라 서열 식별 번호:74, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:194), LCDR2 (카밧에 따라 서열 식별 번호:75, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:195), 및 LCDR3 (카밧에 따라 서열 식별 번호:76, 또는 IMGT에 따라 서열 식별 번호:196)의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 이하 아미노산 부가, 결실 또는 치환을 포함한다.

[0146] 다양한 구현예에서, 아미노산 치환은 단일 잔기의 것이다. 생물학적 기능 (예를 들면, FRA 또는 her2에 결합)이 유지되는 한 상당히 더 큰 삽입이 용인될 수 있어도, 삽입은 일반적으로 약 1 내지 약 20 아미노산 잔기의 정도일 것이다. 일부 경우에 결실이 훨씬 더 클 수 있어도, 결실은 일반적으로 약 1 내지 약 20 아미노산 잔기 범위이다. 치환, 결실, 삽입, 또는 이의 임의의 조합은 최종 유도체 또는 변이체에 도달하는데 사용될 수 있다. 일반적으로 이들 변화는 문자의 변경, 특히 항원 결합 단백질의 면역원성 및 특이성을 최소화하기 위해 몇몇 아미노산에서 실시된다. 그러나, 더 큰 변화는 특정 상황에서 용인될 수 있다. 보존적 치환은 표 10으로서 묘사된 하기 차트에 따라 일반적으로 실시된다.

[0147]

표 10

최초 잔기	예시적 치환
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

[0148]

기능 또는 면역학적 동일성에서 실질적인 변화는 표 10에서 나타난 것보다 덜 보존적인 치환 선택에 의해 실시된다. 예를 들어, 하기의 더욱 상당히 영향을 미치는 치환은 실시될 수 있다: 변형의 구역에서 폴리펩타이드 골격의 구조, 예를 들어 알파-나선 또는 베타-시트 구조; 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성; 또는 측쇄의 벌크. 일반적으로 폴리펩타이드의 특성에서 가장 큰 변화를 생산하기 위해 기대되는 치환은 하기이다: (a) 친수성 잔기, 예를 들면, 세릴 또는 트레오닐이 소수성 잔기, 예를 들면, 류실, 이소류실, 페닐알라닐, 발릴 또는 알라닐로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것; (b) 시스테인 또는 프롤린이 임의의 다른 잔기로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것; (c) 양전기 측쇄, 예를 들면, 라이실, 아르기닐, 또는 히스티딜을 갖는 잔기가 음전기 잔기, 예를 들면, 글루타밀 또는 아스파르틸로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것; 또는 (d) 큰 부피의 측쇄, 예를 들면, 페닐알라닌을 갖는 잔기가 측쇄를 갖지 않는 것, 예를 들면, 글리신으로 (또는 상기에 의해) 치환되는 것.

[0149]

변이체 항체 서열이 ADC에서 사용되는 다양한 구현예에서, 변이체가 필요에 따라 항원 결합 단백질의 특징을 변형시키기 위해 또한 선택될 수 있어도, 변이체는 전형적으로 동일한 정성적 생물학적 활성을 나타내고 동일한 면역 반응을 유도할 것이다. 대안적으로, 변이체는 항원 결합 단백질의 생물학적 활성이 변경되도록 설계될 수 있다. 예를 들어, 당화 부위는, 본 명세서에서 논의된 바와 같이, 변경 또는 제거될 수 있다.

[0150]

다양한 항체는 암 세포를 표적하기 위해 본 명세서에서 사용된 ADCs와 사용될 수 있다. 아래에서 나타낸 바와 같이, 본 명세서에서 개시된 ADCs에서 링커-독소는 상이한 종양 항원-표적화 항체와 놀랍게도 효과적이다. 건강한 세포를 제외한 종양 세포에서 발현된, 또는 건강한 세포에서 보다 더 높은 수준으로 종양 세포에서 발현된 적합한 항원은, 이들에 관한 항체와 같이, 당해 기술에 공지되어 있다. 이들 항체는 본 명세서에서 개시된 링커 및 독소 (예를 들면, 에리불린)에 따라 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 FRA를 표적한다. 일부 구현예에서, FRA-표적화 항체 모이어티는 MORAb-003이다. 일부 구현예에서, 개시된 링커 및 독소 (에리불린)은 몇 개의 상이한 종양-표적화 항체로 놀랍게도 효과적인 반면, FRA-표적화 항체 모이어티 예컨대 MORAb-003은 특히 개선된 약물:항체 비, 종양 표적화, 방관자 사멸, 치료 효능, 및 감소된 부정확한 사멸을 제공하였다. 개선된 치료 효능은 시험관내 또는 생체내 측정될 수 있고, 감소된 종양 성장 속도 및/또는 감소된 종양 용

적을 포함할 수 있다.

[0152] 특정 구현예에서, 다른 항원 표적에 대한 항체는 사용되고 FRA-표적화 항체 모이어티 예컨대 MORAb-003을 포함하는 ADC의 양호한 기능성 특성 (예를 들면, 개선된 약물:항체 비, 개선된 치료 효능, 감소된 부정확한 사멸, 등)의 적어도 일부를 제공한다. 일부 구현예에서, 이들 양호한 기능성 특성의 일부 또는 전부는 개시된 링커 및 독소 (에리불린)이 her2-표적화 항체 모이어티 예컨대 트라스투주맙에 콘주케이션되는 경우 관측된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 her2를 표적한다. 일부 구현예에서, her2-표적화 항체 모이어티는 트라스투주맙이다. 일부 구현예에서, 이들 양호한 기능성 특성의 일부 또는 전부는 개시된 링커 및 독소 (에리불린)이 MSLN-표적화 항체 모이어티 예컨대 MORAb-009에 콘주케이션되는 경우 관측된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 MSLN을 표적한다. 일부 구현예에서, MSLN-표적화 항체 모이어티는 MORAb-009이다.

링커

[0154] 다양한 구현예에서, ADC에서 링커는 치료적으로 효과적이도록 충분한 방식으로 세포외로 안정적이다. 일부 구현예에서, 링커는 세포 외부에서 안정적이어서, 이로써 ADC가 세포외 조건에서 (예를 들면, 세포 속으로 수송 또는 전달에 앞서) 존재한 경우 온전하게 남아있다. ADC의 문맥에서 사용된, 용어 “온전한”은 항체 모이어티가 약물 모이어티에 부착된 채 남아있는 것을 의미한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 링커 또는 링커를 포함하는 ADC의 문맥에서, “안정적인”은 ADC가 세포외 조건에서 존재하는 경우 ADC의 샘플에서 링커의 20% 이하, 약 15% 이하, 약 10% 이하, 약 5% 이하, 약 3% 이하, 또는 약 1% 이하 (또는 그 사이 임의의 백분율)이 절단되는 (또는 전반적인 ADC의 경우에서 달리 온전하지 않는) 것을 의미한다.

[0155] 링커가 세포외로 안정적인지 여부는, 예를 들어, 예정된 기간 (예를 들면, 2, 4, 6, 8, 16, 또는 24 시간) 동안 혈장내 ADC의 포함 및 그 다음 혈장에서 존재하는 자유 약물 모이어티의 양의 정량화에 의해 결정될 수 있다. 안정성은 표적 종양 세포를 국재화하기 위해 그리고 약물의 미성숙한 방출을 예방하기 위해 ADC 시간을 허용할 수 있고, 이는 양쪽 정상 및 종양 조직의 무차별적으로 손상화에 의해 ADC의 치료 지수를 낮출 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 표적 세포의 외부에서 안정적이고 ADC로부터 한번 세포의 내부에서 약물 모이어티를 방출시켜, 이로써 약물 모이어티는 그것의 표적에 (예를 들면, 미세소관에) 결합할 수 있다. 따라서, 효과적인 링커는 하기 할 것이다: (i) 항체 모이어티의 특이적 결합 특성을 유지; (ii) 항체 모이어티에 안정적인 부착을 통해 약물 모이어티의 전달, 예를 들면, 세포내 전달을 허용; (iii) ADC가 그것의 표적 부위에 수송 또는 전달되는 때 까지 안정적이고 온전하게 유지; 및 (iv) 절단후 약물 모이어티의 치료 효과, 예를 들면, 세포독성 효과를 허용.

[0156] 링커는 ADC의 물리화학 특성에 영향을 줄 수 있다. 많은 세포독성 약물이 사실상 소수성이기 때문에, 추가의 소수성 모이어티를 가진 항체에 이들의 결합은 응집으로 이어질 수 있다. ADC 응집물은 불용성이고 종종, ADC의 효력에 부정적으로 영향을 줄 수 있는, 항체에 달성가능한 약물 장입을 제한시킨다. 생물제제의 단백질 응집물은, 일반적으로, 또한 증가된 면역원성에 연결되어 있다. 아래에서 나타낸 바와 같이, 본 명세서에서 개시된 링커는 약물 장입의 바람직한 수준 및 낮은 응집 수준을 가진 ADCs를 초래한다.

[0157] 링커는 “절단가능한” 또는 “비-절단가능한” 것일 수 있다 (Ducry and Stump, Bioconjugate Chem. (2010) 21:5-13). 절단가능한 링커는 특정 환경 인자에 거치는 경우, 예를 들면, 상기 표적 세포 속으로 내재화된 경우 약물을 방출시키기 위해 설계되고, 반면에 비-절단가능한 링커는 일반적으로 항체 모이어티 자체의 열화에 의존한다.

[0158] 일부 구현예에서, 링커는 비-절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, ADC의 약물 모이어티는 항체 모이어티의 열화에 의해 방출된다. 비-절단가능한 링커는 상기 표적 세포 안에 열화 그리고 상기에 의한 내재화시 항체 및 약물의 적어도 하나의 아미노산과 공유적으로 관련되어 남아있다. 비-절단가능한 링커는 통상적으로 항체 또는 약물, 각각에서 말레이미드 또는 할로아세트아미드 기와 약물 또는 항체에서 티올 기의 콘주케이션에 의해 제조되는, 티오에테르 연결을 포함한다 (Goldmacher 등, In Cancer Drug Discovery and Development:Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins (G.L.Phillips ed., Springer, 2013)). 예시적 비-절단가능한 링커는 티오에테르, 사이클로헥실, N-석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1 카복실레이트 (SMCC), N-하이드록시석신이미드 (NHS), 또는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 비-절단가능한 링커는 (PEG)₂를 포함한다. 다른 구현예에서, 비-절단가능한 링커는 (PEG)₄를 포함한다.

[0159] 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 링커이다. 절단가능한 링커는 절단가능한 모이어티를 포함하는 임의의 링

커를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 “절단가능한 모이어티”는 절단될 수 있는 임의의 화학 결합을 지칭한다. 적합한 절단가능한 화학 결합은 당해 분야에서 잘 알려지고, 비제한적으로, 산 불안정성 결합, 프로테아제/펩티다제 불안정성 결합, 광불안정적인 결합, 디설파이드 결합, 및 에스테라제 불안정성 결합을 포함한다. 절단가능한 모이어티를 포함하는 링커는 링커에서 특정 부위에 절단을 통해 ADC로부터 약물 모이어티의 방출을 허용할 수 있다. 다양한 구현예에서, 연결된 독소로부터 항체의 절단은 독소의 활성을 활성화 또는 증가시킨다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커 (예를 들면, Val-Cit 링커)를 포함하는 ADC는, 비-절단가능한 링커 (예를 들면, 비-절단가능한 (PEG)₂ 또는 (PEG)₄ 링커)를 포함하는 ADC에 비교된 경우, 증가된 정확한 세포 사멸 및/또는 감소된 부정확한 세포 사멸을 입증한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 링커를 포함하는 ADC는 ADC로 처리된 세포 및/또는 암이 표적 항원 (예를 들면, FRA 또는 her2)의 고 수준을 발현시키지 않는 경우 비-절단가능한 링커를 포함하는 ADC에 비해 개선된 치료 효능을 나타낸다. 일부 구현예에서, 연결된 독소로부터 항체의 절단은, 시험관내 및/또는 생체내 측정된 경우, ADC의 개선된 치료 효능을 달성하기 위해 요구된다.

[0160]

일부 구현예에서, 링커는 세포내 조건 하에 절단가능하여서, 이로써 링커의 절단이 약물을 활성화시키기 위해 및/또는 약물을 치료적으로 효과적으로 만들기 위해 세포내 환경에서 항체 모이어티로부터 약물 모이어티를 충분히 방출시킨다. 일부 구현예에서, 약물 모이어티는 ADC가 ADC의 항체 모이어티에 특이적인 항원을 발현시키는 세포에 진입하는 때까지 항체 모이어티로부터 절단되지 않고, 약물 모이어티는 세포에 진입시 항체 모이어티로부터 절단된다. 일부 구현예에서, 링커는 링커 또는 항체 모이어티의 일부가 절단시 약물 모이어티에 결합된 채 남아있지 않도록 배치되는 절단가능한 모이어티를 포함한다. 예시적 절단가능한 링커는 산 불안정성 링커, 프로테아제/펩티다제-감수성 링커, 광불안정적인 링커, 디메틸-, 디설파이드-, 또는 설폰아미드-함유 링커를 포함한다.

[0161]

일부 구현예에서, 링커는 pH-민감성 링커이고, 특정 pH 값에서 가수분해에 민감성이다. 전형적으로, pH-민감성 링커는 산성 조건 하에 절단가능하다. 이러한 절단 전략은 일반적으로, 링커에서 산 불안정성 기, 예컨대 하이드라존의 가수분해를 유발시키기 위해, 사이토졸 (pH ~ 7.4)에 비교된 경우, 엔도조말 (pH ~ 5-6) 및 리소좀 (pH ~ 4.8) 세포내 구획에서 더 낮은 pH를 이용한다 (Jain 등. (2015) Pharm Res 32:3526-40). 일부 구현예에서, 링커는 산 불안정성 및/또는 가수분해성 링커이다. 예를 들어, 리소좀에서 가수분해성이고, 산 불안정성 기 (예를 들면, 하이드라존, 세미카바존, 티오세미카바존, 시스-아코니트산 아미드, 오르토에스테르, 아세탈, 케탈, 또는 기타)를 함유하는 산 불안정성 링커는 사용될 수 있다. 참고, 예를 들면, 미국특허 번호 5,122,368; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik and Walker (1999) Pharm. Therapeutics 83:67-123; Neville 등. (1989) Biol. Chem. 264:14653-61. 그와 같은 링커는 중성 pH 조건, 예컨대 혈액에서의 것 하에 상대적으로 안정적이지만, 리소좀의 근사치 pH인, pH 5.5 또는 5.0 미만에서 불안정하다. 특정 구현예에서, 가수분해성 링커는 티오에테르 링커 (예컨대, 예를 들면, 아실하이드라존 결합을 통해 치료제에 부착된 티오에테르)이다. 참고, 예를 들면, 미국특허 번호 5,622,929.

[0162]

일부 구현예에서, 링커는 환원 조건 하에 절단가능하다. 일부 구현예에서, 링커는 환원제, 예컨대 글루타티온 또는 디티오트레이톨의 존재 하에 절단가능하다. 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 디설파이드 링커 또는 절단가능한 설폰아미드 링커이다.

[0163]

일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 디설파이드 링커이다. 예를 들어, SATA (N-석신이미딜-5-아세틸티오아세테이트), SPDP (N-석신이미딜-3-(2-페리딜디티오)프로페오네이트), SPDB (N-석신이미딜-3-(2-페리딜디티오)부티레이트) 및 SMPT (N-석신이미딜옥시카보닐-알파-메틸-알파-(2-페리딜-디티오)톨루엔), SPDB 및 SMPT를 이용하여 형성될 수 있는 것을 포함하는, 다양한 디설파이드 링커는 당해 기술에 공지되어 있다. 참고, 예를 들면, Thorpe 등. (1987) Cancer Res. 47:5924-31; Wawrzynczak 등, In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer (C. W. Vogel ed., Oxford U.Press, 1987). 참고 또한 미국특허 번호 4,880,935. 디설파이드 링커는, 그것의 디설파이드 결합의 절단을 용이하게 할 수 있는, 세포내 티올의 존재도를 탐구하는데 전형적으로 사용된다. 가장 풍부 세포내 티올, 환원된 글루타티온의 세포내 농도는 일반적으로 약 5 μ M에 혈액에서 가장 풍부한 저-분자 티올 (즉, 시스테인)의 것보다 약 1,000-배 더 높은, 1-10 nM의 범위이다 (Goldmacher 등, In Cancer Drug Discovery and Development:Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins (G.L. Phillips ed., Springer, 2013)). 단백질 디설파이드 이소머라제 계열의 세포내 효소는 또한 디설파이드 링커의 세포내 절단에 기여할 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 절단가능한 디설파이드 링커는 절단가능한 디설파이드 모이어티를 포함하는 임의의 링커를 지칭한다. 용어 “절단가능한 디설파이드 모이어티”는, 예를 들면, 티올 또는 효소에 의해 절단 및/또는 환원될 수 있는 디설파이드 결합을 지칭한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 디설파이드 모이어티는 디설파이드-디메틸이다.

- [0164] 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 셀론아미드 링커이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 절단가능한 셀론아미드 링커는 절단가능한 셀론아미드 모이어티를 포함하는 임의의 링커를 지칭한다. 용어 “절단가능한 셀론아미드 모이어티”는 아민 기에 연결된 셀론아미드 기, 즉, 설포닐 기를 지칭하고, 여기서 상기 황-질소 결합은 절단될 수 있다.
- [0165] 일부 구현예에서, 링커는 분지화, 다작용성 링커 모이어티를 통해 항체 모이어티에 1 초과 약물 모이어티의 공유결합용 수지상 유형 링커일 수 있다. 참고, 예를 들면, Sun 등. (2002) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:2213-5; Sun 등. (2003) *Bioorg. Med. Chem.* 11:1761-8. 수지상 링커는, ADC의 효력에 관련되는, 약물 대 항체의 몰비, 즉, 약물 장입을 증가시킬 수 있다. 따라서, 항체 모이어티가 단 하나의 반응성 시스테인 티올 기를 보유하는 경우, 예를 들어, 다수의 약물 모이어티는 수지상 링커를 통해 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 모이어티 또는 링커-약물 모이어티는 환원된 디설파이드 브릿징 화학 또는 제한된 리신 이용 기술을 통해 항체에 부착될 수 있다. 참고, 예를 들면, 국제공개번호 WO2013173391 및 WO2013173393.
- [0166] 일부 구현예에서, 링커는, 세포내 환경에서 (예를 들면, 리소좀 또는 엔도솜 또는 카베올레아 안에) 존재하는 절단제, 예를 들면, 효소에 의해 절단가능하다. 링커는, 예를 들면, 비제한적으로, 리소좀 또는 엔도조말 프로테아제를 포함하는, 세포내 웨티다제 또는 프로테아제 효소에 의해 절단되는 웨타이드 링커일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 절단가능한 웨타이드 링커이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 절단가능한 웨타이드 링커는 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함하는 임의의 링커를 지칭한다. 용어 “절단가능한 웨타이드 모이어티”는 세포내 환경에서 존재하는 제제에 의해 절단될 수 있는 아미노산 (천연 또는 합성 아미노산 유도체)를 결합시키는 임의의 화학 결합을 지칭한다. 예를 들면, 링커는 웨티다제 예컨대 카텝신, 예를 들면, 카텝신 B에 의해 절단가능한 알라닌-알라닌-아스파라긴 (Ala-Ala-Asn) 서열 또는 발린-시트룰린 (Val-Cit) 서열을 포함할 수 있다.
- [0167] 일부 구현예에서, 링커는 효소-절단가능한 링커이고 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티는 효소에 의해 절단가능하다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 리소좀 효소, 예를 들면, 카텝신에 의해 절단가능하다. 일부 구현예에서, 링커는 카텝신-절단가능한 링커이다. 일부 구현예에서, 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티는 리소좀 시스테인 카텝신, 예컨대 카텝신 B, C, F, H, K, L, O, S, V, X, 또는 W에 의해 절단가능하다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 카텝신 B에 의해 절단가능하다. 카텝신 B에 의해 절단될 수 있는 예시적 디웨타이드는 발린-시트룰린 (Val-Cit)이다 (Dubowchik 등. (2002) *Bioconjugate Chem.* 13:855-69). 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함하는 ADC는 대안적 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 디설파이드 모이어티 또는 절단가능한 셀론아미드 모이어티)를 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입 (*p*)을 입증한다.
- [0168] 일부 구현예에서, 링커 또는 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 프로테아제에 의한 링커의 절단을 허용하고, 그렇게 함으로써 하나 이상의 세포내 프로테아제, 예컨대 하나 이상의 리소좀 효소에 노출시 ADC로부터 약물 모이어티의 방출을 용이하게 한다 (Doronina 등. (2003) *Nat. Biotechnol.* 21:778-84; Dubowchik and Walker (1999) *Pharm. Therapeutics* 83:67-123). 예시적 아미노산 유닛은, 비제한적으로, 디웨타이드, 트리웨타이드, 테트라웨타이드, 및 펜타웨타이드를 포함한다. 예시적 디웨타이드는, 비제한적으로, 발린-시트룰린 (Val-Cit), 알라닌-아스파라긴 (Ala-Asn), 알라닌-페닐알라닌 (Ala-Phe), 페닐알라닌-리신 (Phe-Lys), 알라닌-리신 (Ala-Lys), 알라닌-발린 (Ala-Val), 발린-알라닌 (Val-Ala), 발린-리신 (Val-Lys), 리신-리신 (Lys-Lys), 페닐알라닌-시트룰린 (Phe-Cit), 류신-시트룰린 (Leu-Cit), 이소류신-시트룰린 (Ile-Cit), 트립토판-시트룰린 (Trp-Cit), 및 페닐알라닌-알라닌 (Phe-Ala)를 포함한다. 예시적 트리웨타이드는, 비제한적으로, 알라닌-알라닌-아스파라긴 (Ala-Ala-Asn), 글리신-발린-시트룰린 (Gly-Val-Cit), 글리신-글리신-글리신 (Gly-Gly-Gly), 페닐알라닌-페닐알라닌-리신 (Phe-Phe-Lys), 및 글리신-페닐알라닌-리신 (Gly-Phe-Lys)를 포함한다. 다른 예시적 아미노산 유닛은, 예를 들면, 하기에서 기재된 바와 같이, 비제한적으로, Gly-Phe-Leu-Gly, Ala-Leu-Ala-Leu, Phe-N⁹-토실-Arg, 및 Phe-N⁹-니트로-Arg를 포함한다: 미국특허 번호 6,214,345. 일부 구현예에서, 링커에서 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커에서 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, Val-Cit를 포함하는 ADC는 대안적 아미노산 유닛 또는 대안적 절단가능한 모이어티를 포함하는 ADC에 비해 감소된 부정확한 세포 사멸, 증가된 정확한 세포 사멸, 더 낮은 응집 수준, 및/또는 더 높은 약물 장입 (*p*)를 입증한다. 아미노산 유닛은 자연적으로 발생하는 아미노산 잔기 및/또는 소수의 아미노산 및/또는 비-자연 발생 아미노산 유사체, 예컨대 시트룰린을 포함할 수 있다. 아미노산 유닛은 특정 효소, 예를 들어, 종양-관련된 프로테아제, 리소좀 프로테아제 예컨대 카텝신 B, C, D, 또는 S, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소 절단을 위하여 설계 및 최적화

될 수 있다.

[0169] 일부 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 임의의 ADCs에서 링커는 약물 모이어티에 항체 모이어티를 결합시키는 적어도 하나의 스페이서 유닛을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 링커에서 절단 부위 (예를 들면, 절단가능한 웨타이드 모이어티)를 항체 모이어티에 결합시킨다. 일부 구현예에서, 링커, 및/또는 링커에서 스페이서 유닛은 실질적으로 친수성이다. 친수성 링커는 약물이 다중 약물 저항 (MDR) 또는 기능적으로 유사한 수송체를 통해 저항성 암 세포 밖으로 펌핑될 수 있는 정도로 감소시키는데 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 더 짧은 PEG 링커이고, 더 긴 PEG 링커에 대해 감소된 응집 및 개선된 안정성을 제공한다.

[0170] 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 하나 이상의 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 $-(PEG)_m$ -를 포함하고, m 은 정수 1 내지 10이다. 일부 구현예에서, m 은 1 내지 10; 2 내지 8; 2 내지 6; 2 내지 5; 2 내지 4; 또는 2 내지 3 범위이다. 일부 구현예에서, m 은 8이다. 일부 구현예에서, m 은 4이다. 일부 구현예에서, m 은 3이다. 일부 구현예에서, m 은 2이다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 $(PEG)_2$, $(PEG)_4$, $(PEG)_8$, $(PEG)_9$, $(PEG)_3$ -트리아졸- $(PEG)_3$, $(PEG)_4$ -트리아졸- $(PEG)_3$, 또는 디벤질사이클로옥텐-트리아졸- $(PEG)_3$ 을 포함한다. 일부 바람직한 구현예에서, 스페이서 유닛은 $(PEG)_2$ 를 포함한다. 일부 구현예에서, 더 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_2$)를 포함하는 ADC는 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_8$)을 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입 (p)를 입증한다.

[0171] 일부 구현예에서, 링커에서 스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 $-(CH_2)_n$ -를 포함하고, n 은 정수 1 내지 10이다 (즉, n 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10일 수 있다). 일부 구현예에서, n 은 5이다. 일부 구현예에서, 더 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, $(CH_2)_5$)을 포함하는 ADC는 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, $(PEG)_8$)을 포함하는 ADC에 비해 더 낮은 응집 수준 및/또는 더 높은 약물 장입 (p)를 입증한다.

[0172] 스페이서 유닛은, 직접적으로 또는 간접적으로, 예를 들어, 항체 모이어티를 약물 모이어티에 결합시키는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 항체 모이어티를 약물 모이어티에 직접적으로 결합시킨다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 및 약물 모이어티는 하나 이상의 PEG 모이어티 (예를 들면, $(PEG)_2$ 또는 $(PEG)_4$)를 포함하는 스페이서 유닛을 통해 부착된다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 항체 모이어티를 약물 모이어티에 간접적으로 결합시킨다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 항체 모이어티, 예를 들면, 말레이미드 모이어티에 스페이서 유닛을 연결시키기 위해 부착 모이어티 및/또는 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 웨타이드, 절단가능한 디설파이드, 또는 절단가능한 셀폰아미드)를 통해 간접적으로 약물 모이어티에 항체 모이어티를 결합시킨다.

[0173] 스페이서 유닛은, 다양한 구현예에서, 말레이미드 모이어티 (Mal)을 통해 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편)에 부착한다. 일부 구현예에서, 말레이미드 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC는 대안적 부착 모이어티 예컨대 석신이미드 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커를 포함하는 ADC에 비해 더 높은 약물 장입 (p)를 입증한다.

[0174] Mal을 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 부착하는 스페이서 유닛은 본 명세서에서 “Mal-스페이서 유닛”으로서 지칭된다. 용어 “말레이미드 모이어티”는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 말레이미드 기를 함유하는 그리고 설프하이드릴 기, 예를 들면, 항체 모이어티에서 시스테인 잔기의 설프하이드릴 기와 반응성인 화합물을 의미한다. 설프하이드릴 기 (티올)과 반응성인 다른 기능성 기는, 비제한적으로, 아이오도아세트아미드, 브로모아세트아미드, 비닐 페리딘, 디설파이드, 페리딜 디설파이드, 이소시아네이트, 및 이소티오시아네이트를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 항체 또는 항원-결합 단편에서 시스테인 잔기와 반응성이다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다.

[0175] 특정 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함

한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂ 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)_m 및 Val-Cit를 포함하고, 여기에서 m 은 2 내지 8 또는 2 내지 5, 또는 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈ 및 Val-Cit를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅ 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂ 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0176] 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 절단가능한 디설파이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 디설파이드 모이어티는 디설피딜-디메틸이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 디설피딜-디메틸을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃ 및 디설피딜-디메틸을 포함한다.

[0177] 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛 및 절단가능한 설폰아미드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃ 및 설폰아미드를 포함한다.

[0178] 다양한 구현예에서, 스페이서 유닛은 석신이미드 모이어티 (OSu)를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 부착한다. OSu를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 부착하는 스페이서 유닛은 본 명세서에서 “OSu-스페이서 유닛”으로서 지칭된다. 용어 “석신이미드 모이어티”는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 아민 기, 예를 들면, 항체 모이어티에서 리신 잔기의 아민 기와 반응성인 석신이미드 화합물을 함유하는 화합물을 의미한다. 예시적 석신이미드 모이어티는 N-하이드록시석신이미드 (NHS)이다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 항체 또는 항원-결합 단편에서 리신 잔기와 반응성이다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 리신 잔기를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 연결된다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, OSu-스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다.

[0179] 특정 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 절단가능한 웨타이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂ 및 Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉ 및 Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅ 및 Val-Cit를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃ 및 Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂ 및 Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0180] 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 절단가능한 디설파이드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 디설파이드 모이어티는 디설피딜-디메틸이다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 디설피딜-디메틸을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃ 및 디설피딜-디메틸을 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃ 및 디설피딜-디메틸을 포함한다.

[0181] 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛 및 절단가능한 설폰아미드 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃ 및 설폰아미드를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃ 및 설폰아미드를 포함한다.

[0182] 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 링커에서 절단가능한 모이어티에 항체 모이어티 (즉, 항체 또는 항원-결합 단편)을 부착시킨다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 절단가능한 웨타이드 모이어티에 항체 또는 항원-결합 단편을 부착시킨다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-아미노산 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛-아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0183] 일부 구현예에서, 링커는 하기 구조를 포함한다: Mal-스페이서 유닛-Val-Cit. 일부 구현예에서, 링커는 하기 구조를 포함한다: Mal-(PEG)₂-Val-Cit. 일부 구현예에서, 링커는 하기 구조를 포함한다: Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB.

일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈-Val-Cit를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0184] 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛-Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉-Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅-Val-Cit를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-Val-Cit를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛-Ala-Ala-Asn을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn을 포함한다.

[0185] 다양한 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 절단가능한 디설파이드 모이어티에 항체 또는 항원-결합 단편을 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파이드 또는 OSu-스페이서 유닛-디설파이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 디설파이드는 디설파딜-디메틸이다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파딜-디메틸을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설파딜-디메틸을 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-스페이서 유닛-디설파딜-디메틸을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-디설파딜-디메틸을 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-디설파딜-디메틸을 포함한다.

[0186] 특정 구현예에서, Mal-스페이서 유닛 또는 OSu-스페이서 유닛은 절단가능한 셀폰아미드 모이어티에 항체 또는 항원-결합 단편을 부착시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-스페이서 유닛-셀폰아미드 또는 OSu-스페이서 유닛-셀폰아미드를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드를 포함한다.

[0187] 다양한 구현예에서, 링커에서 절단가능한 모이어티는 약물 모이어티에 직접적으로 연결된다. 다른 구현예에서, 또 다른 스페이서 유닛은 링커에서 약물 모이어티에 절단가능한 모이어티를 부착시키는데 사용된다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 에리불린이다. 다양한 구현예에서, 에리불린은 스페이서 유닛에 의해 링커에서 절단가능한 모이어티에 부착된다. 일부 구현예에서, 에리불린은 자기-희생적 스페이서 유닛에 의해 링커에서 절단가능한 모이어티에 부착된다. 특정 구현예에서, 에리불린은 자기-희생적 스페이서 유닛에 의해 링커에서 절단가능한 모이어티에 부착되고, 절단가능한 모이어티는 Val-Cit를 포함하고, PEG를 포함하는 추가 스페이서 유닛은 항체 모이어티에 절단가능한 모이어티를 연결시킨다. 특정 구현예에서, 에리불린은 pAB 자기-희생적 스페이서 유닛 및 Val-Cit 절단가능한 모이어티에 연결된 링커에서 Mal-스페이서 유닛을 통해 항-FRA 항체에 연결된다. 특정 다른 구현예에서, 에리불린은 pAB 자기-희생적 스페이서 유닛 및 Val-Cit 절단가능한 모이어티에 연결된 링커에서 Mal-스페이서 유닛을 통해 항-her2 항체에 연결된다.

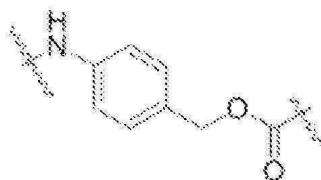
[0188] 스페이서 유닛은 "자기-희생적" 또는 "비-자기-희생적"일 수 있다. "비-자기-희생적" 스페이서 유닛은 일부 또는 모든 스페이서 유닛이 링커의 절단시 약물 모이어티에 결합된 채 남아있는 것이다. 비-자기-희생적 스페이서 유닛의 예는, 비제한적으로, 글리신 스페이서 유닛 및 글리신-글리신 스페이서 유닛을 포함한다. 비-자기-희생적 스페이서 유닛은 결국 경시적으로 분해할 수 있지만 전적으로 세포 조건 하에 연결된 원상태 약물을 쉽게 방출시키지 않는다. "자기-희생적" 스페이서 유닛은 세포내 조건 하에 원상태 약물 모이어티의 방출을 허용한다. "원상태 약물"은 스페이서 유닛 또는 다른 화학 변형의 일부가 스페이서 유닛의 절단/열화 후 남아있지 않는 것이다.

[0189] 자기-희생 화학은 당해 분야에서 공지되고 개시된 ADCs를 위하여 쉽게 선택될 수 있다. 다양한 구현예에서, 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)에 링커에서 절단가능한 모이어티를 부착시키는 스페이서 유닛은 자기-희생적이고, 세포내 조건 하에 절단가능한 모이어티의 절단과 동시에 또는 상기 직전/직후 자기-희생을 경험한다.

[0190] 특정 구현예에서, 링커에서 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, p-아미노벤질 알코올 (pABOH)는 아미드 결합을 통해 링커에서 다른 절단가능한 모이어티 또는 아미노산 유닛에 부착되고, 카바메이트, 메틸카바메이트, 또는 카보네이트는 pABOH와 약물 모이어티 사이 만들어진다 (Hamann 등. (2005) Expert Opin.Ther. Patents 15:1087-103). 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)이거나 상기를 포함한다. 이론에 의한 구속됨 없이, pAB의 자기-희생이 자발적인 1,6-제거

반응을 포함한다고 생각된다 (Jain 등. (2015) Pharm Res 32:3526-40).

[0191] 다양한 구현예에서, 개시된 ADCs에서 사용된 p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)의 구조는 아래 나타난다:



[0192]

p-아미노-벤조일옥시카보닐

[0193]

다양한 구현예에서, 자기-희생 스페이서 유닛은 에리불린상의 C-35 아민에 링커에서 절단가능한 모이어티를 부착시킨다. 일부 구현예에서, 자기-희생적 스페이서 유닛은 pAB이다. 일부 구현예에서, pAB는 에리불린상의 C-35 아민에 링커에서 절단가능한 모이어티를 부착시킨다. 일부 구현예에서, pAB는 절단가능한 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험하고, 에리불린은 그것의 원상태, 활성 형태로 ADC로부터 방출된다. 일부 구현예에서, 항-FRA 항체 (예를 들면, MORAb-003)은 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커에 의해 에리불린의 C-35 아민에 연결된다. 다른 구현예에서, 항-her2 항체 (예를 들면, 트라스투주맙)은 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커에 의해 에리불린의 C-35 아민에 연결된다.

[0194]

일부 구현예에서, pAB는 링커에서 절단가능한 웨타이드 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험한다. 일부 구현예에서, 절단가능한 웨타이드 모이어티는 아미노산 유닛을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 유닛은 Val-Cit이다. 일부 구현예에서, 링커는 Val-Cit-pAB (VCP)를 포함한다. 특정 구현예에서, 아미노산 유닛은 Ala-Ala-Asn이다. 일부 구현예에서, 링커는 Ala-Ala-Asn-pAB를 포함한다.

[0195]

일부 구현예에서, pAB는 링커에서 절단가능한 디설파이드 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험한다. 일부 구현예에서, 링커는 디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 디설피딜-디메틸-pAB를 포함한다.

[0196]

일부 구현예에서, pAB는 링커에서 절단가능한 셀폰아미드 모이어티의 절단시 자기-희생을 경험한다. 일부 구현예에서, 링커는 셀폰아미드-pAB를 포함한다.

[0197]

다양한 측면에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛, 절단가능한 아미노산 유닛, 및 pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₈-Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB를 포함한다.

[0198]

다양한 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설피딜-디메틸-pAB를 포함한다.

[0199]

다양한 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-디설피딜-디메틸-pAB를 포함한다.

[0200]

일부 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 Mal-스페이서 유닛-셀폰아미드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 Mal-(PEG)₄-트리아졸-(PEG)₃-셀폰아미드-pAB를 포함한다.

[0201]

일부 측면에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 OSu-스페이서 유닛-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 알킬 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함한다. 다른 구현예에서, 링커는

OSu-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₉-Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-아미노산 유닛-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-Val-Cit-pAB를 포함한다.

[0202] 일부 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 OSu-스페이서 유닛-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-디설파일-디메틸-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-디설파이드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-디설파일-디메틸-pAB를 포함한다.

[0203] 일부 구현예에서, ADC의 항체 모이어티는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션되고, 여기서 상기 링커는 OSu-스페이서 유닛-설폰아미드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 유닛은 PEG 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-(PEG)₃-트리아졸-(PEG)₃-설폰아미드-pAB를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 OSu-디벤질사이클로옥텐-트리아졸-(PEG)₃-설폰아미드-pAB를 포함한다.

[0204] 다양한 구현예에서, 링커는 인접하는 세포에 약물 모이어티 단독 및/또는 링커-약물 모이어티의 세포 내재화 및 확산 후 절단을 통해 방관자 사멸 (인접하는 세포의 사멸)을 용이하게 하기 위해 설계된다. 일부 구현예에서, 링커는 세포 내재화를 촉진시킨다. 일부 구현예에서, 링커는 세포외 환경에서 절단을 최소화하기 위해 설계되고 그렇게 함으로써 부정확한 조직 (예를 들면, 비-암성 조직)에 독성을 감소시키면서, 표적 조직에 ADC 결합 그리고 ADC의 항체 모이어티에 의해 표적화된 항원을 발현시키지 않는, 그러나 그 항원을 발현시키는 표적 암 조직을 둘러싸는 암성 조직의 방관자 사멸을 보존한다. 일부 구현예에서, 말레이미드 모이어티 (Mal), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 발린-시트룰린 (Val-Cit 또는 "vc"), 및 pAB를 포함하는 링커는 이들 기능성 피쳐를 제공한다. 일부 구현예에서, Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커는, 예를 들면, 항-FRA 항체 모이어티 예컨대 MORAb-003 및 약물 모이어티 예컨대 에리불린을 연결하는 경우 이들 기능성 피쳐 제공에 특히 효과적이다. 일부 구현예에서, 이들 기능성 피쳐의 적어도 일부는 또한 항-FRA 항체 모이어티 없이, 및/또는 MORAb-003 없이 관측될 수 있다. 예를 들면, 일부 구현예에서, Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 링커는, 예를 들면, 항-her2 항체 모이어티 예컨대 트라스투주맙 및 약물 모이어티 예컨대 에리불린을 연결하는 경우 이들 기능성 피쳐의 일부 또는 전부 제공에 효과적이다.

[0205] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 말레이미드 모이어티 (Mal), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티, 발린 시트룰린 (Val-Cit 또는 "vc"), 및 pAB를 포함하는 링커를 통해 약물 모이어티에 콘주게이션된다. 이들 구현예에서, 말레이미드 모이어티는 항체 모이어티에 링커-약물 모이어티를 공유적으로 부착시키고, pAB는 자기-희생적 스페이서 유닛으로 작용한다. 그와 같은 링커는 "m-vc-pAB" 링커, "Mal-VCP" 링커, "Mal-(PEG)₂-VCP" 링커, 또는 "Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB" 링커로서 지칭될 수 있다. 일부 구현예에서, 약물 모이어티는 에리불린이다. Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린의 구조는 표 46에서 제공된다. Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커의 pAB는 에리불린상의 C-35 아민에 부착된다.

[0206] Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함하는 ADCs가, 특히 항-FRA 항체 예컨대 MORAb-003 또는 이의 항원-결합 단편과 쌍으로 된 경우, 바람직한 특성의 특정한 조합을 입증한다는 것이 밝혀졌다. 이들 특성은, 비제한적으로, 다른 링커-독소 및/또는 항체 모이어티를 사용하는 ADCs에 비교된 경우 모두, 약물 장입 (p ~ 4)의 효과적인 수준, 낮은 응집 수준, 바디에서 순환인 경우 또는 보관 조건 하에 안정성 (예를 들면, 혈청 안정성), 미콘주게이션된 항체에 비교할만한 표적-발현 세포용 유지된 친화성, 표적-발현 세포에 대한 강력한 세포독성, 부정확한 세포 사멸의 낮은 수준, 방관자 사멸의 높은 수준, 및/또는 효과적인 생체내 항-암 활성을 포함한다. 스페이서 및 절단 부위의 수많은 링커 옵션 및 조합이 당해 분야에서 공지되었고 하나 이상의 이들 기능성 카테고리에서 특정 이점을 제공할 수 있는 반면, 항체 모이어티 예컨대 항-FRA 항체 (예를 들면, MORAb-003)에 에리불린을 연결하는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커의 특정한 조합은 치료적 ADC에 대하여 바람직한 기능

성 특성의 범주에 걸쳐 양호한 또는 우월한 특성을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티에 에리불린을 연결하는 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB 링커의 특정한 조합에 의해 제공된 양호한 또는 우월한 기능성 특성은, 예를 들면, 항-her 2 항체 예컨대 트拉斯투주맙에 콘주게이션된 이러한 링커-독소로 관측될 수 있다.

[0207] 일부 구현예에서, ADC는 종양 세포에서 표적화 및 내재화하는 능력을 보유하는 내재화 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 항체 모이어티 및 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, ADC는 FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편 및 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:2 (HCDR1), 서열 식별 번호:3 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:4 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:7 (LCDR1), 서열 식별 번호:8 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:9 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:13 (HCDR1), 서열 식별 번호:14 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:15 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:16 (LCDR1), 서열 식별 번호:17 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:18 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함한다. 일부 구현예에서, FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, FRA-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0208] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0209] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0210] 여기서:

[0211] (i) Ab는, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:2 (HCDR1), 서열 식별 번호:3 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:4 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:7 (LCDR1), 서열 식별 번호:8 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:9 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:13 (HCDR1), 서열 식별 번호:14 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:15 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:16 (LCDR1), 서열 식별 번호:17 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:18 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함하는 내재화 항-폴레이트 수용체 알파 (FRA) 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0212] (ii) D가 에리불린이고;

[0213] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0214] (iv) p 는 정수 1 내지 20임.

[0215] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 MORAb-003이다. 일부 구현예에서, p 는 1 내지 8, 또는 1 내지 6이다. 일부 구현예에서, p 는 2 내지 8, 또는 2 내지 5이다. 일부 구현예에서, p 는 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p 는 4이다.

[0216] 다른 구현예에서, ADC는 her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편 그리고 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:71 (HCDR1), 서열 식별 번호:72 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:73 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:74 (LCDR1), 서열 식별 번호:75 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:76 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:191 (HCDR1), 서열 식별 번호:192 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:193 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:194 (LCDR1), 서열 식별 번

호:195 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:196 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함한다. 일부 구현예에서, her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, her2-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0217] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0218] Ab-(L-D)_p (I)

[0219] 여기서:

(i) Ab는, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:71 (HCDR1), 서열 식별 번호:72 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:73 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:74 (LCDR1), 서열 식별 번호:75 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:76 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:191 (HCDR1), 서열 식별 번호:192 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:193 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:194 (LCDR1), 서열 식별 번호:195 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:196 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함하는 내재화 항-인간 표피 성장 인자 수용체 2 (her2) 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0221] (ii) D가 에리불린이고;

[0222] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0223] (iv) p는 정수 1 내지 20임.

[0224] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 트라스투주맙이다. 일부 구현예에서, p는 1 내지 8, 또는 1 내지 6이다. 일부 구현예에서, p는 2 내지 8, 또는 2 내지 5이다. 일부 구현예에서, p는 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p는 4이다.

[0225] 다른 구현예에서, ADC는 메소텔린 (MSLN)-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편 그리고 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함한다. 일부 구현예에서, MSLN-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:65 (HCDR1), 서열 식별 번호:66 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:67 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:68 (LCDR1), 서열 식별 번호:69 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:70 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:185 (HCDR1), 서열 식별 번호:186 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:187 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:188 (LCDR1), 서열 식별 번호:189 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:190 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함한다. 일부 구현예에서, MSLN-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, MSLN-발현 종양 세포를 표적하는 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 및 Ig 카파 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0226] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0227] Ab-(L-D)_p (I)

[0228] 여기서:

(i) Ab가, 카밧 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:65 (HCDR1), 서열 식별 번호:66 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:67 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:68 (LCDR1), 서열 식별 번호:69 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:70 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs); 또는, IMGT 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같이, 서열 식별 번호:185 (HCDR1), 서열 식별 번호:186 (HCDR2), 및 서열 식별 번호:187 (HCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:188 (LCDR1), 서열 식별 번호:189 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:190 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함한다.

중쇄 상보성 결정 영역 (HCDRs); 및 서열 식별 번호:188 (LCDR1), 서열 식별 번호:189 (LCDR2), 및 서열 식별 번호:190 (LCDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 3 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDRs)를 포함하는 내재화 항-메소텔린 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편이고;

[0230] (ii) D가 에리불린이고;

[0231] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0232] (iv) p는 정수 1 내지 20임.

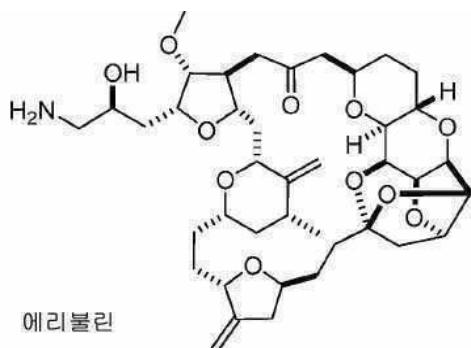
[0233] 일부 구현예에서, 내재화 항체 또는 이의 내재화 항원-결합 단편은 서열 식별 번호:25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 내재화 항체는 MORab-003, MORab-009, 또는 트拉斯투주맙이다. 일부 구현예에서, p는 1 내지 8, 또는 1 내지 6이다. 일부 구현예에서, p는 2 내지 8, 또는 2 내지 5이다. 일부 구현예에서, p는 3 내지 4이다. 일부 구현예에서, p는 4이다.

약물 모이어티

[0235] 본 명세서에서 기재된 ADCs의 약물 모이어티 (D)는 임의의 화학치료제일 수 있다. 유용한 부류의 화학치료제는, 예를 들어, 항-튜불린 제제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약물 모이어티는 항-튜불린 제제이다. 항-튜불린 제제의 예는 크립토피신 및 에리불린을 포함한다. 기재된 ADCs에서 사용을 위하여 바람직한 약물 모이어티는 에리불린이다.

[0236] 다양한 구현예에서, 약물 모이어티는 에리불린이다. 이를 구현예에서, ADC의 링커는 에리불린상의 C-35 아민을 통해 부착된다.

[0237] 다양한 구현예에서, 링커 및 항체 모이어티에 연결을 위하여 사용된 에리불린의 천연 형태는 아래 나타난다:



[0238] [0239] 특정 구현예에서, 링커의 전구체인, 중간체는 적절한 조건 하에 약물 모이어티와 반응된다. 특정 구현예에서, 반응성 기는 약물 및/또는 중간체 또는 링커에서 사용된다. 약물과 중간체 사이 반응의 생성물, 또는 유도된 약물은 후속적으로 적절한 조건 하에 항체 또는 항원-결합 단편과 반응된다. 대안적으로, 링커 또는 중간체는 항체 또는 유도된 항체와 먼저 반응될 수 있고, 그 다음 약물 또는 유도된 약물과 반응될 수 있다.

[0240] 다수의 상이한 반응은 항체 모이어티에 약물 및/또는 링커의 공유결합에 이용가능하다. 이것은 종종, 리신의 아민 기, 글루탐산 및 아스파르트산의 카복실산 기, 시스테인의 셀프하이드릴 기, 및 방향족 아미노산의 다양한 모이어티를 포함하는, 항체 분자의 하나 이상의 아미노산 잔기의 반응에 의해 달성된다. 예를 들면, 비-특이적 공유결합은 항체 모이어티상의 아미노 (또는 카복시) 기에 화합물상의 카복시 (또는 아미노) 기를 결합시키기 위해 카보디이미드 반응을 사용하여 착수될 수 있다. 추가로, 2기능제 예컨대 디알테하이드 또는 이미도에스테르는 또한 항체 모이어티상의 아미노 기에 화합물 상의 아미노 기를 결합시키는데 사용될 수 있다. 쉬프 염기 반응은 결합제에 약물의 부착에 또한 이용가능하다. 이러한 방법은 글리콜 또는 하이드록시 기를 함유하는 약물의 퍼아이오데이트 산화를 포함하고, 따라서 그 다음 결합제와 반응되는 알데하이드를 형성한다. 부착은 결합제의 아미노 기로 쉬프 염기의 형성을 통해 발생한다. 이소티오시아네이트는 또한 결합제에 약물을 공유적으로 부착시키기 위한 커플링제로서 사용될 수 있다. 다른 기술은 숙련가에 공지되고 본 개시내용의 범위 내이다.

약물 장입

[0241] 약물 장입은 p에 의해 표시되고, 또한 본 명세서에서 약물-대-항체 비 (DAR)로서 지정된다. 약물 장입은 항체 모이어티당 1 내지 20 약물 모이어티 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, p는 정수 1 내지 20이다. 일부 구현예

에서, p 는 정수 1 내지 10, 1 내지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 또는 1 내지 2이다. 일부 구현예에서, p 는 정수 2 내지 10, 2 내지 9, 2 내지 8, 2 내지 7, 2 내지 6, 2 내지 5, 2 내지 4, 또는 2 내지 3이다. 일부 구현예에서, p 는 정수 3 내지 4이다. 다른 구현예에서, p 는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 3 또는 4이다.

[0243] 약물 장입은 항체 모이어티에서 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 일부 구현예에서, ADC의 링커 모이어티(L)은 항체 모이어티상의 하나 이상의 아미노산 잔기에서 화학적으로 활성 기를 통해 항체 모이어티에 부착한다. 예를 들어, 링커는 자유 아미노, 아미노, 하이드록실, 티올, 또는 카복실 기를 통해 항체 모이어티에 (예를 들면, N- 또는 C-말단에, 하나 이상의 리신 잔기의 앱실론 아미노 기에, 하나 이상의 글루탐산 또는 아스파르트산 잔기의 자유 카복실산 기에, 또는 하나 이상의 시스테인 잔기의 설프하이드릴 기에) 부착될 수 있다. 링커가 부착되는 부위는 항체 모이어티의 아미노산 서열에서 천연 잔기일 수 있거나, 예를 들면, DNA 재조합 기술에 의해 (예를 들면, 아미노산 서열 속으로 시스테인 잔기 도입에 의해) 또는 단백질 생화학에 의해 (예를 들면, 환원, pH 조정, 또는 가수분해에 의해) 항체 모이어티 속으로 도입될 수 있다.

[0244] 일부 구현예에서, 항체 모이어티에 콘주게이션될 수 있는 약물 모이어티의 수는 자유 시스테인 잔기의 수에 의해 제한된다. 예를 들어, 부착이 시스테인 티올 기인 경우, 항체는 단 하나의 또는 몇몇 시스테인 티올 기를 가질 수 있거나, 링커가 부착될 수 있는 단 하나의 또는 몇몇 충분히 반응성 티올 기를 가질 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 많은 자유 및 반응성 시스테인 티올 기를 함유하지 않는다. 사실상, 항체에서 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디설파이드 브릿지로서 존재한다. 항체에 링커-독소의 과-부착은 디설파이드 브릿지를 형성하기 위해 이용가능한 시스테인 잔기를 환원시킴으로써 항체를 탈안정화 시킬 수 있다. 따라서, 최적의 약물:항체 비는 항체 모이어티의 탈안정화 없이 (항체당 부착된 약물 모이어티의 수 증가에 의한) ADC의 효력을 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 최적의 비는 약 3-4일 수 있다.

[0245] 일부 구현예에서, Mal 모이어티를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커는 약 3-4의 비를 제공한다. 일부 구현예에서, 대안적 모이어티 (예를 들면, OSu 모이어티)를 통해 항체 모이어티에 부착된 링커는 덜 최적의 비 (예를 들면, 더 낮은 비, 예컨대 약 0-3)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 짧은 스페이서 유닛 (예를 들면, 짧은 PEG 스페이서 유닛 예컨대 (PEG)₂ 또는 (PEG)₄, 또는 짧은 알킬 스페이서 유닛 예컨대 (CH₂)₅)를 포함하는 링커는 약 3-4의 비를 제공한다. 일부 구현예에서, 더 긴 스페이서 유닛 (예를 들면, (PEG)₈)을 포함하는 링커는 덜 최적의 비 (예를 들면, 더 낮은 비, 예컨대 약 0-3)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 웨타이드 절단가능한 모이어티를 포함하는 링커는 약 3-4의 비를 제공한다. 일부 구현예에서, 대안적 절단가능한 모이어티 (예를 들면, 절단가능한 디설파이드 또는 절단가능한 셀론아미드)를 포함하는 링커는 덜 최적의 비 (예를 들면, 더 낮은 비, 예컨대 약 0-3)을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 예컨대 항-FRA 항체 (예를 들면, MORAb-003)에 연결된 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함하는 ADC는 약 3-4의 비를 갖는다. 일부 구현예에서, 약 3-4의 비는 상이한 항체, 예컨대 항-her2 항체 (예를 들면, 트라스투주맙)에 연결된 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린을 포함하는 ADC로 판측된다. 일부 구현예에서, Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB-에리불린 링커-독소를 포함하는 ADCs로 판측된 최적의 비는 항체-독립적이다.

[0246] 일부 구현예에서, 항체 모이어티는 하나 이상의 자유 시스테인 잔기를 생성하기 위해 콘주게이션에 앞서 환원 조건에 노출된다. 항체는, 일부 구현예에서, 부분적인 또는 총 환원 조건 하에, 환원제 예컨대 디티오트레이톨(DTT) 또는 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)로 환원되어, 반응성 시스테인 티올 기를 생성할 수 있다. 짹짓기되지 않은 시스테인은, 쇄내 디설파이드 결합 온전하게 유지하면서 헌지 영역에서 2 중쇄 (인간 IgG1의 경우에서 H-H 짹짓기당 2 쌍) 및 경쇄 및 중쇄 (H-L 짹짓기당 1 쌍)을 결합시키는 쇄간 디설파이드 결합을 우선적으로 환원시키는, TCEP의 제한된 몰 당량으로 부분적 환원을 통해 생성될 수 있다 (Stefano 등. (2013) Methods Mol. Biol. 1045:145-71). 구현예에서, 항체 안에 디설파이드 결합은, 예를 들면, 교대 환원 및 산화 전압을 인가하는 작동 전극 사용에 의해 전기화학적으로 환원된다. 이러한 접근법은 하기에 디설파이드 결합 환원의 온라인 커플링을 허용할 수 있다: 분석 디바이스 (예를 들면, 전기화학적 검출 디바이스, NMR 분광기, 또는 질량 분광분석기) 또는 화학 분리 디바이스 (예를 들면, 액체 크로마토그래프 (예를 들면, HPLC) 또는 전기영동 디바이스 (참조, 예를 들면, 미국공개번호 20140069822)). 특정 구현예에서, 항체는 아미노산 잔기, 예컨대 리신 또는 시스테인에서 반응성 친핵성 기를 드러내기 위해 변성 조건에 적용된다.

[0247] ADC의 약물 장입은 상이한 방식으로, 예를 들면, 하기에 의해 제어될 수 있다: (i) 항체에 비해 몰 과잉의 약물-링커 중간체 또는 링커 시약의 제한; (ii) 콘주게이션 반응 시간 또는 온도의 제한; (iii) 시스테인 티올 변형

용 부분적인 또는 제한 환원 조건; 및/또는 (iv) 시스테인 잔기의 수 및 위치가 링커-약물 부착의 수 및/또는 위치의 제어에 의해 변형되도록 항체의 아미노산 서열의 재조합 기술에 의한 공학기술.

[0248]

일부 구현예에서, 자유 시스테인 잔기는 항체 모이어티의 아미노산 서열 속으로 도입된다. 예를 들어, 모체 항체의 하나 이상의 아미노산이 시스테인 아미노산으로 대체되는 시스테인 조작된 항체는 제조될 수 있다. 항체의 임의의 형태는 그렇게 조작, 즉 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, 모체 Fab 항체 단편은 "ThioFab"로서 지칭된 시스테인 조작된 Fab를 형성하기 위해 조작될 수 있다. 유사하게, 모체 단클론성 항체는 "ThioMab"를 형성하기 위해 조작될 수 있다. 단일 부위 돌연변이는 ThioFab에서 단일 조작된 시스테인 잔기를 수득하고, 반면에 단일 부위 돌연변이는, IgG 항체의 이량체성 성질 때문에, ThioMab에서 2 조작된 시스테인 잔기를 수득한다. 모 폴리펩타이드의 아미노산 서열 변이체를 인코딩하는 DNA는 당해 분야에서 공지된 다양한 방법 (참조, 예를 들면, WO2006/034488에서 기재된 방법)에 의해 제조될 수 있다. 이를 방법은, 비제한적으로, 부위 지향적 (또는 올리고뉴클레오타이드-매개된) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발, 및 폴리펩타이드를 인코딩하는 초기 제조된 DNA의 카셋트 돌연변이유발에 의한 제조를 포함한다. 재조합 항체의 변이체는 또한 제한 단편 조작에 의해 또는 합성 올리고뉴클레오타이드로 연장 PCR 중첩에 의해 또한 작제될 수 있다. 식 I의 ADCs는, 비제한적으로, 1, 2, 3, 또는 4 조작된 시스테인 아미노산을 갖는 항체를 포함한다 (Lyon 등. (2012) Methods Enzymol. 502:123-38). 일부 구현예에서, 하나 이상의 자유 시스테인 잔기는, 공학기술의 사용 없이, 항체 모이어티에서 이미 존재하고, 이 경우에 현존하는 자유 시스테인 잔기는 약물 모이어티에 항체 모이어티를 콘주게이션하는데 사용될 수 있다.

[0249]

일부 구현예에서, 더 높은 약물 장입 (예를 들면, $p > 5$)는 특정 항체-약물 콘주게이트의 응집, 불용해성, 독성, 또는 세포 투과도의 손실을 야기시킬 수 있다. 더 높은 약물 장입은 또한 특정 ADCs의 약동학 (예를 들면, 청소능)에 부정적으로 영향을 줄 수 있다. 일부 구현예에서, 더 낮은 약물 장입 (예를 들면, $p < 3$)은 표적-발현 세포 및/또는 방관자 세포에 대한 특정 ADCs의 효력을 감소시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 ADC용 약물 장입은 1 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 약 2 내지 약 5; 약 3 내지 약 5; 또는 약 3 내지 약 4 범위이다.

[0250]

1 초과 친핵성 기가, 항체 모이어티 및 링커 모이어티의 다중 카페를 포함하는 반응 혼합물에서, 약물-링커 중간체 또는 링커 모이어티 시약 이어서 약물 모이어티 시약과 반응하는 경우, 수득한 생성물은 혼합물에서 항체 모이어티의 각각의 카페에 부착된 하나 이상의 약물 모이어티의 분포를 가진 ADC 화합물의 혼합물일 수 있다. 일부 구현예에서, 콘주게이션 반응에서 비롯하는 ADCs의 혼합물에서 약물 장입은 항체 모이어티당 부착된 1 내지 20 약물 모이어티 범위이다. 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수 (즉, 평균 약물 장입, 또는 평균 p)는 당해 분야에서 공지된 임의의 종래의 방법에 의해, 예를 들면, 질량 분광분석법 (예를 들면, 역상 LC-MS), 및/또는 고-성능 액체 크로마토그래피 (예를 들면, HIC-HPLC)에 의해 계산될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 소수성 상호작용 크로마토그래피-고성능 액체 크로마토그래피 (HIC-HPLC)에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 역상 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법 (LC-MS)에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3 내지 약 4; 약 3.1 내지 약 3.9; 약 3.2 내지 약 3.8; 약 3.2 내지 약 3.7; 약 3.2 내지 약 3.6; 약 3.3 내지 약 3.8; 또는 약 3.3 내지 약 3.7이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.2 내지 약 3.8이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.8이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 3 내지 4; 3.1 내지 3.9; 3.2 내지 3.8; 3.2 내지 3.7; 3.2 내지 3.6; 3.3 내지 3.8; 또는 3.3 내지 3.7이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 3.2 내지 3.8이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티 당 약물 모이어티의 평균 수는 3.8이다.

[0251]

일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.5 내지 약 4.5; 약 3.6 내지 약 4.4; 약 3.7 내지 약 4.3; 약 3.7 내지 약 4.2; 또는 약 3.8 내지 약 4.2이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 약 3.6 내지 약 4.4이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 약 4.0이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 3.5 내지 4.5; 3.6 내지 4.4; 3.7 내지 4.3; 3.7 내지 4.2; 또는 3.8 내지 4.2이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 3.6 내지 4.4이다. 일부 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수는 4.0이다.

[0252]

다양한 구현예에서, 항체 모이어티당 약물 모이어티의 평균 수에 관하여 사용된 바와 같이 용어 “약”은 $\pm 10\%$ 를 의미한다.

[0253]

개별 ADC 화합물, 또는 “종”은 질량 분광법에 의해 혼합물에서 확인될 수 있고 UPLC 또는 HPLC, 예를 들면 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC-HPLC)에 의해 분리될 수 있다. 특정 구현예에서, 단일 장입 값을 가진 균질

한 또는 거의 균질한 ADC는, 예를 들면, 전기영동 또는 크로마토그래피에 의해 콘주케이션 혼합물로부터 단리될 수 있다.

[0254] 일부 구현예에서, 약 4의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은 유익한 특성을 제공한다. 일부 구현예에서, 약 4 미만의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은, 표적 항원에 결합을 위하여 ADC와 경쟁할 수 있고/있거나 감소된 치료 효능을 제공할 수 있는, 미콘주케이션된 항체 종의 허용불가능하게 높은 수준을 초래할 수 있다. 일부 구현예에서, 약 4 초과의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은 생성물 불균질성 및/또는 ADC 응집의 허용불가능하게 높은 수준을 초래할 수 있다. 약 4 초과의 약물 장입 및/또는 평균 약물 장입은, 항체 모이어티를 안정화시키기 위해 요구된 하나 이상의 화학 결합의 순서 때문에, ADC의 안정성에 또한 영향을 줄 수 있다.

[0255] 일부 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0256] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0257] 여기서:

[0258] (i) Ab가 서열 식별 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 내재화 항-플레이트 수용체 알파 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고;

[0259] (ii) D가 에리불린이고;

[0260] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0261] (iv) p가 정수 3 내지 4임.

[0262] 다른 구현예에서, ADC는 식 I을 갖는다:

[0263] $Ab-(L-D)_p (I)$

[0264] 여기서:

[0265] (i) Ab는 서열 식별 번호:27의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 식별 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 내재화 항-인간 표피 성장 인자 수용체 2 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고;

[0266] (ii) D가 에리불린이고;

[0267] (iii) L이 Mal-(PEG)₂-Val-Cit-pAB를 포함하는 절단가능한 링커이고;

[0268] (iv) p가 정수 3 내지 4임.

[0269] 일부 구현예에서, p는 4이다.

[0270] 본 개시내용은 기재된 ADCs의 생산 방법을 포함한다. 간단히, ADCs는 항체 모이어티로서 항체 또는 항원-결합 단편, 약물 모이어티, 및 약물 모이어티 및 항체 모이어티를 연결하는 링커를 포함한다. 일부 구현예에서, ADCs는 항체 모이어티에 그리고 약물 모이어티에 공유적으로 부착을 위하여 반응성 기능성을 갖는 링커를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항체 모이어티의 시스테인 티올은 링커 또는 약물-링커 중간체 (예를 들면, 말레이이미드 모이어티)의 반응성 기능성 기와 결합을 형성하여 ADC를 만들 수 있다. ADCs의 생성은 숙련가에 공지된 임의의 기술에 의해 달성될 수 있다.

[0271] 일부 구현예에서, ADC는 순차적인 방식으로 링커 및 약물 모이어티와 항체 모이어티 접촉에 의해 생산되어, 이로써 항체 모이어티는 먼저 링커에 공유적으로 연결되고, 그 다음 사전-형성된 항체-링커 중간체는 약물 모이어티와 반응한다. 항체-링커 중간체는 약물 모이어티와 접촉에 앞서 정제 단계를 거칠 수 있거나 아닐 수 있다. 다른 구현예에서, ADC는 약물 모이어티와 링커 반응에 의해 사전-형성된 링커 약물 화합물과 항체 모이어티 접촉에 의해 생산된다. 사전-형성된 링커-약물 화합물은 항체 모이어티 접촉에 앞서 정제 단계를 거칠 수 있거나 아닐 수 있다. 다른 구현예에서, 항체 모이어티는 하나의 반응 혼합물에서 링커 및 약물 모이어티를 접촉시켜, 항체 모이어티와 링커 사이, 그리고 링커와 약물 모이어티 사이 공유결합의 동시 형성을 허용한다. ADCs의 이러한 생산 방법은 반응을 포함할 수 있고, 여기서 상기 항체 모이어티는 반응 혼합물에 링커의 첨가에 앞서 항체 모이어티를 접촉시키고, 그 반대일 수 있다. 특정 구현예에서, ADC는, 콘주케이션을 허용하는 조건 하에, 약물

모이어티, 예컨대 $\text{Mal}-(\text{PEG})_2-\text{Val}-\text{Cit}-\text{pAB}$ -에리불린에 연결된 링커와 항체 모이어티 반응에 의해 생산된다.

[0272] 상기 기재된 방법에 따라 제조된 ADCs는 정제 단계를 거칠 수 있다. 정제 단계는 단백질 정제용 당해 분야에서 공지된 임의의 생화학적 방법, 또는 이의 방법의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 이들은, 비제한적으로, 접선 유동 여과 (TFF), 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 임의의 전하 또는 등전점-기반 크로마토그래피, 혼합된 방식 크로마토그래피, 예를 들면, CHT (세라믹 수산화인회석), 소수성 상호작용 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 투석, 여과, 선택적 침전, 또는 이의 임의의 조합을 포함한다.

치료 용도 및 조성물

[0273] 장애, 예를 들면, 종양 장애에 대하여 대상체 치료에서 개시된 ADCs의 이용 방법은 본 명세서에서 개시된다. ADCs는 제2 치료제와 조합으로 또는 단독 투여될 수 있고, 임의의 약제학적으로 허용가능한 제형, 투약량, 및 투약 레지멘으로 투여될 수 있다. ADC 치료 효능은 효능의 지표 뿐만 아니라 독성에 대하여 평가될 수 있고 따라서 조정될 수 있다. 효능 측정은, 비제한적으로, 시험관내 또는 생체내 관측된 세포증식억제성 및/또는 세포 독성 효과, 감소된 종양 용적, 종양 성장 억제, 및/또는 장기적인 생존을 포함한다.

[0274] ADC가 세포에서 세포증식억제성 및/또는 세포독성 효과를 행사하는 지의 결정 방법은 공지되어 있다. 예를 들어, ADC의 세포독성 또는 세포증식억제성 활성을 하기에 의해 측정될 수 있다: 세포 배양 배지에서 ADC의 표적 단백질을 발현시키는 포유동물 세포 노출; 약 6 시간 내지 약 5 일 기간 동안 세포 배양; 및 세포 생존력 측정. 세포-기반 시험관내 검정은 또한 ADC의 생존력 (증식), 세포독성, 및 세포자멸사 (카스파제 활성화)의 유도를 측정하는데 사용될 수 있다.

[0275] 항체-약물 콘주게이트가 세포증식억제성 효과를 행사하는지의 결정을 위하여, 티미딘 편입 검정은 사용될 수 있다. 예를 들어, 플레이팅된 96-웰의 5,000 세포/웰의 밀도에서 표적 항원을 발현시키는 암 세포는 72-시간 기간 동안 배양될 수 있고 72-시간 기간의 최종 8 시간 동안 0.5 μCi 의 ^3H -티미딘에 노출될 수 있다. 배양액의 세포 속으로 ^3H -티미딘의 편입은 ADC의 존재 및 부재 하에 측정된다.

[0276] 세포독성 결정을 위하여, 괴사 또는 세포자멸사 (프로그래밍된 세포사)는 측정될 수 있다. 괴사는 원형질막의 증가된 투과도; 세포의 팽윤, 및 원형질막의 파열에 의해 전형적으로 동반된다. 세포자멸사는 막 수포형성, 세포질의 축합, 및 내인성 엔도뉴클레아제의 활성화를 전형적으로 특징으로 한다. 암 세포에서 임의의 이들 효과의 결정은 ADC가 암의 치료에서 유용하다는 것을 명시한다.

[0277] 세포 생존력은, 예를 들면, 세포에서 하기의 흡수 결정에 의해 측정될 수 있다: 염료 예컨대 뉴트럴 레드, 트립판 블루, 크리스탈 바이올렛, 또는 ALAMARTTM 블루 (참조, 예를 들면, Page 등. (1993) *Int J. Oncology* 3:473-6). 그와 같은 검정에서, 세포는 염료를 함유하는 배지에서 인큐베이션되고, 세포는 세정되고, 염료의 세포 흡수를 반영하는, 잔존 염료는 분광광도법적으로 측정된다. 특정 구현예에서, 제조된 ADCs의 시험관내 효력은 크리스탈 바이올렛 검정을 이용하여 평가된다. 크리스탈 바이올렛은 생존가능한 세포의 핵에서 축적하는 트리아릴메탄 염료이다. 이 검정에서, 세포는 한정된 시간의 기간 동안 ADCs 또는 조절제에 노출되고, 그 후, 세포는 크리스탈 바이올렛으로 염색되고, 물로 방대하게 세정되고, 그 다음 1% SDS로 가용화되고 분광광도법적으로 판독된다. 단백질-결합 염료 살포로다민 B (SRB)는 또한 세포독성을 측정하는데 사용될 수 있다 (Skehan 등. (1990) *J. Natl. Cancer Inst.* 82:1107-12).

[0278] 세포자멸사는, 예를 들어, DNA 단편화 측정에 의해 정량화될 수 있다. DNA 단편화의 정량적 시험관내 결정을 위한 상업적 측광 방법은 이용가능하다. (단편화된 DNA에서 표지된 뉴클레오타이드의 편입을 검출하는) TUNEL을 포함하는, 그와 같은 검정 및 ELISA-기반 검정의 예는 하기에서 기재된다: *Biochemica* (1999) No. 2, pp. 34-37 (Roche Molecular Biochemicals).

[0279] 세포자멸사는 또한 세포에서 형태적 변화 측정에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 괴사와 같이, 원형질막 완전성의 손실은 특정 염료 (예를 들면, 형광 염료 예컨대, 예를 들어, 아크리딘 오렌지 또는 에티듐 브로마이드)의 흡수 측정에 의해 결정될 수 있다. 세포자멸적 세포 수 측정 방법은 하기에 의해 기재되어 있다: Duke and Cohen, *Current Protocols in Immunology* (Coligan 등, eds. (1992) pp. 3.17.1-3.17.16). 세포는 또한 DNA 염료 (예를 들면, 아크리딘 오렌지, 에티듐 브로마이드, 또는 프로피듐 아이오다이드)로 표지될 수 있고 세포는 내부 핵 막을 따라 염색질 응축 및 변연화에 대하여 관측될 수 있다. 세포자멸사를 결정하기 위해 측정될 수 있는 다른 형태적 변화는, 예를 들면, 세포질 축합, 증가된 막 수포형성, 및 세포 수축을 포함한다.

[0280] 개시된 ADCs는 또한 방관자 사멸 활성에 대하여 평가될 수 있다. 방관자 사멸 활성은, 예를 들면, 2 세포주, 표

적 항원에 양성인 것 및 표적 항원에 음성인 것을 사용하는 검정에 의해 결정될 수 있다. 세포주는 바람직하게는 이들을 분화하기 위해 표지된다. 예를 들어, Nuclight™ Green (NLG)로 표지된 IGROV1 세포 (FRA+) 및 Nuclight™ Red (NLR)로 표지된 HL-60 (FRA-)는 공-배양될 수 있고, 항-FRA ADC로 처리될 수 있고 이어서 세포 독성의 모니터링이 될 수 있다. 표적 항원 양성 세포와 혼합된 경우 표적 항원 음성 세포의 사멸은 방관자 사멸을 나타내고, 반면에 표적 항원 양성 세포의 부재 하에 표적 항원 음성 세포의 사멸은 부정확한 사멸을 나타낸다.

[0282]

일부 측면에서, 본 개시내용은 튜불린 방해에 의해 암 세포 또는 조직의 사멸, 상기의 성장 억제 또는 조절, 또는 상기의 대사 방해의 방법이 특징이다. 상기 방법은 튜불린의 파괴가 치료 이점을 제공하는 경우 임의의 대상체와 사용될 수 있다. 튜불린 방해로부터 유익할 수 있는 대상체는, 비제한적으로, 하기를 갖거나 가질 위험에 처한 것을 포함한다: 위 암, 난소 암 (예를 들면, 장액 난소 암), 폐 암 (예를 들면, 비-소 세포 폐 암), 유방 암 (예를 들면, 삼중 음성 유방 암), 자궁내막 암 (예를 들면, 장액 자궁내막 암종), 골육종, 카포시 육종, 고환 세균 세포 암, 백혈병, 림프종 (예를 들면, 호지킨 질환, 비-호지킨 림프종), 골수종, 두경부 암, 식도 암, 췌장 암, 전립선 암, 뇌암 (예를 들면, 교모세포종), 갑상선 암, 결장직장 암, 및/또는 피부 암 (예를 들면, 흑색종), 또는 이의 임의의 전이 (Dumontet and Jordan (2010) *Nat. Rev. Drug Discov.* 9:790-803). 다양한 구현 예에서, 개시된 ADCs는 FRA, 예컨대 FRA-발현 암 세포 또는 조직을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에서 투여될 수 있다. 예시적 구현 예는 FRA-매개된 세포 신호전달의 억제 방법 또는 세포의 사멸 방법을 포함한다. 상기 방법은 FRA, 예컨대 암성 세포 또는 전이성 병변을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에 따라 사용될 수 있다. FRA-발현 암의 비-제한 예는 위 암, 장액 난소 암, 투명 세포 난소 암, 비-소 세포 폐 암, 결장직장 암, 삼중 음성 유방 암, 자궁내막 암, 장액 자궁내막 암종, 폐 카르시노이드, 및 골육종을 포함한다. FRA-발현 세포의 비-제한 예는 IGROV1 및 OVCAR3 인간 난소 암종 세포, NCI-H2110 인간 비-소 세포 폐 암종 세포, 및 FRA 또는 이의 부분을 인코딩하는 재조합 핵산을 포함하는 세포를 포함한다.

[0283]

다양한 다른 구현 예에서, 개시된 ADCs는 her2, 예컨대 her2-발현 암 세포 또는 조직을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에서 투여될 수 있다. 예시적 구현 예는 her2-매개된 세포 신호전달의 억제 방법 또는 세포의 사멸 방법을 포함한다. 상기 방법은 her2, 예컨대 암성 세포 또는 전이성 병변을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직에 따라 사용될 수 있다. her2-발현 암의 비-제한 예는 유방 암, 위 암, 방광 암, 요상피 세포 암종, 식도 암, 폐 암, 자궁경부 암, 자궁내막 암, 및 난소 암을 포함한다 (English 등. (2013) *Mol. Diagn. Ther.* 17:85-99). her2-발현 세포의 비-제한 예는 NCI-N87-luc 인간 위 암종 세포, ZR75 및 BT-474 인간 가슴 관 암종 세포, 및 her2 또는 이의 부분을 인코딩하는 재조합 핵산을 포함하는 세포를 포함한다.

[0284]

다양한 다른 구현 예에서, 개시된 ADCs는 메소텔린 (MSLN)을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직, 예컨대 MSLN-발현 암 세포 또는 조직에서 투여될 수 있다. 예시적 구현 예는 MSLN-매개된 세포 신호전달의 억제 방법 또는 세포의 사멸 방법을 포함한다. 상기 방법은 MSLN을 발현시키는 임의의 세포 또는 조직, 예컨대 암성 세포 또는 전이성 병변에 따라 사용될 수 있다. MSLN-발현 암의 비-제한 예는 중피종, 췌장 암 (예를 들면, 췌장 선암종), 난소 암, 및 폐 암 (예를 들면, 폐 선암종)을 포함한다 (Wang 등. (2012) *PLoS ONE* 7:e33214). MSLN-발현 세포의 비-제한 예는 OVCAR3 인간 난소 암종 세포, HEC-251 인간 자궁내막 세포, H226 인간 폐 편평상피 세포 중피종 세포, 및 MSLN 또는 이의 부분을 인코딩하는 재조합 핵산을 포함하는 세포를 포함한다.

[0285]

예시적 방법은, 유효량, 즉, 세포를 사멸시키는데 충분한 양으로, 본 명세서에서 기재된 바와 같이, ADC와 세포의 접촉 단계를 포함한다. 상기 방법은, 예를 들면 시험관내, 생체내, 생체외, 또는 원위치에서 배양액내 세포에 사용될 수 있다. 예를 들어, FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 세포 (예를 들면, 종양 또는 전이성 병변의 생검에 의해 수집된 세포; 확립된 암 세포주로부터 세포; 또는 재조합 세포)는 배양 배지에서 시험관내 배양될 수 있고 접촉 단계는 배양 배지에 ADC 첨가에 의해 영향받을 수 있다. 상기 방법은, FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 종양 세포를 특히 포함하는, FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 세포의 사멸을 초래할 것이다. 대안적으로, ADC는 생체내 효과를 갖기 위해 임의의 적합한 투여 경로 (예를 들면, 종양 조직과 정맥내, 폐하, 또는 직접 접촉)에 의해 대상체에 투여될 수 있다.

[0286]

개시된 ADC 치료 조성물의 생체내 효과는 적합한 동물 모델에서 평가될 수 있다. 예를 들어, 이종 암 모델은 사용될 수 있고, 여기서 암 외식편 또는 통과된 이종이식 조직은 면역 절충된 동물, 예컨대 누드 또는 SCID 마우스 속으로 도입된다 (Klein 등. (1997) *Nature Med.* 3:402-8). 효능은 종양 형성, 종양 퇴행 또는 전이의 억제를 측정하는 검정, 및 기타를 이용하여 예상될 수 있다.

[0287]

세포자멸사의 촉진을 평가할 수 있는 생체내 검정은 또한 사용될 수 있다. 일 구현 예에서, 치료 조성물로 치료

된 종양 보유 마우스로부터 이종이식은 세포자멸적 병소의 존재에 대하여 검사될 수 있고 미처리된 대조군 이종이식-보유 마우스에 비교될 수 있다. 세포자멸적 병소가 치료된 마우스의 종양에서 발견되는 정도는 조성물의 치료 효능의 정후를 제공한다.

[0288] 암의 치료 방법은 본 명세서에서 추가로 제공된다. 본 명세서에서 개시된 ADCs는 치료 목적으로 비-인간 포유동물 또는 인간 대상체에 투여될 수 있다. 치료 방법은 발현된 항원에 결합하는, 결합에 접근가능한, 또는 암 세포 표면에서 국재화되는 표적화 항체에 연결된 선택된 화학치료제 (예를 들면, 에리불린)을 포함하는 ADC의 생물학적 유효량을 종양을 갖는 포유동물에 투여하는 것을 수반한다. 예시적 구현예는, FRA 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체에 화학치료제의 콘주케이팅 및 ADC에 세포의 노출을 포함하는, FRA를 발현시키는 세포에 화학치료제의 전달 방법이다. 본 개시내용의 ADCs가 명시되는 FRA를 발현시키는 예시적 종양 세포는 장액 조직학을 가진 위 암, 장액 난소 암, 비소 세포 폐 암, 결장직장 암, 유방 암 (예를 들면, 삼중 음성 유방 암), 폐 카르시노이드, 골육종, 자궁내막 암, 및 자궁내막 암종으로부터 세포를 포함한다.

[0289] 또 다른 예시적 구현예는, her2 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체에 화학치료제 콘주케이팅 및 ADC에 세포 노출을 포함하는, her2를 발현시키는 세포에 화학치료제의 전달 방법이다. 본 개시내용의 ADCs가 명시되는 her2를 발현시키는 예시적 종양 세포는 유방 암, 위 암, 방광 암, 요상피 세포 암종, 식도 암, 폐 암, 자궁경부 암, 자궁내막 암, 및 난소 암으로부터 세포를 포함한다.

[0290] 또 다른 예시적 구현예는, MSLN 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 항체에 화학치료제 콘주케이팅 및 ADC에 세포 노출을 포함하는, MSLN을 발현시키는 세포에 화학치료제의 전달 방법이다. 본 개시내용의 ADCs가 명시되는 MSLN을 발현시키는 예시적 종양 세포는 중피종, 체장 암 (예를 들면, 체장 선암종), 난소 암, 및 폐 암 (예를 들면, 폐 선암종)으로부터 세포를 포함한다.

[0291] 또 다른 예시적 구현예는, 본 개시내용의 ADC의 치료적 유효량을 환자에 투여하는 것을 포함하는, ADC의 항체 모이어티용 표적 항원, 예컨대 FRA, her2, 또는 MSLN을 발현시키는 암을 갖거나 가질 위험에 처한 환자의 치료 방법이다. 일부 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 항-FRA 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 비-반응성 또는 저조하게 반응성이다. 다른 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 항-her2 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 비-반응성 또는 저조하게 반응성이다. 다른 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 항-MSLN 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 비-반응성 또는 저조하게 반응성이다. 다른 구현예에서, 환자는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 불내성이다. 예를 들면, 환자는, ADC의 항체 모이어티용 표적 항원 예컨대 FRA, her2, 또는 MSLN을 발현시키는 암에 표적화된 전달, 그렇게 함으로써 부정확한 사멸을 감소시킴으로써 극복되는, 전신 독성으로 이어지는 암을 치료하기 위해 에리불린의 용량을 필요로 할 수 있다.

[0292] 또 다른 예시적 구현예는, ADC의 치료적 유효량 투여를 포함하는, 표적 항원-발현 종양 (예를 들면, FRA-발현 종양, her2-발현 종양, 또는 MSLN-발현 종양)의 성장 감소 또는 억제 방법이다. 일부 구현예에서, 치료는 환자의 종양의 성장을 감소 또는 억제시키는데, 전이성 병변의 수 또는 크기를 감소시키는데, 종양 부하를 감소시키는데, 1차 종양 부하를 감소시키는데, 침입을 감소시키는데, 생존 시간을 연장시키는데, 및/또는 삶의 질을 유지 또는 개선하는데 충분하다. 일부 구현예에서, 종양은 단독 투여된 경우 항-FRA 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 저항성 또는 난치성이다. 다른 구현예에서, 종양은 단독 투여된 경우 항-her2 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 저항성 또는 난치성이다. 일부 구현예에서, 종양은 단독 투여된 경우 항-MSLN 항체로 치료, 및/또는 단독 투여된 경우 약물 모이어티 (예를 들면, 에리불린)으로 치료에 저항성 또는 난치성이다.

[0293] 또한, 본 개시내용의 항체는 ADC가 인간 질환의 동물 모델로서 또는 수의과 목적을 위하여 결합할 수 있는 항원을 발현시키는 비-인간 포유동물에 투여될 수 있다. 후자에 관하여, 그와 같은 동물 모델은 개시된 ADCs의 치료 효능 (예를 들면, 투약량의 시험 및 투여의 시간 경과) 평가에 유용할 수 있다.

[0294] 개시된 ADCs의 치료 용도는 본 명세서에서 추가로 제공된다. 예시적 구현예는 표적 항원-발현 암 (예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암)의 치료에서 ADC의 용도이다. 표적 항원-발현 암 (예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암)의 치료에서 사용을 위한 ADCs는 또한 개시된다. FRA, her2, 및/또는 MSLN을 발현시키는 암을 갖는 대상체의 확인 방법은 당해 기술에 공지되어 있고 개시된 ADC로 치료를 위하여 적합한 환자를 확인하는데 사용될 수 있다.

- [0295] 또 다른 예시적 구현예는 표적 항원-발현 암 (예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암)의 치료용 약제의 제조 방법에서 ADC의 용도이다.
- [0296] 전술한 방법의 실시에서 사용된 치료 조성물은 원하는 전달 방법에 적합한 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다. 예시적 구현예는 본 개시내용의 ADC 및 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는 약제학적 조성물이다. 적합한 캐리어는, 치료 조성물과 조합된 경우, 치료 조성물의 항-종양 기능을 보유하고 일반적으로 환자의 면역계와 비-반응성인 임의의 물질을 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 캐리어는 생리적으로 양립가능한 임의의 및 모든 용매, 분산매, 코팅물, 항균 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제, 및 기타를 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 캐리어의 예는 물, 염수, 포스페이트 완충 식염수, 엑스트로스, 글리세롤, 에탄올, 메실레이트 염, 및 등, 뿐만 아니라 이의 조합 중 하나 이상을 포함한다. 많은 사례에서, 조성물에서 등장제, 예를 들어, 당, 폴리알코올 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 약제학적으로 허용가능한 캐리어는, ADC의 유통 기한 또는 유효성을 향상시키는, 보조 물질 예컨대 습윤제 또는 유화제, 보존제 또는 완충제의 소량을 추가로 포함할 수 있다.
- [0297] 치료 제형은 가용화될 수 있고 종양 부위에 치료 조성물을 전달할 수 있는 임의의 경로를 통해 투여될 수 있다. 잠재적으로 효과적인 투여 경로는, 비제한적으로, 정맥내, 복강내, 근육내, 종양내, 진피내, 기관내, 동소이식, 및 기타를 포함한다. 치료 단백질 제제는 동결건조될 수 있고, 바람직하게는 진공 하에, 멸균된 분말로서 저장될 수 있고 그 다음 주사에 앞서 멸균수에서 또는 (예를 들어, 벤질 알코올 보존제를 함유하는) 정균수에서 재구성될 수 있다. 치료 제형은 ADC 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 예를 들면, 메실레이트 염을 포함할 수 있다.
- [0298] 본 명세서에서 개시된 ADCs는 필요로 하는 환자에 약 0.2 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위의 투약량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, ADC는 매일, 격월, 또는 그 사이 임의의 기간 환자에 투여된다. 전술한 방법을 사용하는 암의 치료를 위한 투약량 및 투여 프로토콜은 방법 및 표적 암에 따라 다양할 것이고, 일반적으로 당해 분야에서 인정된 다수의 다른 인자에 의존할 것이다.
- [0299] 다양한 전달 시스템은 공지되고 본 개시내용의 하나 이상의 ADCs를 투여하는데 사용될 수 있다. ADCs의 투여 방법은, 비제한적으로, 비경구 투여 (예를 들면, 진피내, 근육내, 복강내, 정맥내 및 피하), 경막외 투여, 종양내 투여, 및 점막 투여 (예를 들면, 비강내 및 경구 경로)를 포함한다. 게다가, 폐 투여는, 예를 들면, 흡입기 또는 분무기, 그리고 에어로졸화제를 가진 제형의 사용에 의해, 이용될 수 있다. 참조, 예를 들면, 하기에서 기재된 폐 투여용 조성물 및 방법: 미국특허 번호 6,019,968, 5,985,320, 5,985,309, 5,934,272, 5,874,064, 5,855,913, 5,290,540, 및 4,880,078; 및 PCT 공개번호 WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346, 및 WO 99/66903. ADCs는 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 주입 또는 볼러스 주사에 의해, 또는 상피성 또는 점막피부 라이닝 (예를 들면, 경구 점막, 직장 및 장 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국부일 수 있다.
- [0300] 본 명세서에서 개시된 치료 조성물은 제조 및 저장의 조건 하에 멸균성 및 안정적일 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 ADCs, 또는 약제학적 조성물은 용융밀봉된 컨테이너에서 건조 멸균된 동결건조된 분말 또는 무수 농축물로서 공급되고 대상체에 투여용 적절한 농도로 (예를 들면, 물 또는 염수로) 재구성될 수 있다. 바람직하게는, 하나 이상의 예방적 또는 치료제 또는 약제학적 조성물은 적어도 5 mg, 적어도 10 mg, 적어도 15 mg, 적어도 25 mg, 적어도 35 mg, 적어도 45 mg, 적어도 50 mg, 적어도 75 mg, 또는 적어도 100 mg, 또는 그 사이 임의의 양의 유닛 투약량으로 용융밀봉된 컨테이너에서 건조 멸균된 동결건조된 분말로서 공급된다. 일부 구현예에서, 동결건조된 ADCs 또는 약제학적 조성물은 최초 컨테이너에서 2 °C 내지 8 °C에서 저장된다. 일부 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 하나 이상의 ADCs 또는 약제학적 조성물은 용융밀봉된 컨테이너, 예를 들면, 제제의 양 및 농도를 명시하는 컨테이너에서 액체 형태로 공급된다. 일부 구현예에서, 투여된 조성물의 액체 형태는 적어도 0.25 mg/mL, 적어도 0.5 mg/mL, 적어도 1 mg/mL, 적어도 2.5 mg/mL, 적어도 5 mg/mL, 적어도 8 mg/mL, 적어도 10 mg/mL, 적어도 15 mg/mL, 적어도 25 mg/mL, 적어도 50 mg/mL, 적어도 75 mg/mL, 또는 적어도 100 mg/mL ADC의 용융밀봉된 컨테이너에서 공급된다. 액체 형태는 최초 컨테이너에서 2 °C 내지 8 °C에서 저장될 수 있다.
- [0301] 일부 구현예에서, 개시된 ADCs는 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물에 편입될 수 있다. 주사가능한 용액은 플린트 또는 호박색 바이알, 앰플, 또는 미리 충전된 주사기, 또는 다른 공지된 전달 또는 저장 장치에서 액체 또는 동결건조된 투약 형태로 구성될 수 있다.
- [0302] 본 명세서에서 기재된 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 이들은, 예를 들어, 액체, 반-고체, 및 고형 투약

형태, 예컨대 액체 용액 (예를 들면, 주사가능한 및 불용성 용액), 분산물 또는 혼탁액, 정제, 알약, 분말, 리포좀, 및 죄약을 포함한다. 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료 적용에 좌우된다.

[0303] 다양한 구현예에서, 치료는 허용가능한 투여 경로를 통한 ADC 제제의 단일 볼러스 또는 반복된 투여를 포함한다.

[0304] 환자는 가장 효과적인 투약 레지멘, 등의 결정을 돋기 위해 주어진 샘플에서 표적 항원의 수준 (예를 들면 표적 항원 발현 세포의 수준)에 대하여 평가될 수 있다. 예시적 구현예는, 환자로부터 생물학적 샘플의 제공 및 ADC와 생물학적 샘플의 접촉을 포함하는, 본 개시내용의 ADC로 치료에 환자가 반응성일지의 결정 방법이다. 예시적 생물학적 샘플은 조직 또는 체액, 예컨대 염증성 삼출물, 혈액, 혈청, 장 유체, 대변 샘플, 또는 종양 생검 (예를 들면, 표적 항원-발현 암, 예를 들면, FRA-발현 암, her2-발현 암, 또는 MSLN-발현 암을 갖거나 가질 위험에 처한 환자에서 유래된 종양 생검)을 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플 (예를 들면, 조직 및/또는 체액)은 대상 체로부터 수득될 수 있고, 적합한 면역학적 방법은 표적 항원 (예를 들면, FRA, her2, 또는 MSLN)의 단백질 발현을 검출 및/또는 측정하는데 사용될 수 있다. 그와 같은 평가는 요법 내내 모니터링 목적으로 또한 사용되고, 다른 파라미터의 평가와 조합으로 치료 성공을 추정하는데 유용하다.

[0305] 일부 구현예에서, ADC의 효능은 대상체로부터 종양 샘플의 ADC와의 접촉 그리고 종양 성장 속도 또는 용적의 평가에 의해 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, ADC가 효과적인 것으로 결정된 경우, 대상체에게 투여될 수 있다.

[0306] 상기 치료 접근법은 다양한 추가의 외과적, 화학요법, 또는 방사선 치료 레지멘 중 어느 하나와 조합될 수 있다.

[0307] 예를 들면, 상기 기재된 방법에 따라, 암 치료용 약제의 제조에서 하나 이상의 개시된 ADCs의 용도가 본 명세서에서 또한 개시된다. 일부 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 ADCs는, 예를 들면, 상기 기재된 방법에 따라, 암 치료에 사용된다.

[0308] 다양한 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 실험실 및 치료 적용에서 사용을 위한 키트는 본 개시내용의 범위 내이다. 그와 같은 키트는 하나 이상의 컨테이너 예컨대 바이알, 튜브, 및 기타를 수령하기 위해 구획화되는 캐리어, 패키지, 또는 컨테이너를 포함할 수 있고, 각각의 컨테이너(들)은 사용 지침, 예컨대 본 명세서에서 기재된 용도를 포함하는 표지 또는 삽입물을 따라, 본 명세서에서 개시된 방법에서 사용되도록 별개의 요소 중 하나를 포함한다. 키트는 약물 모이어티를 포함하는 컨테이너를 포함할 수 있다. 본 개시내용은 또한, 제제의 양을 명시하는, 용융밀봉된 컨테이너, 예컨대 앰풀 또는 샤프트에서 포장된, 하나 이상의 ADCs, 또는 이의 약제학적 조성물을 제공한다.

[0309] 키트는 상기 기재된 컨테이너 그리고, 완충제, 희석제, 필터, 니들, 주사기를 포함하는, 상업적 및 사용자 관점으로부터 바람직한 물질을 포함하는 그와 관련된 하나 이상의 다른 컨테이너; 캐리어, 패키지, 컨테이너, 바이알 및/또는 함량 및/또는 사용 지침을 열거하는 튜브 표지, 및 사용 지침을 가진 포장 삽입물을 포함할 수 있다.

[0310] 표지는 조성물이 특이적 요법 또는 비-치료 적용, 예컨대 예후적, 예방적, 진단적, 또는 실험실 적용에 사용되는 것을 명시하기 위해 컨테이너상에 또는 상기와 함께 존재할 수 있다. 표지는 또한 생체내 또는 시험관내 용도, 예컨대 본 명세서에서 기재된 것을 위한 사용법을 명시할 수 있다. 사용법 및 또는 다른 정보는 또한, 키트와 함께 또는 키트 상에 포함되는, 삽입물(들) 또는 표지(들)상에 포함될 수 있다. 표지는 컨테이너상에 있을 수 있거나 상기와 관련될 수 있다. 표지는 표지를 형성하는 문자, 숫자, 또는 다른 캐릭터가 컨테이너 자체 속으로 성형되거나 에칭되는 경우 컨테이너상에 있을 수 있다. 표지는, 예를 들면, 포장 삽입물로서 컨테이너를 또한 보관하는 소켓 또는 캐리어 안에 존재하는 경우 컨테이너와 관련될 수 있다. 표지는 조성물이 병태, 예컨대 본 명세서에서 기재된 암의 진단 또는 치료에 사용되는 것을 명시할 수 있다.

[0311] 본 명세서에서 기재된 본 발명의 방법의 다른 적합한 변형 및 적응이 명백하고 본 발명의 범위 또는 본 명세서에서 개시된 구현예에서 이탈 없이 적합한 등가물을 사용하여 실시될 수 있다는 것이 당해 분야의 숙련가에 쉽게 분명할 것이다. 이제 본 발명을 상세히 기재하였다면, 동일한 것은 하기 실시예를 참고로 더욱 명확히 이해될 것이고, 이는 실례만의 목적으로 포함되고 제한되는 의도는 아니다.

[0312] 실시예 1

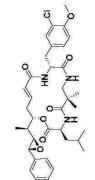
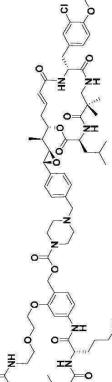
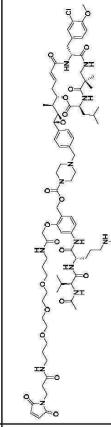
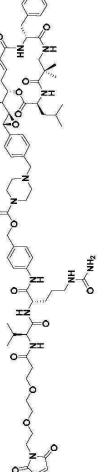
[0313] 1. 물질 및 방법

[0314] ADCs의 제조에 사용된 MORab-003은 Lot #AA0312 제이었다.

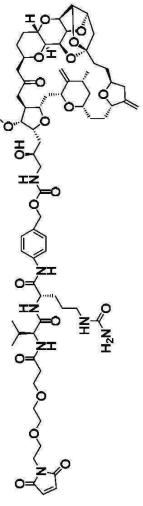
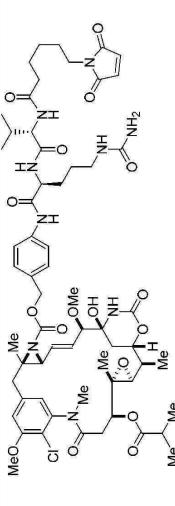
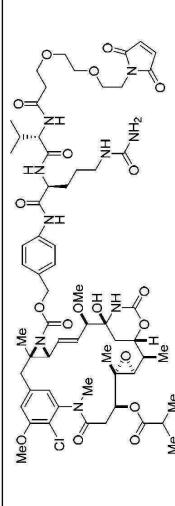
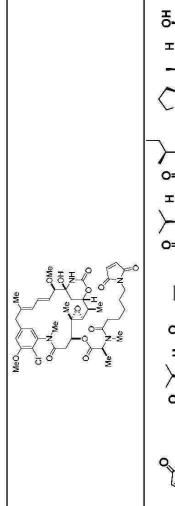
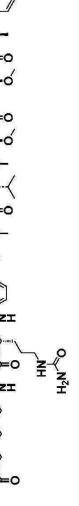
1.1 세포독소

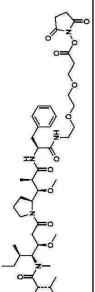
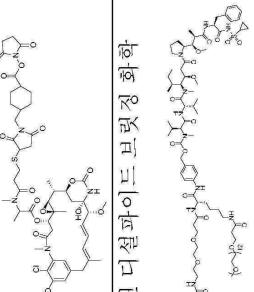
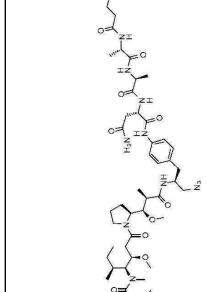
[0316] 콘주게이션 가능한 세포독소의 구조는 표 11에서 나타난다.

표 11. 콘주게이션 가능한 세포독소

화합물 명칭	링커	세포독소	절단가능성	구조
PEG3-Bz-디-셀 퍼-디-메틸-크립토퍼신	말테이미도-PEG3-벤-질-디-설 퍼-디-메틸	크립토퍼신	유	
LL2-크립토퍼신	LL2	크립토퍼신	유	
LL3-크립토퍼신	LL3	크립토퍼신	유	
VCP-크립토퍼신	VCP	크립토퍼신	유	

[0317]

VCP-이 러 블린 (ER-001159569)	발레이미 도-PEG2- Val-Cit-pAB	에리 불린 의	
ER-001161318	발레이미 도- (CH ₂) ₅ -Val-Cit- pAB	ER-001150828 (아지리 디 노- 메이 탄진-P3)	
ER-001161319	발레이미 도-PEG2- Val-Cit-pAB	ER-001150828 (아지리 디 노- 메이 탄진-P3)	
ER-001159200	발레이미 도-(CH ₂) ₅	의 탄진 DM1	
M-MMAE	발레이미 도- (CH ₂) ₅ -Val-Cit- pAB	모노메틸 아-우리스터틴 E	

NHS-PEG2-AuF	NHS-PEG2	아우리스터틴 F	무	
M-DM1	SMCC	메이탄신 DM1	무	
M-0285	PEG-pAB	듀오스터틴 3	유	현원분 디설파이드 보렐정 화학 
M-0115	Asn-Ala	듀오스터틴_5	유	
M-172	사이클로헥실	듀오스터틴 3	무	현원분 디설파이드 연결 화학
M-174	사이클로헥실	듀오스터틴 3	무	현원분 디설파이드 연결 화학
M-158	PEG-pAB	듀오스터틴 10	유	현원분 디설파이드 연결 화학
M-0384	PEG-티오에테르	듀오스터틴 14	무	현원분 디설파이드 연결 화학
M-0302	PEG-Asn	듀오스터틴 14	무	현원분 디설파이드 연결 화학
M-292	PEG-Asn	듀오스터틴 14	유	현원분 디설파이드 연결 화학
M-0026	PEG	듀오스터틴 14	유	현원분 디설파이드 연결 화학

M-0267	PEG-티오에테르	듀오마이신 7	무	환원된 디설파이드 연결 화학
M-0272	Asn-Ala	듀오마이신 7	유	환원된 디설파이드 연결 화학
M-0260	PEG-pAB	듀오마이신 7	유	환원된 디설파이드 연결 화학
M-0276	Asn-Ala	듀오마이신 7	유	환원된 디설파이드 연결 화학
M-015-0913	사이클로헥실 듀오스터틴 3	무	제한된 리신 이용	
M-030-0132	PEG-pAB	듀오스터틴 6	유	제한된 리신 이용
M-0161	사이클로헥실 듀오스터틴 10	무	제한된 리신 이용	
M-0157	PEG-pAB	듀오스터틴 10	유	제한된 리신 이용
M-027-0381	티오에테르	듀오스터틴 14	무	제한된 리신 이용
M-0025	PEG	듀오스터틴 14	무	제한된 리신 이용
M-0301	PEG-Asn	듀오스터틴 14	무	제한된 리신 이용
M-030-0011	PEG-pAB	듀오스터틴 14	유	제한된 리신 이용
M-030-0291	PEG-Asn	듀오스터틴 14	유	제한된 리신 이용
M-0114	PEG-pAB	듀오스터틴 5	유	제한된 리신 이용
M-0114	PEG-pAB	듀오스터틴 5	유	환원된 디설파이드 브릿징 화학

약어:Ala, 알라닌; Asn, 아스파라간; Cit, 시트룰린, NHS, N-하이드록시석산이미드, PAB, p-아미노벤질옥시카보닐; PEG, 폴리에틸렌 글리콜; SMCC, 석신이미달 4-(N-말테이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트; Val, 발린; VCP, Val-Cit-pAB.

[0320]

[0321]

1.2 항체-약물 콘주게이션

[0322]

1.2.1 TCEP를 사용하는 부분적인 환원

[0323]

MORAb-003용 부분적인 환원 조건은 비-티올 환원제 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)의 다양한 농도, 항체 농도, 및 환원의 시간에 의해 확립되었다. MORAb-003은 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)를 함유하는 둘레코 포스페이트-완충 식염수 (DPBS)에 완충액-교환되었고, 그 다음 10 kD 분자량 컷-오프 (MWCO) 원심 필터로 원심 농축을 사용하여 10 mg/mL로 농축되었다. 항체는 적절한 농도로 희석되었고 TCEP는 지시된 최종 농도에서 첨가되었고, 실온에서 1 시간 동안 부드럽게 혼합되었다. TCEP는, 제조자의 프로토콜에 따라, 완충액 (Thermo Fisher, 40 kD MWCO)로서 DPBS/1mM EDTA를 가진 5 또는 10 mL ZebaTM 스피n 탈염 칼럼을 사용하는 탈염에 의해 제거되었다. 샘플은, 제조자의 프로토콜에 따라, 티올 형광 정량화 키트 (Abcam)을 사용하여 유리 티올 함량에 대하여 분석되었다. 비-환원 조건 하에 SDS-PAGE 분석은, 섹션 1.3.3에서 기재된 바와 같이, 디설파이드 결합 과손의 정도 및 위치를 결정하기 위해 수행되었다. 일부 경우에, 탈염된 MAbs는 DPBS내 희석에 의해 1-2 mg/mL이 되었고 바이오티닐화를 거쳐서 콘주게이션가능성 및 약물-대-항체 (DAR) 비를 결정하였다. 디메틸셀록사이드

(DMSO)내 10 mM 말레이미도-PEG2-바이오틴 (Thermo Fisher)는 10:1의 몰비로 항체 (mAb)에 첨가되었고 부드럽게 진탕하면서 4 시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 콘주게이션 이후, 미반응된 화합물은 Zeba™ 스펜 탈염 칼럼 (Thermo Fisher)를 사용하는 탈염에 의해 제거되었다. 샘플은 그 다음 섹션 1.3.4에서 상세히 설명된 바와 같이, DAR의 결정용 LC-MS에 의해 분석되었다.

[0324] **1.2.2 세포독소 콘주게이션**

[0325] 부분적으로-감소된 항체는 0.5X DPBS, 0.5 mM EDTA에서 2.5 mg/mL가 되었고, 철저하게 혼합되었다. 유기 공-용매는, 사용된다면, 그 다음 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 검사된 공-용매는 프로필렌 글리콜 (20% 및 50% 최종 농도), 디메틸실록사이드 (DMSO) (10%), N,N-디메틸포름아미드 (20%), N,N-디메틸아세트아미드 (20%), 및 N,N-디메틸프로피온아미드 (20%)이었다. 말레이미도-변형된 세포독소 (DMSO내 6 mM 스톡)은 1:6 (mAb:화합물)의 몰비로 항체에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 콘주게이션은 부드럽게 혼합하면서 3.5 시간 동안 실온에서 진행하였다. 50%에서 50% 프로필렌 글리콜은 최종 유기 변형제로서 선택되었고 모든 후속적인 콘주게이션 반응에서 사용되었다.

[0326] **1.2.3 경제**

[0327] 콘주게이션된 항체는, 미반응된 말레이미도-세포독소 및 프로필렌 글리콜을 제거하기 위해, 고속 단백질 액체 크로마토그래피 (FPLC) (GE Healthcare)에서 수행된 크로마토그래피와 26/10 HiTrap® 탈염 칼럼(들) (GE Healthcare)를 사용하여 정제되었다. MORAb-003-mal-VCP-에리볼린 (MORAb-202)를 포함하는, MORAb-003 ADCs는 DPBS에서 제형화되었다 (제형 완충제는 FPLC 크로마토그래피 동안 작동 완충제로서 사용되었다).

[0328] **1.3 생체물리학적 특성규명**

[0329] **1.3.1 BCA 검정**

[0330] 제조된 비시코닌산 (BCA) 시약 (200 μ L)는 25 μ L의 연속으로-희석된 ADCs 또는 소 감마 글로빈 (Thermo Fisher) 2 mg/mL 표준에 첨가되었고, 샘플은 철저하게 혼합되었다. 샘플은 20 분 동안 37°C에서 인큐베이션되었다. 플레이트는 SpectraMax® M5 플레이트 판독기 (Molecular Devices)상의 595 nm에서 판독되었다. 데이터는 4-파라미터 적합화 모델로 SoftMax® Pro (ver 3.2)를 이용하여 분석되었다.

[0331] **1.3.2 SEC-HPLC 분석**

[0332] 항체 응집은 Agilent 1100을 사용하는 크기-배체, 고-성능 액체 크로마토그래피 (SEC-HPLC)에 의해 분석되었다. mAb는 DPBS에서 1 mg/mL로 희석되었다. 항체 (20 μ L)는 TSKgel® SuperSW 가드 칼럼 (4.6 mm x 3.5 cm, 4 μ m 기공 크기, Tosoh Bioscience), 이어서 TSKgel® SuperSW3000 칼럼 (4.6 mm x 30 cm, 4 μ m 기공 크기)에 주사되었고, 20 분 동안 0.3 mL/min의 유량에서, pH 7.4에서, 0.15 M NaCl 및 0.05% Na₃을 함유하는 0.1 M 인산나트륨을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 모든 데이터는 Agilent ChemStation 소프트웨어를 사용하여 분석되었다. 퍼센트 응집은 하기로서 계산되었다: [PA_{응집}/PA_총]*100, 여기에서 PA = 통합된 피크 면적.

[0333] **1.3.3 SDS-PAGE 분석**

[0334] 단백질 샘플 (0.1-10 μ g)은 리튬 도데실설페이트 (LDS) 샘플 완충액으로 1X가 되었다. 비-환원된 샘플을 위하여, 인큐베이션은 전기영동에 앞서 10분 동안 실온에서 수행되었다. 환원된 샘플을 위하여, 디티오토레이톨 (DTT)는 20 mM의 최종 농도로 첨가되었고 샘플은 10분 동안 95°C로 가열되었고 전기영동에 앞서 얼음상에 배치되었다. 샘플은 작동 완충제로서 1X MOPS 또는 1X MES를 가진 10-, 12-, 또는 15-웰 Bis-Tris SDS-PAGE 젤 (Thermo Fisher)에 장입되었다. 전기영동은 1 시간 동안 185 V (정전압)에서 수행되었다. 젤은 InstantBlue 염색 용액 (Expedeon)으로 염색되었고 물에서 탈염되었다. 문서화는 600 nm 오렌지 필터를 사용하는 UltraLum 젤 문서화 시스템에서 수행되었다.

[0335] **1.3.4 약물-대-항체 비 (DAR)의 UPLC/ESI-MS 분석**

[0336] ADCs는 PNGase F (New England BioLabs)를 사용하여 탈당화되었다. G7 완충액 (10 μ L) 및 PNGase F (2 μ L)는 mAb (90 μ L, DPBS내 1 mg/mL)에 첨가되었다. 반응은 Discover 마이크로웨이브 (CEM)에서 2 사이클 동안 인큐베이션되었다: (1) 마이크로웨이브 전력 10 W, 37°C, 10 분, 이어서 5분 휴지; (2) 마이크로웨이브 전력 2 W, 37°C, 10 분. 샘플의 한 부분은 20 mM의 최종 농도로 DTT 첨가에 의해 환원되었고, 이어서 60°C에서 3 분 동안 인큐베이션되었다. 샘플은 그 다음 Waters Acquity Ultra 성능 액체 크로마토그래피 (UPLC) 및 사중극자 비파시간 (Q-Tof) Premier 질량 분광분석기를 사용하여 분석되었다. 샘플 (0.5-2 μ g 각각)은 65°C에서

MassPrep™ 마이크로 탈염 칼럼에 주사되었고, 이동상 A의 95%에서 5 분 평형, 10 분 구배 (5-90% B), 및 0.05 mL/min에서, 이동상 A의 95%에서 10 분 재-평형을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 이동상 A는 물내 0.1% 포름산이었다. 이동상 B는 아세토니트릴내 0.1% 포름산이었다. Q-Tof 질량 분광분석기는 500-4000 m/z의 범위에서 검출하는 양이온, V-방식에서 운영되었다. 공급원 파라미터는 아래와 같았다: 모세관 전압, 2.25 kV (온전한 항체)-2.50 kV (감소된 항체); 샘플링 콘 전압, 65.0 V (온전한 항체) 또는 50.0 V (감소된 항체); 공급원 온도, 100 °C; 탈용매화 온도, 250 °C; 탈용매화 가스 흐름, 550 L/hr. 단백질 피크는 MassLynx® MaxEnt 1 기능을 사용하여 디콘볼류션되었다. 각각의 미콘주게이션된, 단독으로-콘주게이션된, 및 다중-콘주게이션된 중쇄 및 경쇄 질량은 조합되어 하기 식을 사용하여 전반적인 DAR을 계산하였다:

$$2[[I_{LC+1} + 2(I_{LC+2}) + 3(I_{LC+3}) + \dots n(I_{LC+n})]/\Sigma I_{LCtot}] + 2[[I_{HC+1} + 2(I_{HC+2}) + 3(I_{HC+3}) + \dots n(I_{HC+n})]/\Sigma I_{HCtot}]$$

[0337] 여기에서 I_{LC+1}

은 1 세포독소로 콘주게이션된 경쇄의 질량 강도이고, I_{LC+2} 는 2 세포독소, 등으로 콘주게이션된 경쇄의 질량 강도이다. I_{HC} 는 상응하는 콘주게이션된 중쇄로부터 강도이고, ΣI_{LCtot} 및 ΣI_{HCtot} 는 모든 미콘주게이션된 및 콘주게이션된 경쇄 및 중쇄, 각각의 조합된 강도이다.

[0338] 1.3.5 HIC-HPLC DAR 분석

[0339] UPLC/전기분무 이온화 (ESI)-MS 분석에 의한 DAR 분석에 더하여, MORAb-003-vcp-에리불린 DAR 및 MORAb-003-0285 DAR은 소수성 상호작용 HPLC (HIC-HPLC)를 사용하여 또한 분석되었다. 샘플은 TSKgel® Ether-5 PW, 7.5 mm ID x 7.5cm, 10 μM 기공 크기에 주사되었고, 이동상 A의 100%에서 3 분 평형, 15 분 구배 (0-100% B), 100% B에서 5 분 유지, 100% A로 1 분 변화, 및 0.7 mL/min에서, 이동상 A의 100%에서 5 분 재-평형을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 이동상 A는 25 mM 인산나트륨, 1.5 M 황산암모늄, pH 7.0이었다. 이동상 B는 25 mM 인산나트륨, 25% 이소프로판올, pH 7.0이었다. 검출은 280 nm (참조 320 nm)에서 실시되었다. DAR은 하기 식에 의해 결정되었다:

$$[AUC_{+1} + 2(AUC_{+2}) + 3(AUC_{+3}) + \dots n(AUC_{+n})]/\Sigma AUC_{tot}]$$

[0340] [0341] 여기에서 AUC_{+1} 는 1 세포독소로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 mAb 피크에 대하여 곡선하 면적이고, AUC_{+2} 는 2 세포독소, 등으로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 mAb 피크에 대하여 곡선하 면적이다. ΣAUC_{tot} 는 모든 피크에 대하여 조합된 곡선하 면적이다.

[0342] 1.4 세포독성 분석

[0343] 1.4.1 크리스탈 바이올렛 검정

[0344] IGROV1 (FR^{hi}) 및 SJS-1 (FR^{neg}) 세포는 96-웰 조직 배양 플레이트내 완전한 성장 배지에서 10,000 세포/웰로 하위-배양 및 씨딩되었고, 37° C, 5% CO_2 에서 밤새 (16 시간) 인큐베이션되었다. 전형적으로, 시험 시약은, 1 μM (총 10 회석)에서 시작하는, 2 mL 딥-웰 회석 플레이트에서 1:4 연속 회석되었다. 100 μL의 회석된 샘플은 (500 nM에서 시험 샘플의 농도를 시작하는) 세포 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 37° C, 5% CO_2 에서 추가의 48 시간 동안 인큐베이션되었다. 배지는 폐기되었고, 플레이트는 200 μL DPBS로 1회 세정되었고, 50 μL의 0.2% 크리스탈 바이올렛 용액으로 실온에서 15 분 동안 염색되었고, 그 다음 수돗물로 광범위하게 세정되었다. 플레이트는 공기-건조되었고, 크리스탈 바이올렛은 200 μL의 1% SDS 용액으로 용해되었다. 플레이트는 570 nm에서 판독되었다. 데이터는 GraphPad Prism 6을 사용하여 분석되었다. 검정은 1,000 세포 / 웰의 씨딩 밀도를 사용하여 수행되었고 화합물 노출은 총 5 일 동안이었다. 더 짧은 기간 노출이 요구된 경우, 세포독성 약물을 함유하는 배지는 4 시간 후 제거되었고 5-일 인큐베이션에 앞서 신선한 성장 배지로 대체되었다. OVCAR3, CaOV3, 및 NCI-H2110을 위하여, 세포는 3,000 세포/웰로 씨딩되었고 5일 동안 ADC로 인큐베이션되었다. 경쟁 실험을 위하여, 적정된 ADCs는 세포로 인큐베이션에 앞서 2 μM (최종) 미콘주게이션된 MORAb-003으로 사전-인큐베이션되었다.

[0345] 1.4.2 방관자 사멸 검정

[0346] 연구 개시 전날, Nuclight™ Green (NLG) IGROV1 세포는 96-웰 등근바닥 플레이트에 5,000 세포 / 웰로 씨딩되었

고, 이어서 실온에서 3 분 동안 1,000 rpm에서 원심분리되어 세포 펠렛의 형성을 보장하였다. 플레이트는 Incucyte Zoom® (EssenBio science)의 용기에 배치되었고 37° C/5% CO₂에서 밤새 인큐베이션되었다. 프로그램은 세포 성장의 이미지를 수집하기 위해, 그리고 핵 녹색-염색된 및 핵 적색-염색된 세포의 총 수 뿐만 아니라 매 2 시간 세포의 상-밀집도를 결정하기 위해 셋팅되었다. 실험의 날에, MORab-003 ADC 또는 자유 약물은 완전한 RPMI 배지에서 희석되었고, 400 nM에서 시작하여, 연속으로-희석되었다. 50 μL의 세포독소 용액은 NLG-IGROV1 세포에 첨가되었고 30 분 동안 인큐베이션되었다. 인큐베이션 기간 동안, Nuclight™ Red (NLR) HL-60 (FR^{neg}) 세포는 새로운 배지로 2x10⁵, 1x10⁵ 또는 5x10⁴ 세포/mL로 희석되었다. 50 μL의 NLR-HL60 세포 혼탁액 또는 배지 단독은 NLG-IGROV1 웰에 첨가되었고, 이어서 1,000 rpm에서 3 분 동안 실온에서 원심분리되어 세포 펠렛의 재-형성을 보장하였다. 플레이트는 Incucyte Zoom (EssenBio science)의 용기 속에 반대로 배치되었고 37° C/5% CO₂에서 최대 5 일 동안 인큐베이션되었다. NLG-IGROV1의 상대 세포 성장은 녹색 세포 카운트를 사용하는 자유 약물 단독 첨가된 샘플 또는 무 ADC에 비교에 의해 결정되었다. HL60의 상대 세포 성장은 유사하게 실시되었고, 단, 적혈구 카운트는 결정되었다. 양쪽 NLG-IGROV1 및 NLR-HL-60에 대하여 IC₅₀ 값의 결정은 Prism (GraphPad)를 사용하여 결정되었다.

1.4.3 혈청 안정성 검정

20 μL의 MORab-003 ADCs는 80 μL의 DPBS, 정상 풀링된 인간 혈청 (Bioreclamation, Lot BRH552911), 또는 정상 풀링된 마우스 혈청 (Bioreclamation, Lot MSE152591)과 철저하게 혼합되었고, 37° C에서 0, 4, 24, 및 48 시간 동안 인큐베이션되었다. 인큐베이션 이후, 샘플은 세포독성 및 결합 검정에서 평가까지 -20 °C에서 냉동 및 저장되었다. 세포독성 분석을 위하여, 샘플은 섹션 1.4.1에서 상세히 설명된 바와 같이, IGROV1 및 SJS-1 세포에서 평가되었다. 결합 평가를 위하여, 샘플은 용액-기반 MSD ECL 검정을 사용하여 평가되었다. 샘플은 스트렙타비딘 플레이트에서 포착전 바이오티닐화된 플레이트 수용체 알파 및 설포-태그 항-MORab-003으로 인큐베이션되었고 MSD Sector Imager 2400이 있는 전기화학발광을 사용하여 검출되었다.

2. 결과

2.1 MORab-003 ADCs의 제조

MORab-003으로 콘주게이션하기 위한 링커 및 세포독소의 최상의 조합을 선택하기 위해, ADCs는 3 방법론을 사용하여 제조되었다. 도 1에서 도시된 콘주게이션 전략에 따라, 짹짓기되지 않은 시스테인은 비-티올 환원제 TCEP의 제한된 몰 당량으로 부분적인 환원을 통해 생성된다. 이러한 전략은 경쇄 및 중쇄 (H-L 짹짓기당 1 쌍) 그리고 힌지 영역에서 2 중쇄 (인간 IgG1의 경우에서 H-H 짹짓기당 2 쌍)을 결합시키는 쇄간 디설파이드 결합을 우선적으로 감소시키면서, 쇄내 디설파이드 결합을 온전하게 유지시킨다.

MORab-003 ADCs 제조용 제2 콘주게이션 전략은 환원된 디설파이드 브릿징 화학을 이용하였다. 환원된 디설파이드 브릿징 화학은 부분적인 환원 공정 동안 방출된 시스테인 잔기의 유리 티올을 리브릿징하고, 디설파이드 결합의 역할을 모방하고 따라서 ADC의 안정성 및 기능을 보유한다.

MORab-003 ADCs 제조용 제3 콘주게이션 전략은 제한된 리신 이용을 사용하였다. 제한된 리신 이용은 전형적인 인간 IgG 분자에서 이용가능한 추정된 70+ 용매-노출된 리신의 매우 제한된 수의 콘주게이션을 초래하고, 시스테인 변형을 포함하는 전략에 비해 더 낮은 균질성을 가진 ADC 생성물의 혼합물을 잠재적으로 제공할 수 있다.

2.1.1 MORab-003 ADCs용 VCP-에리불린의 제조

에리불린 (1) (10 mg, 14 μmol) (도 2)는 N,N-디메틸포름아미드 (DMF) (1mL)에 용해되었고, 양호하게 혼합되었다. N,N-디이소프로필에틸아민 (휘니그 염기 또는 iPr₂NEt) (3.6 μL, 21 μmol) 및 Fmoc-Val-Cit-파라-아미노벤질-파라-나트로페놀 (Fmoc-VCP-PNP) (2) (16 mg, 21 μmol, Concordis Biosystems, cat# VC1003)은 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 4-16 시간 동안 교반되었고, 반응이 완료된 때까지 닌히드린 시험 키트 (Anaspec, cat# 25241)을 사용하여 모니터링되었다. 디에틸아민 (Et₂NH) (0.014 mL, 0.14 mmol)은 그 다음 반응 혼합물에 첨가되었고, 2 시간 동안 18-25° C에서 교반되어 Fmoc 보호 기를 제거하였다. 반응은 닌히드린 시험 키트를 사용하여 모니터링되었다. 완료 시, 용매는 진공 하에 증발되어 미정제 VCP-에리불린 (3) (16 mg)을 제공하였고, 15-70%의 구배를 통해, 0.1% 포름산을 함유하는 H₂O-CH₃CN의 이동상에서 Waters Alliance e2695 HPLC 시스템상의 ZOBAX SB-C18 칼럼 (5 μm 기공 크기, 9.4 x 150mm)를 사용하여 정제되었다. VCP-에리불린

(3) (16 mg)은 DMF (1 mL)에 용해되었다. 휘니그 염기 (7.2 μ L, 41 μ mol) 및 말레이미도-PEG₂-NHS (4) (9.7 mg, 27 μ mol)은 첨가되었다. 반응 혼합물을 18–25° C에서 3 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물을 15–70%B의 구배로 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 H₂O-CH₃CN)에 의해 정제되었다. 용매는 동결건조에 의해 제거되어 mal-(PEG)₂-Val-Cit-p-아미노벤질옥시카보닐 (pAB)-에리불린 (mal-(PEG)₂-VCP-에리불린) (5)를 수득하였다.

[0356]

2.1.2 환원 조건의 최적화

[0357]

MORAb-003 ADCs는 비-티올 환원제 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)의 제한된 몰 당량의 부분적인 환원을 통해 짹짓기되지 않은 시스테인 생성에 의해 제조되었다. 초기 조사는 MORAb-003에서 수행되었고, 이로써 항체 농도, TCEP 농도, 및 인큐베이션 시간은, 항체 분자당 4 콘주게이션 가능한 부위의 평균을 생성하기 위한 목표로, 가변되었다. 유리 티올 부위의 수는 형광 티올 정량화 검정을 사용하여 결정되었다. 이러한 분석의 결과는 표 12에서 나타난다. 10 분, 30 분, 60 분, 또는 120 분 인큐베이션 이후 H-H 및 H-L 결합 파손의 정도는 SDS-PAGE (도 3)에 의해 또한 분석되었다. 이러한 분석을 위하여, 비-환원된 및 환원된 샘플은 SDS-PAGE 젤상에 장입되었고 전기영동은 185 V에서 1 시간 동안 수행되었다. 도 3에서, 레인 1은 단백질 표준에 상응한다. 레인 1은 미처리된, 비-환원된 MORAb-003에 상응한다. 레인 2는 70.6 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 (5.3 mg/mL)에 상응한다. 레인 3은 141.2 μ M TCEP에서 MORAb-003 (환원된 5.3 mg/mL)에 상응한다. 레인 4는 20 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 (1.5 mg/mL)에 상응한다. 레인 5는 40 μ M TCEP에서 환원된 MORAb-003 (1.5 mg/mL)에 상응한다. 각각의 밴드의 동일성은 우하측 젤상에 명시된다. “H”는 중쇄를 명시하고, 반면에 “L”은 경쇄를 명시한다.

표 12. MORAb-003의 환원 조건의 최적화

MORAb-003 농도 μ M (mg/mL)	TCEP 농도 μ M	10 분		30 분		60 분		120 분	
		유리 티올 μ M	MAb 당 환원된 디설파이드 결합						
35.3 (5.3)	70.6	215	3.0	247.5	3.5	297.6	4.2	266.8	3.8
35.3 (5.3)	141.2	339	4.8	372.8	5.3	384.2	5.4	479.8	6.8
10 (1.5)	20	13.3	0.7	14.7	0.7	15.2	0.8	14.6	0.7
10 (1.5)	40	21.8	1.1	25.6	1.3	26.9	1.3	27.4	1.4

[0358]

SDS-PAGE 및 티올 함량의 분석은 TCEP 대 mAb의 4-배 몰비에서 5.3 mg/mL mAb의 60 분 인큐베이션이, (유리 티올 함량에 의해 결정된 경우) 존재하는 것처럼 보이는 분자내 디설파이드의 제한된 환원으로서, 합리적인 개시 점을 제공하였고, 매우 적은 감소되지 않은 mAb가 잔존하였다는 것을 제안하였다 (감소되지 않은 mAb는 제조된 ADCs를 사용하여 시험관내 및 생체내 연구에서 경쟁적 억제제로서 작용할 것이다). 추가 연구는 5.0 mg/mL의 시작 농도에서 MORAb-003으로 수행되어 SDS-PAGE 분석을 사용하는 TCEP 대 mAb의 이러한 최적화된 몰비를 확인하였다 (도 4). 도 4에서, 레인 1은 단백질 표준에 상응한다. 레인 2는 미처리된, 비-환원된 MORAb-003에 상응한다. 레인 3은 1:1의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 레인 4는 1:2의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 레인 5는 1:3의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 레인 6은 1:4의 MORAb-003:TCEP의 비에서 처리된 MORAb-003에 상응한다. 말레이미도-PEG₂-바이오틴을 사용하는 콘주게이션은, ADC 제조용 세포독소의 콘주게이션을 시뮬레이션하기 위해, 감소 및 TCEP 제거에 이어서 또한 수행되었다. DAR 분석은 LC-MS를 사용하여 수행되었다. 이를 연구의 결과는 표 13에서 제공된다.

표 13. 말레이미도-PEG2-바이오틴으로 MORAb-003 – 콘주게이션 수준의 환원 조건의 최적화

TCEP		MORAb-003		
TCEP:mAb	TCEP (μ M)	LC	HC	DAR
1	33.3	0.29	0.34	1.26
2	66.7	0.48	0.83	2.62
3	100	0.63	1.21	3.68
4	133.2	0.73	1.70	4.86

LC, 경쇄 바이오틴 수준; HC, 중쇄 바이오틴 수준; DAR, mAb 당 바이오틴 [DAR = 2(LC) + 2(HC)].

[0360]

[0361] 바이오틴 콘주게이션 이후, 유리 티올 분석은 유리 티올이 MORAb-003-바이오틴에서 존재하지 않는다는 것을 명시하였다. 이것은, 디설파이드 결합의 환원 이후, 콘주게이션이 전형적으로 생성된 양쪽 티올에서 발생하였다는 것, 그리고 임의의 미콘주게이션된, 환원된 디설파이드가 재-산화를 경험하여 디설파이드 결합을 형성하였다는 것을 명시하였다. ADC 생성용 환원을 위하여 선택된 최종 조건은 항체 농도 5.0 mg/mL, TCEP 농도 110 μ M, 및 인큐베이션 시간 60 분이었다. 이것은 콘주게이션 이후 4의 DAR을 가진 mAb를 유발시킨다.

[0362]

2.1.3 ADC 콘주게이션 최적화

[0363]

소수성 화합물인, 크립토피신이 제1 세포독소로서 ADC 제조에 사용됨에 따라, 초기 콘주게이션 최적화 실험은 특이적 위치에서 콘주게이션 (경쇄당 1)에 이용가능한 2 짹짓기되지 않은 시스테인을 갖는 “대리” 항-인간 매소텔린 항체로 수행되었다. 이것은, 경쇄만이 분석될 필요가 있음에 따라, 질량 분광분석법에 의한 콘주게이션 효율의 분석을 크게 용이하게 한다. 항체를 대리하기 위해 말레이미도-LL3-크립토피신의 콘주게이션 동안 프로필렌 글리콜의 적정은 수행되었고 이어서 LC-MS에 의한 경쇄의 콘주게이션 효율이 분석되었다 (표 14).

표 14. 콘주게이션 반응에서 프로필렌 글리콜 농도의 최적화

프로필렌 글리콜 (%)	콘주게이션된 Ab LC (%)
0	8 %
20	48 %
50	100 %

LC 질량: 미 콘주게이션된, 23536 Da; 콘주게이션된, 24367 Da.

[0364]

[0365] 50% 프로필렌 글리콜은 이용가능한 부위의 전체 점유를 초래하였고, 사용될 최종 농도로서 선택되었다. mAb의 결합에서 손실 없음은 콘주게이션 이후 관측되었고 (데이터 도시되지 않음), 프로필렌 글리콜이 항체에 유해한 효과를 갖지 않는다는 것을 명시하였다. 따라서, 선택된 최종 콘주게이션 반응 조건은 실온에서 3.5-4 시간 동안 2.5 mg/mL mAb 최종, 0.5X DPBS내 말레이미도-링커-세포독소:mAb의 6:1 몰비 (프로필렌 글리콜 첨가후 최종 농도), 0.5 mM EDTA, 50% 프로필렌 글리콜, pH 7.2이었다. 이를 반응에서, 프로필렌 글리콜은 말레이미도-링커-세포독소의 첨가에 앞서 첨가된다.

[0366]

2.1.4 ADCs 및 생체물리학적 특성규명의 제조

[0367]

섹션 2.1.2에서 기재된, 확립된 환원 및 콘주게이션 조건은 표 15에서 열거된 제1 10 MORAb-003 ADCs를 제조하는데 사용되었다. 잔존 ADCs는, M-MMAE 및 M-DM1을 예외로, 환원된 디설파이드 브릿징 또는 제한된 리신 이용에 의해 제조되었다. M-MMAE 및 M-DM1은 Concortis Biosystems, Inc.에 의해 제조되었고, 콘주게이션된 형태로 수용되었다.

[0368]

환원된 디설파이드 브릿징 화학은, 환원된 디설파이드당 1 세포독소를 제공하는, 부분적인 환원 공정 동안 유리 티올을 거쳐 브릿지를 생산하였다. 이론상, DAR = 4의 항체는 재-브릿징된 양쪽 H-L 및 헌지 디설파이드를 가질 것이고, 전통적 콘주게이션 접근법에 대해 증가된 안정성 및 균질성을 가진 ADC를 제공한다. 제한된 리신 이용은 전형적인 인간 IgG 분자에서 이용가능한 추정된 70+ 용매-노출된 리신의 매우 제한된 수의 콘주게이션을 초래한다. 이러한 방법을 사용하여 제조된 MORAb-003 콘주게이트는 2.0의 DAR을 초래하였고, 단일 리신이 H-L 쌍

당 이용되었다는 것을 시사하였다.

[0369] 모든 ADCs는 HiPrep 26/10 탈염 크로마토그래피에 의해 정제되었고 DPBS로 제형화되었다. DAR 분석은 LC-MS에 의해 모든 제조된 ADCs에서 수행되었고 응집 수준은 SEC-HPLC에 의해 결정되었다. 이를 DAR 및 응집 분석의 결과는 각각의 ADC와 나란히 표 15에서 열거된다.

표 15. MORAb-003 ADCs의 생체물리학적 분석

	화합물 명칭	DAR	응집 (%)
1	PEG3-Bz-디설파딜-디메틸-크립토피신	3.7 - 3.9	29
2	LL2-크립토피신	3.2	18 - 36
3	LL3-크립토피신	3.2 - 3.7	22 - 36
4	VCP-크립토피신	3.4	50
5	VCP-에리불린	3.6	0 - 2.6
6	ER-001161318	3.5	3.2
7	ER-001161319	3.5	3.1
8	ER-001159200	2.8	
9	M-MMAE	4.0	2
10	NHS-PEG2-AuF	5.0	
11	M-DM1	3.6	1.8
12	M-0285	4.0	1.2
13	M-0115	4.0	0.4
14	M-172	3.1	3.6
15	M-174	2.8	4.4
16	M-158	4.5	3.8
17	M-0384	4.2	4.2
18	M-0302	4.3	3.3
19	M-292	4.0	4.5
20	M-0026	4.2	3.3
21	M-0267	4.0	2.9
22	M-0272	3.3	1.5
23	M-0260	3.2	1
24	M-0276	4.6	6.2
25	M-015-0913	2.0	<1
26	M-030-0132	2.0	<1
27	M-0161	2.1	2.4
28	M-0157	2.0	<1
29	M-027-0381	2.0	<1
30	M-0025	2.0	1.7
31	M-0301	2.0	1.4
32	M-030-0011	2.0	<1
33	M-030-0291	2.0	<1
34	M-0255	3.6	5.9
35	M-0114	4.0	3.9

[0370]

[0371] 모든 ADCs에 대하여 DAR 값은 사전-결정된 범위 (3 내지 4의 DAR)이었다. 크립토피신-기반 ADCs에 대하여 응집 물 수준은 원하는 것보다 상당히 더 높았고 (>10%), 반면에 에리불린-기반 (VCP-에리불린) 및 메이탄신-기반 말레이미도-링커-세포독소 (ER-001161318, ER-001161319, 및 M-MMAE)는 모두 허용가능한 응집물 수준을 실증하였다. 다른 유기 공-용매에 조사는 VCP-크립토피신을 사용하여 MORAb-003에 대한 콘주게이션 반응에서 수행되었다. 시험된 공-용매는 DMSO (10%), N,N-디메틸포름아미드 (20%), N,N-디메틸아세트아미드 (20%), 및 N,N-디메틸프로피온아미드 (20%)이었다. 이를 공-용매를 사용하여 콘주게이션 이후 응집물 수준은 모두 50% 프로필렌 글리콜과 맞먹거나, 이보다 더 높았다.

[0372] 비-환원 SDS-PAGE 분석은 ADCs의 서브셋에서 수행되었다 (도 5). 모든 이를 ADCs용 DAR이 4인 것으로 결정되었기 때문에, 양쪽 H-L 및 양쪽 힌지 디설파이드가 재-브릿징될 수 있음에 따라, 이를 ADCs가 ~ 160 kD의 온전한 IgG로서 이주할 수 있다고 생각되었다. ADCs의 이러한 서브셋은 M-MMAE (레인 2), M-DM1 (레인 3), M-0026 (레인 4), M-0260 (레인 5), M-0267 (레인 6), M-0272 (레인 7), M-0285 (레인 8), M-292 (레인 9), M-027-0381

(레인 10), 및 M-0384 (레인 11)을 포함하였다 (도 5). 도 5에서, 레인 1은 단백질 표준에 상응한다.

[0373] 환원된 디설파이드 브릿징 화학 ADCs (레인 4-9, 11)에 대하여, 온전한 ADC에 더하여, 상당한 H-L 1가 총 (80 kD)가 있다는 것이 이러한 분석으로부터 명백하다. 이것은, 쇄간 힌지 브릿징에 더하여, 상당한 쇄내 힌지 디설파이드 브릿징이 있다는 것을 명시하다. SEC-HPLC 분석은 ADCs가 단일 온전한 IgG로서 이주하는 것을 명시하고, 쇄내 H-H 브릿징을 가진 ADCs에 대하여, 중쇄가 최종 ADC에서 비-공유적으로 관련되는 것을 명시한다.

2.2 MORAb-003 ADCs의 시험관내 효력 분석

2.2.1 IGROV1 및 SJSA-1 세포의 세포독성

[0376] 제조된 ADCs의 시험관내 효력은 섹션 1.4.1에서 상세히 설명된 바와 같이 크리스탈 바이올렛 검정을 사용하여 평가되었다.

[0377] 모든 MORAb-003 ADCs의 초기 스크리닝은 IGROV1 ($FR^{hi(++)}$) 및 SJSA-1 ($FR^{neg(-)}$) 세포에서 수행되었다. IGROV1 세포는 인간 난소 상피성 암종 기원이고 MORAb-003의 표적 항원인, 폴레이트 수용체 알파 (FR)의 높은 수준을 발현시킨다. SJSA-1 세포는 폴레이트 수용체 알파에 대하여 음성인 인간 골육종 종양 세포주이다. 선택된 ADCs의 스크리닝은 CaOV3 (인간 난소 암종, $FR^{med(++)}$), NCI-H2110 (인간 비-소 세포 폐 암종, $FR^{med(++)}$), 및/또는 OVCAR3 (인간 난소 암종, $FR^{med(++)}$) 세포에서 또한 수행되었다. 이러한 스크리닝의 결과는 표 16에서 제공된다.

표 16. 다양한 종양 세포주에서 MORAb-003 ADCs의 세포독성 (IC_{50}) 스크리닝

화합물 명칭	IGROV1	SJSA-1	CaOV3	NCI-H2110	OVCAR3
PEG3-Bz-디설파이드-디메틸-크립토피신	0.067	0.41			

[0378]

LL2-크립토피신	0.023	4.7	0.33		
LL3-크립토피신	0.086	12.7	0.19		0.094
VCP-크립토피신	0.03	~100	0.02		
VCP-에리불린	0.054	>100	3.7	0.73	0.16
ER-001161318	0.26	>100	3.1		
ER-001161319	0.49	>100	11.3		
ER-001159200	6.5	>100	9.2		
M-MMAE	0.2	253			
NHS-PEG2-AuF	0.2	>500			
M-DM1	55	132			
M-0285	0.3	>100		14	8.8
M-0115	0.54	>100			
M-172	>500	>500			
M-174	>500	>500			
M-158	>500	>500			
M-0384	2.25	2.45			
M-0302	330	>500			
M-292	1.7	>500			
M-0026	1.38	540			
M-0267	0.029	0.028			
M-0272	0.252	1.02			
M-0260	0.383	0.036			
M-0276	0.43	30			
M-015-0913	>500	>500			
M-030-0132	>500	17.3			
M-0161	>500	>500			
M-0157	>500	>500			
M-027-0381	14.5	28			
M-0025	>500	>500			
M-0301	>500	>500			
M-030-0011	61.6	>500			
M-030-0291	>500	105			
M-0255	0.12	0.46			
M-0114	144	>100			

[0379]

[0380] 모든 값은 nM으로 IC₅₀s이고, 수행된 경우, 복제 실험의 평균 값이다.

[0381]

VCP-에리불린 ADC는 IGROV1 세포에서 강력하였고 (54 pM) SJS-1 세포에서 거의 사멸을 갖지 않았다. 이들 세포 주에 대하여, VCP-에리불린 ADC는 동등 DAR 값을 가진 ADCs, 예컨대 M-MMAE 및 M-DM1에 비해 더 높은 효력 및 특이성을 실증하였다. VCP-에리불린 ADC는 난소 (CaOV3 및 OVCAR3) 및 비-소 세포 폐 암종 (NC-H2110) 기원의 추가의 FR-발현 종양 세포주에서 강력한 세포독성을 또한 실증하였다.

[0382]

ADCs VCP-에리불린, LL2-크립토피신, LL3-크립토피신, VCP-크립토피신, ER-001161318, ER-001161319, 및 ER-001159200은 CaOV3 (FR^{med(++)}) 세포에서 특이적 세포독성 (특이성의 > 2-logs)을 표시하였다. 다수의 이들 ADCs는 하위-나노몰 효력을 표시하였다. 크립토피신 콘주게이트는 IGROV1 세포내 효력의 높은 수준 (23 pM - 86 pM)을 또한 실증하였지만, VCP-크립토피신을 예외로, SJS-1 세포에서 측정가능한 세포독성을 또한 실증하였다. 절단가능한 메이탄신 콘주게이트 ER-001161318 및 ER-001161319는 IGROV1에서 중간체 효력 (0.26 nM 및 0.49 nM)을 가졌고, SJS-1 세포의 부정확한 사멸을 거의 갖지 않았다.

[0383]

모든 제한된 리신 이용 콘주게이트는 특이성 없음을 실증하였고 추가로 평가되지 않았다. 듀오스타틴-3 (M-0285), 듀오스타틴-5 (M-0115), 및 듀오스타틴-14 (M-292 및 M-0026)의 환원된 디설파이드 브릿징 기술을 사용하는 절단가능한 콘주게이트는 모두, SJS-1 세포주에서 세포독성 거의 없이, IGROV1 세포주에서 특이적 세포독성을 실증하였다. 아우리스타틴의 유도체인, 듀오스타틴-3 및 듀오스타틴-5 콘주게이트는, 메이탄신 유도체인, 듀오스타틴-14 콘주게이트보다 효력에서 약간 더 높았다. 효력 및 특이성은, 모노메틸 E에 부착된 Val-Cit-pAB (VCP) 링커를 사용하는, 대조군 M-MMAE 콘주게이트에 비교할만 하였다. 비-절단가능한 환원된 디설파이드 화학 콘주게이트는 모두 충분한 효력 또는 특이성이 부족하였고, 추가로 분석되지 않았다.

2.2.2 인간 플레이트 수용체-발현 난소 암 세포주 CaOV3에서 세포독성

선택 MORAb-003 ADCs의 효력은 인간 난소 종양 세포주 OVCAR3 및 CaOV3, 뿐만 아니라 인간 NSCLC 세포주 NCI-H2110에서 또한 결정되었다 (표 16). 인간 난소 세포주 CaOV3에서, 크립토피신 콘주케이트는, IGROV1 세포에서 관측된 것과 달리, VCP-에리불린 콘주케이트보다 측정가능하게 더 높은 효력을 실증하였다. 이것은 IGROV1에 비교하여 CaOV3 세포에서 플레이트 수용체 알파의 더 낮은 발현 수준, 또는 에리불린에 비교하여, 이들 세포에서 크립토피신의 더 높은 효력 때문일 수 있다. 메이탄신-기반 콘주케이트 ER-001161318, ER-001161319, 및 ER-001159200은 모두 VCP-에리불린에 유사한, 또는 이보다 낮은 효력을 가졌다.

2.3 VCP-에리불린, ER-001161318, 및 M-0285의 방관자 사멸

방관자 사멸 활성을 평가하기 위해, 검정은 2 표지된 세포주를 사용하여 셋업되었다. 이 검정에서, Nuclight™ Green으로 표지된 IGROV1 세포 (FR^{hi}) 및 Nuclight™ Red로 표지된 HL-60 (FR^{neg})는 상이한 세포 수 비로 공-배양되었고, MORAb-003 ADCs VCP-에리불린, ER-001161318, 또는 M-0285의 적정으로 처리되었다. VCP-에리불린은 말레이미도-PEG₂-Val-Cit-pAB 절단가능한 링커를 포함하는 에리불린-기반 ADC이고, 반면 ER-001161318은 말레이미도-(CH₂)₅-Val-Cit-pAB 절단가능한 링커를 포함하는 메이탄신-기반 ADC이고 M-0285는 PEG-pAB 절단가능한 링커를 포함하는 듀오스타틴-기반 ADC이다. 세포독성은 Incucyte Zoom® 세포 이미저로 모니터링되었다. 이러한 방관자 세포독성 검정의 결과는 표 17 및 도 6A-C에서 나타난다.

표 17. FR-양성 및 FR-음성 세포주의 공-배양에서 VCP-에리불린의 방관자 사멸 활성

EC ₅₀ (nM)			
IGROV-1	HL-60	HL-60 (IGROV-1로 공-배양)	HL-60 (에리불린)
0.0005972	39.74	0.2399	0.1702

HL-60 (FR^{neg}) 세포가 IGROV1 (FR^{hi}) 세포에 2:1 비로 배양된 경우, MORAb003-VCP-에리불린으로 치료는, HL-60 세포 단독과 비교하여, HL-60 세포의 사멸에서 2-log 증가를 초래하였다 (표 17 및 도 6A). 이들 데이터는 플레이트 수용체 알파 (FR) 표적-음성 세포가, 본 명세서에서 방관자 사멸로서 지정된, FR 표적-양성 세포로 공-배양된 경우 MORAb003-VCP-에리불린에 의해 더 효과적으로 사멸되는 것을 시사한다. 방관자 사멸은, 표적-양성 세포로 공-배양의 부재 하에 그리고 상기와 독립적으로, 표적-음성 세포 스스로의 사멸로서 정의되는, 부정확한 사멸과 구별가능하다. 방관자 사멸에서 관측된 증가는 자유 에리불린으로 HL-60 세포의 치료 이후 관측된 증가에 또한 거의 동일하여, 방관자 효과에 대하여 잠재적인 기전을 명시하였다. 어떤 이론에 의해 구속되기를 바라지 않으면서, MORAb003-VCP-에리불린은, 세포자멸사를 또한 경험하고 자유 에리불린을 배양물 속에 방출시키는, FR-양성 IGROV1 세포에서 또는 근처에서 절단될 수 있다. 방출된 세포독소는 FR-음성 HL-60 세포를 사멸시킬 수 있다.

그에 반해서, 단지 약간의 시프트는 MORAb003-ER-001161318에 대하여 관측되었고 (도 6B), 시프트 없음은 MORAb003-0285로 관측되었다 (도 6C). HL-60:IGROV1 비가 2:1에서 1:2로 낮아진 경우, HL-60 세포의 측정가능한 사멸은, HL-60 세포 단독에 비해, MORAb003-ER-001161318에 대하여 관측되었고, 반면 방관자 효과는, 검출가능할 지라도, MORAb003-0285에 대하여 여전히 낮게 유지하였다. 이들 데이터는, 방관자 사멸에 관하여, 평가된 MORAb-003 ADCs가 VCP-에리불린 > ER-001161318 > M-0285로서 등급화될 수 있다는 것을 시사한다.

2.4 혈청 안정성 분석

세포독소가 순환에서 방출되면 독성에 대한 잠재력 및 ADCs의 생체내 긴 순환 반감기를 감안하면, ADCs는 혈청에서 안정성을 실증할 수 있다. MORAb-003 ADCs VCP-에리불린, ER-001161319, 및 M-0285는 최대 48 시간 동안 37°C에 인간 또는 마우스 혈청에서 사전인큐베이션되었고, 그 다음 IGROV1 및 SJS-1 세포로 세포독성 검정에서 평가되었다. ER-001161319은 VCP-에리불린, 말레이미도-PEG₂-Val-Cit-pAB와 동일한 절단가능한 링커를 포함하는 메이탄신-기반 ADC이다. PBS 및 혈청 대조군은 검정 성능에서 임의의 혈청 효과를 보정하기 위해 포함되었다. 이러한 연구의 결과는 표 18에서 나타난다.

표 18. 선택된 MORAb-003 ADCs 의 혈청 안정성

	시간	세포-기반 세포독성 검정, EC ₅₀ , nM								
		MORAb003-VCP 에리불린			MORAb003-ER001161319			MORAb003-0285		
		PBS	인간 혈청	마우스 혈청	PBS	인간 혈청	마우스 혈청	PBS	인간 혈청	마우스 혈청
[0393] IGROV1	0hr-PBS	0.021	0.013	0.02	0.28	0.15	0.2	0.074	0.089	ND
	0hr-혈청	0.022	0.014	0.01	0.15	0.15	0.2	0.063	0.078	0.049
	4hr	0.03	0.018	0.019	0.14	0.17	0.25	0.065	0.075	0.049
	24hr	0.024	0.019	ND	ND	0.27	0.9	0.059	0.074	0.044
	48hr	0.022	0.021	0.03	0.21	0.73	2.56	0.043	0.05	0.051
[0394] SJSAs-1	0hr-PBS	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	0hr-혈청	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	4hr	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	24hr	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	48hr	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

음영된 박스는 T=0 샘플로부터 효력에서 상당한 감소를 명시한다.

[0395] VCP-에리불린 및 M-0285가 어느 한쪽 혈청에서 적어도 48 시간 동안 안정적이었던 반면, ER-001161319는 48 시간후 효력에서 상당한 하락을 실증하였다. 이것은, 이전에 문헌에서 기재되어 있지 않았던, 메이탄신에 아지리디노-카바메이트 연결 때문일 수 있다. 방출된 화합물의 형태는, 세포독성에서 증가 없음이 SJSAs-1 세포에서 보여졌기 때문에, 고도로 강력할 수 없다.

2.5 MORAb003-VCP-에리불린으로 시험관내 연구

2.5.1 DAR 및 생성물 불균질성의 HIC-HPLC 분석

[0396] MORAb003-VCP-에리불린 및 MORAb003-0285는 대안적 방법에 의해 DAR을 평가하기 위해 그리고 미콘주케이션된 항체 (경쟁자)의 함량 및 생성물 불균질성을 시험하기 위해 HIC-HPLC에 의해 분석되었다. MORAb003-VCP-에리불린은, 환원 및 콘주케이션에 대하여 사용된 방법과 일치하는, 0, 2, 4, 및 6의 DAR 종을 갖는 것으로 나타났다 (도 7A). DAR = 0 종의 초저 양은 판측되었다. AUC 계산에 기반된, 전반적인 DAR은, LC-MS에 의해 결정된 값과 일치하는, 3.80이었다. MORAb003-0285는, 단일 DAR 종을 명시하는, HIC-HPLC에 의해 단일 피크로서 이루하였다 (도 7B). 이것은 DAR 4.0으로서 배정되었다.

2.5.2 경쟁 검정에 의한 특이성

[0397] MORAb-003-VCP-에리불린 세포독성의 항원 특이성은 경쟁 검정 포맷을 사용하여 the VCP-에리불린 콘주케이트에 대하여 실증되었다 (도 8). 이 실험에서, MORAb-003-VCP-에리불린 (시작 농도 100 nM)의 적정은 2 μ M 미콘주케이션된 MORAb-003으로 공-인큐베이션되었다. 미콘주케이션된 MORAb-003은, KB 세포에서, II 기 임상시험내 현재 면역원으로부터 항-인간 폴레이트 수용체 알파-메이탄신 ADC인, IMGN853으로 수득된 결과에 유사한, IGROV1 세포에서 효력의 2-log 시프트를 제공하였다 (Moore 등, 2015 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, Abstract 5518).

2.5.3 NCI-H2110 NSCLC 세포에서 세포독성

[0400] 인간 NSCLC 세포주 NCI-H2110에서 양쪽 MORAb003-VCP-에리불린 및 MORAb003-0285에 대하여 세포독성은 크리스탈 바이올렛 검정을 사용하여 수행되었다. 이 검정의 결과는 표 16에서 나타난다. MORAb003-VCP-에리불린은 0.73 nM의 IC₅₀을 가졌고, 반면 MORAb003-0285는 14 nM의 IC₅₀을 가졌다.

2.6 생체내 연구

2.6.1 CD-1 마우스 균주에서 MORAb-003-VCP-에리불린 (MORAb-202)의 최대 용인된 용량 (MTD)

[0401] 미접촉 CD-1 마우스는 표 19에서 스케줄에 따라 200 μ L의 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 체중은 투약 일에 용량에 앞서, 용량후 24 시간, 및 그 후에 1주 3회 측정되었다. 동물은 연구 지속기간 내내 임상 웰빙에 대하여 판측되었다. 투약 2주 후, 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 연구의 마지막에 (그리고 임의의 마우스가 연구 동

안 안락사되었거나 죽은 채 발견되었다면) 안락사된 마우스는 검시를 위하여 처리되었다. 기관은 조직 손상의 정후에 대하여 검사되었다.

표 19. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	3	MORAb-202	비 히클*	0	i.v.
2			10		
3			20		
4			40		
5			80		

[0406]

[0407]

상당한 체중 손실 없음은 PBS-치료된 대조군 그룹, 또는 치료 동안 독성을 명시하는 임의의 임상 발견과 비교된 임의의 치료 그룹에서 관측되었다. 개별 마우스의 체중은 표 20에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 21에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 9에서 도시된다. 볼러스 정맥내 투여를 통해 용량 최대 80 mg/kg에서 MORAb-202는 무 독성을 생산하였다. 따라서, MTD는 80 mg/kg 초과이다.

EX 후 일수	PBS 대조군 A/Y1	MORAb-202 10mg/kg		MORAb-202 20mg/kg		MORAb-202 40mg/kg		MORAb-202 80mg/kg		
		A/Y2	A/Y3	B/Y1	B/Y2	C/Y1	C/Y2	D/Y1	D/Y2	E/Y1
0	22.50	20.80	21.20	22.60	23.50	21.80	27.40	21.00	23.80	21.70
1	23.60	21.50	22.00	22.80	23.50	23.80	27.50	21.40	23.60	21.60
2	23.30	21.90	22.00	23.30	24.00	22.50	29.00	22.10	23.60	21.60
4	23.30	21.90	22.00	23.30	23.50	23.20	31.00	23.00	24.40	24.10
7	23.50	23.10	22.70	24.50	25.20	23.50	32.00	24.00	25.10	25.50
9	24.80	22.50	22.80	24.90	25.30	25.00	30.80	31.70	25.80	25.20
11	24.20	23.40	23.20	24.30	25.10	31.00	32.40	23.83	25.30	23.80
14	24.00	23.50	24.40	25.80	25.70	33.20	32.40	24.10	25.70	25.30

무작위화 후 일수	PBS	MORAb-202 10mg/kg			MORAb-202 20mg/kg			MORAb-202 40mg/kg			MORAb-202 80mg/kg			
		평균 (g)	n	평균 (g)	sem	평균 (g)	n	평균 (g)	sem	평균 (g)	n	평균 (g)	n	
0	21.4	0.6	3	22.6	0.5	3	24.9	2.0	3	22.9	0.6	3	24.7	1.5
1	22.4	0.6	3	23.2	0.3	3	25.9	2.3	3	22.9	0.7	3	26.2	1.6
2	22.4	0.5	3	23.4	0.3	3	26.8	2.4	3	23.3	0.8	3	26.6	1.7
4	22.4	0.5	3	23.5	0.2	3	28.1	2.5	3	23.7	0.5	3	27.2	1.9
7	23.2	0.4	3	25.0	0.1	3	28.5	2.4	3	24.7	0.6	3	27.9	2.3
9	23.3	0.7	3	25.1	0.1	3	28.6	2.6	3	24.9	0.6	3	28.3	2.3
11	23.6	0.3	3	24.6	0.3	3	29.1	2.7	3	24.7	0.5	3	27.2	2.1
14	24.0	0.3	3	25.7	0.1	3	29.9	2.9	3	25.8	0.3	3	26.5	2.3

표 20

[0408]

표 21

[0409] 2.6.2 CD-1 마우스에서 에리불린의 최대 용인된 용량

미접촉 CD-1 마우스는 표 22에서 스케줄에 따라 200 μ L의 에리불린으로 정맥내로 주사되었다. 체중은 각각의 투약 일에서 용량에 앞서 그리고 각각의 용량 이후 24 시간에서 1주 3회 측정되었다. 동물은 연구 지속기간 (마지막 용량후 2주) 내내 임상 웰빙에 대하여 관측되었다. 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 연구의 마지막에 (그리고 임의의 마우스가 연구 동안 안락사되었거나 죽은 채 발견되었다면) 안락사된 마우스는 검시를 위하여 처리되었다. 기관은 조직 손상의 징후에 대하여 검사되었다.

표 22. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	3	에리불린	PBS	0	q4dx3 i.v.
2			0.4		
3			0.8		
4			1.6		
5			3.2		

[0411] [0412] 상당한 체중 손실 또는 독성을 명시하는 임상 발견은, q4dx3 투약 레지멘 (총 3 용량에 대하여 매 4일 1회)를 사용하여, 용량 최대 1.6 mg/kg에서 에리불린 투여된 동물에서 관측되지 않았다. 동일한 스케줄로 3.2 mg/kg의 투여는 제2 용량후 모두 3 마우스에서 텔세움을 유도하였다. 중증 체중 감소 (제2 용량후, 1 마우스, #552에서 23% 손실; 제3 용량후, 나머지, #551 및 #552에서 17% 및 8%)는, PBS-치료된 대조군에 비교하여, 관측되었다. 총 변화는 검시 동안 마우스의 기관에서 관측되지 않았다. 개별 마우스의 체중은 표 23에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 24에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 10에서 도시된다.

[0413] q4dx3 투약 레지멘을 사용하는, 용량 최대 1.6 mg/kg에서 에리불린은 무 독성을 생산하였고, 반면 3.2 mg/kg은 중증 체중 감소를 유도하였다. 따라서, 에리불린의 MTD는, 이 연구에서, 1.6 mg/kg, q4dx3이다.

III 23

번호	PBS				예리풀 0.4mg/kg				예리풀 0.8mg/kg				예리풀 1.2mg/kg				예리풀 1.6mg/kg			
	A.Y1	A.Y2	A.Y3	B.Y1	B.Y2	B.Y3	C.Y1	C.Y2	C.Y3	D.Y1	D.Y2	D.Y3	E.Y1	E.Y2	E.Y3	F.Y1	F.Y2	F.Y3		
0	26.50	24.40	22.40	21.84	20.02	22.43	23.10	23.50	23.10	24.46	21.13	24.10	24.15	23.70	24.30	23.00	22.31	23.47	22.00	
1	28.13	25.11	26.38	25.10	24.40	22.70	24.00	24.00	23.03	23.60	24.46	21.70	24.10	23.30	20.90	20.90	22.20	17.50	20.51	
2	25.60	25.10	24.40	22.70	22.70	24.00	23.40	24.40	23.80	24.40	24.50	21.70	24.10	24.10	20.90	20.90	22.70	16.50	20.50	
3	26.40	24.30	26.50	22.30	24.10	23.40	24.10	24.00	24.10	24.60	21.50	24.50	24.10	24.20	24.50	21.80	23.50	23.50	9003.00	
4	27.50	25.70	26.50	23.30	23.70	25.20	24.00	24.00	24.00	23.50	23.50	24.50	24.20	24.20	24.50	21.80	23.50	23.50	9003.00	
5	27.50	25.50	25.40	22.90	23.40	23.40	24.00	24.70	23.50	24.00	24.70	21.50	24.50	24.50	20.20	20.20	23.00	23.30	23.30	
6	27.50	25.60	24.40	22.60	22.60	23.50	25.00	25.10	25.00	25.00	25.00	22.20	25.70	24.70	20.00	20.00	23.30	23.30	23.30	
7	27.40	25.50	26.40	23.70	23.50	25.50	25.50	25.50	25.30	25.60	25.60	22.50	25.80	25.20	21.40	21.40	23.70	23.70	23.70	
8	27.20	25.80	26.20	24.70	24.10	26.70	25.40	25.40	25.30	25.40	25.40	23.40	26.70	26.10	21.60	21.60	24.30	24.30	24.30	
9	27.00	27.40	25.30	24.30	24.30	27.50	27.50	26.20	26.20	27.50	27.50	24.70	27.50	26.20	25.90	25.90	25.90	25.90	25.90	
10	28.10	27.80	26.50	26.10	25.70	28.50	28.50	28.50	28.20	28.20	28.10	28.40	28.00	28.00	28.80	28.80	28.80	28.80	28.80	

각각의 칼립은 개별 동물을 나타낸다.
*9003. >20% 체중 감소로 안락사됨.

[0415]

표 24

주사/후 일수	PBS	에리불린 0.0mg/kg			에리불린 0.0mg/kg			에리불린 1.0mg/kg			에리불린 2.0mg/kg				
		평균 [g]	sem	n											
0	24.8	0.9	3	23.4	0.6	3	24.8	0.5	3	23.3	0.7	3	23.8	0.9	3
1	25.9	1.2	3	22.8	0.7	3	23.7	0.4	3	23.1	1.0	3	22.1	0.8	3
4	25.0	0.3	3	23.6	0.4	3	24.2	0.2	3	23.0	0.7	3	20.2	1.4	3
5	25.2	0.6	3	23.3	0.5	3	24.3	0.3	3	23.4	0.9	3	20.2	1.7	3
8	25.9	0.9	3	24.1	0.6	3	24.9	0.6	3	23.5	0.8	3	23.9	0.9	2
9	25.8	0.9	3	23.9	0.8	3	24.7	0.4	3	23.6	0.9	3	23.6	1.1	2
11	25.8	0.9	3	24.0	0.9	3	25.3	0.4	3	24.2	1.0	3	23.7	1.3	2
13	26.5	0.6	3	24.7	0.9	3	25.8	0.4	3	24.6	0.9	3	23.6	0.9	2
16	26.8	0.3	3	25.2	0.8	3	25.9	0.3	3	25.4	1.0	3	24.0	0.3	2
18	27.2	0.4	3	25.7	1.1	3	27.4	0.6	3	26.3	0.9	3	25.9	0.0	2
20	27.4	0.5	3	26.8	0.9	3	27.2	0.9	3	26.8	1.1	3	26.4	0.3	2

[0416]

2.6.3 MORAb003-VCP-에리불린의 최소 유효한 용량의 평가

CB17-SCID 마우스내 hNSCLC NCI-H2110 모델에서 (MORab-202)

인간 NSCLC, NCI-H2110 세포, 통로 47은 30 CB17 SCID 마우스 (암컷, 5 내지 6 주령, 체중 20 그램)에서 피하로 이식되었다. 이식후 14 일후, 마우스는 5 그룹으로 무작위 추출되었다. 치료 일 (일 0)에서 각각의 그룹내 평균 종양 용적은 154-175 mm³ 범위이었다 (표 27). 등록된 마우스는, 연구 설계에 따라, 1, 2.5, 또는 5 mg/kg에서 MORAb003-VCP-에리불린 (MORab-202) (Lot# NB2900-87E 10/07/15)로, 5 mg/kg에서 대조군으로서 MORAb-003-0285 (Lot# 042-150-002)로, 또는 PBS로 치료되었다 (표 25). 각각의 그룹은 그룹에서 임의의 동물내 종양 용적이 >2000 mm³인 경우 연구로부터 제거되었다. 마지막 그룹은 일 61에서 종결되었다.

표 25. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	5	PBS	0	단일 볼러스	i.v.
2		MORAb-003-VCP-에리불린	1		
3		MORAb-003-VCP-에리불린	2.5		
4	4 ¹	MORAb-003-VCP-에리불린	5		
5	5	MORAb003-0285	5		

[0419]

[0420] 개별 마우스에서 종양 용적은 표 26에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 27에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 평균의 표준 오차, SEM)에 대하여 종양 성장 동력학은 도 11에서 도시되고, 개별 마우스내 종양 용적, 뿐만 아니라 그룹 평균 및 SEM은 도 12에서 도시된다. (제1 종양 용적 $>2000 \text{ mm}^3$ 이 관측된 경우) 일 17 종양 용적에 기반하여, MORAb-202는 1 mg/kg ($p = 0.002$ 대 염수)에서 47%의 종양 성장 억제 (TGI), 2.5 mg/kg ($p < 0.0001$ 대 염수)에서 96%의 TGI를 야기시켰다. 그러나, 퇴화된 종양은 치료 종료 후 1 내지 2 주 재성장하였다. 종양은 5 mg/kg의 MORAb-202로 치료된 마우스에서 검출되지 않았다.¹ 이 그룹에서 4 마우스. 1 마우스는 치료 주사 오류 때문에 이 그룹에서 제외되었고, 이는 전기화학발광 면역검정 (ECLIA) 데이터에 기반하여 동물 혈청에서 화합물의 부재에 의해 확인되었다. 이들 마우스는 단일 용량 치료 후 60 일 넘게 종양 없이 남아있었다. MORAb-003-0285는 5 mg/kg ($p < 0.0001$ 대 염수)에서 89.7%의 TGI를 야기시켰다.

[0421]

개별 마우스의 체중은 표 28에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 29에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 13에서 나타난다.

[0422]

상당한 체중 손실은 대조군과 비교된 임의의 치료 그룹에서 관측되지 않았다.

[0423]

MORAb-202는 NCI-H2110 종양 성장에서 상당한 효과를 보여주었다. 종양 퇴행은 94%의 TGI로 2.5 mg/kg (대 PBS)에서 볼러스 치료에 의해 달성되었다. 따라서, MORAb-202의 최소 유효한 용량은, 이 모델에서 시험된, 2.5 mg/kg이다. 완전한 종양 박멸은 단일 용량에 의해 5 mg/kg에서 달성되었다. 종양 성장은 60 일 넘는 동안 관측되지 않았다.

표 26. 종 양 용적

무게와회초 일수	PBS	MORAb-202 1mg/kg			MORAb-202 2.5 mg/kg			MORAb-202 5mg/kg			003-0285 5mg/kg			
		150	187	189	92	120	236	110	202	159	146	65	208	241
0	164	195	137	300	80	178	218	133	118	150	187	146	65	208
3	368	413	279	587	171	178	207	104	106	216	144	68	83	259
5	327	481	285	555	190	161	193	83	95	215	75	51	37	54
6	467	758	541	894	275	257	258	139	160	348	61	52	33	52
7	642	815	621	1055	395	317	306	182	167	476	64	54	36	8
10	891	1238	895	1328	662	506	494	230	285	708	24	37	35	15
12	993	1274	983	1519	1115	638	655	371	361	865	40	21	51	9
14	981	1410	1131	1695	971	848	812	402	418	901	41	30	37	0
17	1320	1723	1319	2089	1466	955	980	727	592	946	46	33	64	0
19						838	1030	856	602	953	56	37	90	0
24								102	37	197	0	702	0	0
26									168	102	319	0	790	0
28									269	54	474	9	990	0
31									362	105	558	13	1187	0
33									496	124	588	9	1461	0
35									573	212	669	16	1847	0
38									764	348	952	20	2367	0
40												0	0	0
42												0	0	0
45												0	0	0
47												0	0	0
52												0	0	0
54												0	0	0
59												0	0	0
61												0	0	0

[0425]

각각의 칼럼은 개별 동물을 나타낸다.

표 27

동적위험수 일수	PBS			MORAb-202 1mg/kg			MORAb-202 2.5mg/kg			MORAb-202 5mg/kg			MORAb-003-0285 5mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	175.2	36.41527	5	159.4	17.68781	5	164.8	25.8917	5	154.25	16.95792	4	170.8	37.46065	5
3	363.6	69.3831	5	162.2	24.14101	5	104.6	17.7581	5	72.75	13.88661	4	231.2	48.4055	5
5	367.6	66.24275	5	149.4	26.13343	5	50.8	7.242607	5	31.25	7.500133	4	145.2	31.14483	5
6	587	108.7468	5	232.4	37.74183	5	52.2	5.005179	5	20	4.14008	4	170.2	37.81015	5
7	705.6	109.7441	5	289.6	55.74694	5	52.8	4.611415	5	23	7.76666	4	178.6	40.08123	5
10	1002.8	122.532	5	444.6	85.61518	5	36.4	9.499597	5	0	0	4	140.2	35.30337	5
12	1176.8	100.25	5	578	95.18355	5	38	10.62087	5	0	0	4	130	36.5513	5
14	1237.6	138.9994	5	676.2	109.4307	5	39.4	14.30871	5	0	0	4	123.4	34.69758	5
17	1583.4	146.0629	5	840	76.78507	5	60.8	27.09899	5	0	0	4	162.6	58.96373	5
19				855.8	72.16584	5	93	49.35207	5	0	0	4	212.4	79.06236	5
24							207.6	127.8177	5	0	0	4	538.4	219.5123	5
26							275.8	138.3498	5	0	0	4	690.8	249.2466	5
28							359.2	177.874	5	0	0	4	842.6	310.8141	5
31							445	208.4929	5	0	0	4	1173.2	373.2365	5
33							555.6	255.2269	5	0	0	4			
35							663.4	318.1881	5	0	0	4			
38							890.2	402.5237	5	0	0	4			
40									0	0	4				
42									0	0	4				
45									0	0	4				
47									0	0	4				
52									0	0	4				
54									0	0	4				
59									0	0	4				
61									0	0	4				

[0426]

표 28

무작위회수 일수	PBS	MORab-202 1mg/kg						MORab-202 2.5mg/kg						MORab-202 5mg/kg						MORab-003-0285 5mg/kg											
		19.1	18.2	18.4	18.9	18.8	19.1	18.6	19.3	20.6	18.4	17.8	18.1	18	19.8	16.3	17.6	18.7	16.1	19.7	20.5	17.4	18	17.4	18.8	18.5	16.3	18.5	18.7		
0	19.1	18.2	18.4	18.9	18.8	19.1	18.6	19.3	20.6	18.4	17.8	18.1	18	19.8	16.3	17.6	18.7	16.1	19.7	20.5	17.4	18	17.4	18.8	18.5	16.3	18.5	18.7			
3	19.6	18.2	18.9	18.9	19.3	19.3	18.4	18.6	18.6	20.2	20.9	18.4	19.1	18.6	19.9	16.4	17.5	18.8	15.9	19.9	20.8	17	18.1	16.3	18.5	18.5	16.3	18.5	18.7		
6	19.7	18.4	18.4	19.1	19.1	19	18.3	20.3	21.3	19	18.5	19.4	18.7	20	16.4		17.5	19.3	16.3	19.6	20.8	17.7	18.2	16.8	18.7						
7	19.7	18	18.9	18.8	18.9	18.9	18	20	21.2	18.9	18.7	18.7	18.7	19.7	16.5		17.4	19.4	16.5	19.2	20.6	17.7	18.5	16.8	19						
10	19.7	18	19.2	18.5	19.1	18.4	18	20.1	20.9	19	19.3	19.7	18.8	19.8	16.6		17.6	19.4	16.7	20	20.5	18.2	18.6	17.5	20.3						
12	19.8	17.7	19.1	18.4	19	18.3	17.8	20.5	20.9	19.5	18.9	20	19.7	20.2	17.2		17.9	19.6	16.9	20.2	20.4	18.3	18.8	18.1	20.4						
14	18.8	17.4	18.4	18.2	17.5	17.9	17.7	20.3	21.2	19.9	18.8	19.6	19	19.3	17		17.5	19.3	17	19.2	20	18.2	18.9	18.4	19.7						
17	18.8	17.2	18.3	17.5	17.2	17.4	17.7	20.4	20.7	19.2	18.8	19.8	19.7	19.2	17.3		17.9	20	17.3	19.7	19.8	17.9	18.9	18.6	19.5						
19						16.7	17.2	19.9	20.7	18.9	18.3	19.8	18.7	19.5	16.8		18.1	20	17.1	20.2	19.7	18	19.3	18.4	19.6						
24											18.8	20.2	19.2	19.9	16.9		18.5	20.7	17.5	20.2	20.1	18.5	20	19.1	18.9						
26											18.9	19.6	18.9	19.5	16.5		18.3	20.7	17.6	19.7	20.6	18.4	19.9	18.6	19.1						
28											18.8	19.6	19.5	19.6	16.6		18.6	21.3	17.6	20.1	20.8	18.5	19.9	18.8	19.5						
31											18.9	20.1	19.6	20.7	17		18.6	20.4	17.9	20.9	20.7	18.2	20.9	19.6	19.5						
33											18.9	19.8	19.4	21.2	17.6		18.8	19.6	18.2	21.3											
35											19.2	19.7	19.5	20.7	17.4		18.7	20.2	18.1	19.6											
38											19.6	20	19.7	20.6	18		18.8	20.4	19	17.2											
40																	19.4	20.4	18.7	19.3											
42																	19.9	20.4	18.8	20.6											
45																	19.8	21	18.3	21.7											
47																	19.7	20.7	18.3	21.1											
52																	20.2	21.1	18.5	21.9											
54																	20.3	21.4	18.6	22.6											
59																	20	21.6	18.8	21.7											
61																	20.5	22.1	19.2	21.3											

표 29

무작위화후 일수	PBS			MORAb-202 1mg/kg			MORAb-202 2.5mg/kg			MORAb-202 5mg/kg			MORAb-203-듀로스탁틴 5mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	18.68	0.165239	5	19.2	0.385328	5	18	0.554902	5	18.025	0.689078	4	18.42	0.578982	5
3	18.98	0.234959	5	19.48	0.47393	5	18.48	0.579842	5	18.025	0.769253	4	18.14	0.76975	5
6	18.94	0.245739	5	19.58	0.537015	5	18.6	0.609665	5	18.175	0.694839	4	18.44	0.667108	5
7	18.86	0.268971	5	19.4	0.549488	5	18.46	0.525953	5	18.125	0.628577	4	18.52	0.638721	5
10	18.9	0.29444	5	19.28	0.537015	5	18.84	0.585996	5	18.425	0.68618	4	19.02	0.590063	5
12	18.8	0.352933	5	19.4	0.600608	5	19.2	0.545849	5	18.65	0.678513	4	19.2	0.502108	5
14	18.06	0.267112	5	19.4	0.683817	5	18.74	0.454832	5	18.25	0.523801	4	19.04	0.352368	5
17	17.8	0.320373	5	19.08	0.673649	5	18.96	0.451533	5	18.725	0.592675	4	18.94	0.33497	5
19				18.68	0.764423	5	18.62	0.527655	5	18.85	0.670634	4	19	0.338521	5
24							19	0.579498	5	19.225	0.665359	4	19.32	0.313137	5
26							18.68	0.563279	5	19.075	0.621135	4	19.32	0.41086	5
28							18.82	0.573795	5	19.4	0.728103	4	19.5	0.407939	5
31							19.26	0.636533	5	19.45	0.638148	4	19.78	0.484329	5
33							19.38	0.585826	5	19.475	0.60047	4			
35							19.3	0.536644	5	19.15	0.416401	4			
38							19.58	0.430983	5	18.85	0.58918	4			
40										19.45	0.314619	4			
42										19.925	0.359691	4			
45										20.2	0.665164	4			
47										19.96	0.549137	4			
52										20.425	0.651414	4			
54										20.725	0.758819	4			
59										20.525	0.620064	4			
61										20.775	0.552051	4			

[0428]

2.6.4 CB17-SCID 마우스내 hNSCLC NCI-H2110 모델에서 에리볼린의 최소 유효한 용량의 평가

[0429]

인간 NSCLC, H2110 세포, 통로 46은 30 CB17 SCID 마우스 (암컷, 5 내지 6 주령, 청량 20 그램)에서 피하로 이식되었다. 이식후 11 일 후, 마우스는 5 그룹으로 무작위 추출되었다. 평균으로부터 가장 이탈하는 종양 용적을 가진 5 동물은 제외되었다. 치료 일 (일 0)에서 각각의 그룹내 평균 종양 용적은 $87.6\text{--}89.4 \text{ mm}^3$ 범위이었다 (표 32). 등록된 마우스는, 연구 설계에 따라, 0.05, 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 에리볼린 (Lot# N1201193)으로, 또는 PBS로 치료되었다 (표 30). 각각의 그룹은, 종양 용적 $>2000 \text{ mm}^3$ 의 그룹 안에서 먼저 판측된 경우, 각각, 종결되었다. 연구는 일 38 (마지막 용량후 30 일)에서 종결되었다.

표 30. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	5	에리불린	PBS	0	q4dx3
2				0.05	
3				0.2	
4	4*			0.8	
5	5			1.6	

[0431]

개별 마우스에서 종양 용적은 표 31에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 32에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 종양 성장 동력학은 도 14에서 도시되고, 개별 마우스에서 종양 용적, 뿐만 아니라 (종양 용적 $>2000\text{mm}^3$)³ PBS 치료된 마우스에서 관측된 경우) 일 24에서 그룹 평균 및 SEM은 도 15에서 도시된다. 에리불린은 0.05 mg/kg ($p = 0.0026$ 대 염수)에서 (관측된 종양 퇴행 없이) 50.5%의 TGI; 0.2, 0.8, 또는 1.6 mg/kg에서 ~ 99%의 TGI를 야기시켰다 (p 값은 염수에 비교된 경우 모든 3 그룹에 대하여 < 0.0001 이었다). 종양 퇴행을 유도하였던 최소 유효한 용량은 0.2 mg/kg이다. 그러나, 이들 마우스에서 퇴화된 종양 (0.2 mg/kg 그룹에서 3/5, 0.8 mg/kg 그룹에서 4/5, 및 1.6 mg/kg 그룹에서 2/5)는 연구 지속기간 (마지막 용량후 30 일) 내내 재성장하였거나 측정가능하게 남아있었다.

[0432]

개별 마우스의 체중은 표 33에서 나타나고, 그룹 평균 및 SEM은 표 34에서 나타난다. 각각의 그룹 (그룹 평균 및 SEM)에 대하여 체중 변화 동력학은 도 16에서 나타난다.

[0433]

염수-치료된 대조군 그룹과 비교된 임의의 치료 그룹에서 상당한 체중 손실은 관측되지 않았다. 치료 동안 독성을 명시하는 임상 발견은 관측되지 않았다.

[0434]

q4dX3 i.v. 투여된, 0.2 mg/kg 및 초과에서, 에리불린은 H2110 종양 성장에 상당한 효과를 보여주었다. 종양 퇴행은 달성되었다. 더 적은 용량이 (0.05 mg/kg에서) 투여된 경우, 종양 퇴행은 달성되지 않았다. 따라서, 이 연구에서 시험된 최소 유효한 용량은 0.2 mg/kg이다.

표 31

첫 번째 용량후 일수	비 헥토		에리볼린 0.05mg/kg						에리볼린 0.2mg/kg						에리볼린 0.8mg/kg						에리볼린 1.6mg/kg					
	일	주	59	91	118	88	91	105	101	94	61	77	103	68	78	130	62	111	104	81	93	54	70	116	74	91
0	59	91	118	88	91	105	101	94	61	77	103	68	78	130	62	111	104	81	93	54	70	116	74	91	91	
3	62	179	219	236	173	175	149	117	161	64	68	62	52	79	61	54	55	40	51	33	50	44	44	44	44	47
5	80	255	436	283	257	231	157	228	261	132	60	60	48	90	51	32	29	34	42	25	25	22	32	24	24	24
7	111	433	440	472	446	337	171	269	247	102	48	47	39	49	47	26	34	17	21	24	19	12	31	15	15	11
10	230	555	747	622	489	370	200	413	376	236	33	39	28	36	47	17	22	19	5	21	15	0	29	14	0	0
12	263	677	722	877	620	539	265	448	350	135	19	41	23	13	14	15	23	16	12	24	13	0	14	0	0	0
17	720	959	960	1158	885	725	514	751	620	531	0	0	0	0	13	17	38	0	0	26	0	0	0	0	0	0
19	862	1314	940	1097	941	859	437	908	776	837	27	39	29	29	16	0	20	18	0	27	0	0	19	0	0	0
24	1886	2308	1854	2760	1671	712	718	1499	1225	1040	0	15	19	23	11	14	0	20	0	33	18	0	19	0	0	0
26											0	24	0	11	14	0	8	14	14	15	8	0	17	0	0	0
28											0	7	0	14	83	0	16	20	14	17	0	0	16	0	0	0
31											0	16	0	10	31	0	10	15	26	29	11	0	17	0	0	0
33											0	27	0	13	22	0	13	8	18	44	8	0	28	0	0	0
35											0	19	0	16	42	0	13	0	22	50	14	0	17	0	0	0
38											0	19	0	14	45	0	11	13	13	54	11	0	20	0	0	0

표 32

첫 번째 용량후 일수	PBS			에리톨린 0.05mg/kg			에리톨린 0.2mg/kg			에리톨린 0.8mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	89.4	9.34	5	87.6	8.18	5	88.2	12.56	5	88.6	10.02	5
3	173.8	30.31	5	133.2	19.74	5	64.4	4.45	5	46.6	4.31	5
5	262.2	56.43	5	201.8	24.37	5	61.8	7.43	5	32.4	2.83	5
7	380.4	67.55	5	229.2	43.40	5	46	1.79	5	24.4	2.83	5
10	528.6	85.83	5	317	43.21	5	36.6	3.17	5	16.8	3.07	5
12	631.8	101.42	5	347.4	70.14	5	22	5.07	5	18	2.34	5
17	936.4	70.46	5	628.2	48.40	5	2.6	2.60	5	16.2	7.39	5
19	1030.8	80.29	5	765.4	84.75	5	28	3.65	5	13	5.50	5
24	2095.8	195.76	5	1036.8	149.24	5	13.6	3.94	5	13.4	6.26	5
26							9.8	4.54	5	10.2	2.83	5
28							20.8	15.74	5	13.4	3.48	5
31							11.4	5.77	5	16	5.29	5
33							12.4	5.53	5	16.6	7.45	5
35							15.4	7.72	5	17	9.22	5
38							15.6	8.25	5	18.2	9.25	5

三三

[0438]

상태	온도	습도	예상온습도			예상온습도		
			0.05mK	0.1mK	0.2mK	0.05mK	0.1mK	0.2mK
0	18.5	16.7	19.1	20.4	19.6	18.5	17.5	18.3
3	18.8	16.6	19.6	20.0	19.4	17.1	18.8	18.0
5	18.8	16.5	19.3	21.2	19.8	19.4	18.5	19.1
7	18.6	16.5	19.3	21.2	19.8	19.4	18.5	19.2
8	18.3	16.7	18.8	21.1	19.6	19.3	18.6	19.1
9	18.4	16.4	18.0	21.0	19.5	19.1	18.5	19.0
10	19.0	17.2	19.2	21.6	20.3	19.7	19.4	20.1
12	19.0	15.9	18.5	21.3	19.2	18.8	19.6	19.0
17	18.8	15.5	17.8	20.4	18.3	17.5	16.0	18.5
19	18.9	15.6	17.2	20.6	18.1	17.8	16.3	18.4
24	18.2	15.8	17.4	20.3	18.2	18.8	16.5	18.0
26	19.8	19.2	18.6	22.0	20.0	19.3	18.6	19.0
28	20.1	20.6	18.1	21.5	20.0	17.5	19.2	20.6
31	18.7	20.1	18.7	20.1	18.7	22.0	21.2	19.7
33	20.0	20.3	18.4	22.2	20.2	18.3	21.8	20.7
35	19.5	20.1	18.7	22.1	20.1	21.4	20.3	19.3
38	19.8	20.8	18.3	21.6	20.4	18.1	21.4	19.4

제27회 개별공정을 위한 통계학

표 34

첫 번째 용량후 일수	PBS			에리볼린 0.05mg/kg			에리볼린 0.2mg/kg			에리볼린 0.8mg/kg			에리볼린 1.6mg/kg		
	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N	평균	SEM	N
0	18.9	0.62	5	18.4	0.62	5	18.4	0.51	5	18.1	0.16	5	18.2	0.53	5
3	19.2	0.73	5	18.8	0.54	5	18.7	0.51	5	18.5	0.19	5	18.3	0.75	5
5	19.2	0.73	5	18.8	0.66	5	19.0	0.60	5	18.3	0.22	5	18.2	0.62	5
7	19.1	0.77	5	18.8	0.67	5	18.9	0.60	5	18.6	0.27	5	18.3	0.58	5
10	18.9	0.72	5	18.8	0.69	5	18.8	0.51	5	18.5	0.29	5	18.4	0.67	5
12	18.8	0.76	5	18.5	0.65	5	18.8	0.59	5	18.3	0.30	5	18.0	0.69	5
17	19.5	0.73	5	19.2	0.74	5	19.1	0.55	5	18.5	0.32	5	18.7	0.84	5
19	18.8	0.86	5	18.5	0.68	5	18.8	0.56	5	18.5	0.28	5	18.7	0.77	5
24	18.2	0.79	5	17.9	0.60	5	19.3	0.53	5	18.6	0.24	5	19.0	0.73	5
26							19.5	0.74	5	18.8	0.30	5	19.2	0.79	5
28							20.4	0.63	5	19.7	0.36	5	20.1	0.62	5
31							20.3	0.56	5	19.7	0.48	5	20.1	0.57	5
33							20.3	0.59	5	19.7	0.50	5	20.0	0.66	5
35							20.1	0.66	5	19.8	0.43	5	20.4	0.71	5
38							20.5	0.68	5	19.8	0.47	5	20.1	0.62	5

[0439]

실시예 2

[0440]

1. 물질 및 방법

[0441]

MORAb003-VCP-에리볼린 (MORAb-202)는 실시예 3의 섹션 1.1에서 기재된 MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리볼린 (ER-001159569) 화합물에 MORAb-003 (인간화된 항-인간 폴레이트 수용체 알파) 콘주케이션에 의해 합성되었다. 콘주케이션 방법은 실시예 4의 섹션 1.4.1에서 기재된다.

[0442]

1.1 종양 모델

[0443]

MORAb-202의 추가의 시험관내 평가에서 사용된 인간 종양 세포주는 IGROV1 (인간 난소 암종, $FR^{hi\ (++)}$), OVCAR3 (인간 난소 암종, $FR^{med(++)}$), NCI-H2110 (인간 비-소 세포 폐 암종, $FR^{med(++)}$), A431-A3 (인간 메소텔린으로 안정적으로 형질감염된 A431 친계 세포주, $FR^{lo(+-)}$), SJS-A1 (인간 골육종, $FR^{neg(-)}$), 및 HL-60 (인간 백혈병, $FR^{neg(-)}$)을 포함한다. 모든 이들 세포주는 미국 종균 협회 (ATCC)로부터 직접적으로 수득되었다. 생체내 연구를 위해

여, 비-소 세포 폐 암, 삼중 음성 유방 암, 및 자궁내막 암 환자-유래된 이종이식 마우스 모델은 Oncotest GmbH (Freiburg, Germany), Oncodesign (Dijon, France), 및 EPO Berlin-Buch GmbH (Berlin, Germany), 각각에서 확립 및 유지되었다.

[0445] 1.2 시험관내 세포독성 분석

[0446] 1.2.1 크리스탈 바이올렛 검정

[0447] IGROV1 (FR^{hi}^{+++}), A431-A3 ($FR^{lo(+/-)}$), 및 SJS-1 ($FR^{neg(-)}$) 세포는 96-웰 조직 배양 플레이트내 완전한 성장 배지에서 10,000 세포/웰로 하위-배양 및 씨딩되었고, $37^{\circ}C$, 5% CO_2 에서 밤새 (16 시간) 인큐베이션되었다. 전형적으로, 시험 시약은 1 μM (총 10 희석)에서 시작하는, 2 mL 딥-웰 희석 플레이트에서 1:4 연속으로-희석되었다. 100 μL 의 희석된 샘플은 (100 nM에서 시험 샘플의 농도를 시작하는) 세포 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 $37^{\circ}C$, 5% CO_2 에서 추가의 48 시간 동안 인큐베이션되었다. 배지는 폐기되었고, 플레이트는 200 μL DPBS로 1회 세정되었고, 50 μL 의 0.2% 크리스탈 바이올렛 용액으로 실온에서 15 분 동안 염색되었고, 그 다음 수돗물로 광범위하게 세정되었다. 플레이트는 공기-건조되었고, 크리스탈 바이올렛은 200 μL 의 1% SDS 용액으로 용해되었다. 플레이트는 570 nm에서 판독되었다. 데이터는 GraphPad Prism 6을 사용하여 분석되었다. OVCAR3 ($FR^{med(++)}$) 및 NCI-H2110 ($FR^{med(++)}$)에 대하여, 세포는 3,000 세포/웰로 씨딩되었고 5 일 동안 MORAb-202로 인큐베이션되었다.

[0448] 1.3 생체내 연구

[0449] 1.3.1 NCI-H2110 이종이식 모델

[0450] 동물 준비: CB17 SCID 마우스 (암컷, 6 주령)은 환기된 케이지당 5 마우스로 하우징되었다. 멸균된 음식 펠렛 및 물 병은, 즉석으로, 동물에 이용가능하였다. 동물은 종양 이식에 앞서 5-7 일 동안 순응되었다.

[0451] 세포 배양: 인간 NCI-H2110 세포는 냉동된 스톡 (NB2813-65)으로부터 해동되었고 $37^{\circ}C$ 에서 5% CO_2 에서 10% 태아 소 혈청 (FBS)로 보충된 RPMI-1640 배지에서 배양되었다. 2 통로후, 대략 70%에서 합류점 도달시, 세포는 세포 해리 용액 이용에 의해 수확되었고, 무혈청 배지로 2회 세정되었고, 카운트되었다.

[0452] 종양 이식: 무혈청 배지내 세포 혼탁액은 빙랭 매트리겔과 1:1 (v:v)로 1.0×10^8 세포/mL의 최종 농도까지 혼합되었다. 각각의 마우스는 100 μL 의 혼합물로 1.0×10^7 세포/마우스에서 피하로 주사되었다. 27G 바늘은 모든 주사에 사용되었다. 마우스는 임상 웰빙에 대하여 모니터링되었고 종양은, 이식후 일 3에서 시작하는, 매주 3회 디지털 캘리퍼스로 측정되었다. 종양 용적 (mm^3)은 하기 식을 사용하여 계산되었다: $W (mm) \times L (mm) \times D (mm) \times \pi / 6$. 종양이 (>70 내지 $\sim 130 mm^3$ 의 평균으로) $\sim 100 mm^3$ 을 도달하였던 경우, 동물은 그룹당 4-5로 무작위 추출되었다. 평균으로부터 최대 이탈하는 종양 용적을 가진 5 동물은 제외되었다.

[0453] 연구 설계: 등록된 실험 마우스는, 무작위화의 날에, 연구 설계 (표 35)에 따라, 1.0, 2.5, 및 5 mg/kg에서 200 μL 의 비히클 또는 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 체중은 용량에 앞서, 그리고 연구 동안 주당 2회 측정되었다. 연구의 마지막에, 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 동물은 개별 종양 용적이 $2000 mm^3$ 을 초과하였던 경우 안락사되었다. 최대 허용된 종양 용적 도달에 앞서 초기 종결 기준은 하기를 포함하였다: (1) 종양 (v:v)의 50% 초과 종양 궤양화; (2) 마비; (3) 체중 손실 $>20\%$; 및 (4) 그룹 내에 동물의 50%가 종결을 충족시켰다. 연구 동안 안락사된 또는 죽은 채 발견된 임의의 마우스는 상기 기재된 말기 절차에 따라 가공되었다.

표 35. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	5	MORAb-202	비히클	단일 볼리스	i.v.
2			0		
3			1		
4			2.5		
			5		

[0455] 1.3.2 환자-유래된 이종이식 (PDX) 모델

[0456] 1.3.2.1 비-소 세포 폐 암 (NSCLC) PDx 모델:LXFA-737 (Oncotest)

종양 이식: NSCLC 종양 단편은 누드 마우스에서 연속으로 통과된 LXFA-737 종양 이종이식편으로부터 수득되었다. 공여체 마우스로부터 제거 후, 종양은 단편 (3-4 mm 모서리 길이)로 절단되었고 10% 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 포스페이트-완충 식염수 (PBS)에서 배치되었다. 수령체 동물은 이소플루란의 흡입으로 마취되었고 옆구리에서 피하로 편측성 또는 양측 종양 이식물을 수령하였다. 종양 이종이식편은 흡수율 < 65%에서 마우스당 1 또는 2 종양으로 이식되었다. 양측 흡수의 경우에서, 이들 종양 중 하나는 무작위화에 앞서 외식되었다. 동물 및 종양 이식편은 고체 종양 성장이 동물의 충분한 수에서 검출가능한 때까지 매일 모니터링되었다. 무작위화에서, 성장 종양의 용적은 결정되었다. 무작위화 기준을 충족시키는 (즉 50-250 mm³, 바람직하게는 80-200 mm³의 종양을 보유하는) 동물은, 대략 100-120 mm³의 비교할만한 종양 및 평균 그룹 종양 용적을 목표로, 5-6 동물 / 그룹으로 구성되는 실험 그룹에서 분포되었다. 실험에 사용되지 않은 동물은 안락사되었다. 무작위화의 날은 실험의 일 0으로서 지정되었다.

[0458] 연구 설계: 등록된 실험 마우스는, 무작위화의 날에, 연구 설계 (표 36)에 따라, 비히클, 5 mg/kg에서 MORAb-003, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 체중은 각각의 투약 일에서 용량에 앞서, 그리고 연구 동안 주당 2회 측정되었다. 연구의 마지막에, 말기 체중은 측정 및 기록되었다. 동물은 개별 종양 용적이 2000 mm³을 초과하였던 경우 안락사되었다.

표 36. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	6	비히클	0	단일 볼러스	i.v.
2	6	MORAb-003	5		
3	6	MORAb-202	5		

[0459] [0460] 1.3.2.2 삼중 음성 유방 암 (TNBC) PDx 모델:OD-BRE-0631 (Oncodesign)

[0461] 종양 이식: 9 암컷 SWISS 누드 마우스는 환자-유래된 TNBC 종양 단편으로 오른쪽 옆구리에 피하로 주사되었다. 종양-보유 마우스는 종양 용적이 500-1000 mm³을 도달하였던 경우 안락사되었고, 종양은 수술로 절개되었다. 종양 단편 (30-50 mg)은 감마-공급원 (2 Gy, 60Co, BioMEP, France)으로 전신 조사후 24 내지 72 시간에 34 암컷 SWISS 누드 마우스의 유선 지방 패드 영역에 동소이식으로 이식되었다. 종양이 200-300 mm³의 평균 용적을 도달하였던 경우, 34 총 동물 중 24마리는 Vivo Manager® 소프트웨어 (Biosystemes, Couteron, France)를 사용하는 그것의 개별 종양 용적에 따라 2 그룹 (n=12 동물)에 무작위 추출되었다. 통계 시험 (변동의 분석)은 그룹 사이 균질성을 평가하기 위해 수행되었다. 무작위화의 날은 실험의 일 0으로서 지정되었다.

[0462] 연구 설계: 일 1 (무작위화후 1 일 및 치료에 앞서 2 일)에서, 각각의 2 미치료된 그룹으로부터 3 마우스는 종결되었다. 잔존 실험 마우스는, 일 3에서, 연구 설계 (표 37)에 따라, 5 mg/kg에서 비히클 또는 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 일 8 (치료후 5 일)에서, 각각의 2 치료된 그룹으로부터 3 마우스는 종결되었다. 종결 직후, 종양 조직은 수집되었고 24 내지 48 시간 동안 4% 중성 완충 포르말린에서 고정되었고 그 다음 파라핀 (Histosec®, Merck, Darmstadt, Germany)에서 포매되었다. 파라핀 포매된 샘플은 후속적인 면역조직화학 분석을 위하여 실온에서 저장되었다.

표 37. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
1	3	n/a	n/a	n/a	n/a
	9	비히클	0	단일 볼러스	i.v.
2	3	n/a	n/a	n/a	n/a
	9	MORAb-202	5	단일 볼러스	i.v.

[0463] [0464] 면역조직화학 (IHC) 분석: 포르말린-고정된, 파라핀-포매된 종양 조직의 IHC 염색은 양쪽 MORAb-202 점유 및 암 관련된 섬유아세포 발현을 평가하기 위해 수행되었다. 염색에 앞서, 슬라이드는 탈락되었고 항원은, 하기 프로그램을 사용하여, 85° C로 사전-가온된 시트레이트 완충액 (pH 6.0)내, Lab Vision™ PT 모듈 (Thermo

Scientific)에서 회수되었다: 97° C로 가온; 97° C에서 30 분 동안 인큐베이션; 및 60 °C로 냉각. 슬라이드는 그 다음 이중 중류수에 실온에서 5 분 동안 전달되었다. 염색은 Lab Vision™ Autostainer 360 (Thermo Scientific)에서 수행되었다. 간단히, 슬라이드는 6 분/세정으로 1X 트리스-완충 식염수/Tween-20 (TBST)에서 2 회 세정되었다. 조직 부문은 그 다음 1 시간 동안 차단 완충액 (300 μL) (3% 소 혈청 알부민 (BSA) - 포스페이트 완충 식염수 (PBS)에서 희석된 10% 염소 혈청 (Jackson Immunoresearch Laboratory Inc., Cat No. 005-000-121)에서 인큐베이션되었고, 1 시간 동안 콘주게이션된 항체 (200 μL) (표 38)에서 인큐베이션되었고, 6 분/세정으로 1X TBST에서 5회 세정되었다. 슬라이드는 마운팅 배지에서 DAPI로 대조염색되었고, 커버슬립된 슬라이드는 30 분 동안 경화하게 되었다. 슬라이드는 Panoramic MIDI 스캐너 (3DHISTECH)상에 가공되었고, IHC 이미지는 Halo 소프트웨어 (Indica Labs)를 사용하여 분석되었다. 이 분석에서 사용된 항체는, 암 관련된 섬유아세포용 특이적 마커인, α -평활근 액틴 (SMA), 그리고 MORAb-202의 존재를 검출할 수 있는, 인간 IgG를 표적화하였다.

표 38. IHC 항체

항체	콘주게이션된	판매인	Cat.No.	Lot	스톡 용액	작업 용액
α -평활근 액틴 (SMA)-FITC	FITC	Sigma	F3777	124M4775V	2.0 mg/mL	5.0 μg/mL
마우스 IgG1, κ 아이소타입 대조군	AF488	Biolegend	400129	B128493	0.2 mg/mL	1:1000
염소 항-인간 IgG	AF555	분자 프로브	A21433	1709318	n/a	1:200

[0465]

1.3.2.3 자궁내막 암 PDx 모델: Endo-12961 및 Endo-10590 (EPO Berlin)

종양 이식: 자궁내막 암 종양 단편은 연속으로 통과된 Endo-12961 및 Endo-10590 종양 이종이식편으로부터 수득되었고, 유체 질소내 스톡으로서 저장되었다. 종양 단편은 40 NMRI nu/nu 암컷 마우스의 좌측 옆구리에 피하로 이식되었고, 종양 용적은 모니터링되었다. 100-160 mm³의 종양 용적을 가진 마우스는 4 그룹 (그룹 A-D, 표 39) 중 하나로 무작위 추출되었다. 무작위화용 위성 마우스는 제5 그룹 (그룹 E, 표 39)에서 포함되었다. 각각의 그룹은 8 동물로 구성되었다. 무작위화의 날은 실험의 일 0으로서 지정되었다.

연구 설계: 등록된 실험 마우스는, 무작위화의 날에, 연구 설계 (표 39)에 따라, PBS, 3.2 mg/kg 또는 0.1 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 종양 성장은 매주 2회 2 수직 직경의 측정에 의해 평가되었고, 종양 용적 (TV), 상대 종양 용적 (RTV) 및 처리된/대조군 (T/C) 값은 계산되었다. 체중은, 치료 시작에 비해 체중 변화 (BWC) 및 그룹당 체중의 계산과 함께, 독성용 파라미터로서 매주 2회 또한 평가되었다. 동물은 개별 종양 용적이 1 cm³를 초과하였던 경우, 또는 연구의 마지막에 희생되었다.

표 39. 연구 설계

그룹	# 마우스	치료	용량 (mg/kg)	레지멘	경로
A	8	PBS	0	단일 볼러스	i.v.
B		에리불린	3.2		
C		에리불린	0.1		
D		MORAb-202	5		
E		n/a	n/a	n/a	n/a

1.4 작용 기전

1.4.1 zPredicta내 3-차원 (3D) 공-배양 시스템

모든 간엽 줄기 세포 (MSC)-함유 3D 공-배양 실험은, 장기-특이적 3D 세포의 기질 시스템 예컨대 rStomach™을 사용하여, zPredicta에서 수행되었다. rStomach™에서 골수 간엽 줄기 세포 (BM-MSCs)는 12 일 동안 48-웰 포랫에서 4배로 Nuc Red Light MKN-74 위 암 세포주로 공-배양되었다. MKN-74 세포는 세포 자멸사를 유도하기 위한 MORAb-202 치료용 충분한 폴레이트 수용체 알파 (FR)을 발현시키는 것으로 이전에 나타났다. 배양에 앞서,

[0469]

BM-MSCs는 유세포측정에 의해 MSC 분화의 마커에 대하여 그리고 표적 항원 발현에 대하여 평가되었다 (표 40).

표 40. MSC 분화의 마커

세포 모집단	마커
간엽 출기 세포 (MSCs)	Stro-1 ⁺ /CD105 ⁺
지방전구세포	CD34 ⁺ /CD31 ⁻
지방세포	오일 레드
암 관련된 섬유아세포 (CAFs)	알파-평활근 액틴 (α SMA), 비멘틴
전-혈관주위세포/혈관주위세포	NG2 ⁺ , CD13 ⁺ , CD146 ⁺
전부	FRA

[0473]

[0474] rStomachTM 배양물은, 표 41에서 기재된 바와 같이, MORAb-202, 미콘주계이션된 MORAb-003 항체, 에리불린, 또는 대조군으로 치료되었다. 대조군은 미치료된 및 비히클-치료된 (PBS 및 DMSO) 배양액을 포함하였다. MSC 분화는 광학 현미경검사로 모니터링되었다. 가시적 분화가 관측되었다면, 샘플은 염색 및 유세포측정 분석을 위하여 수확되었다.

표 41. 공-배양 치료

제제	작업 농도(들)
MORAb-202	10 nM
MORAb-003 (미콘주계이션된 항체)	10 nM
에리불린	1.7 nM 및 0.2 nM
PBS	
DMSO	0.1%
미처리된 대조군	

[0475]

1.4.2 암 관련된 섬유아세포에서 MORAb-202의 효과의 시간 경과 분석

[0476] 피하 H2110 이종이식 종양-보유 마우스는 섹션 1.3.1에서 기재된 바와 같이 준비되었다. 종양 샘플은 비히클, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202 투여 이후 일 0, 3, 5, 7, 및 9에서 수확되었다. 수집된 종양 샘플은 슬라이드에서 가공되었고, 암 관련된 섬유아세포의 발현은 섹션 1.3.2.2에서 기재된 바와 같이 IHC에 의해 분석되었다.

[0478]

2. 결과

2.1 시험관내 세포독성 분석

2.1.1 MORAb-202의 세포독성

[0481]

MORAb-202의 시험관내 효력은, 섹션 1.2.1에서 상세히 설명된 바와 같이, 크리스탈 바이올렛 검정을 사용하여 평가되었다. 스크리닝은 IGROV1 ($FR^{hi\ (+++)}$), OVCAR3 ($FR^{med(++)}$), NCI-H2110 ($FR^{med(++)}$), A431-A3 ($FR^{lo(+-)}$), 및 SJS-1 ($FR^{neg(-)}$) 세포에서 수행되었다. 이러한 스크리닝의 결과는 도 17 및 표 42에서 제공된다.

표 42. 다양한 종양 세포주에서 MORAb-202의 세포독성 (EC_{50}) 스크리닝

EC_{50} (nM)				
IGROV I (FR+++)	OVCAR3 (FR++)	NCI-H2110 (FR++)	A431-A3 (FR+/-)	SJS-1 (FR-)
0.01	0.16	0.74	23	> 100

[0482]

[0483] MORAb-202는 종양 세포주에 대한 폴레이트 수용체 알파 발현-의존적 세포독성, 및 부정확한 사멸의 낮은 수준을 나타냈다. MORAb-202는 IGROV1 세포에서 최고 수준의 효력 (0.01 nM)을 실증하였고, 폴레이트 수용체 알파-음성 SJS-1 세포에서 세포독성 (> 100 nM)이 거의 없었다. 중간체 효력은 OVCAR3 및 NCI-H2110 세포 (0.16 nM 및

0.74 nM)에서 관측되었다.

[0484] 2.2 생체내 연구

[0485] 2.2.1 NC1-H2110 이종이식 모델에서 MORAb-202의 효능

[0486] 피하 H2110 종양-보유 마우스는 비히클 또는 1, 2.5, 및 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 상당한 종양 퇴행은 5 mg/kg에서 MORAb-202의 단일 용량 이후 관측되었다 (도 18 및 표 43). 높은 폴레이트 수용체 알파 발현 및 단일 용량 투여를 가진 이러한 이종이식 모델을 사용하여, MORAb-202용 적정 약물 농도는 (안정적인 질환을 가진) 종양 성장 지연에 대하여 1 mg/kg 그리고 종양 퇴행에 대하여 ≥ 2.5 mg/kg인 것으로 나타났다. 이러한 연구에서, 2.5 mg/kg의 용량에서 MORAb-202는 부분적인 반응을 초래하였고, 5 mg/kg의 용량에서 MORAb-202는 완전한 반응을 초래하였다.

표 43. NC1-H2110 이종이식 모델에서 MORAb-202의 항-종양 활성

	종양 용적, mm^3 (종양 성장 억제, %)	
	일 17	일 31
비히클 (n=5)	1583.4 \pm 146.1 (100)	n/a
MORAb-202, 1 mg/kg, 단일 용량 (n=5)	840.0 \pm 76.8 (53.1)	n/a
MORAb-202, 2.5 mg/kg, 단일 용량 (n=5)	60.8 \pm 27.1 (3.8)	1173.2 \pm 373.2
MORAb-202, 5 mg/kg, 단일 용량 (n=4)	0.0 (0.0)	0 (0.0)

[0487] 2.2.2 NSCLC PDx 모델에서 MORAb-202의 효능:LXFA-737

[0488] 피하 NSCLC PDx 종양-보유 마우스는 비히클, 5 mg/kg에서 MORAb-003, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. MORAb-202의 단일 용량 (5 mg/kg)은, 상당한 항-종양 활성을 입증하지 않았던, 미콘주개이션된 MORAb-003 항체의 단일 용량 (5 mg/kg)에 대조적으로, 상기 모델에서 상당한 종양 퇴행을 초래하였다 (도 19A). MORAb-202로 치료된 6 총 마우스 중 5마리는 연구의 일 32에서 무종양인 것으로 간주되었고(표 44), 4마리는 일 74 (연구의 종결)을 통해 무종양으로 남아있었다. 게다가, 상당한 체중 손실은 비히클-치료된 대조군 그룹에 비교된 경우 치료 그룹에서 관측되지 않았고, 치료 동안 무 독성을 명시하였다 (도 19B).

표 44. NSCLC PDx 모델에서 MORAb-202의 항-종양 활성

	종양 용적, mm^3 (종양 성장 억제, %)		
	일 21	일 32	일 74
비히클 (n=6)	1004.5 (100)	1561.3 (100)	n/a
MORAb-003, 5 mg/kg, 단일 용량 (n=6)	860.7 (85.7)	1572.1 (100.7)	n/a
MORAb-202, 5 mg/kg, 단일 용량 (n=6)	22.9 (2.3)	4.7 (0.3)	418.3 (4/6 무종양)

[0491] 2.2.3 자궁내막 암 PDx 모델에서 에리불린 및 MORAb-202의 상대 효능:Endo-12961 및 Endo-10590

[0492] Endo-12961 및 Endo-10590 이종이식편은 높은 수준의 폴레이트 수용체 알파를 발현시킨다. 피하 자궁내막 암 PDx 종양-보유 마우스는 PBS, 3.2 mg/kg 또는 0.1 mg/kg에서 에리불린, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 상기 모델에서 에리불린의 최대 용인된 용량 (MTD)은 3.2 mg/kg이고, 반면에 0.1 mg/kg은 5 mg/kg에서 투여된 MORAb-202에 의해 제공된 에리불린의 투약량에 맞먹는다. 연구의 시작 내내, 상당한 항-종양 활성은 양쪽 동물 모델에서 에리불린의 MTD 용량 (3.2 mg/kg) 및 MORAb-202 (5 mg/kg)으로 치료 이후 관측되었고, 반면 상당한 항-종양 활성은 0.1 mg/kg에서 에리불린으로 치료 이후 관측되지 않았다 (도 20A 및 20C). 그러나, 3.2 mg/kg에서 에리불린으로 치료된 마우스에서 퇴화된 종양은 연구 지속기간 동안 재성장하기 시작하였고, 반면에 상당한 종양은 MORAb-202로 치료된 마우스에서 언급되었다. 이 연구에서, MORAb-202는 에리불린보다 상당히 더욱 유효한 것으로 밝혀졌다. 에리불린 치료는 또한 일시적으로 치료후 제1 주에서 체중에 영향을 미쳤다 (도 20B 및 20D). 그에 반해서, 체중 손실은 MORAb-202로 치료된 동물에서 관측되지 않았다.

[0493] 2.3 MORAb-202의 작용 기전

[0494] 2.3.1 TNBC PDx 모델에서 MORAb-202의 IHC 및 효능:OD-BRE-0631

피하 TNBC PDx 종양-보유 마우스는 비히클 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202로 정맥내로 주사되었다. 종양 조직은 치료에 앞서 (일 1) 및 치료후 (일 8) 각각의 그룹에서 마우스로부터 수집되었다. 수집된 종양 조직의 IHC 분석은 MORAb-202가, 단일 용량 (5 mg/kg)으로서 일 3에서 투여 이후, 5 일 후처리 (일 8) 폴레이트 수용체 알파-발현 종양 세포를 점유하는 것을 드러냈다. 세포 점유는 항-인간 IgG 항체를 사용하여 평가되었다 (도 21A). MORAb-202 치료는 또한, 항- α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체로 IHC 염색에 의해 나타난 바와 같이, 암 관련된 섬유아세포의 구조를 약화시키는 것으로 나타났다 (도 21B). 효능에 관하여, MORAb-202 치료는, 0.62의 상대 종양 용적 (RTV)에 의해 측정된, 11 일 후처리에서 최대 종양 퇴행을 초래하였다 (도 21C).

[0496] 2.3.2 3D 공-배양 시스템에서 MORAb-202, MORAb-003, 및 에리불린의 효과

rStomachTM (zPredicta)내 골수 간엽 줄기 세포 (BM-MSCs)는 12 일 동안 MKN-74 위 암 세포주로 공-배양되었다. 배양에 앞서, BM-MSCs는 유세포측정에 의한 MSC 분화의 마커에 대하여 그리고 폴레이트 수용체 알파 발현에 대하여 평가되었다. rStomachTM 배양물은 그 다음 MORAb-202, 미콘주게이션된 MORAb-003 항체, 에리불린, 또는 대조군으로 치료되었다. 가시적인 MSC 분화가 광학 현미경검사에 의해 관측되었다면, 샘플은 염색 및 유세포측정 분석에 대하여 수확되었다. 이들 분석의 결과는 도 22에서 나타난다.

[0498] 이 기간 동안 치료 보급으로, 7 일의 총 치료 지속기간은 MKN-74 세포를 가진 배양물에서 인간 BM-MSCs의 분화에서 측정가능한 효과를 생산하기에 충분하였다. 비히클 대조군에 비해, MORAb-202 (10 nM)으로 치료는 MSC 및 지방세포 모집단에서 증가, 그리고 혈관주위세포 모집단에서 감소를 초래하였다 (표 45). 이들 데이터는 MORAb-202가 종양 미세환경에서 상당한 효과를 가질 수 있다는 것을 명시한다.

표 45. 3D 공-배양 시스템에서 MORAb-202, MORAb-003, 및 에리불린의 효과

살아있는 세포의 백분율			
치료	MSCs	지방세포	혈관주위세포
PBS	32.3%	0.72%	14.6%
MORAb-202	43.7%	22.6%	11.4%
MORAb-003	37.1%	0.69%	24.0%
에리불린	29.9%	2.68%	25.8%

[0500] 2.3.3 암 관련된 섬유아세포에서 MORAb-202의 효과의 시간 경과 분석

[0501] 종양 샘플은 비히클, 또는 5 mg/kg에서 MORAb-202의 투여 이후 일 0, 3, 5, 7, 및 9에서 피하 H2110 이종이식 종양-보유 마우스로부터 수확되었다. 수집된 종양 샘플은 슬라이드에서 가공되었고, 암 관련된 섬유아세포 (CAF) 발현은 IHC에 의해 분석되었다. 항- α -평활근 액틴 (SMA)-FITC 항체로 염색에 의해 평가 및 정량화된 경우, CAF 네트워크 구조는, 5 mg/kg에서 MORAb-202의 단일 용량의 투여 이후, 일 3 및 일 5에서 두드러졌다 (도 23). 그러나, 일 7까지, 다수의 이러한 구조는 상당히 줄어들었다.

[0502] 실시예 3

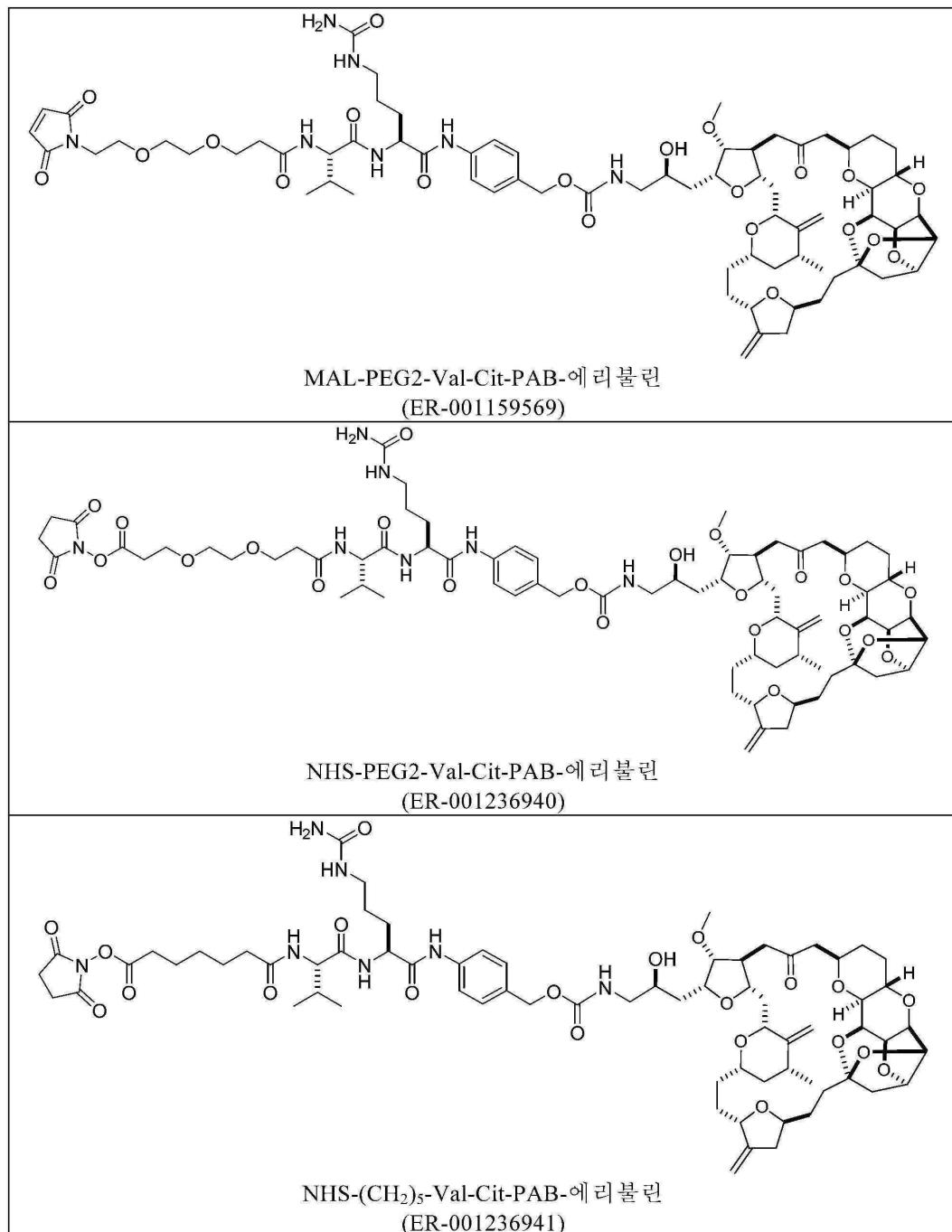
[0503] 1. 물질 및 방법

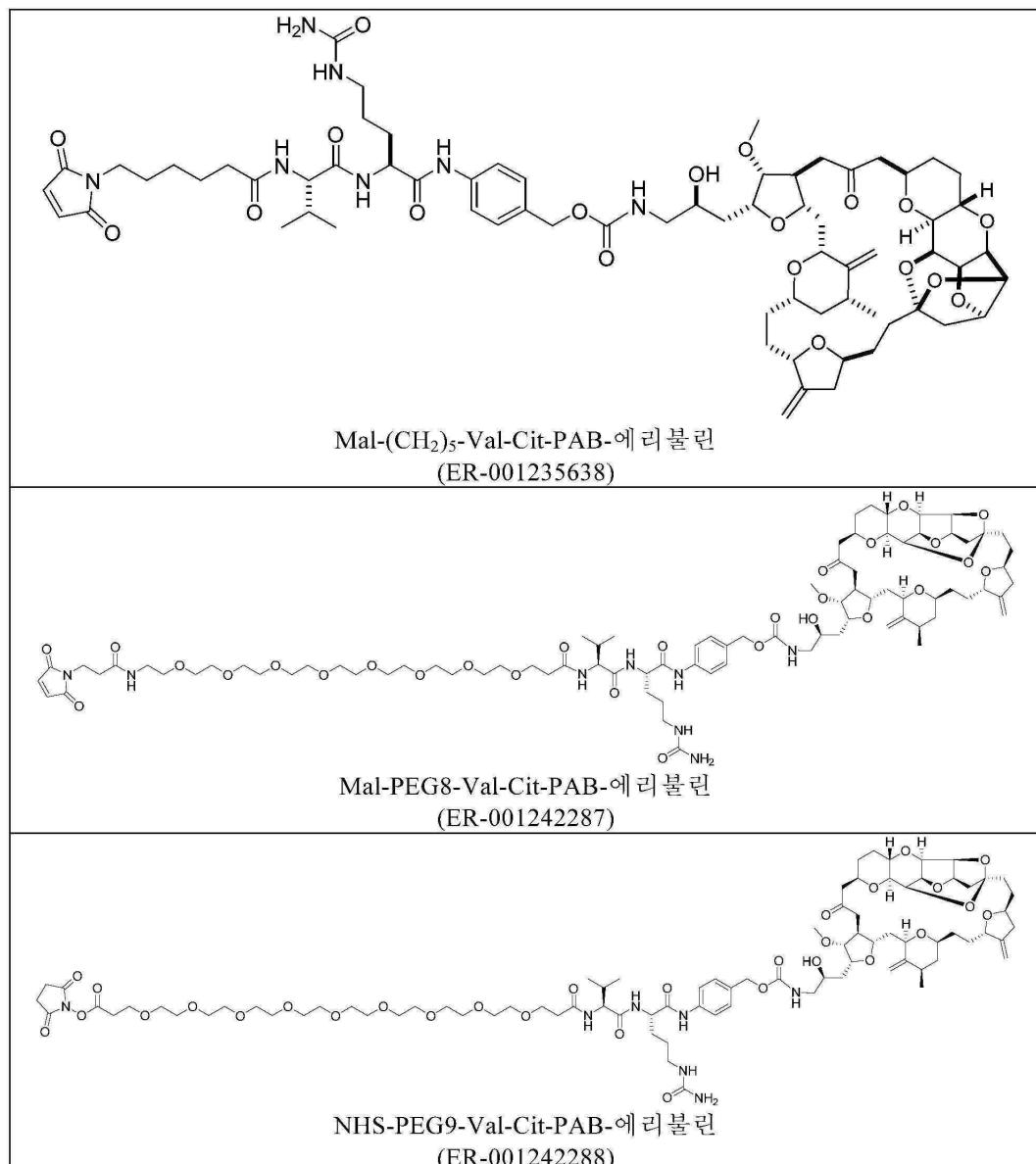
[0504] 표 46에서 나타난 구조를 갖는 콘주게이션가능한 에리불린 화합물은 하기 절차에 따라 합성되었고, ADCs의 제조에서 사용되었다 (실시예 4).

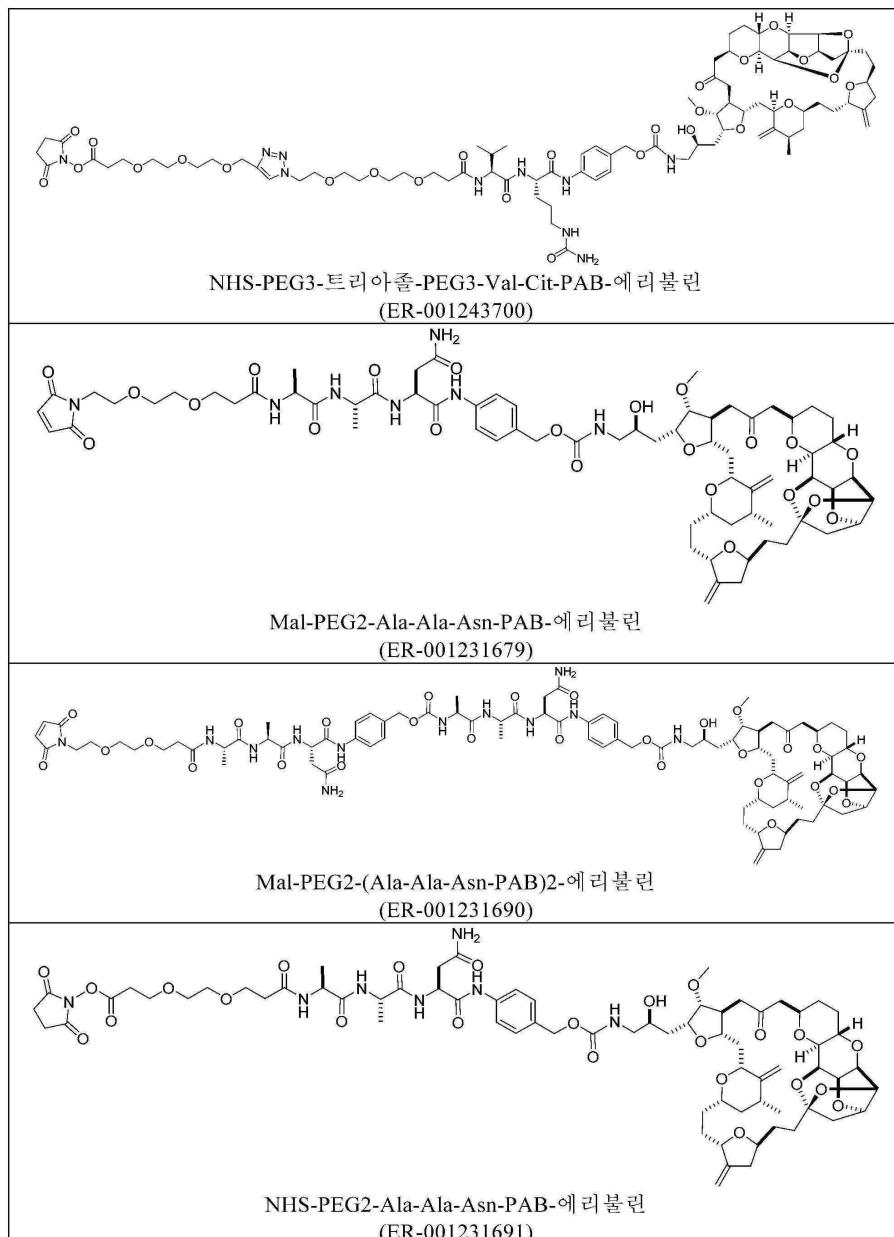
[0505] 합성 반응에서 사용된 모든 용매는 무수 등급 (EMD Millipore)이었다. 워크업 또는 정제에 사용된 모든 용매는 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 등급 (EMD Millipore)이었다. 달리 나타내지 않는 한, 모든 화학물질은 상업적으로 입수 가능하였다. 칼럼 크로마토그래피는 Biotage[®] SP4를 사용하여 수행되었다. 용매 제거는 회전식 증발기 (Buchi Labortechnik AG), 또는 원심 증발기 (Genevac, SP Scientific)을 사용하여 수행되었다. 분취형 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법 (LC/MS)는 산성 이동상 조건 하에 Waters AutoPurification System 및 XTerra MS C18 칼럼 (5 μ m, 19 mm x 100 mm)를 사용하여 수행되었다. 핵자기 공명 (NMR) 스펙트럼은 달리 언급되지 않는 한 중수소화된 클로로포름 ($CDCl_3$)을 사용하여 취득되었고, Varian 기기 (Agilent Technologies)를

사용하여 400 또는 500 MHz에서 기록되었다. 질량 스펙트럼은 Waters Acquity Ultra Performance LC/MS를 사용하여 취득되었다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 “불활성”은 본질적으로 수분 없는, 불활성 가스, 예컨대 질소 또는 아르곤을 가진 반응기 (예를 들면, 반응 용기, 플라스크, 유리 반응기)에서 공기의 대체를 지칭한다. 다중도는 하기 약어를 사용하여 명시된다: s=단일항, d=이중항, t=삼중항, q=사중항, quint=오중항, sext=육중항, m=다중항, dd=이중항의 이중항, ddd=이중항의 이중항의 이중항, dt=삼중항의 이중항, br s=넓은 단일항.

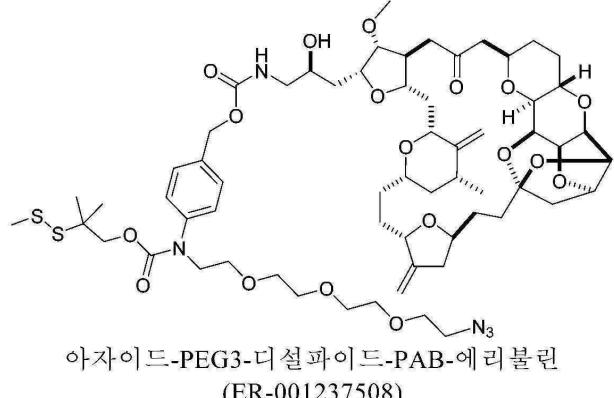
표 46. 콘주개이션가능한 에리불린 화합물



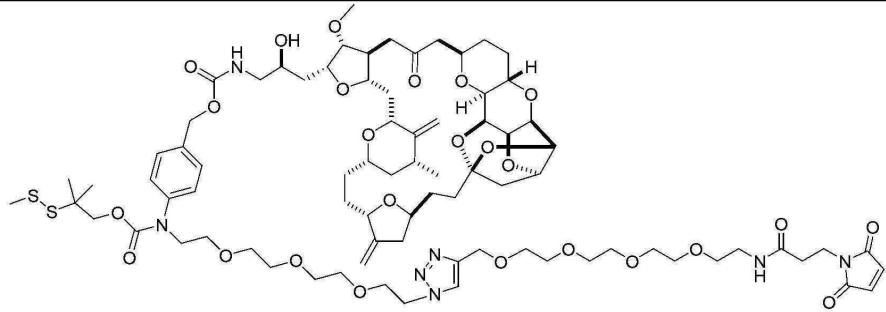




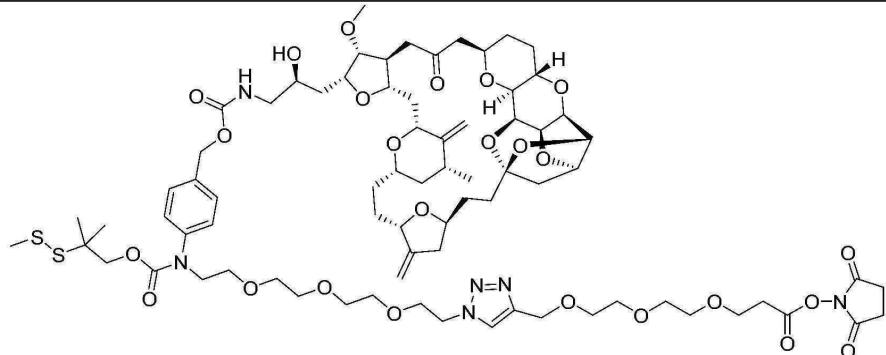
[0508]



아자이드-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린
(ER-001237508)

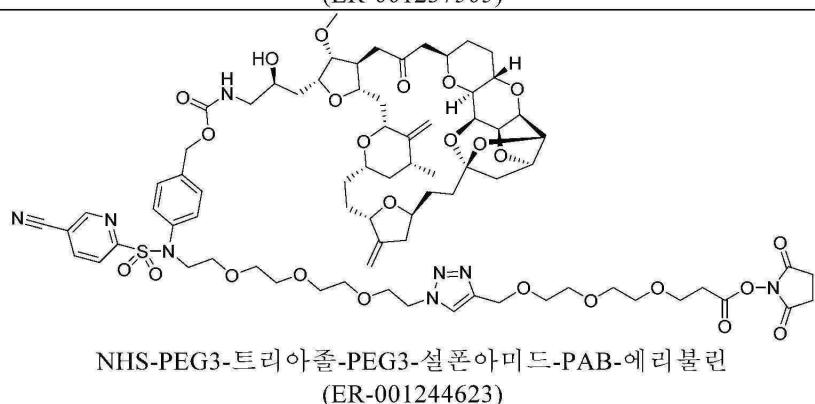
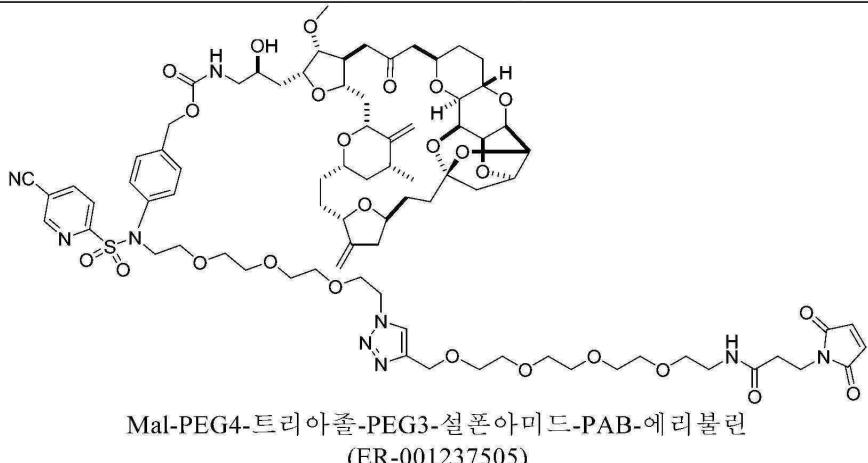
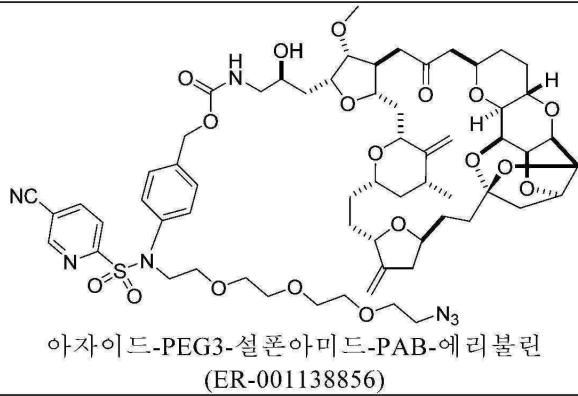


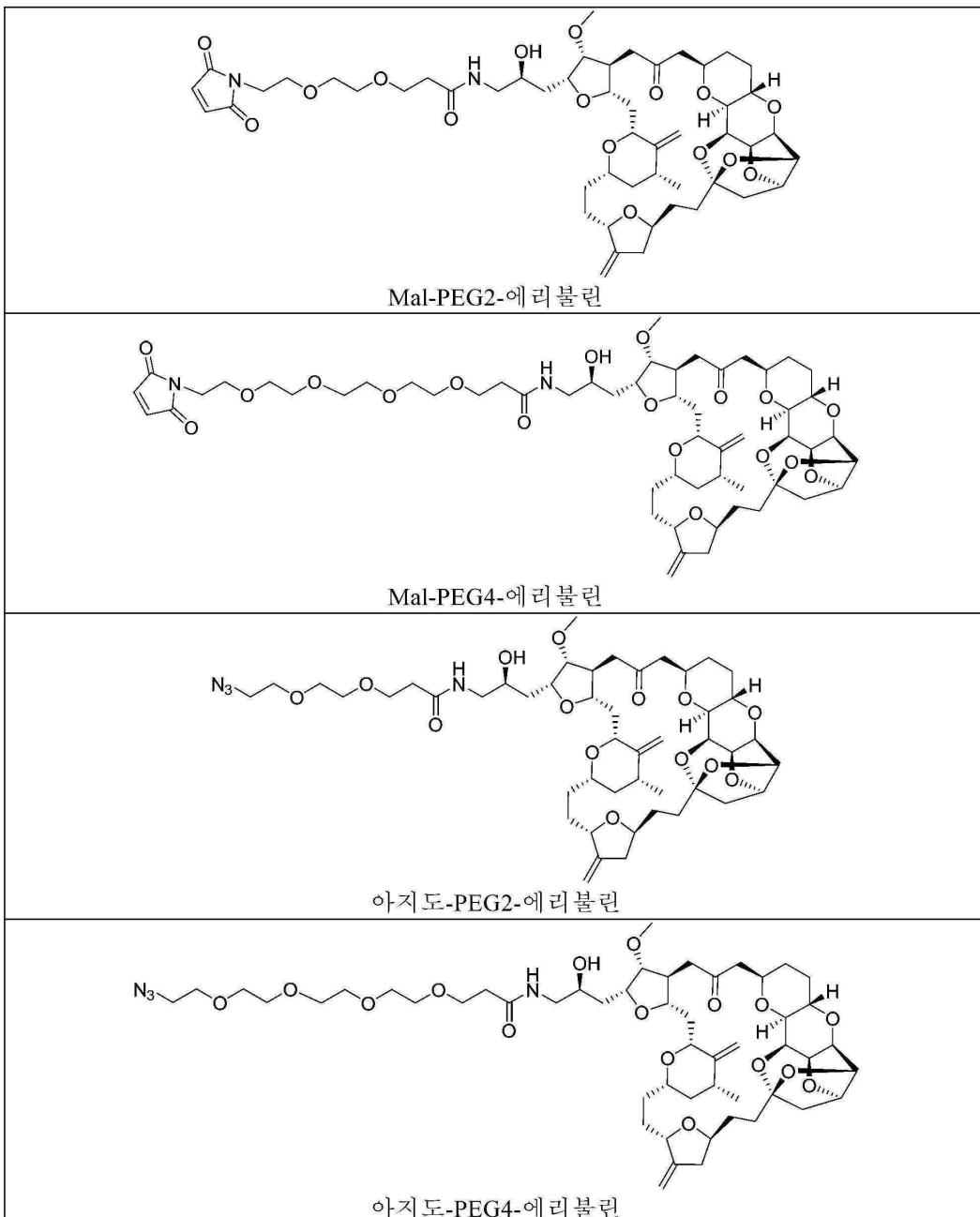
Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린
(ER-001237504)



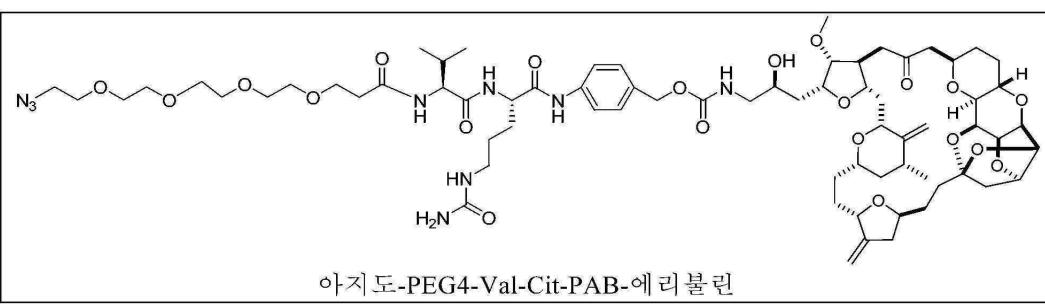
NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린
(ER-001244129)

[0509]





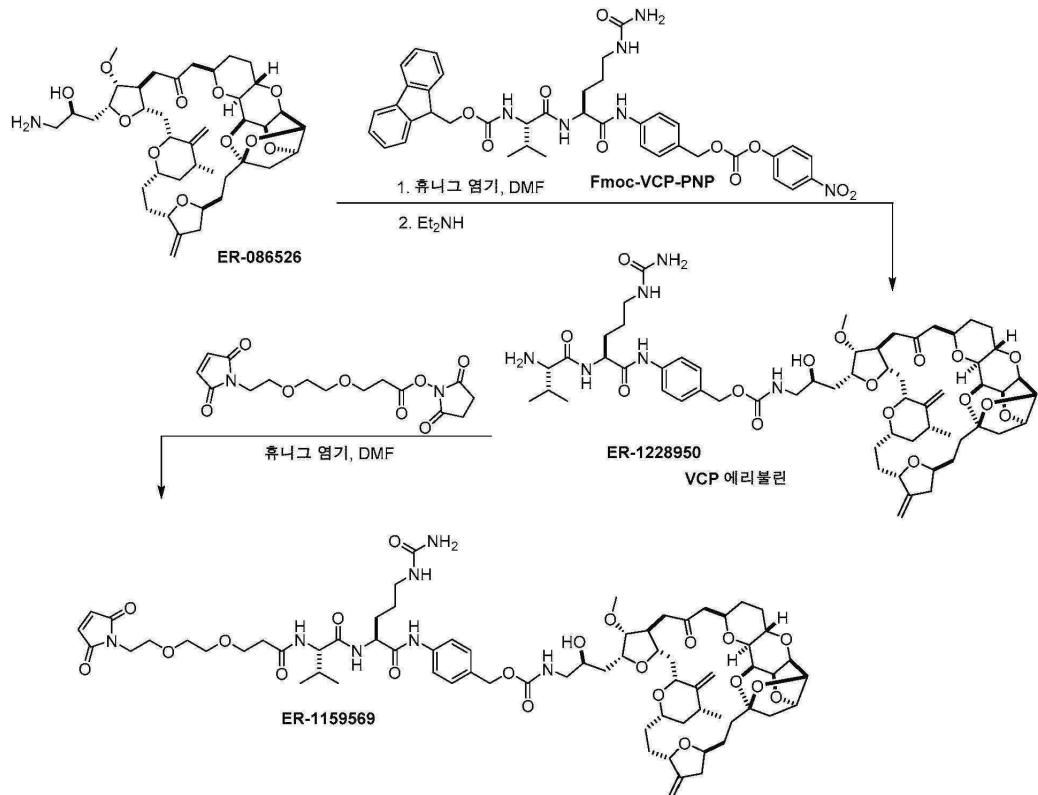
[0511]



[0512]

[0513]

1.1 MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)의 제조



[0514]

[0515]

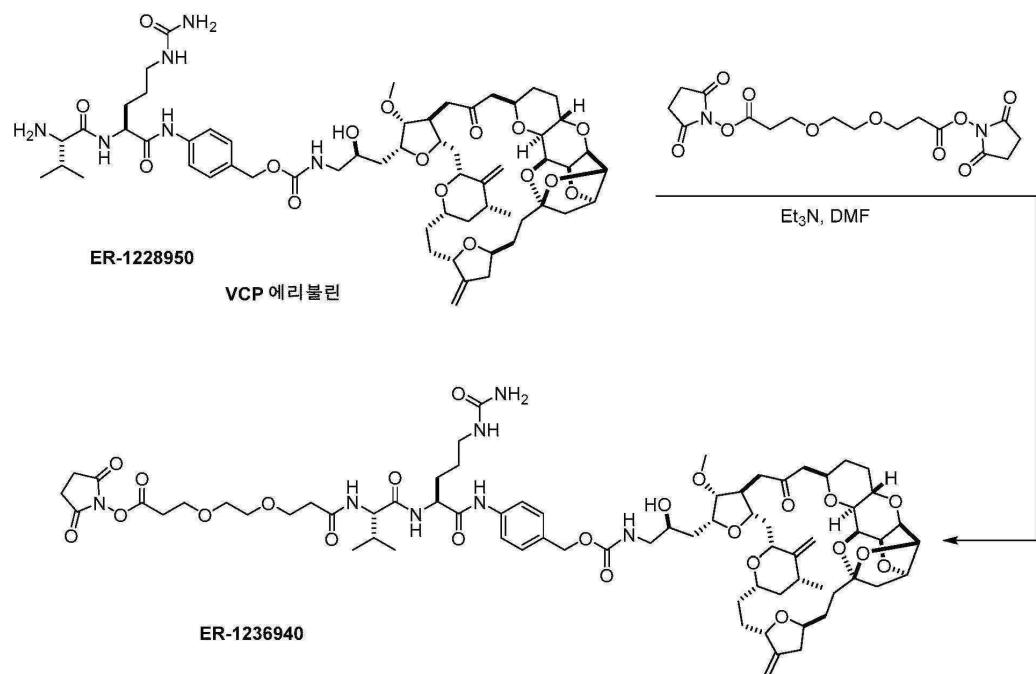
에리불린 (ER-000086526) (61.5 mg, 0.074 mmol)은 *N,N*-디메틸포름아미드 (DMF) (6.0 mL)에 용해되었고 그 다음 휴니그 염기 (0.027 mL, 0.156 mmol) 및 Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP (86 mg, 0.112 mmol)과 혼합되었다. 반응은 커플링이, 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 분석으로 결정된 경우, 완료된 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 디에틸아민 (0.078 mL, 0.745 mmol)은 혼합물에 첨가되었고, 혼합물은 반응이 완료된 때까지 추가의 2 시간 동안 교반되었다. 용매는 중발로 제거되었고, 잔기는 플래시 크로마토그래피로 정제되어 백색 고체 (60 mg, 71% 수율)로서 Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950)을 수득하였다. ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.06 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.62 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.57 (dd, *J* = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.47 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.18 (dd, *J* = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.98 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.76-3.70 (m, 4H), 3.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.26-3.10 (m, 3H), 2.93 (dd, *J* = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.75-2.64 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 8H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.72 (m, 5H), 1.68-1.29 (m, 8H), 1.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.07-1.01 (m, 1H), 1.06 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.02 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1135.7.

[0516]

Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950) (16 mg, 14 μmol)은 DMF (1 mL)에 용해되었다. *N,N*-디이소프로필에틸아민 (7.2 μL, 41 μmol) 및 Mal-PEG2-NHS (9.7 mg, 27 μmol)은 그 다음 이 용액에 실온에서 첨가되었고, 반응 혼합물은 실온에서 1 시간 동안 교반되었다. 반응의 완료시, 미정제 혼합물은 0.1% 포름산을 함유하는 아세토니트릴-물 이동상을 사용하여 역상 HPLC에 의해 정제되었다. 수집된 분획은 진공 하에 실온에서 비-가열된 수조에 농축되어 Mal-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)를 수득하였다 (7.1 mg, 5.2 μmol, 38% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.59 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.81 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.06 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.71 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 5.2, 9.2 Hz, 1H), 4.47 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.19 (dd, *J* = 6.8, 11.6 Hz, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.98 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.76-3.64 (m, 6H), 3.62-3.51 (m, 6H), 3.38 (s, 3H), 3.22-3.08 (m, 4H), 2.93 (dd, *J* = 2.4, 9.6 Hz, 1H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.76-2.63 (m, 2H), 2.52 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H),

2.21-1.97 (m, 8H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.80-1.66 (m, 5H), 1.66-1.28 (m, 10H), 1.11 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.07-1.01 (m, 1H), 0.99 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 6.4 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1374.9.

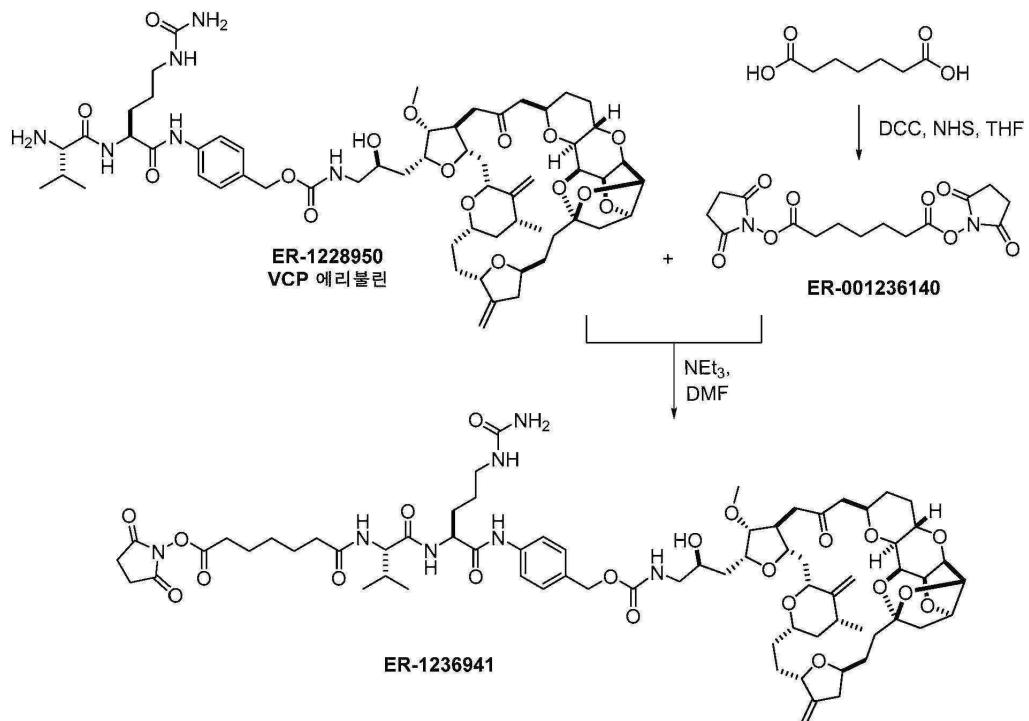
[0517] 1.2 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조



[0518]

[0519]

Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950) (45 mg, 0.04 mmol) 및 비스(2,5-디옥소피롤리딘-1-일) 3,3'-(에탄-1,2-디일비스(옥시))디프로파노에이트 (79 mg, 0.198 mmol)은 DMF (1.5 mL)에서 혼합되었고, Et_3N (44.2 μ l, 0.317 mmol)은 그 다음 첨가되었다. 혼합물을, HPLC 분석으로 결정된 경우, 반응이 완료된 때까지 18 시간 동안 교반되었다. 용매는 증발되었고 잔기는 플래시 크로마토그래피로 정제되어 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)을 백색 고체로서 수득하였다 (38 mg, 68% 수율). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) ppm 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.05 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.62 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.51 (dd, J = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.50-4.47 (m, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.21 (dd, J = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.14-4.08 (m, 2H), 3.99 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.78-3.70 (m, 4H), 3.62 (s, 2H), 3.62-3.58 (m, 1H), 3.50-3.46 (m, 2H), 3.39 (s, 4H), 3.36 (s, 3H), 3.22-3.08 (m, 3H), 2.93 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.87 (m, 1H), 2.84 (s, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.75-2.64 (m, 2H), 2.59-2.52 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 10H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.72 (m, 5H), 1.68-1.29 (m, 8H), 1.11 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.08-0.98 (m, 1H), 1.00 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1421.0.

[0520] 1.3 NHS-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236941)의 제조

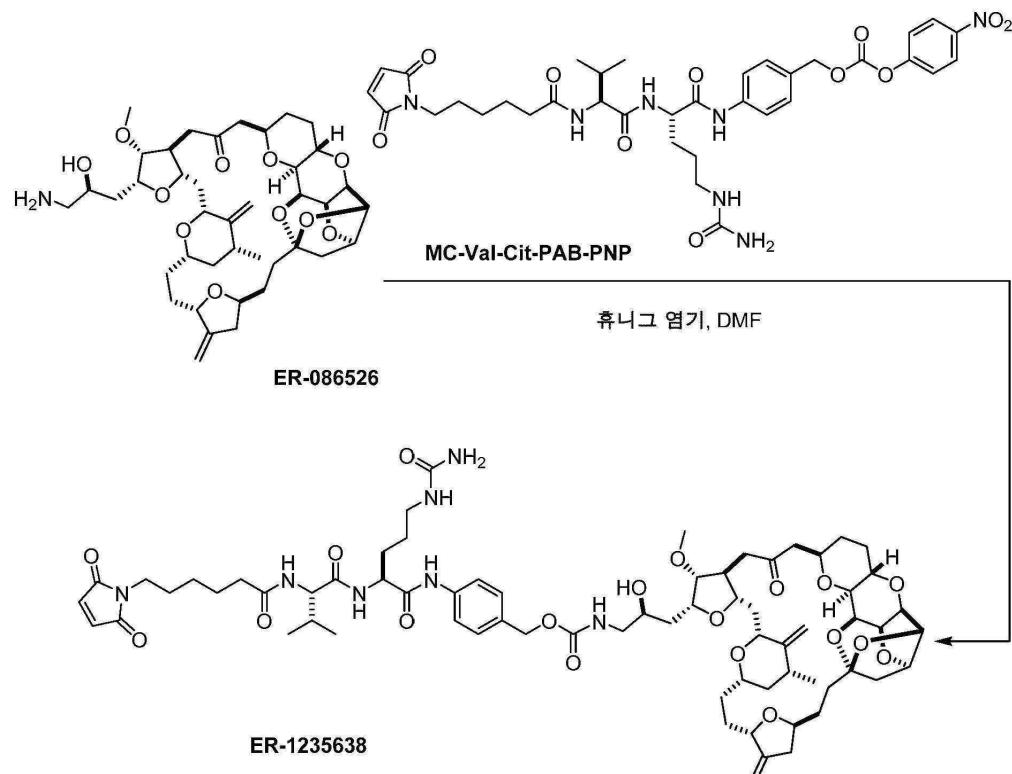
[0521]

헵탄이 산 (1.6 g, 9.99 mmol)은 테트라하이드로포린 (THF) (100 mL)에 용해되었고, 1-하이드록시페놀리딘-2,5-디온 (2.299 g, 19.98 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 DCC (4.12 g, 19.98 mmol)이 첨가되었다. 혼합물은 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 고체는 셀라이트 패드를 통해 여과로 제거되었고, THF (3 x 2 mL)로 세정되었다. 조합된 여과물은 농축되었고 플래시 크로마토그래피로 정제되어 비스(2,5-디옥소페롤리딘-1-일) 헵탄디오에이트 (ER-001236140)을 백색 고체로서 수득하였다 (2.5 g, 71% 수율). ¹HNMR (400 MHz) ppm 2.83 (s, 8H), 2.64 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H), 1.80 (dt, *J* = 7.6 Hz, 4H), 1.59-1.51 (m, 2H). LCMS (M+H)=355.2.

[0523]

NHS-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236941)은 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 VCP-에리불린 (ER-001228950) 및 비스(2,5-디옥소페롤리딘-1-일) 헵탄디오에이트 (ER-001236140)으로부터 제조되었다 (8.5 mg, 47% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.04 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 5.00 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.70 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.60 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.46 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.36-4.25 (m, 2H), 4.17 (dd, *J* = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.13-4.06 (m, 2H), 3.97 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.87-3.80 (m, 3H), 3.74-3.68 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.20-3.06 (m, 4H), 2.94 (dd, *J* = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.82 (s, 4H), 2.74-2.65 (m, 2H), 2.61 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 2.46-2.26 (m, 7H), 2.24-1.81 (m, 13H), 1.78-1.28 (m, 19H), 1.10 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.06-0.96 (m, 1H), 0.97 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.95 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1375.1.

[0524]

1.4 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001235638)의 제조

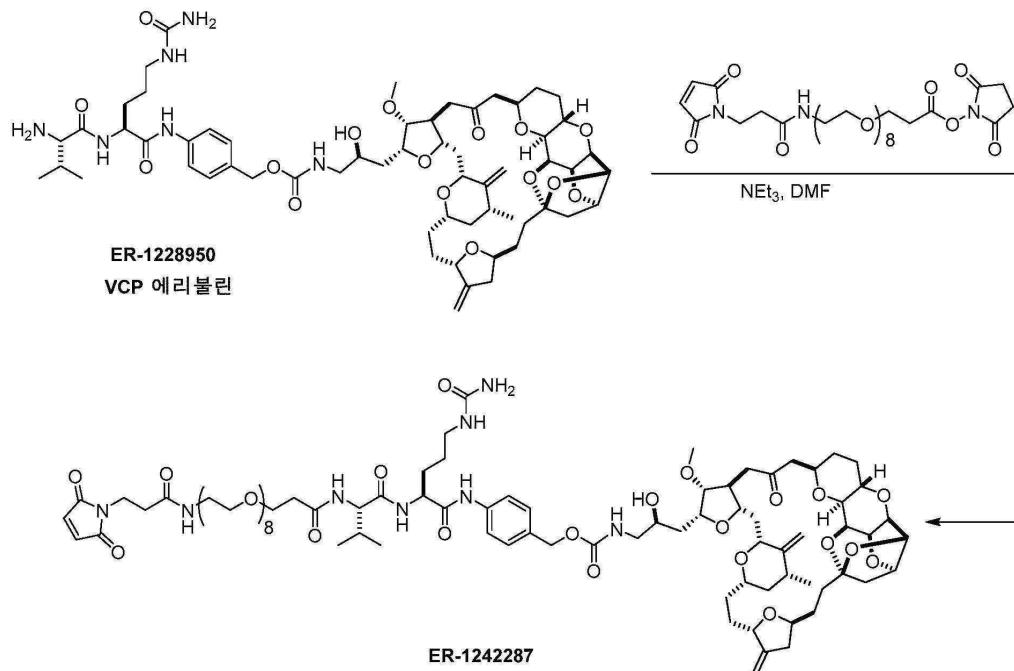
[0525]

[0526]

에리불린 (ER-000086526) (10 mg, 0.012 mmol)은 DMF (1 mL)에 용해되었고, MC-Val-Cit-PAB-PNP (9.02 mg, 0.012 mmol) 및 휘니그 염기 (4.44 μ L, 0.025 mmol)와 혼합되었다. 혼합물은 그 다음 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 12 시간 동안 실온에서 교반되었다. 반응 혼합물은 농축되었고 플래시 크로마토그래피로 정제되어 Mal-(CH₂)₅-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001235638)을 백색 고체로서 수득하였다 (11.3 mg, 63% 수율).

¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.57 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.79 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.05 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.00 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.56-4.46 (m, 3H), 4.35-4.27 (m, 2H), 4.20-4.07 (m, 4H), 3.98 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 3.87-3.83 (m, 3H), 3.73-3.70 (m, 2H), 3.48 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.20-3.08 (m, 4H), 2.93 (dd, J = 1.6, 9.6 Hz, 1H), 2.89-2.85 (m, 1H), 2.69 (dt, J = 11.2, 16.8 Hz, 2H), 2.44-2.33 (m, 5H), 2.27-1.83 (m, 13H), 1.78-1.68 (m, 5H), 1.66-1.27 (m, 14H), 1.11 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 1.07-0.98 (m, 1H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.96 (d, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1328.9.

[0527] 1.5 Mal-PEG8-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242287)의 제조

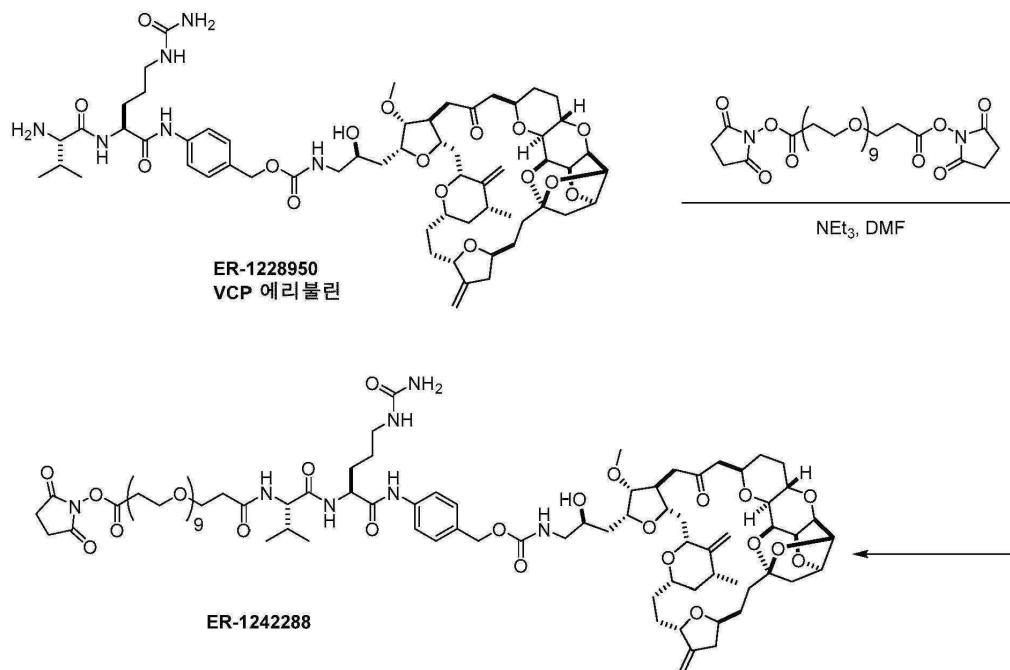


[0528]

[0529]

VCP-에리불린 (ER-001228950) (10 mg, 8.808 μ mol) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)-3-옥소-7,10,13,16,19,22,25,28-옥타옥사-4-아자헨트리아콘탄-31-오에이트 (6.07 mg, 8.808 μ mol)은 DMF (1 mL)에서 혼합되었고, 이어서 Et_3N (9.82 μ l, 0.07 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 용매는 증발로 제거되었고, 잔기는 풀래시 크로마토그래피로 정제되어 Mal-PEG8-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242287)을 백색 고체로서 수득하였다 (3.0 mg, 20% 수율). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) ppm 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.80 (s, 2H), 5.12 (s, 1H), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.99 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.59 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.50-4.42 (m, 2H), 4.32-4.24 (m, 2H), 4.20-4.14 (m, 2H), 4.12-4.04 (m, 3H), 3.96 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.86-3.80 (m, 3H), 3.76-3.57 (m, 4H), 3.48 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.20-3.08 (m, 3H), 2.91 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.74-2.60 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 10H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.20 (m, 19H), 1.09 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.04-0.98 (m, 1H), 0.99 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 7.2 Hz, 3H). LCMS ($\text{M}+\text{H}$)=1711.6.

[0530] 1.6 NHS-PEG9-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242288)의 제조



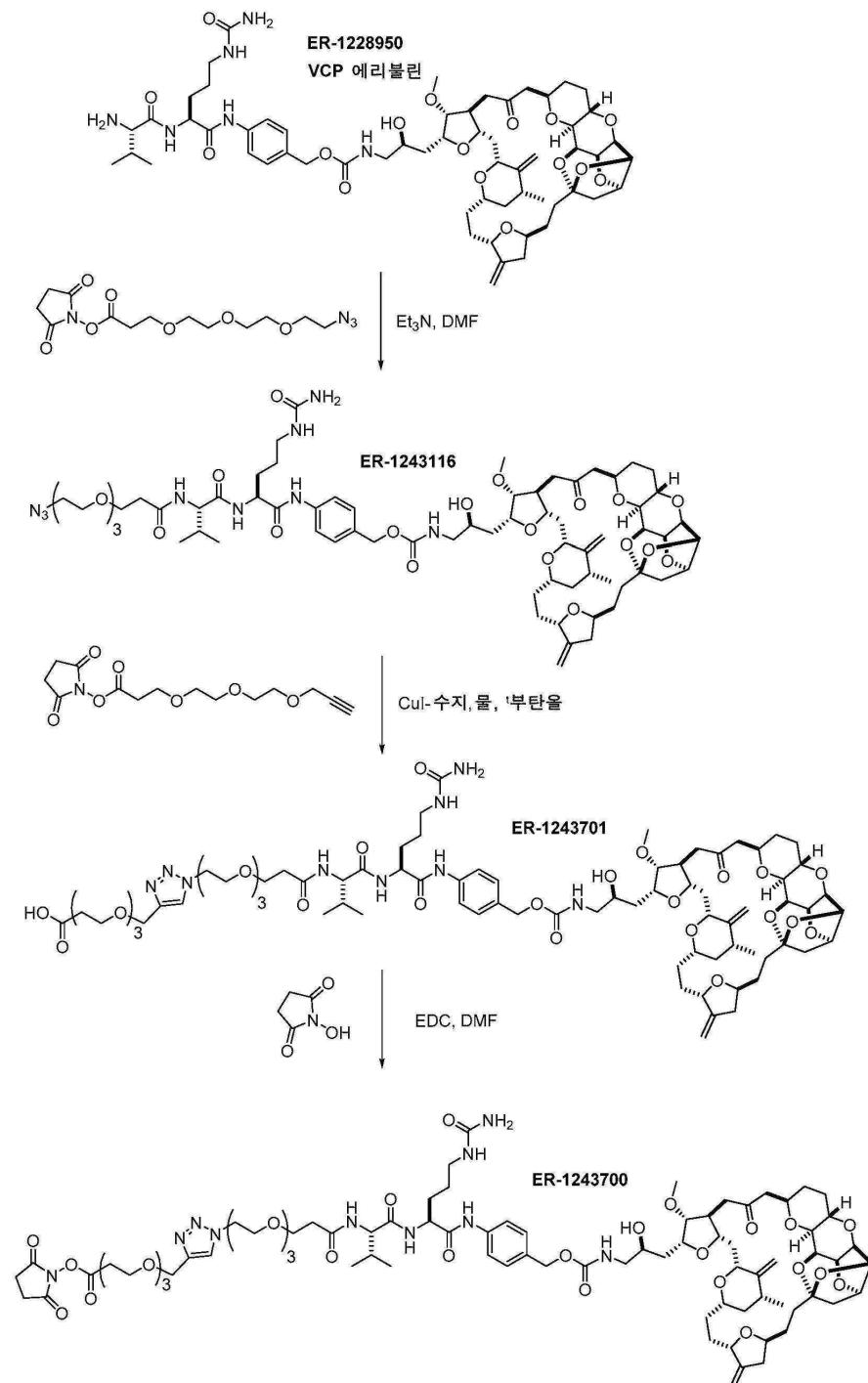
[0531]

[0532]

NHS-PEG9-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001242288)은 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 VCP-에리불린 (ER-001228950) 및 BisNHS-PEG9로부터 제조되었다 (13 mg, 85% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.61 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.16 (s, 1H), 5.06 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 5.00 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.71 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.52-4.45 (m, 2H), 4.34-4.26 (m, 2H), 4.20-4.19 (m, 1H), 4.14-4.06 (m, 2H), 3.98 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.80 (m, 3H), 3.76-3.70 (m, 4H), 3.66-3.58 (m, 37H), 3.38 (s, 3H), 3.24-3.10 (m, 3H), 2.93 (dd, *J* = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.84 (s, 4H), 2.76-2.64 (m, 2H), 2.58-2.50 (m, 4H), 2.46-2.28 (m, 5H), 2.22-1.96 (m, 8H), 1.91-1.82 (m, 3H), 1.79-1.68 (m, 5H), 1.64-1.24 (m, 8H), 1.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.08-0.96 (m, 1H), 0.99 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H). LCMS (M+H)=1729.7.

[0533]

1.7 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243700)의 제조



[0534]

[0535]

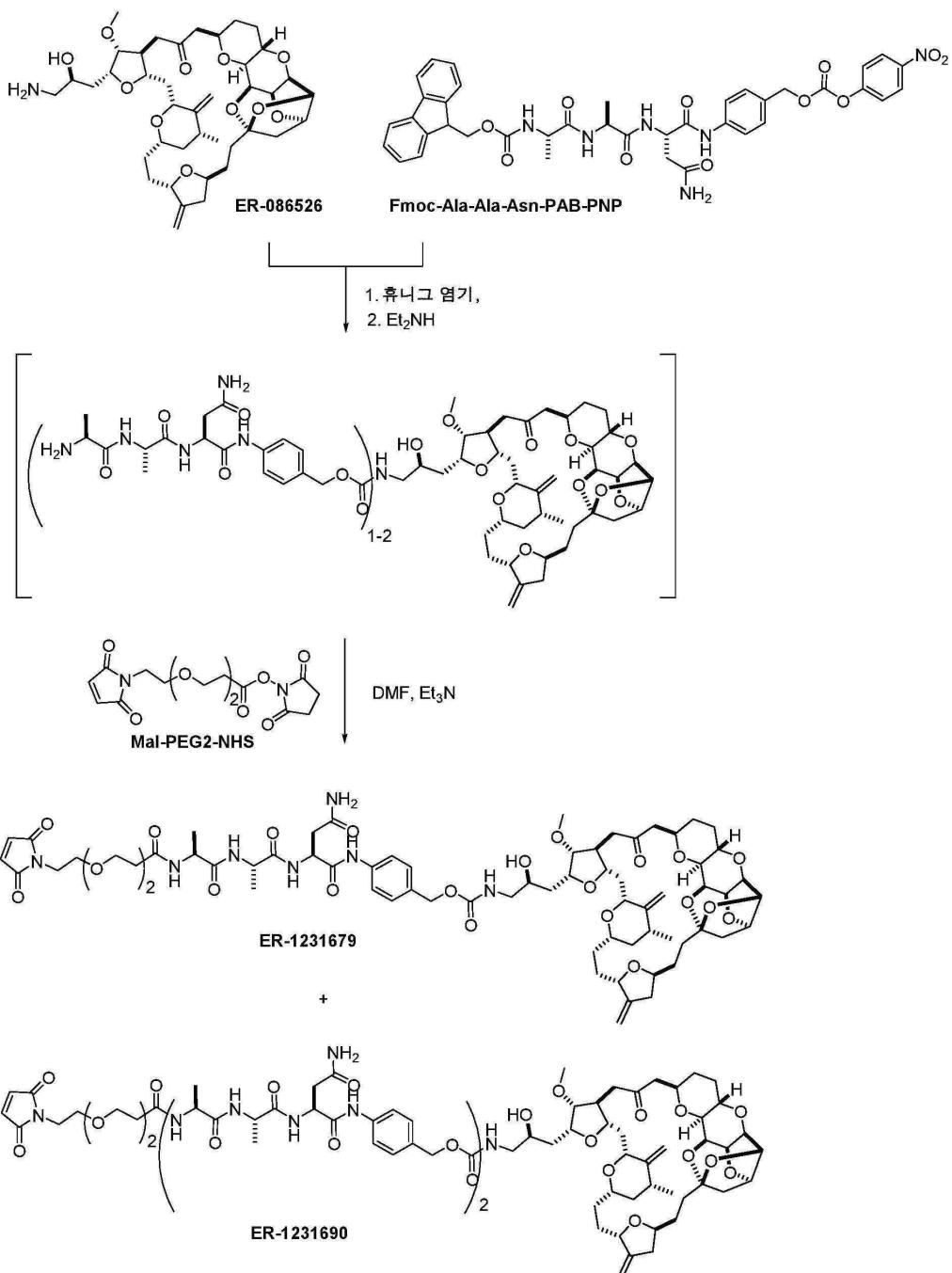
VCP-에리불린 (ER-001228950) (25 mg, 0.022 mmol)은 DMF (2.5 mL)에 용해되었고, 그 다음 Et₃N (24.55 μl, 0.176 mmol) 및 아자이드-PEG3-NHS (8.34 mg, 0.024 mmol)과 혼합되었다. 혼합물은 HPLC 분석이 반응의 완료를 명시한 때까지 18 시간 동안 실온에서 교반되었다. 혼합물은 진공 하에 농축되었고, 잔기는 분취형-HPLC (MeCN 그리고 0.1% 포름산이 있는 물)로 정제되었다. 아자이드-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린을 함유하는 분획은 하고 디클로로메탄 (CH₂Cl₂) (3 x 20 mL)로 추출되었고, CH₂Cl₂는 증발되어 아자이드-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243116)을 백색 고체로서 수득하였다 (18.9 mg, 63% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.04 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.70 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.52-4.48 (m, 2H), 4.31-4.25 (m, 2H), 4.20-4.15 (m, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.99 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.84-3.79 (m, 3H), 3.77-3.65 (m, 4H), 3.64-3.56 (m, 13H), 3.38 (s, 3H), 3.20-3.05 (m, 3H), 2.95-2.80

(m, 2H), 2.75–2.60 (m, 2H), 2.55–2.50 (m, 2H), 2.43–2.25 (m, 5H), 2.21–1.97 (m, 8H), 1.93–1.83 (m, 3H), 1.79–1.72 (m, 5H), 1.68–1.29 (m, 10H), 1.08 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.05–0.95 (m, 1H), 0.98 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H). LCMS (M+H)=1365.1.

[0536] 아자이드-PEG3-VCP-에리불린 (ER-001243116) (9.6 mg, 7.035 μmol) 및 2,5-디옥소페롤리딘-1-일 3-(2-(프로프-2-인-1-일옥시)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (6.61 mg, 0.021 mmol)은 물 (0.6 mL) 및 t-부탄올 (1.8 mL)에서 혼합되었다. 혼합물은 45 분 동안 N_2 로 거품화되었다. 엠버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 10 mg)은 혼합물에 첨가되었고 N_2 는 혼합물을 통해 또 다른 30 분 동안 거품화되었다. 반응 혼합물은 그 다음 개시 물질의 완전한 소비까지 72 시간 동안 실온에서 교반되었다. 원하는 NHS 에스테르 생성물은 LCMS 분석으로 판측되지 않았고, 가수분해된 카복실산 뿐이었다. 혼합물은 얇은 셀라이트 패드를 통해 여과되어 CuI 수지를 제거하였다. 여과물은 진공에서 농축되었고, 수득한 잔기는 분취형 박층 크로마토그래피 (prep-TLC) (20% MeOH/CH₂Cl₂)로 정제되어 산-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243701)을 백색 고체로서 수득하였다 (3.7 mg, 33% 수율). LCMS (ES) (M+H)=1581.2.

[0537] 산-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243701) (3.0 mg, 1.898 μmol)은 DMF (200 μL)에 용해되었고 1-하이드록시페롤리딘-2,5-디온 (0.437 mg, 3.796 μmol)은 첨가되었고, 이어서 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC) (0.728 mg, 3.796 μmol)이 첨가되었다. 반응은 실온에서 18 시간 동안 교반 후 대략 50% 완료되었다. EDC (1.46 mg, 7.8 μmol)은 첨가되었고, 혼합물은 HPLC 분석이 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린으로 >95% 전환율을 명시한 때까지 또 다른 18 시간 동안 교반되었다. 혼합물은 진공에서 농축되었고, 잔기는 분취형-TLC (15% MeOH/CH₂Cl₂)로 정제되어 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001243700)을 백색 고체로서 수득하였다 (2.2 mg, 69% 수율). ¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 8.00 (s, 1H), 7.59 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.04 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.00 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, $J = 4.0$ Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.61 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.57–4.55 (m, 2H), 4.51–4.45 (m, 1H), 4.32–4.28 (m, 2H), 4.21–4.17 (m, 2H), 4.13–4.10 (m, 2H), 3.98 (t, $J = 10.8$ Hz, 1H), 3.88–3.80 (m, 5H), 3.75–3.70 (m, 4H), 3.68–3.55 (m, 18H), 3.45–3.40 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.20–3.08 (m, 4H), 2.93–2.80 (m, 2H), 2.75–2.50 (m, 2H), 2.68 (s, 4H), 2.48–2.30 (m, 7H), 2.28–1.92 (m, 10H), 1.90–1.68 (m, 8H), 1.65–1.27 (m, 8H), 1.11 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.05–0.95 (m, 1H), 0.99 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H). LCMS (M+H)=1678.3.

[0538] 1.8 Ma1-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231679) 및 Ma1-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-에리불린 (ER-001231690)의 제조



[0539]

[0540]

에리불린 (ER-000086526) (10 mg, 0.014 mmol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 휴니그 엔지 (3.59 μ L, 0.021 mmol)와 혼합되었다. (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-1-(((S)-1-(((S)-4-아미노-1-((4-((4-나트로페녹시)카보닐)옥시)메틸)페닐)아미노)-1,4-디옥소부탄-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트 (15.76 mg, 0.021 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 수득한 황색 용액은 HPLC 분석이 개시 물질의 완전한 소비를 명시한 때까지 3 일 동안 실온에서 교반되었다. 디에틸아민 (14.23 μ L, 0.137 mmol)은 반응 혼합물에 첨가되었고, 이것은 그 다음 Fmoc 보호의 100% 절단이 있었던 때까지 추가의 2 시간 동안 실온에서 교반되었다. 반응 혼합물은 농축되어 디에틸아민을 제거하였고, 잔기는 DMF (1.5 mL)에 재용해되었다. Et₃N (0.015 mL, 0.11 mmol)은 실온에서 첨가되었고, 이어서 2,5-디옥소페리린-1-일 3-(2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (9.71 mg, 0.027 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은, LCMS 분석으로 결정된 경우, 반응이 완료된 때까지 16 시간 동안 실온에서 교반되었다. 혼합물은 고진공 하에서 농축되었고, 플래시 크로마토그래피로 정제되어 Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231679) (9.2 mg, 49% 수율) 및 Mal-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-에리불린 (ER-001231690) (6.0 mg, 18% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

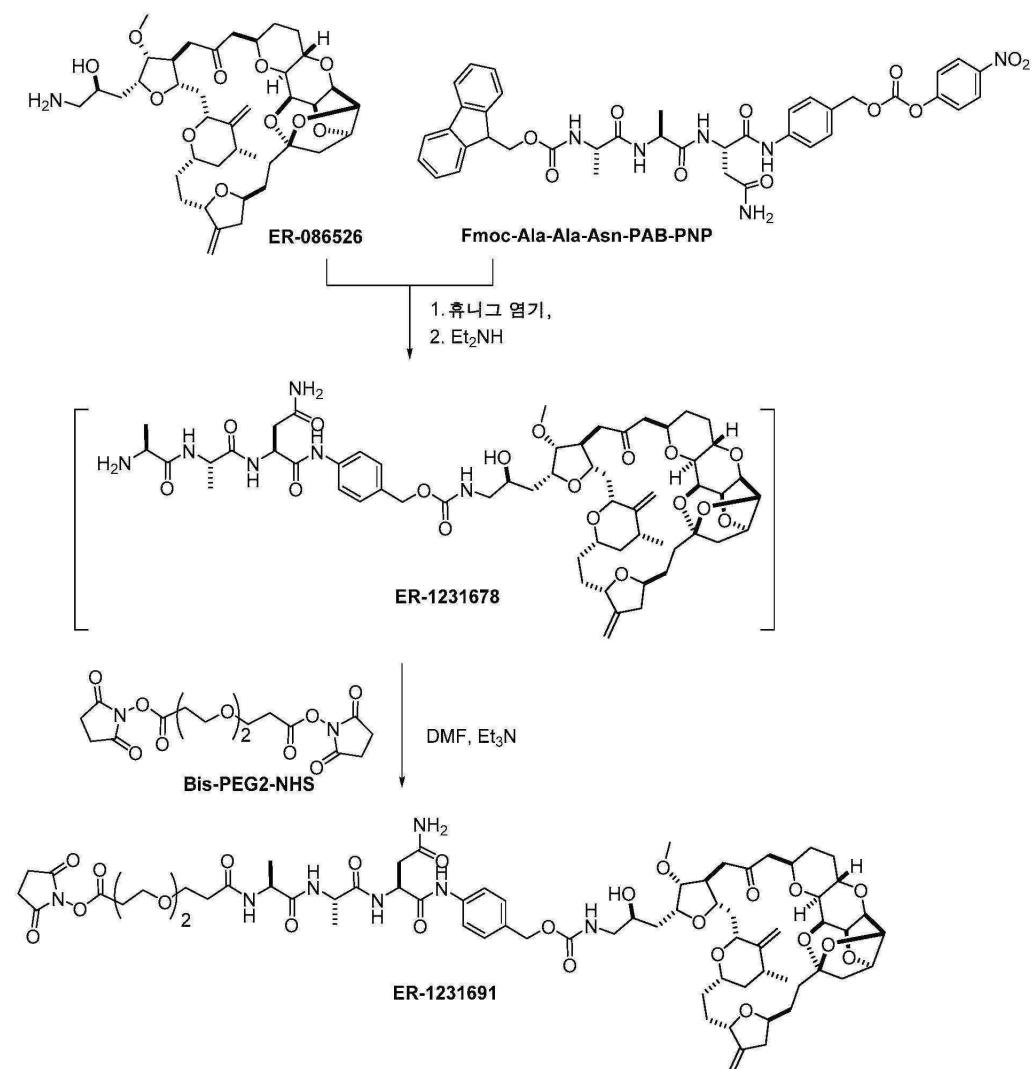
[0541]

Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231679): 1 HNMR (400 MHz) ppm 9.23 (s, 1H), 8.00 (d, *J* = 7.6 Hz,

1H), 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.30 (br s, 1H), 6.04-6.00 (m, 1H), 5.77 (br s, 1H), 5.42 (br s, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.06-4.98 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.90-4.82 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.49-4.42 (m, 1H), 4.38-4.25 (m, 4H), 4.19 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.15-4.08 (m, 1H), 4.03 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.97-3.85 (m, 3H), 3.83-3.50 (m, 12H), 3.41 (s, 3H), 3.50-3.10 (m, 3H), 3.02-2.64 (m, 6H), 2.52-2.30 (m, 7H), 2.30-1.65 (m, 14H), 1.65-1.20 (m, 12H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.13-1.05 (m, 1H). LCMS (M+Na)=1396.6.

[0542] Mal-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-에리불린 (ER-001231690): ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.65 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.79 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.06-4.98 (m, 4H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.85-4.72 (m, 2H), 4.71 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 4.30-4.06 (m, 9H), 3.97 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.89-3.80 (m, 3H), 3.75-3.48 (m, 12H), 3.38 (s, 3H), 3.17 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 2.94-2.62 (m, 8H), 2.50-2.28 (m, 7H), 2.22-1.65 (m, 14H), 1.58-1.30 (m, 18H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.06-0.97 (m, 1H). LCMS (M+Na)=1802.8.

[0543] 1.9 NHS-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231691)의 제조



[0544]

[0545] Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231678)은 Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001228950)의 제조에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 에리불린 (ER-000086526) 및 Fmoc-Ala-Ala-Asn-PAB-PNP로부터 제조되었다 (15 mg, 정량적 수율). LCMS (M+H)=1135.5.

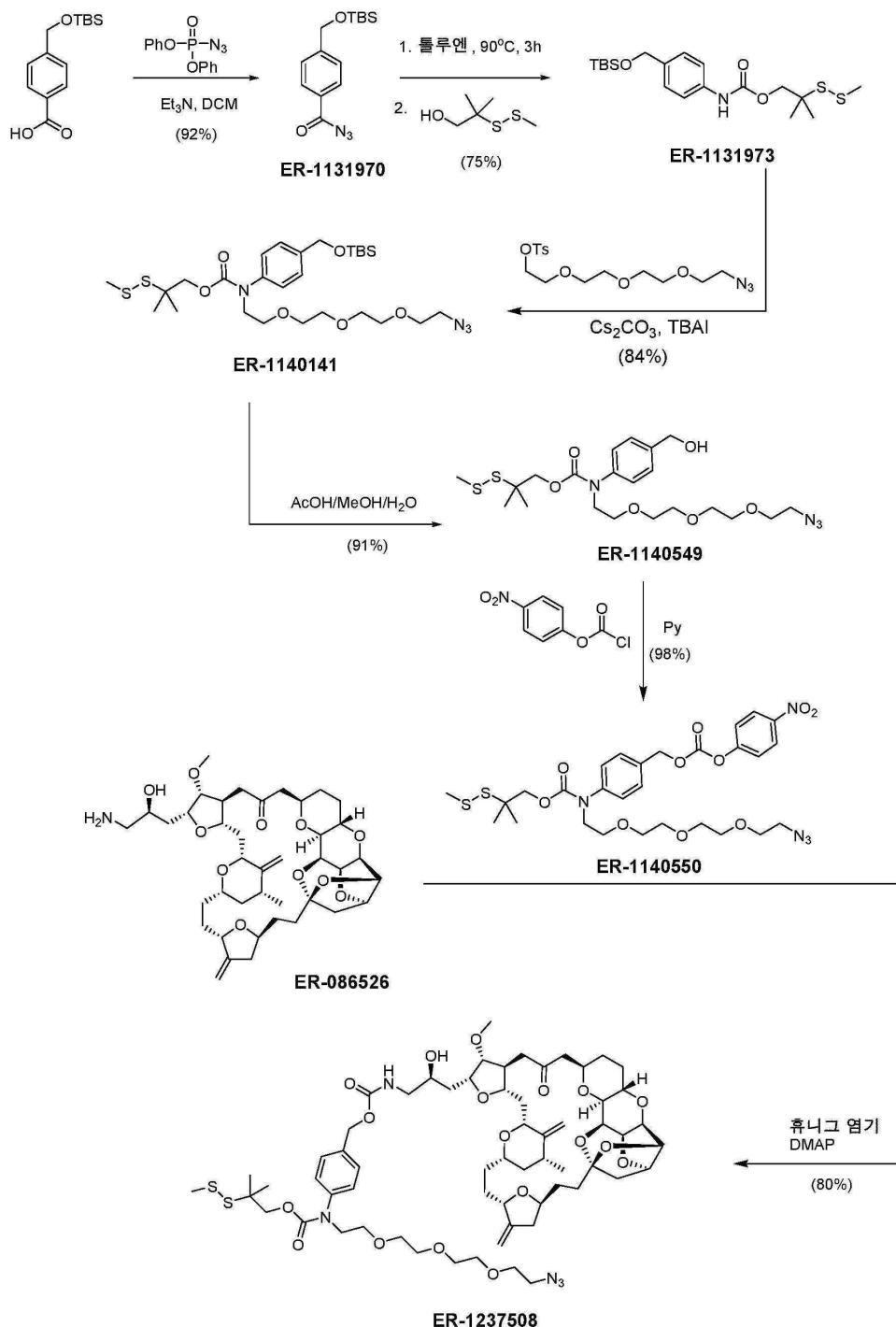
[0546]

NHS-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231691)은 NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001236940)의 제조

에 대하여 상기 기재된 바와 동일한 절차를 사용하여 Ala-Ala-Asn-PAB-에리불린 (ER-001231678) 및 BisNHS-PEG2로부터 제조되었다 (12.4 mg, 64% 수율). ^1H NMR (400 MHz) ppm 9.21 (s, 1H), 7.95 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.58-7.52 (m, 1H), 7.28 (br s, 1H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.10 (br s, 1H), 6.29 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.83 (br s, 1H), 5.38 (br s, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.05-4.95 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.90-4.83 (m, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.46-4.41 (m, 1H), 4.36-4.25 (m, 4H), 4.19 (dd, J = 4.8, 6.0 Hz, 1H), 4.15-4.09 (m, 1H), 4.03 (dd, J = 4.8, 6.0 Hz, 1H), 3.99-3.89 (m, 3H), 3.85-3.50 (m, 10H), 3.41 (s, 3H), 3.40-3.10 (m, 3H), 3.01-2.60 (m, 10H), 2.60-2.35 (m, 7H), 2.35-1.65 (m, 14H), 1.65-1.20 (m, 14H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.15-1.03 (m, 1H). LCMS (ES) (M+H)=1442.7.

[0547]

1.10 아자이드-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237508)의 제조



[0548]

4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조산 (1.0 g, 3.754 mmol)은 0 °C로 냉각된 디클로로메탄 (DCM) (25

mL)에서 용해되었다. 트리에틸아민 (0.549 mL, 3.941 mmol)은 그 다음, 이어서 디페닐 포스포르아지레이트 (1.085 mg, 3.941 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물을 실온으로 느리게 가온되었고 14 시간 동안 교반되었다. 미정제 혼합물은 에틸 아세테이트 (EtOAc)/Hep (1:1, 100 mL)로 희석되었고, EtOAc/Hep (50%)로 용출하는 짧은 실리카 플러그를 통해 통과되었다. 용매는 진공 하에 제거되어 1.10 g의 4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조일 아자이드 (ER-001131970)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.98 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.40 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.79 (s, 2 H), 0.94 (s, 9 H), 0.10 (s, 6 H).

[0550] 톨루엔 (20 mL)에 용해된, 4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조일 아자이드 (ER-001131970) (1.1 g, 3.775 mmol)은 110 °C에서 3 시간 동안 가열되었다. 생성물이 단일 스팟으로서 보여주지 않았어도, 박층 크로마토그래피 (TLC) 분석은 개시 물질이 소비되었다는 것을 명시하였다. 반응 혼합물은 그 다음 실온으로 냉각되었고, 질소 하에 밀봉된 바이알에 전달되었고 -20 °C에서 톨루엔내 용액 (1 mL = 32.6 mg)으로서 저장되었다.

[0551] 트리에틸아민 (0.099 mL, 0.709 mmol)은 톨루엔 (5 mL)내 tert-부틸((4-이소시아나토벤질)옥시)디메틸실란 (165 mg, 0.626 mmol)의 용액에 첨가되었고, 이어서 알코올 (90.0 mg, 0.591 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 6 시간 동안 36 °C에서 교반되었다. 반응의 진행은 UPLC/MS로 모니터링되었다. 탄산 수소 나트륨 (NaHCO_3)의 포화된 용액 (10 mL)는 그 다음 첨가되었고, EtOAc/Hep (1:1, 60 mL)로 추출되었고, 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 및 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 10% 내지 40%)로 정제되어 215 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001131973)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.34 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.26 (d, 2 H, J = 7.6 Hz), 6.63 (br s, 1 H), 4.69 (s, 2 H), 4.17 (s, 2 H), 2.42 (s, 3 H), 1.35 (s, 6 H), 0.93 (s, 9 H), 0.08 (s, 6 H).

[0552] 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001131973) (198 mg, 0.476 mmol) 및 2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸 4-메틸벤젠설포네이트 (325 mg, 0.87 mmol)은 DMF (6.6 mL)에 용해되었다. 탄산세슘 (621 mg, 1.905 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 테트라부틸암모늄아이오다이드 (45 mg, 0.122 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 15 시간 동안 36 °C에서 교반되었다. 반응의 진행은 UPLC/MS로 모니터링되었다. NH_4Cl 의 포화된 용액 (30 mL)는 그 다음 첨가되었고, EtOAc/Hep (2:1, 150 mL)로 추출되었고, 염수 (10 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 20% 내지 50%)로 정제되어 248 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140141)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.28 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.20 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.73 (s, 2 H), 4.06 (br s, 2 H), 3.83 (dd, 2 H, J = 6.4, 5.6 Hz), 3.68-3.56 (m, 12 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.6, 5.2 Hz), 2.33 (s, 3 H), 1.14 (br s, 6 H), 0.93 (s, 9 H), 0.09 (s, 6 H).

2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필

(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)(4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140141) (81 mg, 0.131 mmol)은 메탄올 (5 mL) 및 물 (0.5 mL)의 혼합물에 용해되었다. 아세트산 (0.5 mL, 8.734 mmol)은 그 다음 반응 혼합물에 첨가되었고, 14 시간 동안 38 °C에서 교반되었다. 반응 혼합물은 실온으로 냉각되었고, 용매는 진공 하에 제거되었다. 잔기는 EtOAc (30 mL)로 희석되었고, 물 (2 X 5 mL), NaHCO_3 , 및 염수 (3 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 30% 내지 90%)로 정제되어 61.0 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)(4-((하이드록시메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140549)를 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.34 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.26 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.69 (d, 2 H, J = 4.4 Hz), 4.06 (br s, 2 H), 3.84 (dd, 2 H, J = 6.2, 6.2 Hz), 3.66-3.56 (m, 12 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 2.33 (s, 3 H), 1.74 (br s, 1 H), 1.14 (br s, 6 H).

[0554] 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)(4-(하이드록시메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140549) (60 mg, 0.119 mmol)은 0 °C로 냉각된 DCM (2 mL) 및 Py (0.019 mL, 0.239 mmol)에 용해되었다. DCM (2 mL)내 4-니트로페닐 카보노클로리데이트 (38.5 mg, 0.191 mmol) 및 디메틸아미노페리딘 (DMAP) (2.9 mg, 0.024 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 반응 혼합물은 30분 동안 0 °C에서 교반되었다. 반응 혼합물은 실온으로 느리게 가온되었고, 개시 물질이 소비된 때까지 (대략 2.5 시간) 교반되었다. 용매는 그 다음 진공 하에

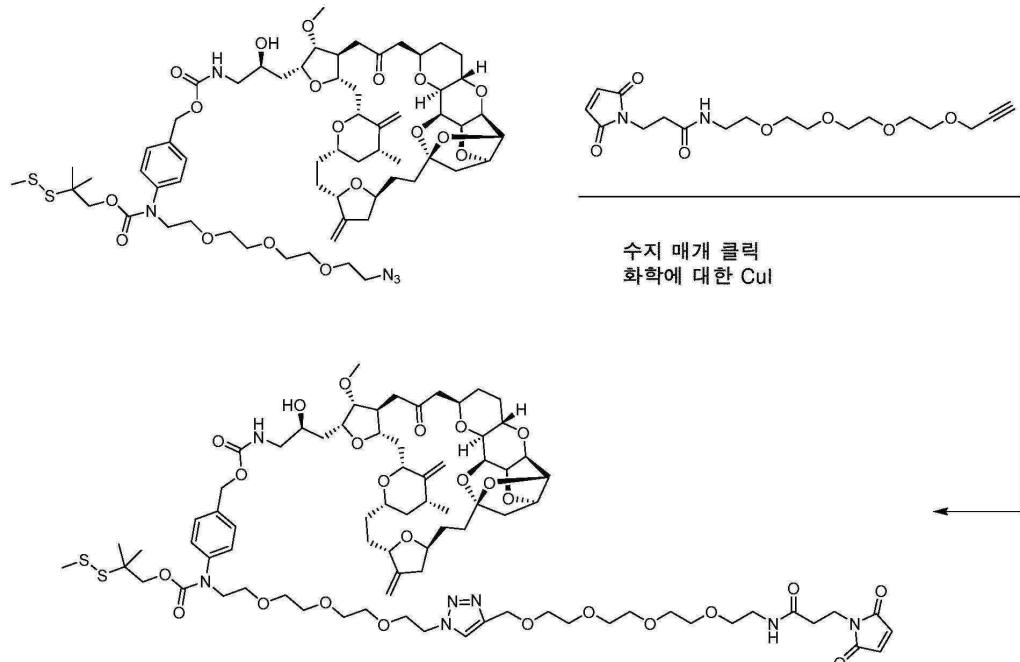
제거되었고, 잔기는 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 10% 내지 35%)로 정제되어 78 mg의 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸(4-(((4-나트로페녹시)카보닐)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140550)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 8.27 (dd, 2 H, J = 6.8, 2.4 Hz), 7.41 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.37 (dd, 2 H, J = 7.2, 2.4 Hz), 7.33 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 5.27 (s, 2 H), 4.08 (br s, 2 H), 3.85 (dd, 2 H, J = 5.8, 5.8 Hz), 3.66-3.57 (m, 12 H), 3.36 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 2.33 (br s, 3 H), 1.19 (br s, 6 H).

[0555]

DCM (3 mL, 46.625 mmol)내 2-메틸-2-(메틸디설파닐)프로필 (2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸(4-(((4-나트로페녹시)카보닐)옥시)메틸)페닐)카바메이트 (ER-001140550) (30 mg, 0.045 mmol)은 질소 하에 25-mL 플라스크에서 배치되었고, 0 °C로 냉각되었다. DCM (2 mL)내 아민 (40.8 mg, 0.049 mmol) 및 휘니그 염기 (0.024 mL, 0.135 mmol)는 첨가되었고, 이어서 DMAP (1.4 mg, 0.011 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 그 다음 실온으로 느리게 가온되었고, 3 시간 동안 교반되었고, 진공 하에 농축되었고, 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 50% 내지 100%, 이어서 MeOH/EtOAc 3% 내지 8%)로 정제되어 45.0 mg의 순수한 아자이드-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237508)을 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.32 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.25 (d, 2 H, J = 7.2 Hz), 5.28 (dd, 1 H, J = 5.6, 5.6 Hz), 5.11-5.04 (m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.88 (s, 1 H), 4.81 (s, 1 H), 4.69 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.60 (dd, 1 H, J = 4.2, 4.2 Hz), 4.36 (br s, 1 H), 4.33 (dd, 1 H, J = 4.0, 2.0), 4.29 (ddd, 1 H, J = 9.6, 4.4, 4.4 Hz), 4.18 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz), 4.14-4.04 (m, 3 H), 4.03 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz), 3.97-3.89 (m, 3 H), 3.84-3.78 (m, 3 H), 3.67-3.56 (m, 14 H), 3.42 (s, 3 H), 3.40-3.35 (m, 1 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 3.27 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 3.20 (ddd, 1 H, J = 12.8, 6.0, 6.0 Hz), 2.91-2.83 (m, 2 H), 2.70 (dd, 1 H, J = 16.0, 10.0 Hz), 2.52-2.40 (m, 3 H), 2.35-2.13 (m, 9 H), 2.10-2.06 (m, 1 H), 2.01-1.89 (m, 4 H), 1.78-1.64 (m, 4 H), 1.60-1.52 (m, 4 H), 1.49-1.28 (m, 5 H), 1.22-1.07 (m, 6 H), 1.09 (d, 3 H, J = 6.0 Hz).

[0556]

1.11 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237504)의 제조



[0557]

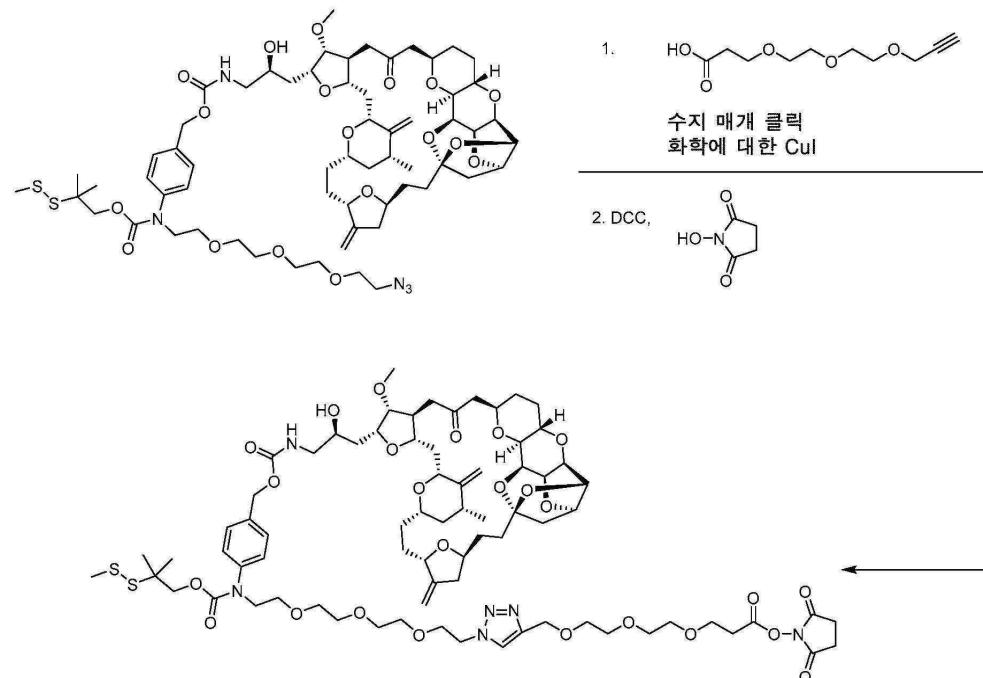
[0558]

tert-부탄올 (1.5 mL) 및 물 (0.5 mL)내 아자이드 (9.0 mg, 7.151 μmol) 및 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)-N-(3,6,9,12-테트라옥사펜타텍-14-인-1-일)프로판아미드 (6.8 mg, 0.018 mmol)의 A 혼합물은 45 분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 10 mg)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30 분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었고, UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 혼합물은 그 다음 수지로부터 분리되었고, HPLC (0.05 % 포름산이 있는 아세토니트릴/물)에서 정제되어 1.5 mg의 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001237504)를 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 7.74 (s, 1 H), 7.32 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.27-7.25 (m, 2 H), 6.69 (br s, 2 H), 5.43 (dd, 1 H, J = 5.6, 5.6 Hz), 5.14-5.06 (m, 3

H), 4.95 (s, 1 H), 4.89 (s, 1 H), 4.82 (s, 1 H), 4.70 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.66 (s, 2 H), 4.62 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.52(dd, 1 H, $J = 5.2, 5.2$ Hz), 4.38-4.31 (m, 2 H), 4.30 (ddd, 1 H, $J = 10.4, 4.0, 4.0$ Hz), 4.20 (dd, 1 H, $J = 6.4, 4.4$ Hz), 4.16-4.05 (m, 3 H), 4.04 (dd, 1 H, $J = 6.4, 4.4$ Hz), 3.99-3.91 (m, 3 H), 3.87-3.80 (m, 6 H), 3.70-3.59 (m, 22 H), 3.53 (dd, 2 H, $J = 5.2, 5.2$ Hz), 3.44 (s, 3 H), 3.43-3.36 (m, 3 H), 3.29 (d, 1 H, $J = 2.8$ Hz), 3.18 (ddd, 1 H, $J = 12.9, 6.2, 6.2$ Hz), 2.92-2.84 (m, 2 H), 2.72 (dd, 1 H, $J = 16.0, 10.0$ Hz), 2.54-2.42 (m, 5 H), 2.37-1.90 (m, 19 H), 1.78-1.52 (m, 3 H), 1.50-1.14 (m, 16 H), 1.10 (d, 3 H, $J = 6.0$ Hz). LCMS (M+H)=1642.1.

[0559]

1.12 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001244129)의 제조

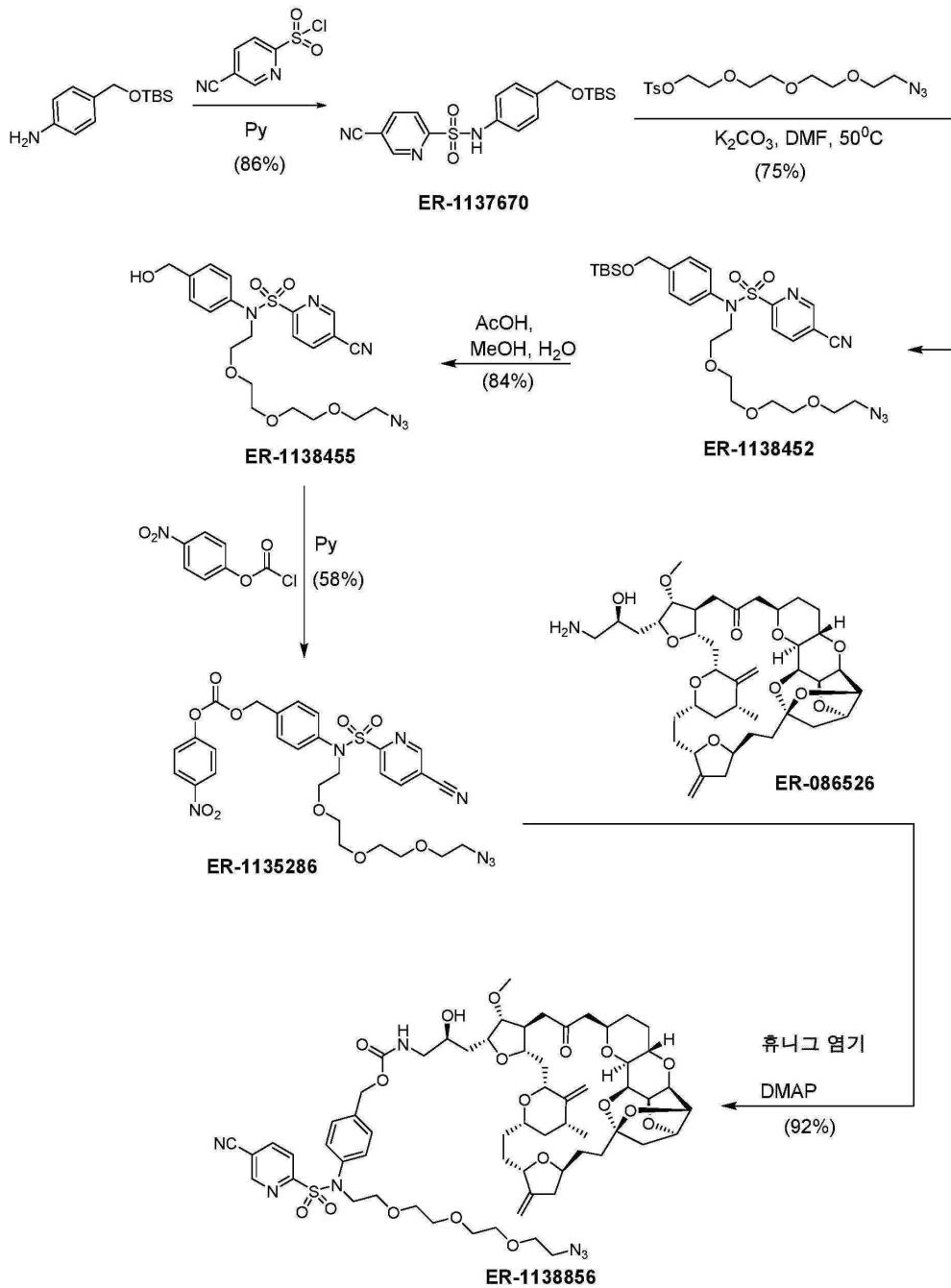


[0560]

[0561]

tert-부탄올 (1 mL) 및 물 (0.5 mL)내 아자이드 (9 mg, 7.151 μmol) 및 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 3-(2-(프로프-2-인-1-일옥시)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (4.5 mg, 14.30 μmol)의 혼합물은 45 분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 10 mg, 7.151 μmol)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30 분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 18 시간 동안 실온 교반되었고, UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 혼합물은 그 다음 여과로 수지로부터 분리되었고, DCM (15 mL)로 추출되었고, 염수 (3 X 3 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되었다. 잔기 (5 mg, 3.39 μmol)은 톨루엔으로 공비중류되었고, THF (1 mL)에 용해되었고, 0 $^{\circ}\text{C}$ 로 냉각되었다. DCC (4.2 mg, 0.02 mmol)은 첨가되었고, 이어서 1-하이드록시피롤리딘-2,5-디온 (2.2 mg, 0.019 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은, UPLC/MS에 의해 결정된 경우, 주요 피크로서 보여주었다. 반응 혼합물은 그 다음 농축되었고 분취형 TLC (DCM/ *i*-프로판올, 8%)로 정제되어 2.5 mg의 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-디설파이드-PAB-에리불린 (ER-001244129)를 무색 오일로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ ppm 7.72 (s, 1 H), 7.32 (d, 2 H, $J = 8.8$ Hz), 7.25 (d, 2 H, $J = 8.8$ Hz), 5.08-5.04 (m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.85 (s, 1 H), 4.78 (s, 1 H), 4.64 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.58 (s, 2 H), 4.55 (dd, 1 H, $J = 4.4, 4.4$ Hz), 4.48 (dd, 2 H, $J = 5.0, 5.0$ Hz), 4.32 (d, 1 H, $J = 6.6$ Hz), 4.27-4.22 (m, 2 H), 4.14 (dd, 1 H, $J = 6.6, 4.8$ Hz), 4.10-4.01 (m, 3 H), 4.00 (dd, 1 H, $J = 6.8, 4.4$ Hz), 3.92-3.78 (m, 9 H), 3.65-3.53 (m, 19 H), 3.44-3.39 (m, 4 H), 3.37 (s, 3 H), 3.26 (d, 1 H, $J = 3.2$ Hz), 3.13 (ddd, 1 H, $J = 12.4, 6.0, 6.0$ Hz), 2.91-2.73 (m, 11 H), 2.70-2.64 (m, 2 H), 2.54-2.41 (m, 3 H), 2.38-1.80 (m, 16 H), 1.74-1.52 (m, 3 H), 1.41-1.13 (m, 10 H), 1.07 (d, 3 H, $J = 6.4$ Hz). LCMS (M+H)=1572.3.

[0562] 1.13 아자이드-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001138856)의 제조



[0563]

[0564]

4-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)아닐린 (315 mg, 1.327 mmol)은 0°C로 냉각된 DCM (10 mL)에 용해되었다. 피리딘 (0.268 mL, 3.317 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 15 분 동안 DCM (10 mL)내 5-시아노피리딘-2-설포닐 클로라이드 (365 mg, 1.801 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 1 시간 동안 실온으로 느리게 가온되었고, 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 EtOAc (50 mL)로 희석되었고, 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 진공 하에 농축되어 610 mg (103%)의 N-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-5-시아노피리딘-2-설폰아미드 (ER-001137670)을 수득하였다. 조 생성물은, 착색되었어도, 적당히 순수하였다. ^1H NMR (400 MHz) δ ppm 8.94 (dd, 1 H, J = 1.8, 0.6 Hz), 8.10 (dd, 1 H, J = 8.4, 2.0 Hz), 7.99 (dd, 1 H, J = 8.0, 0.8 Hz), 7.18 (d, 2 H, J = 8.2 Hz), 7.15 (br s, 1 H), 7.11 (dd, 2 H, J = 6.8, 0.8 Hz), 4.64 (s, 2 H), 0.90 (s, 9 H), 0.05 (s, 6 H).

[0565]

N-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-5-시아노피리딘-2-설폰아미드 (ER-001137670) (105.0 mg, 0.26 mmol) 및 2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸 4-메틸벤젠설포네이트 (143 mg, 0.383 mmol)은 DMF (4 mL)에 용해되었다. 탄산칼륨 (K_2CO_3) (144 mg, 1.041 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 테트라부틸암모늄 아

이오다이드 (19.2 mg, 0.052 mmol)이 첨가되었고, 반응 혼합물은 36 시간 동안 50 °C에서 교반되었다. 반응의 진행은 UPLC/MS로 모니터링되었다. NH₄Cl (10 mL)의 포화된 용액은 첨가되었고, EtOAc/Hep (2:1, 30 mL)로 추출되었고, 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 25% 내지 80%)로 정제되어 118.0 mg의 N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에톡시)에틸)-N-(4-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-5-시아노페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138452) (75%)를 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (dd, 1 H, *J* = 1.8, 0.6 Hz), 8.08 (dd, 1 H, *J* = 8.2, 2.2 Hz), 7.86 (dd, 1 H, *J* = 8.0, 0.8 Hz), 7.24 (d, 2 H, *J* = 10 Hz), 7.09 (d, 2 H, *J* = 8.8 Hz), 4.69 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, *J* = 6.0, 6.0 Hz), 3.67 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz), 3.65 – 3.62 (m, 4 H), 3.58 (dd, 2 H, *J* = 6.2, 6.2 Hz), 3.56 – 3.53 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz), 0.93 (s, 9 H), 0.08 (s, 6 H).

[0566]

N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)-N-(4-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-5-시아노페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138452) (150 mg, 0.248 mmol)은 메탄올 (6 mL)에 용해되었다. 물 (0.60 mL)는 그 다음 첨가되었고, 이어서 아세트산 (AcOH) (0.60 mL, 10.481 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 38 °C로 느리게 가온되었고, 14 시간 동안 교반되었다. 다수의 용매는 진공 하에 제거되었다. 잔기는 EtOAc (30 mL)로 희석되었고, 물 (2 X 5 mL), NaHCO₃, 및 염수로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, 및 진공 하에 농축되었다. 조 물질은 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 35% 내지 90%)로 정제되어 105.0 mg의 N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노-N-(4-(하이드록시메틸)페닐)페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138455) (84%)를 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (d, 1 H, *J* = 1.2 Hz), 8.09 (dd, 1 H, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 7.88 (dd, 1 H, *J* = 8.4, 0.8 Hz), 7.30 (d, 2 H, *J* = 8.8 Hz), 7.15 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 4.67 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, *J* = 6.2, 6.2 Hz), 3.66 (dd, 2 H, *J* = 5.0, 5.0 Hz), 3.65 – 3.58 (m, 6 H), 3.55 – 3.51 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz).

[0567]

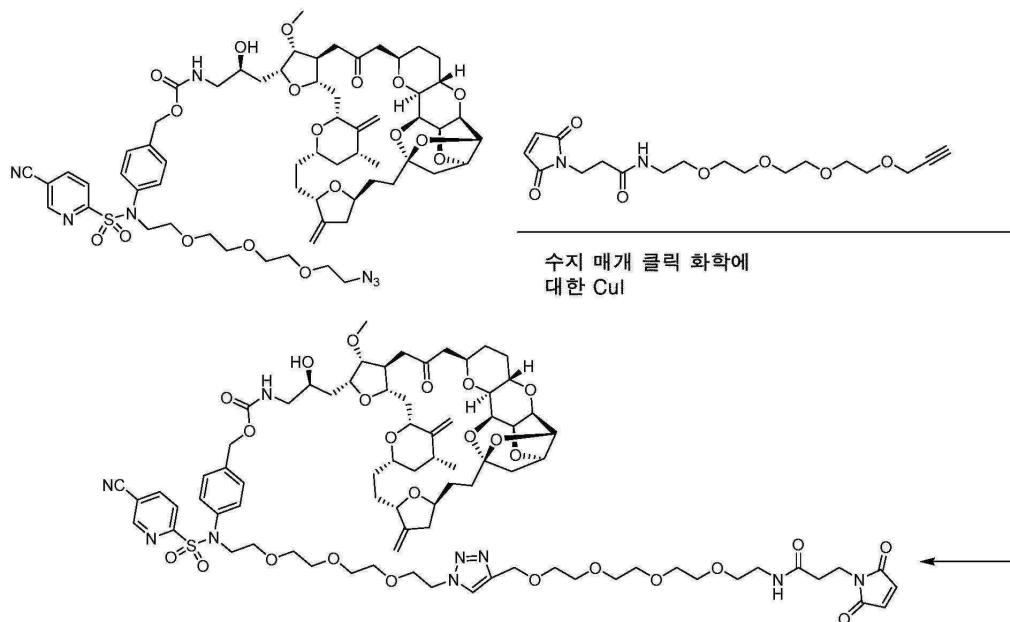
N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노-N-(4-(하이드록시메틸)페닐)페리딘-2-설폰아미드 (ER-001138455) (45 mg, 0.092 mmol)은 DCM (3 mL)에 용해되었고, 페리딘 (0.015 mL, 0.183 mmol)의 첨가 이후 0 °C로 냉각되었다. DCM (2 mL) 및 DMAP (2.3 mg, 0.018 mmol)내 4-나트로페닐 카보노클로리데이트 (20.3 mg, 0.101 mmol)은 그 다음 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온으로 느리게 가온되었고 2 시간 동안 교반되었다. UPLC/MS는 일부 개시 물질이 남아있다는 것을 명시하였다. 반응 혼합물은 그 다음 진공 하에 농축되었고, 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 12% 내지 40%)로 정제되어 35 mg의 4-((N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노페리딘)-2-설폰아미도)벤질 (4-나트로페닐) 카보네이트 (ER-001235286) (58%), 및 20 mg의 개시 물질을 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (d, 1 H, *J* = 0.8 Hz), 8.27 (dd, 2 H, *J* = 9.2, 2.0 Hz), 8.12 (dd, 1 H, *J* = 7.6, 2.0 Hz), 7.92 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.38 (d, 4 H, *J* = 9.6 Hz), 7.26 (d, 2 H, *J* = 8.8 Hz), 5.45 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, *J* = 5.8, 5.8 Hz), 3.67 – 3.58 (m, 8 H), 3.58 – 3.50 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, *J* = 6.1, 6.1 Hz).

[0568]

4-(N-(2-(2-(2-아지도에톡시)에톡시)에틸)-5-시아노페리딘-2-설폰아미도)벤질 (4-나트로페닐) 카보네이트 (ER-001235286) (35.0 mg, 0.053 mmol)은 25-mL 플라스크에서 질소 하에 배치되었고, 0 °C로 냉각되었다. DCM (3 mL, 46.625 mmol) 및 휘니그 염기 (0.037 mL, 0.214 mmol)내 아민 (48.5 mg, 0.059 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 DMAP (2.61 mg, 0.021 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 30분 동안 0 °C에서 교반되었고, 그 다음 추가의 6 시간 동안 실온에서 교반되었다. 반응 혼합물은 진공 하에 농축되었고, 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/Hep 50% 내지 100%, 이어서 MeOH/EtOAc 3% 내지 8%)로 정제되어 61.0 mg의 순수한 아자이드-PEG3-설폰아미드-PAB-에리볼린 (ER-001138856)을 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz) δ ppm 8.98 (d, 1 H, *J* = 1.2 Hz), 8.10 (dd, 1 H, *J* = 8.2, 1.8 Hz), 7.87 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz), 7.26 (d, 2 H, *J* = 6.8 Hz), 7.13 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 5.29 (dd, 1 H, *J* = 5.6, 5.6 Hz), 5.08–5.00 (m, 3 H), 4.92 (s, 1 H), 4.87 (s, 1 H), 4.80 (s, 1 H), 4.68 (dd, 1 H, *J* = 4.6, 4.6 Hz), 4.59 (dd, 1 H, *J* = 4.6, 4.6 Hz), 4.38–4.30 (m, 2 H), 4.28 (ddd, 1 H, *J* = 10.4, 4.0, 4.0, Hz), 4.17 (dd, 1 H, *J* = 6.2, 4.6 Hz), 4.13–4.01 (m, 4 H), 3.97–3.88 (m, 3 H), 3.82–3.78 (m, 1 H), 3.67–3.50 (m, 15 H), 3.41 (s, 3 H), 3.40–3.33 (m, 1 H), 3.37 (dd, 2 H, *J* = 4.8, 4.8 Hz), 3.27 (d, 1 H, *J* = 3.2 Hz), 3.15 (ddd, 1 H, *J* = 12.8, 6.4, 6.4 Hz), 2.90–2.82 (m, 2 H), 2.70 (dd, 1 H, *J* = 16.0, 10.0 Hz), 2.51–2.40 (m, 3 H), 2.34–2.13 (m, 7 H), 2.10–2.05 (m, 1 H), 1.99–1.88 (m, 4 H), 1.78–1.64 (m, 5 H), 1.62–1.52 (m, 2 H), 1.50–1.29 (m, 4 H), 1.08 (d, 3 H, *J* = 6.8 Hz).

[0569]

1.14 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001237505)의 제조

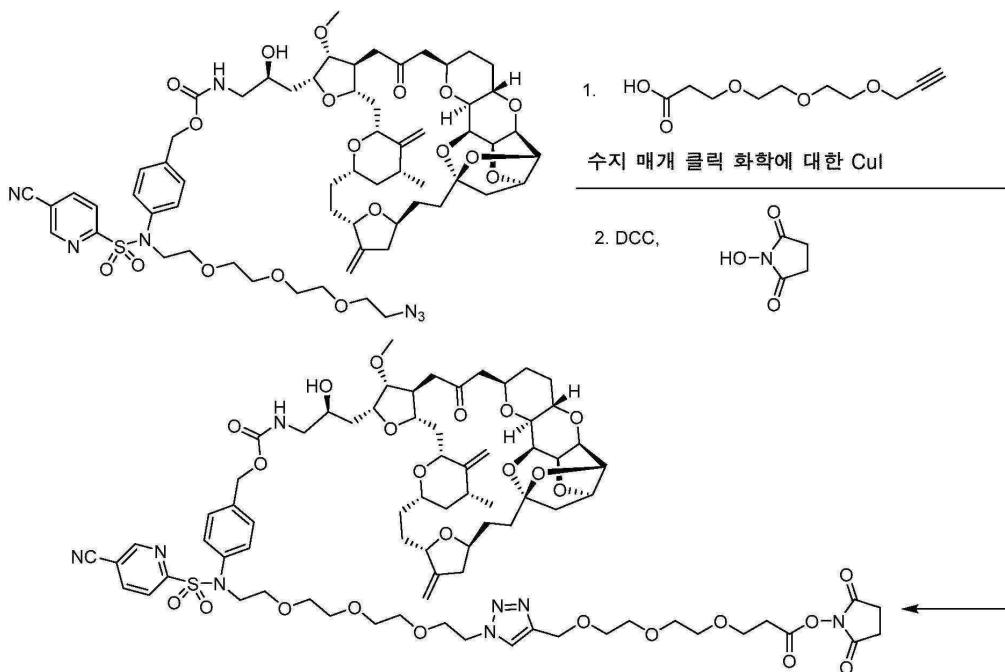


[0570]

[0571]

tert-부탄올 (2.1 mL) 및 물 (0.7 mL)내에 아자이드 (10 mg, 8.023 μ mol) 및 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)-N-(3,6,9,12-테트라옥사펜타텍-14-인-1-일)프로판아미드 (9.20 mg, 0.024 mmol)의 혼합물은 45분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 15 mg)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18시간 동안 교반되었고, UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 반응 혼합물은 그 다음 수지로부터 분리되었고 분취형 TLC (DCM/메탄올, 7%)로 정제되어 5.5 mg의 Mal-PEG4-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001237505)를 수득하였다. 1 H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 9.01 (s, 1 H), 8.15 (dd, 1 H, *J* = 8.0, 1.8 Hz), 7.87 (d, 1 H, *J* = 8.0 Hz), 7.75 (s, 1 H), 7.28 (d, 2 H, *J* = 8.0 Hz), 7.14 (d, 2 H, *J* = 8.4 Hz), 6.68 (s, 2 H), 6.47 (br s, 1 H), 5.44 (br s, 1 H), 5.10-5.02 (m, 3 H), 4.94 (s, 1 H), 4.86 (s, 1 H), 4.80 (s, 1 H), 4.68 (dd, 1 H, *J* = 4.4, 4.4 Hz), 4.59 (s, 2 H), 4.56 (dd, 1 H, *J* = 4.4, 4.4 Hz), 4.51 (dd, 2 H, *J* = 5.2, 5.2 Hz), 4.34 (d, 1 H, *J* = 7.6, Hz), 4.30-4.23 (m, 2 H), 4.19 - 4.14 (m, 2 H), 4.08 (dd, 1 H, *J* = 4.0, 4.0 Hz), 4.03 - 3.98 (m, 2 H), 3.94 - 3.72 (m, 8 H), 3.68 - 3.46 (m, 28 H), 3.38 (s, 3 H), 3.38 - 3.33 (m, 3 H), 3.27 (d, 1 H, *J* = 3.2 Hz), 3.16 - 3.02 (m, 2 H), 2.90 - 2.81 (m, 2 H), 2.68 (dd, 1 H, *J* = 16.2, 9.8 Hz), 2.54-2.40 (m, 7H), 2.40-1.8 (m, 11 H), 1.80-1.50 (m, 3 H), 1.48-1.25 (m, 3 H), 1.09 (d, 3 H, *J* = 6.4 Hz). LCMS (M+H)=1630.0.

[0572] 1.15 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001244623)의 제조



[0573]

[0574]

tert-부탄올 (2 mL) 및 물 (1 mL)내 아자이드 (14 mg, 0.011 mmol) 및 2,5-디옥소파롤리딘-1-일 3-(2-(프로프-2-인-1-일옥시)에톡시)에톡시)프로파노에이트 (8.80 mg, 0.028 mmol)의 A 혼합물은 45 분 동안 탈기되었다. 앰버리스트-21상의 요오드화구리 (1.23 mmol/g, 20 mg)은 그 다음 첨가되었고, 추가의 30 분 동안 탈기되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었다. UPLC/MS로 모니터링되었다. 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물은 주요 피크로서 보여주었다. 반응 혼합물은 그 다음 수지로부터 DCM (2 x 10 mL)로 추출에 의해 분리되었다. DCM 층은 염수 (4 x 5 mL)로 세정되었고, 황산나트륨 상에서 건조되었고, (다음 단계에서 임의의 추가 정제없이 사용되었던) 원하는 생성물로 농축되었다.

[0575]

미정제 산 (15.0 mg, 10.255 μ mol)은 THF (1.5 mL)에 용해되었고, 0 °C로 냉각되었다. DCC (15.2 mg, 0.074 mmol)은 그 다음 첨가되었고, 이어서 1-하이드록시파롤리딘-2,5-디온 (8.3 mg, 0.072 mmol)이 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 18 시간 동안 교반되었다. UPLC/MS는 다수의 개시 물질은 소비되었고, 원하는 생성물이 주요 피크로서 보여주었다는 것을 명시하였다. 반응 혼합물은 농축되었고, 분취형 TLC (DCM / i-프로판올, 8%)로 정제되어 2.5 mg의 NHS-PEG3-트리아졸-PEG3-설폰아미드-PAB-에리불린 (ER-001244623)을 수득하였다. 1 H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ ppm 9.00 (s, 1 H), 8.12 (d, 1 H, J = 8.4 Hz), 8.00 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.72 (s, 1 H), 7.26 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.12 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 5.37 (br s, 1 H), 5.08-5.02 (m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.85 (s, 1 H), 4.78 (s, 1 H), 4.66-4.62 (m, 1 H), 4.58-4.56 (m, 4 H), 4.33 (d, 1 H, J = 10.8 Hz), 4.29-4.21 (m, 2 H), 4.10-3.96 (m, 4 H), 3.93-3.76 (m, 6 H), 3.74-3.44 (m, 27 H), 3.36 (s, 3 H), 3.34-3.24 (m, 2 H), 3.15-3.06 (m, 1 H), 2.97 (br s, 1 H), 2.90-2.78 (m, 8 H), 2.74-2.08 (m, 13 H), 2.05-1.78 (m, 5 H), 1.73-1.50 (m, 2 H), 1.41-1.25 (m, 4 H), 1.07 (d, 3 H, J = 6.0 Hz). LCMS ($M+H$)=1560.0.

[0576]

1.16 Mal-PEG2-에리불린의 제조

[0577]

에리불린 (5 mg, 7 μ mol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 말레이미도-PEG2-NHS (5 mg, 14 μ mol; Broadpharm, Cat No. BP-21680) 및 휘니그 염기 (2.4 μ L, 14 μ mol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로 정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 3.7 mg (3.8 μ mol, 54%)이었다. 예상된 정확한 질량은 968.5 Da이었다. 측정된 질량은 969.6 Da [$M+H$]이었다.

[0578]

1.17 Mal-PEG4-에리불린의 제조

[0579]

에리불린 (5 mg, 7 μ mol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 말레이미도-PEG4-NHS (6.2 mg, 14 μ mol; Broadpharm, Cat No. BP-20554) 및 휘니그 염기 (2.4 μ L, 14 μ mol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로

정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 3.7 mg (3.5 μmol , 50%)이었다. 예상된 정확한 질량은 1056.5 Da이었다. 측정된 질량은 1057.7 Da [M+H]이었다.

1.18 아지도-PEG2-에리불린의 제조

에리불린 (5 mg, 7 μmol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 아지도-PEG2-NHS (4.2 mg, 14 μmol ; Broadpharm, Cat No. BP-20524) 및 휘니그 염기 (2.4 μL , 14 μmol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로 정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 2.2 mg (2.4 μmol , 34%)이었다. 예상된 정확한 질량은 914.5 Da이었다. 측정된 질량은 915.7 Da [M+H]이었다.

1.19 아지도-PEG4-에리불린의 제조

에리불린 (5 mg, 7 μmol)은 DMF (0.5 mL)에 용해되었고, 아지도-PEG4-NHS (5.5 mg, 14 μmol ; Broadpharm, Cat No. BP-20518) 및 휘니그 염기 (2.4 μL , 14 μmol)과 혼합되었다. 반응 혼합물은 실온에서 2 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 30-70%)로 정제되었다. 용출물은 질량 기준으로 수집되었고, 동결건조되었다. 최종 수율은 3.0 mg (3.0 μmol , 43%)이었다. 예상된 정확한 질량은 1002.5 Da이었다. 측정된 질량은 1003.7 Da [M+H]이었다.

1.20 아지도-PEG4-Val-Cit-PAB-에리불린의 제조

에리불린 (15 mg, 21 μmol)은 DMF (1.5 mL)에 용해되었고, 양호하게 혼합되었다. 휘니그 염기 (5.5 μL , 32 μmol) 및 Fmoc-VCP-PNP (24 mg, 22 μmol ; Levena Biopharma, Cat No. VC1003)은 그 다음 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 밤새 (16 시간) 교반되었다. 반응의 완료시, 디에틸아민 (20 μL , 0.21 mmol)은 반응 혼합물에 첨가되었고, 2 시간 동안 실온에서 교반되어 Fmoc 보호기를 제거하였다. 탈보호 반응은 Waters SQD 질량 분광분석기를 사용하여 모니터링되었다. 반응의 완료시, 반응 혼합물은 사전-칭량된 1.5mL 마이크로원심관에 전달되었다. 용매는 30 °C에서 셋팅된 온도를 가진 냉장된 Centrivap 농축기를 사용하여 진공 하에 증발되었다. 수율은 16 mg (14 μmol)의 미정제 NH2-Val-Cit-pAB-에리불린 (정확한 질량 1134.6 Da, 67% 수율)이었다.

NH2-Val-Cit-pAB-에리불린 (16 mg, 14.1 μmol)은 DMF (1.5 mL)에 용해되었다. 휘니그 염기 (7.2 μL , 41 μmol) 및 아지도-PEG4-NHS (11 mg, 28.2 μmol)은 그 다음 첨가되었다. 반응 혼합물은 실온에서 3 시간 동안 교반되었다. 반응 혼합물은 그 다음 HPLC (0.1% 포름산을 함유하는 물-아세토니트릴 구배 48-72%)로 정제되었다. 용출물은 *m/z* 1409에서 수집되었고, 동결건조되어 아지도-PEG4-Val-Cit-PAB-에리불린 (정확한 질량 1407.7 Da)를 제공하였다. 13 mg (9.2 μmol)의 아지도-PEG4-Val-Cit-PAB-에리불린은 수득되었다 (65% 단계 수율, 44% 전체).

실시예 4

1. 물질 및 방법

사용된 모든 시약은, 달리 나타내지 않는 한, 연구-등급 이상에서 상업적 공급자로부터 수득되었다.

1.1 항체

하기 연구에서 사용된 MORAb-003 (인간화된 항-인간 폴레이트 수용체 알파, 25 mg/mL) 및 MORAb-009 (마우스-인간 키메라 항-인간 메소텔린, 25 mg/mL)는 Lot #NB02962-19 및 Lot #030A14, 각각 출신이었다. 트라스투주맙은 상업적으로 수득되었고 (Clingen), 및 Lot #503345 출신이었다.

LCcys80 (표 1)에서 짹짓기되지 않은 시스테인을 갖는 토키-인간 키메라 및 인간화된 항-인간 메소텔린 항체는 일시적으로 293F 세포에서 또는 안정적으로-선택된 풀로서 발현되었다. 조건화된 배지는 정제되었고 섹션 1.4.1.2.1에서 기재된 바와 같이 테시스테이닐화되었다.

1.2 세포독소

콘주게이션가능한 에리불린 화합물은 실시예 3에서 기재된 바와 같이 합성되었다 (표 46). 스톡 (10 mM)은 DMSO에서 제조되었고 사용까지 -20 °C에서 저장되었다.

1.3 종양 세포주

말레이미도/석신이미드 (OSu)/아지도-링커-에리불린 화합물로 제조된 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙

ADCs의 분석에서 사용된 인간 종양 세포주 (표 46)은 하기를 포함한다: IGROV1 (인간 난소 암종, FR^{hi}, MSLN^{neg}), NCI-H2110 (인간 비-소 세포 폐 암종, FR^{med}, MSLN^{med}), A431 (FR^{neg}, MSLN^{neg}), NCI-N87-luc (인간 위 암종, FR^{lo}, MSLN^{med}, her2^{hi}), NUGC3 (인간 위 선암종, FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{neg}), ZR75 (인간 유방 관 암종, FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{med}), 및 BT-474 (인간 유방 관 암종, FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{hi}). MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)로 콘주케이션된 토끼-인간 키메라 및 인간화된 항-인간 메소텔린 LCcys80 항체의 분석에서 사용된 인간 종양 세포주는 하기이었다: A3 (인간 메소텔린, MSLN^{hi}로 안정적으로 형질감염된 A431), OVCAR3 (인간 난소 암종, MSLN^{hi}), HEC-251 (인간 자궁내막, MSLN^{med}), H226 (인간 폐 편평상피 세포 종피종, MSLN^{lo}), 및 A431 친계 (MSLN^{neg}). 사용된 모든 세포주는 미국 종균 협회 (ATCC)로부터 직접적으로 수득되었고, (허가 받은, 국립 암 연구소로부터 수득된) IGROV1 및 (친계 A431로부터 Morphotek에서 생성된) A3은 예외이었다.

[0597]

1.4 항체-약물 콘주케이션

[0598]

1.4.1 말레이이미드를 사용하는 시스테인-기반된 콘주케이션

[0599]

1.4.1.1 쇄간 디설파이드에 대한 콘주케이션

[0600]

1.4.1.1.1 부분적인 환원

[0601]

MORAb-003 및 MORAb-009는 둘째코 포스페이트-완충 식염수 (DPBS)에 완충액-교환되었고, 그 다음 원심 농축을 사용하여 20 mg/mL로 농축되었다. 2 mM EDTA와 1X DPBS내 270 μ M 트리스(2-카복시에틸)포스핀 (TCEP)의 동일 용적은 첨가되었고, 환원은 80 분 동안 실온에서 부드러운 혼합에 의해 수행되었다. 트라스투주맙은, 환원이 40 분 동안 실온에서 부드러운 혼합에 의해 수행되는 것을 제외하고, 유사한 방식으로 부분적으로-환원되었다.

[0602]

1.4.1.1.2 콘주케이션

[0603]

(DMSO내) 말레이이미도-링커-에리불린 화합물은 1:6 (mAb:화합물)의 몰비로 부분적으로 환원된 항체에 콘주케이션 되었다. 화합물은 DPBS내 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 양호하게 혼합되었다. 부분적으로-환원된 항체의 동일 용적은 그 다음 첨가되었고, 및 부드럽게 혼합되었다 (최종 프로필렌 글리콜 농도 25%). 콘주케이션은 3.5 내지 4 시간 동안 실온에서 진행되었다.

[0604]

1.4.1.2 LCcys80에 대한 콘주케이션

[0605]

1.4.1.2.1 데시스테이닐화

[0606]

AKTA Explorer (GE Healthcare)를 사용하여, 단백질 A 칼럼 (GE Healthcare)은 10 칼럼 용적 (CV)의 20 mM 인산나트륨, 10 mM EDTA, pH 7.2 (평형 완충액)으로 평형화되었다. 조건화된 배지는 그 다음 장입되었고, 이어서 10 CV의 평형 완충액으로 미결합된 물질이 세정되었다. 칼럼은 16 시간 동안 0.5 mL/min에서 16 CV의 20 mM 인산나트륨, 10 mM EDTA, 5 mM 시스테인, pH 7.2로 세정되어 캡핑 기를 제거하였다. 칼럼은 그 다음 60 시간 동안 0.5 mL/min에서 60 CV의 20 mM Tris, pH 7.5로 세정되었다. 데시스테이닐화된 항체는 5 CV의 0.1 M 글리신, pH 2.9를 사용하여 용출되었고 5% 용적의 2 M Tris, pH 9.0을 사용하여 즉시 중화되었다. 항체를 함유하는 분획은 풀링되었고 MWCO 20K Slide-A-Lyzer (Thermo Fisher)를 사용하여 DPBS에서 투석되었다.

[0607]

1.4.1.2.2 콘주케이션

[0608]

데시스테이닐화된 항체는 DPBS, 1 mM EDTA내 5.0 mg/mL가 되었고, 50% 프로필렌 글리콜은 DPBS, 1mM EDTA에서 제조되었다. MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569) (DMSO내 12 mM)은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 데시스테이닐화된 항체의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 첨가되었고, 부드럽게 혼합되었다. 콘주케이션은 3.5 내지 4 시간 동안 실온에서 진행되었다.

[0609]

1.4.2 석신이미드를 사용하는 아민-기반 콘주케이션

[0610]

1.4.2.1 콘주케이션

[0611]

항체 (MORAb-003 또는 MORAb-009, 비-환원됨)은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3내 10.0 mg/mL가 되었다. 50% 프로필렌 글리콜은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3에서 제조되었다. (DMSO내) 석신이미드 (OSu)-링커-에리불린은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 항체의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 첨가되었고, 철저하게 혼합되었다. 콘주케이션은 1 시간 동안 실온에서 진행되었다. 콘주케이션 반응은 1 M

Tris, pH 8.0의 1:20 용적의 첨가로 켄칭되었고, ADC는 섹션 1.4.4에서 기재된 바와 같이 정제되었다.

[0612] 1.4.3 균주-촉진된 알킬-아자이드 화학 (SPAAC)를 사용하는 2-단계 아민-기반 콘주게이션

[0613] 1.4.3.1 디벤질사이클로옥坦 (DBCO) 유도체화

항체 (MORAb-003 또는 MORAb-009, 비-환원됨)은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3내 10.0 mg/mL가 되었다. 50% 프로필렌 글리콜은 0.1 M 중탄산나트륨, pH 8.3에서 제조되었다. NHS-PEG₄-DBCO (Click Chemistry Tools, DMSO내 50 mM)은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. 항체의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 첨가되었고, 철저하게 혼합되었다. 콘주게이션은 1 시간 동안 실온에서 진행되었다. 미반응된 NHS-PEG₄-DBCO는, 섹션 1.4.4에서 기재된 바와 같이, 제거되었다.

[0615] 1.4.3.2 콘주게이션

50% 프로필렌 글리콜은 DPBS에서 제조되었다. 아지도-링커-에리불린 화합물은 50% 프로필렌 글리콜에 첨가되었고 철저하게 혼합되었다. DBCO-변형된 MORAb-003 또는 MORAb-009의 동일 용적은 그 다음 1:4 (mAb:화합물)의 몰비에서 혼합물에 첨가되었고, 철저하게 혼합되었다. SPAAC 콘주게이션은 실온에서 밤새 진행하게 되었다. 미반응된 NHS-PEG₄-DBCO는, 섹션 1.4.4에서 기재된 바와 같이, 제거되었다.

[0617] 1.1.4 정제

[0618] 콘주게이션된 항체는 HiTrap 탈염 칼럼(들) (GE Healthcare)를 사용하여 정제되었다. 크로마토그래피는, 말레이미도/OSu/아지도-링커-에리불린 및 프로필렌 글리콜을 제거하기 위해, 작동 완충제로서 1X DPBS를 사용하여, 고속 단백질 액체 크로마토가피 (FPLC) (GE Healthcare)에서 수행되었다. 최종 단백질 함량은, 실시에 1의 섹션 1.3.1에서 기재된 바와 같이, BCA 검정에 의해 결정되었다.

[0619] 1.5 생체물리학적 특성규명

[0620] 1.5.1 SEC-HPLC 분석

[0621] ADCs의 응집은 Agilent 1260 HPLC를 사용하여 크기-배제, 고-성능 액체 크로마토그래피 (SEC-HPLC)로 분석되었다. ADC는 DPBS내 1 mg/mL로 희석되었다. ADC (10 μL)는 그 다음 Advanced SEC 300A 가드 칼럼 (4.6 mm x 3.5 cm, 2.7 μm 기공 크기, Agilent), 이어서 AdvancedBio 300A 칼럼 (4.6 mm x 30 cm, 2.7 μm 기공 크기)에 주사되었다. ADC는 28 분 동안 0.25 mL/min의 유량에서 0.15 M NaCl 및 5% IPA, pH 7.4를 함유하는 0.1 M 인산나트륨을 가진 칼럼으로부터 용출되었다. 모든 데이터는 Agilent ChemStation 소프트웨어를 사용하여 분석되었다. 퍼센트 응집은 하기로서 계산되었다: [PA_{응집물}/PA_총]*100, 여기에서 PA = 통합된 피크 면적.

[0622] 1.5.2 약물-대-항체 비 (DAR)의 HIC-HPLC 분석

[0623] DAR은 소수성 상호작용 HPLC (HIC-HPLC)를 사용하여 분석되었다. 샘플은 TSKgel® 부틸-NP5, 4.6 mm ID x 3.5 cm, 2.5 μM 비다공성 크기 칼럼 (Tosoh Bioscience)에 주사되었고, 이동상 A의 100%에서 3 분 평형, 15 분 구배 (0-100% B), 100% B에서 5 분 유지, 100% A로 1 분 변화, 및 0.7 mL/min에서 이동상 A의 100%에서 5 분 재-평형으로 용출되었다. 이동상 A는 25 mM 인산나트륨, 1.5 M 황산암모늄, pH 7.0이었다. 이동상 B는 25 mM 인산나트륨, 25% 이소프로판올, pH 7.0이었다. 검출은 280 nm (참조 320 nm)에서 수행되었다. DAR은 하기 식에 의해 결정되었다:

$$[\text{AUC}_{+1} + 2(\text{AUC}_{+2}) + 3(\text{AUC}_{+3}) + \dots + n(\text{AUC}_{+n})] / \Sigma \text{AUC}_{\text{tot}}$$

[0625] 여기에서 AUC₊₁은 1 세포독소로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 항체 피크에 대하여 곡선하 면적이고, AUC₊₂는 2 세포독소, 등으로 콘주게이션된 ADC에 상응하는 항체 피크에 대하여 곡선하 면적이다. ΣAUC_{tot}는 모든 피크에 대하여 조합된 곡선하 면적이다.

[0626] 1.5.3 LC-MS DAR 분석

[0627] DAR은 SQD/PDA 검출과 Waters Alliance HPLC를 가진 LC-MS 방법을 사용하여 또한 분석되었다. 샘플은 65° C에서 Proteomix RP-1000 칼럼 (5 μM, 1000A, 4.6 mm x 15 cm, Sepax)에 주사되었고, 25%B에서 3 분 평형, 25%-55%B로부터 27 분 선형 구배, 55%B에서 5 분 유지, 90%B로 1 분 변화, 90%B에서 5 분 유지, 25%B로 1 분 역 변화, 및 25%B에서 5 분 재평형으로 용출되었다. 이동상 A는 물내 0.1% TFA이었고, 이동상 B는 아세토니트릴내

0.1% TFA이었다. 용출물은 그 다음 PDA 및 SQD 검출기 속으로 갈라졌다(10:1). SQD 검출기는 ES 양성, 3.2 kV에서 모세관 전압, 40 V에서 콘 전압, 3 V에서 추출기, 및 0.2 V에서 RF 렌즈, 150 °C에서 공급원 온도, 및 250 °C에서 탈용매화 온도로서 셋업되었다. 질량 데이터는 40 분 동안 연속체 방식, 스캔 시간 1 초로 200-2000m/z에서 획득되었다. 데이터는 분석되었고 MassLynx 및 MaxEnt 1을 사용하여 오프라인 디콘볼류션되었다. DAR은 하기 식을 사용하여 계산되었다:

$$[0628] 2[\text{AUC}_{\text{LC}+1} + 2(\text{AUC}_{\text{LC}+2}) + 3(\text{AUC}_{\text{LC}+3}) + \dots + n(\text{AUC}_{\text{LC}+n})] / \sum \text{AUC}_{\text{LC} \text{tot}}] +$$

$$[0629] 2[\text{AUC}_{\text{HC}+1} + 2(\text{AUC}_{\text{HC}+2}) + 3(\text{AUC}_{\text{HC}+3}) + \dots + n(\text{AUC}_{\text{HC}+n})] / \sum \text{AUC}_{\text{HC} \text{tot}}]$$

[0630] 여기에서 $\text{AUC}_{\text{LC}+1}$ 은 1 세포독소로 콘주게이션된 경쇄 피크의 곡선하 면적이고, $\text{AUC}_{\text{LC}+2}$ 는 2 세포독소, 등으로 콘 주게이션된 경쇄 피크의 곡선하 면적이다. AUC_{HC} 는 상응하는 중쇄의 곡선하 면적이고, $\sum \text{AUC}_{\text{LC} \text{tot}}$ 및 $\sum \text{AUC}_{\text{HC} \text{tot}}$ 는 모든 미콘주게이션된 및 콘주게이션된 경쇄 및 중쇄, 각각의 조합된 곡선하 면적이다.

1.5.4 LCcys80 ADCs의 UPLC/ESI-MS DAR 분석

[0632] ADC (1 mg/mL)는 20 mM의 최종 농도로 DTT 첨가, 이어서 60 °C에서 3 분 동안 인큐베이션에 의해 환원되었다. 샘플은 그 다음 Waters Acquity 초고성능 액체 크로마토그래피 및 Q-Tof Premier 질량 분광분석기를 사용하여 분석되었다. 샘플 (0.5-2 μg 각각)은, 0.05 mL/min에서, 이동상 A의 95%에서 5 분 평형, 10 분 구배 (5-90% B), 및 이동상 A의 95%에서 10 분 재-평형을 가진 칼럼으로부터 용출된, 65° C에서 MassPrep 마이크로 탈염 칼럼에 주사되었다. 이동상 A는 물내 0.1% 포름산이었다. 이동상 B는 아세토니트릴내 0.1% 포름산이었다. Q-Tof 질량 분광분석기는 500-4000 m/z의 범위에서 검출하는 양이온, V-방식에서 운영되었다. 공급원 파라미터는 아래와 같았다: 모세관 전압, 2.25 kV (온전한 항체)-2.50 kV (환원된 항체); 샘플링 콘 전압, 65.0 V (온전한 항체) 또는 50.0 V (환원된 항체); 공급원 온도, 105 °C; 탈용매화 온도, 250 °C; 탈용매화 가스 흐름, 550 L/hr. 경쇄 단백질 피크는 MassLynx MaxEnt 1 기능을 사용하여 디콘볼류션되었다. 미콘주게이션된 및 단독으로-콘주게이션된 경쇄 질량의 상대 강도는 하기 식을 사용하여 전반적인 DAR을 계산하는데 사용되었다:

$$[0633] 2[\text{LC}_{+1} / \sum \text{LC}_{\text{tot}}]$$

[0634] 여기에서 LC_{+1} 은 1 세포독소로 콘주게이션된 경쇄의 질량 강도이고, $\sum \text{LC}_{\text{tot}}$ 는 미콘주게이션된 및 콘주게이션된 경쇄의 조합된 강도이다.

1.6 결합 특성규명

1.6.1 BIACore

[0635] 항체 농도는 HBS-P+ 완충액 (GE Healthcare)에서 2 μg/mL로 조정되었다. 미변형된 항체, 또는 ADCs는 10 μL/min의 유량에서 1 분 동안 BIACore T100 (GE Healthcare)에서 항-인간 IgG 센서에 대해 주사되었다. 포착된 항체에 항원 회합을 기록하기 위해, 항원의 일련의 증가하는 농도는 30 μL/min의 유량에서 300 초 동안 주사되었다. 항-메소텔린 항체에 대하여, 농도의 범위는 10 nM - 0.041 nM이었다. MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs에 대하여, 농도의 범위는 100 nM - 0.41 nM이었다. 항원의 해리는 30분 동안 동일한 유량에서 모니터링되었다. 센서 표면은 30 μL/min의 유량에서 2 x 30 초 동안 3 M MgCl₂ 주사에 의해 재생되었다. Sensogram은 1:1 랑류어 결합 모델을 사용하여 BIACore T100 평가 소프트웨어로 분석되었다.

1.6.2 ELISA - 플레이트 수용체 알파

[0636] 재조합 인간 폴레이트 수용체 알파는 코팅 완충액 (50 mM 카보네이트-바이카보네이트 완충액, pH 9.6)에서 115 ng/mL로 회석되었고, 4° C에서, 밤새 96-웰 Maxisorp 흑색 플레이트 (Thermo, Cat No. 43711, 100 μL/웰)에 코팅되었다. 코팅 용액은 폐기되었고 플레이트는 0.05% Tween-20 (PBST) 완충액과 1X PBS를 사용하여 3회 세정되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 동안 실온에서 300 μL 차단 완충액 (PBST내 1% BSA)에서 차단되었다. MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs는 차단 완충액에서 1000 ng/mL로 회석되었고, 그 다음 2-배 연속으로-회석되어 1000 ng/mL 내지 0.98 ng/mL의 범위를 수득하였다. 차단 완충액은 폐기되었고 100 μL/웰의 회석된 항체는 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 실온에서 인큐베이션되었다. 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μL/웰의 염소-항-인간 IgG (H+L)-HRP (차단 완충액내 1:10,000 회석) 용액은 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 회전식 진탕기에서 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 2차 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μL/웰의 Quantablu

플루오로제닉 폐록시다아제 기질 작업 용액 (Thermo, Cat No. 15169)는 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 30분 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 형광은 SpectraMax M5 (Molecular Devices)를 사용하여 여기 325 nm/방출 420 nm에서 판독되었다. 데이터는 4-파라미터 적합화를 가진 SoftMaxPro 5.4.2 소프트웨어를 사용하여 분석되었다.

[0640] 1.6.3 ELISA - 메소텔린

[0641] 재조합 인간 메소텔린은 코팅 완충액 (50 mM 카보네이트-바이카보네이트 완충액, pH 9.6)에서 1 μ g/mL로 희석되었고, 4 ° C에서, 밤새 96-웰 Maxisorp 흑색 플레이트 (Thermo, Cat No. 43711, 100 μ L/웰)에 코팅되었다. 코팅 용액은 폐기되었고 플레이트는 0.05% Tween-20 (PBST) 완충액과 1X PBS를 사용하여 3회 세정되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 동안 실온에서 300 μ L 차단 완충액 (PBST내 1% BSA)에서 차단되었다. MORAb009 및 MORAb-009 ADCs는 차단 완충액에서 1000 ng/mL로 희석되었고, 그 다음 2.5-배 연속으로-희석되어 1000 ng/mL 내지 0.105 ng/mL의 범위를 수득하였다. 차단 완충액은 폐기되었고 100 μ L/웰의 희석된 항체는 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 회전식 진탕기에서 2 시간 실온에서 인큐베이션되었다. 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μ L/웰의 염소-항-인간 IgG (H+L)-HRP (차단 완충액내 1:10,000 희석) 용액은 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 회전식 진탕기에서 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 2차 항체 용액은 폐기되었고 플레이트는 PBST를 사용하여 3회 세정되었다. 100 μ L/웰의 QuantaBlu 플루오로제닉 폐록시다아제 기질 작업 용액 (Thermo, Cat No. 15169)는 플레이트에 첨가되었고, 플레이트는 30분 동안 실온에서 인큐베이션되었다. 형광은 SpectraMax M5 (Molecular Devices)를 사용하여 여기 325 nm/방출 420 nm에서 판독되었다. 데이터는 4-파라미터 적합화를 가진 SoftMaxPro 5.4.2 소프트웨어를 사용하여 분석되었다.

[0642] 1.7 세포독성 분석

[0643] 1.7.1 크리스탈 바이올렛 검정

[0644] IGROV1 (FR^{hi} , $MSLN^{neg}$), NCI-H2110 (FR^{med} , $MSLN^{med}$), 및 A431 (FR^{neg} , $MSLN^{neg}$) 세포는, 37 ° C, 5% CO_2 에서 밤새 (16 시간) 인큐베이션된, 96 웰 조직 배양 플레이트내 완전한 성장 배지에서 5,000 세포/웰로 씨딩되었고 하위-배양되었다. 시험 시약은, 200 nM (10 희석 총)에서 시작하는, 2 mL 딥-웰 희석 플레이트에서 1:3 연속 희석되었다. 희석된 샘플 (100 μ L)는 (100 nM에서 시험 샘플의 농도를 시작하는) 세포 플레이트에 첨가되었다. 플레이트는 37 ° C, 5% CO_2 에서 추가의 5 일 동안 인큐베이션되었다. 배지는 그 다음 폐기되었다. 플레이트는 200 μ L DPBS로 1회 세정되었고, 15 분 동안 실온에서 50 μ L의 0.2% 크리스탈 바이올렛 용액으로 염색되었고, 그 다음 수돗물로 광범위하게 세정되었다. 플레이트는 공기-건조되었고, 크리스탈 바이올렛은 200 μ L의 1% SDS 용액으로 용해되었다. 플레이트는 570 nm에서 판독되었다. 데이터는 GraphPad Prism 6을 사용하여 분석되었다.

[0645] 2. 결과

[0646] 2.1 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs의 생체물리학적 특성규명

[0647] MORAb-003 (인간화된 항-인간 폴레이트 수용체 알파), MORAb-009 (마우스-인간 키메라 항-인간 메소텔린), 및 트라스투주맙 (인간화된 항-인간 her2) ADCs는, 하기를 포함하는, 3 콘주게이션 방법 중 하나에 따라 표 46에서 열거된 콘주게이션 가능한 에리불린 화합물을 사용하여 제조되었고:(1) 비-티올 환원제 TCEP를 사용하는 항체 쇄간 디설파이드의 부분적인 환원, 이어서 티올-반응성 말레이미드-스페이서-링커-에리불린 작제물을 사용하는 콘주게이션; (2) 석신이미드 (OSu)-스페이서-링커-에리불린 작제물을 사용하는 항체 리신 잔기에 대한 직접적인 콘주게이션; 및 (3) 2-단계 접근법을 사용하여 항체 리신 잔기에 대한 콘주게이션, 이로써 OSu-PEG4-디벤질사이클로옥틴은 리신 잔기에 먼저 콘주게이션되었고, 그 다음 아지도-스페이서-링커-에리불린 작제물의 직교 콘주게이션은 SPAAC를 사용하여 수행되었다.

[0648] 정제 이후, 모든 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs에 대하여 응집 수준은 SEC-HPLC로 결정되었고 약물-대-항체 비 (DAR)은 역상 LC-MS 및/또는 HIC-HPLC를 사용하여 분석되었다. 모든 말레이미드-기반 ADCs에 대하여 DAR은 양쪽 역상 LC-MS 및 HIC-HPLC를 사용하여 분석되었다. 0.3 미만의 DAR 값에서 차이는 2 방법 사이 전형적으로 관측되었다. 그에 반해서, 리신 잔기를 통한 콘주게이션을 통해 제조된 모든 ADCs에 대하여 DAR이 LC-MS에 의해서만 분석되었던 것은, 이들 ADCs의 고도의 불균질성이 HIC-HPLC에 의해 개별 DAR 종의 해상도를 예방하기 때문이다. 표적 항원에 대한 결합은 또한 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs에 대하여 ELISA를 사용하여 분석되었다. DAR 및 응집 분석의 결과는 각각의 ADC와 나란히 표 47에서 나타난다.

표 47. MORAb-003, MORAb-009, 및 트리스투주맙 ADCs 의 성체물리학적 분석

ADCs	형체	코주개이신 화학	스페이서	질단화학	DAR 분석		SEC-HPLC 분석		항원 결합		
					DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- LC- HPLC)	% Aggr.	% F-F [%]	% Frag.	ELISA, EC ₅₀ ng/mL	ELISA, EC ₅₀ nM
MORAb-003		N/A	N/A	N/A			3.62	96.38	0	6.29	0.04
MORAb-009		N/A	N/A	N/A			0	100	0	42.60	0.28
트리스투주맙		N/A	N/A	N/A			3.52	96.48	0	N/A	N/A
MORAb-003- ER1159569(로트 NB3073- 88L)	MORAb-003	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	3.58	3.91	3.12	96.88	0	22.60	0.15
MORAb-009- ER1159569(로트 NB3073- 88F)	MORAb-009	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	3.63	3.93	3.23	96.77	0	43.70	0.29
MORAb-003- ER1159569(로트 NB3142- 62A)	MORAb-003	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	4.80	4.88	3.21	96.79	0	18.20	0.12
MORAb-009- ER1159569(로트 NB3142- 62D)	MORAb-009	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	4.68	4.57	0.90	99.10	0	33.10	0.22
트리스투주맙-ER1159569		발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	3.10	3.11	1.26	98.74	0	N/A	N/A
MORAb-003-ER1242287	MORAb-003	발레이미드	PEG8	val-cit-pAB	2.31	2.35	18.63	81.37	0	21.50	0.14
MORAb-009-ER1242287	MORAb-009	발레이미드	PEG8	val-cit-pAB	1.13	2.00	11.24	88.76	0	58.60	0.39
MORAb-003-ER1235638	MORAb-003	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	3.65	3.89	3.95	96.05	0	15.30	0.10
MORAb-009-ER1235638	MORAb-009	발레이미드	PEG2	val-cit-pAB	3.99	4.10	4.5	95.5	0	65.60	0.44
MORAb-003-ER1231679	MORAb-003	발레이미드	PEG2	ala-alal-asn-pAB	3.60	3.83	3.09	96.91	0	18.30	0.12
MORAb-009-ER1231679	MORAb-009	발레이미드	PEG2	ala-alal-asn-pAB	3.27	3.94	4.39	95.61	0	41.40	0.28
MORAb-003-ER1231690	MORAb-003	발레이미드	PEG2	ala-alal-asn- pAB-ala-alal- asn-pAB	3.02	3.23	4.44	95.56	0	8.92	0.06

표 47. MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs 의 세체물리학적 분석

ADCs	형체	코주개 이션 화학	스페이셔	DAR 분석			SEC-HPLC 분석	청원 결과
				DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- C- HPLC)	% Aggr. HPLC		
MORAb009-ER1231690	MORAb-009	발레이미드	PEG2	ala-ala-ala- pAB-ala-ala- asn-pAB	2.36	3.17	6.22	93.78 0
MORAb003-ER1237504	MORAb-003	발레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	디실파릴- 디메틸-pAB	0.52	1.61	13.73	86.27 0
MORAb009-ER1237504	MORAb-009	발레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	디실파릴- 디메틸-pAB	0.72	1.03	9.78	90.22 0
MORAb003-ER1237505	MORAb-003	발레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	설휠아이미드	1.85	3.88	5.72	94.28 0
MORAb009-ER1237505	MORAb-009	발레이미드	PEG4-트리아울- PEG3	설휠아이미드	2.33	3.91	5.44	94.56 0
MORAb003-PEG2-에리불린	MORAb-003	발레이미드	PEG2	비-질단가능한	4.15	4.49	3.97	96.03 0
MORAb009-PEG2-에리불린	MORAb-009	발레이미드	PEG2	비-질단가능한	4.55	4.30	1.15	97.11 1.74
MORAb003-PEG4-에리불린	MORAb-003	발레이미드	PEG4	비-질단가능한	4.70	4.79	9.84	89.76 0
MORAb009-PEG4-에리불린	MORAb-009	발레이미드	PEG4	비-질단가능한	4.48	4.57	1.03	97.13 1.84
MORAb003-ER1236940	MORAb-003	석신이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.72	3.65	96.35	0 17.00
MORAb009-ER1236940	MORAb-009	석신이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.89	2.75	97.25	0 66.30
MORAb003-ER1242288	MORAb-003	석신이미드	PEG9	val-cit-pAB	0.00	2.85	97.15	0 14.40
MORAb009-ER1242288	MORAb-009	석신이미드	PEG9	val-cit-pAB	0.21	1.69	98.31	0 15.30
MORAb003-ER1236941	MORAb-003	석신이미드	펩타이	val-cit-pAB	0.77	3.13	96.87	0 13.00
MORAb009-ER1236941	MORAb-009	석신이미드	펩타이	val-cit-pAB	0.93	3.04	96.96	0 44.60
MORAb003-ER1243700	MORAb-003	석신이미드	PEG3-트리아울- PEG3	val-cit-pAB	0.00	3.92	96.08	0 6.22 0.04

표 47. MORAb-003, MORAb-009, 및 트리스투주합 ADCs 의 체계별 학적 분석

ADCs	형체	단주기 이전 화학	스페이시	절단 화학	DAR 분석		SEC-HPLC 분석		항원 결합	
					DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- C- HPLC)	% Aggr.	% M-N- 비	% Frag.	ELISA, EC _{50b} ng/mL
MORAb-009-ER1243700	MORAb-009	식신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	val-citr-pAB	0.06	1.97	98.03	0	46.70	0.31
MORAb-003-ER1231691	MORAb-003	식신이미드	PEG2	ala-alaa-ast-pAB	0.37	3.46	96.54	0	11.50	0.08
MORAb-009-ER1231691	MORAb-009	식신이미드	PEG2	ala-alaa-ast-pAB	0.29	2.45	97.55	0	43.30	0.29
MORAb-003-ER1244129	MORAb-003	식신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	0.24	10.87	89.13	0	14.30	0.10
MORAb-009-ER1244129	MORAb-009	식신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	0.47	12.79	87.21	0	57.70	0.38
MORAb-003-ER1244623	MORAb-003	식신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	실론아미드	0.55	5.21	94.79	0	4.54	0.03
MORAb-009-ER1244623	MORAb-009	식신이미드	PEG3-트리아이콜- PEG3	실론아미드	1.14	0	100	0	39.00	0.26
MORAb-003-DBCO- ER1237508	MORAb-003	식신이미드 / 클립	다벤질사이아롤- 옥렌-트리아콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	2.19	4.1	95.9	0	24.10	0.16
MORAb-009-DBCO- ER1237508	MORAb-009	식신이미드 / 클립	다벤질사이아롤- 옥렌-트리아콜- PEG3	디실파틸- 디메틸-pAB	2.33	0	100	0	53.80	0.36
MORAb-003-DBCO- ER1138856	MORAb-003	식신이미드 / 클립	다벤질사이아롤- 옥렌-트리아콜- PEG3	실론아미드	1.82	3.49	96.51	0	15.00	0.10
MORAb-009-DBCO- ER1138856	MORAb-009	식신이미드 / 클립	다벤질사이아롤- 옥렌-트리아콜- PEG3	실론아미드	1.59	0	100	0	44.70	0.30
MORAb-003-DBCO-PEG4 VCP 에리클립	MORAb-003	식신이미드 / 클립	다벤질사이아롤- 옥렌-트리아콜- PEG4	val-citr-pAB	3.09	2.87	97.13	0	16.00	0.11

ADCs	형체	DAR 분석			SFC-HPLC 분석			형질 결합		
		콘주체이션 효율	스페이서	절단 회화	DAR(HI- LC- MS)	DAR(HI- C- HPLC)	% Aggr.	% 모노- 화	% Frag.	ELISA, EC ₅₀ , ng/mL
MORAb009-DBCO-PEG4 VCP 예리 불린	MORAb-009 예리 불린	콘주체이션 효율 / 클릭	스페이서 다-렌질사이어클로- 우렌-트리아졸- PEG4	val-cit-pAB	2.91		0.22	99.78	0	33.70
MORAb003-DBCO-PEG2 예리 불린	MORAb-003 예리 불린	콘주체이션 효율 / 클릭	스페이서 다-렌질사이어클로- 우렌-트리아졸- PEG2	비-절단 가능화	3.43		3.88	96.12	0	19.10
MORAb009-DBCO-PEG2 예리 불린	MORAb-009 예리 불린	콘주체이션 효율 / 클릭	스페이서 다-렌질사이어클로- 우렌-트리아졸- PEG2	비-절단 가능화	3.07		1.15	98.85	0	23.30
MORAb003-DBCO-PEG4 예리 불린	MORAb-003 예리 불린	콘주체이션 효율 / 클릭	스페이서 다-렌질사이어클로- 우렌-트리아졸- PEG4	비-절단 가능화	2.96		3.64	96.36	0	13.30
MORAb009-DBCO-PEG4 예리 불린	MORAb-009 예리 불린	콘주체이션 효율 / 클릭	스페이서 다-렌질사이어클로- 우렌-트리아졸- PEG4	비-절단 가능화	2.8		1.12	98.88	0	45.20

약어: % Aggr., % 응집, % Frag., % 단편화.

표 47.
MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs 의 생체물리학적 분석

[0652]

2.1.1 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs

[0654]

MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 사이 유의차는, 양쪽 콘주체이션 효율 및 생체물리학적 파라미터에 관하여, 관측되지 않았다. 모든 ADCs는 응집물 형성의 수준 및 유사한 DAR 값을 실증하였다.

[0655]

2.1.2 말레이미드-기반 ADCs

[0656]

말레이미드-기반 ADCs에 대하여, 양쪽 펜틸 그리고 val-cit-pAB 절단 부위와 쌍으로 된 PEG₂ 스페이서, 및 ala-alala-asn-pAB 절단 부위와 쌍으로 된 PEG₂ 스페이서는, 낮은 (<5%) 응집물 수준에 더하여, 역상 LC-MS 및 HIC-HPLC에 의해 3.5와 4.0 사이 DAR 값을 제공하였다. 그러나, 스페이서가 (val-cit-pAB 절단 부위와 쌍으로 된) PEG₈로 늘어난 경우, 응집물 수준은 증가하였고 (11-18%) 콘주체이션 효율은 감소되어, 1.1과 2.3 사이 DAR 값을 초래하였다. 참조, 예를 들면, 표 47에서 MORAb003/MORAb009-ER-001159569 (짧은 PEG 링커) 및 MORAb003/MORAb009-1242287 (긴 PEG 링커)의 퍼센트 응집 및 DAR 값.

[0657]

디설피딜-pAB 절단 부위로 제조된 ADCs에 대하여, 낮은 DAR 값을, 상대적으로 높은 응집물 수준 (10-14%)와 함

께, 관측되었다 (1.0-1.6). 상당히 더 낮은 DAR 값은 이들 ADCs가 HIC-HPLC보다 LC-MS에 의해 분석된 경우 관측되었다 (참조, 예를 들면, 표 47에서 MORAb003/MORAb009-ER1237504 및 MORAb003/MORAb009-ER1237505에 대하여 LC-MS/HIC-HPLC DAR 값). 이 결과는, LC-MS 분석의 이동상이 대략 3.0임에 따라, 링커 절단 부위가 pH 불안정을 나타내고, 반면에 HIC-HPLC 분석의 이동상이 중성이라는 것을 시사한다.

[0658] 설폰아미드 절단 부위로 제조된 ADCs에 대하여 낮은 (< 5%) 응집물 수준은 관측되었다. 디설피딜-pAB ADCs과 유사하게, 더 낮은 DAR 값은 HIC-HPLC (3.9)보다 LC-MS (1.8-2.3)에 의해 분석된 경우 관측되었고, 이는 재차 링커 절단 부위가 pH 불안정을 나타낸다는 것을 명시한다.

[0659] PEG₂ 및 PEG₄ 비-절단가능한 링커에 대하여, 효율적인 콘주게이션은 관측되어, 4.0과 4.7 사이 DAR 값을 초래하였다. 이들 비-절단가능한 링커를 가진 MORAb-009 ADCs는 또한 낮은 응집 수준 (< 2%)를 실증하였고, 반면 약간 더 높은 응집 수준은 상응하는 MORAb-003 ADCs에 대하여 관측되었다 (PEG₂ 및 PEG₄, 각각에 대하여 4% 및 10%).

2.1.3 석신이미드-기반 ADCs

[0661] 스페이서-링커-에리불린과 커플링된 석신이미드를 사용하여 제조된 모든 ADCs는 DAR 값 < 1.0을 초래하였다. (말레이이미드에 비해) 이러한 더 낮은 콘주게이션 효율이 콘주게이션 절차 자체의 결과가 아니었음을 확인하기 위해, 이들 ADCs는 더 높은 화합물:항체 비를 사용하여 다시 만들어졌고 동일한 DAR 분석 방법을 사용하여 다시 분석되었다. 유사한 결과는 수득되었고, 이는, 이론에 의한 구속됨 없이, 더 낮은 DAR 값이 석신이미드 및 에리불린의 조합의 고유한 특성이라는 것, 그리고 말레이이미드가 더욱 효율적으로 콘주게이션될 수 있다는 것을 시사한다. 석신이미드 콘주게이션의 효율은 2-단계 방법의 사용을 통해 증가되었고, 이로써 DBCO는 NHS-DBCO를 사용하여 항체에 먼저 첨가되었고, 이어서 아지도 화합물이 첨가되었다. 이러한 접근법은, 역상 HPLC 분석에 의해 측정된 경우, 항체 리신 잔기에 직접적으로 콘주게이션에 비교하여, 더 높은 DAR 값을 초래한다. 설폰아미드 (절단가능한), val-cit-PAB (절단가능한), 또는 PEG₂/PEG₄ (비-절단가능한) 링커를 갖는 석신이미드-기반 ADCs에 대하여, 2-단계 콘주게이션에서 비롯하는 DAR 값은 설폰아미드 절단 부위를 갖는 말레이이미드-기반 ADCs에 대하여 결정된 것과 유사하였다. 이론에 의한 구속됨 없이, 이러한 결과는 재차 석신이미드-스페이서-링커-에리불린 콘주게이션 반응에 대하여 더 낮은 DAR 값이 석신이미드 및 에리불린의 조합의 고유한 특성이라는 것을 시사한다.

2.2 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs의 결합 특성규명

[0663] MORAb-003 ADCs에 대하여, 표적 항원 결합에 관하여 비-절단가능한 말레이이미드-기반 링커-에리불린 ADCs 및 친계 MORAb-003 사이 유의차는 관측되지 않았다. 다른 말레이이미드-기반 링커-에리불린 MORAb-003 ADCs에 대하여, 친계 MORAb-003에 비해 표적 항원 결합에서 2- 내지 3-배 손실은 ELISA 분석에 의해 전형적으로 관측되었다. 그러나, 링커 길이 또는 링커 조성물과 더 낮은 EC₅₀ 값 사이 분명한 상관관계는 없었다. 유사하게, 석신이미드-기반 링커-에리불린 MORAb-003 ADCs에 대하여, 미콘주게이션된 MORAb-003에 비해 표적 항원 결합에서 0- 내지 3-배 손실은 일반적으로 관측되었다. 재차, 링커 길이 또는 링커 조성물과 더 낮은 EC₅₀ 값 사이 상관관계는 분명하지 않았다. MORAb-009 ADCs에 대하여, 모든 ADCs는, 친계 MORAb-009에 비해, EC₅₀ 값에서 2-배수 감소 미만이었다.

2.3 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs의 시험관내 세포독성 분석

[0665] 제조된 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs의 시험관내 효력은 크리스탈 바이올렛 세포-기반 세포독성 검정을 사용하여 평가되었다. MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs 스크리닝을 위하여 선택된 세포주는 IGROV1, NCI-H2110, 및 A431이었다. IGROV1 세포는 인간 난소 상피성 암종 기원이고, 메소텔린 (즉, MORAb-003-반응성)이 아닌, 폴레이트 수용체 알파의 높은 수준을 발현시킨다. NCI-H2110 세포는 인간 비-소 세포 폐 암종 기원이고 양쪽 폴레이트 수용체 알파 및 메소텔린 (즉, MORAb-003- 및 MORAb-009-반응성)의 중간 정도 수준을 발현시킨다. A431 대조군 세포는 인간 표피 암종 기원이고 어느 한쪽 표적 항원을 발현시키지 않는다. 이러한 스크리닝의 결과는 표 48에서 나타난다. 링커-독소 말레이이미드-PEG2-val-cit-pAB-에리불린 (VCP-에리불린)을 포함하는 MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 ADCs는, NCI-N87 (FR^{lo}, MSLN^{med}, her2^{hi}), BT-474 (FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{hi}), ZR-75 (FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{med}), 및 NUGC3 (FR^{neg}, MSLN^{neg}, her2^{neg})를 포함하는, 추가의 위 및 유방 암 세포주에서 또한 평가되었다. 이러한 스크리닝의 결과는 표 49에서 나타난다.

표 48. IGRov1, NCI-H2110, 및 A431 세포에 서 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs 의 세포독성 (IC₅₀) 스펙트럼

ADCs	형태	글루코제이션 아세	스페이서	절단화학-	IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{neg})		NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})		A431 (FR ^{neg} , MSLN ^{neg})	
					IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD
MORAb-003	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
MORAb-009	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
트리스투주맙	N/A	N/A	N/A	N/A						
에리볼린	N/A	N/A	N/A	N/A	0.320	0.212	0.199	0.034	0.653	0.159
MORAb-003-ER1159569 (로트 NB3073-88L)	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.155	0.064	3.685	0.417	>100	
MORAb-009-ER1159569 (로트 NB3073-88F)	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	9.450	2.093	14.945	1.747	>100	
MORAb-003-ER1159569 (로트 NB3142-62A)	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.020		1.550		>100	
MORAb-009-ER1159569 (로트 NB3142-62D)	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	5.687		6.784		>100	
트리스투주맙-ER1159569	트리스투주맙	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB						
MORAb-003-ER1242287	MORAb-003	말레이이미드	PEG8	val-cit-pAB	0.115	0.035	7.065	0.417	85.960	
MORAb-009-ER1242287	MORAb-009	말레이이미드	PEG8	val-cit-pAB	25.765	8.478	34.455	3.033	>100	
MORAb-003-ER1235638	MORAb-003	말레이이미드	페릴	val-cit-pAB	0.105	0.092	3.920	1.032	>100	
MORAb-009-ER1235638	MORAb-009	말레이이미드	페릴	val-cit-pAB	6.830	0.962	13.965	6.611	>100	
MORAb-003-ER1231679	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	0.080	0.028	3.800	0.566	31.630	1.202
MORAb-009-ER1231679	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	8.890	0.976	7.080	1.867	34.390	3.536
MORAb-003-ER1231690	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	0.125	0.021	4.745	2.114	38.555	0.403
MORAb-009-ER1231690	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	16.980	5.176	12.310	3.422	54.960	5.360

표 48. IGROV1, NCI-H2110, 및 A431 세포에 대한 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs의 세포독성 (IC₅₀) 스코어링

ADCs	형태	관주계이션	스페이시	세포독성 분석		IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD
				IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{neg})	NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})						
MORAb-003-ER1237504	MORAb-003	발레이미드	PEG4-트리아이콜-PEG3	단점화학-디메릴-pAB	0.265	0.092	0.845	0.177	7.005	0.290	
MORAb-009-ER1237504	MORAb-009	발레이미드	PEG4-트리아이콜-PEG3	단점화학-디메릴-pAB	6.375	2.751	1.220	0.325	8.130	0.608	
MORAb-003-ER1237505	MORAb-003	발레이미드	PEG4-트리아이콜-PEG3	설톤아이미드	0.370	0.269	0.690	0.283	6.800	0.834	
MORAb-009-ER1237505	MORAb-009	발레이미드	PEG4-트리아이콜-PEG3	설톤아이미드	6.370	3.012	0.990	0.453	9.030	1.527	
MORAb-003-PEG2-에리볼린	MORAb-003	발레이미드	PEG2	비-점단기능형	0.330		38.300		>100		
MORAb-009-PEG2-에리볼린	MORAb-009	발레이미드	PEG2	비-점단기능형	42.770		50.040		>100		
MORAb-003-PEG4-에리볼린	MORAb-003	발레이미드	PEG4	비-점단기능형	0.277		21.630		>100		
MORAb-009-PEG4-에리볼린	MORAb-009	발레이미드	PEG4	비-점단기능형	76.320		31.600		>100		
MORAb-003-ER1236940	MORAb-003	석산아미드	PEG2	val-cit-pAB	0.325	0.106	30.545	3.132	>100		
MORAb-009-ER1236940	MORAb-009	석산아미드	PEG2	val-cit-pAB	31.915	2.510	36.500	11.031	90.060		
MORAb-003-ER1242288	MORAb-003	석산아미드	PEG9	val-cit-pAB	38.105	45.601	64.010	8.075	>100		
MORAb-009-ER1242288	MORAb-009	석산아미드	PEG9	val-cit-pAB	>100		>100		>100		
MORAb-003-ER1236941	MORAb-003	석산아미드	페닐	val-cit-pAB	0.330	0.071	42.105	12.594	>100		
MORAb-009-ER1236941	MORAb-009	석산아미드	페닐	val-cit-pAB	>100		49.485	13.569	>100		
MORAb-003-ER1243700	MORAb-003	석산아미드	PEG3-	val-cit-pAB	1.150		>100		>100		

표 48. IGROV1, NCI-H2110, 및 A431 세포에 서 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs 의 세포독성 분석

ADCs	형태	글루게이션 화학	스페이서	절단 화학-	IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{neg})		NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})		A431 (FR ^{neg} , MSLN ^{neg})	
					IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD
MORAb-009-ER1243700	MORAb-009	석선 이미드	트리아이콜-PEG3	트리아이콜-PEG3-val-citr-pAB	>100		>100		>100	
MORAb-003-ER1231691	MORAb-003	석선 이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	12.320		31.795	4.448	>100	
MORAb-009-ER1231691	MORAb-009	석선 이미드	PEG2	ala-ala-asn-pAB	>100		20,000	5,954	>100	
MORAb-003-ER1244129	MORAb-003	석선 이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	디설파민-디메틸-pAB	0.370	0.184	0.750	0.071	12,005	1,534
MORAb-009-ER1244129	MORAb-009	석선 이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	디설파민-디메틸-pAB	6.595	4.052	0.840	0.057	9,230	0.014
MORAb-003-ER1244623	MORAb-003	석선 이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	설풀아이미드	0.980	0.396	1.820	0.410	37,235	15,733
MORAb-009-ER1244623	MORAb-009	석선 이미드	PEG3-트리아이콜-PEG3	설풀아이미드	24.505	4.702	2.235	0.629	36,665	14,206
MORAb-003-DBCO-ER1237508	MORAb-003	석선 이미드/클록	디벤질사이 클로옥렌-트리아이콜-PEG3	디설파민-디메틸-pAB	0.545	0.389	0.900	0.071	9,670	0.382
MORAb-009-DBCO-ER1237508	MORAb-009	석선 이미드/클록	디벤질사이 클로옥렌-트리아이콜-PEG3	디설파민-디메틸-pAB	10.245	3.486	1.040	0.297	11,280	2,277

표 48. IGROV1, NCI-H2110, 및 A431 세포에서 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs의 세포독성 (IC₅₀) 스크리닝

ADCs	항체	단주기 이션 화학	스페이셔	IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{neg})		NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})		A431 (FR ^{neg} , MSLN ^{neg})		
				IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	IC ₅₀ (nM)	SD	
MORAb003-DBCO-ER1138856	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG3	설포아미드- 설포아미드-	1.775	1.421	1.655	0.007	24.990	2.022
MORAb009-DBCO-ER1138856	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG3	설포아미드- 설포아미드-	19.155	5.438	1.960	0.113	28.070	0.636
MORAb003-DBCO-PEG4 VCP 예리클린	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG4	val-cit-pAB	0.038		4.281		>100	
MORAb009-DBCO-PEG4 VCP 예리클린	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG4	val-cit-pAB	12.960		31.400		>100	
MORAb003-DBCO-PEG2 예리클린	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG2	비-질단가능한 비-질단가능한	4.250		38.070		>100	
MORAb009-DBCO-PEG2 예리클린	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸- PEG2	비-질단가능한 비-질단가능한	75.680		85.680		>100	
MORAb003-DBCO-PEG4 예리클린	MORAb-003	석실이미드/ 클릭	디 벤질사이 클로옥 펜- 트리아졸-	비-질단가능한	1.323		46.280		>100	

표 48. IGROV1, NCI-H2110, 및 A431 세포에서 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs의 세포독성 (IC₅₀) 스크리닝

ADCs	형태	글루카이신 화학	스페이서	질단위	세포독성 분석	
					IGROV1 (FR ^{hi} , MSLN ^{reg})	NCI-H2110 (FR ^{med} , MSLN ^{med})
			PEG4		IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
MORAb009-DBCO-PEG4 에리불린	MORAb-009	석실이미드/ 클릭	디벤질사이 클로우렌- 트리아졸- PEG4	비-질단기능한	61.490	39.330 >100

모든 IC₅₀ 값은 nM이고, 복제 실험의 평균 값을 나타낸다. SD – 표준 편차.

제포독성 분석						
ADCs	형-체	한글-제이션 영-체	스페이셔	절단-화학	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
MORAb-003	N/A	N/A	N/A	N/A	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
MORAb-009	N/A	N/A	N/A	N/A	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
트리스투주맙 (로트 NB3073-88L)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.78	0.641
에리볼린 (로트 NB3073-88F)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.257	0.151
MORAb-003-ER1159569 (로트 NB3073-88L)	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB		
MORAb-009-ER1159569 (로트 NB3073-88F)	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB		
MORAb-003-ER1159569 (로트 NB3142-62A)	MORAb-003	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	4.528	11.46
MORAb-009-ER1159569 (로트 NB3142-62D)	MORAb-009	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.013	10.21
트리스투주맙-ER1159569	트리스투주맙	말레이이미드	PEG2	val-cit-pAB	0.006	0.003

모든 IC₅₀ 값은 nM 이고, 별-체 실험의 평균 값을 나타낸다. SD – 표준 편차.

표 49. 하기의 세포독성 (IC₅₀) 스크리닝: MORAb-003, MORAb-009, 및 트리스투주맙 ADCs 하기 애서: NCI-N87, BT-474, ZR-75, 및 NUGC3 세포

[0671]

2.3.1 말레이미드-기반 ADCs의 세포독성

모든 말레이미드-기반 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs는, 항체 사이 관측된 효력에서 2-3 자릿수 차이로, IGROV1 세포에서 특이적 세포독성을 표시하였다. val-cit-pAB-에리볼린 MORAb-003 ADCs는 PEG₂ 또는 PEG₄ 비-절단가능한 MORAb-003 ADCs보다 IGROV1 세포주에서 더 높은 효력을 실증하였지만, 폴드-특이성은 변함없었다. 유사한 추세는 MORAb-009 ADCs에 대하여 관측되었고, 비-절단가능한 MORAb-009 ADCs는 val-cit-pAB-에리볼린 MORAb-009 ADCs보다 IGROV1 세포에서 더 낮은 세포독성을 실증하였다.

디설피딜- 및 설폰아미드-기반 링커를 가진 말레이미드-기반 MORAb-009 ADCs는 IGROV1 세포주보다 NCI-H2110 세포주에서 더 높은 효력을 실증하였다. 이것은, 아래 기재된 바와 같이, 배양액내 링커의 잠재적인 불안정 때문일 것이다. 강력한 세포독성은 상응하는 MORAb-003 ADCs로 또한 관측되었다. 그에 반해서, 비-절단가능한 링커를 가진 말레이미드-기반 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs는 NCI-H2110 세포에서 상대적으로 낮은 효력을 실증하였다. 이론에 의한 구속됨 없이, 이러한 결과는 더 낮은 표적 발현으로, 적재물의 효율적인 절단 및 방출이 세포

독성을 개선할 수 있다는 것을 시사한다.

[0675] val-cit-pAB 효소-절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커를 가진 ADCs는 A431 대조군 세포에서 부정확한 사멸의 낮은 수준 ($IC_{50} > 100$ nM)을 실증하였고, 반면에 ala-ala-asn-pAB 효소-절단가능한 링커를 가진 ADCs는 이들 대조군 세포의 약하지만 검출가능한 사멸을 표시하였다. 이것은 val-cit-pAB 효소-절단가능한 링커가 배양 ala-ala-asn-pAB 효소-절단가능한 링커에서 더욱 안정적일 수 있다는 것을 명시한다. 게다가, 더 짧은 PEG₂ 스페이서를 가진 MORAb-009 ADCs는 더 긴 PEG₈ 스페이서를 가진 상응하는 ADCs보다 IGROV1 세포에서 더 높은 세포 독성을 실증하였다. 이러한 동일한 추세는 NCI-H2110 세포에서 양쪽 MORAb-003 및 MORAb-009 ADCs에 대하여 관측되었고, 더 짧은 스페이서 길이는 더 높은 세포독성을 초래하였다.

[0676] 설폰아미드-기반 링커를 가진 ADCs는 디설파딜-기반 링커를 가진 상응하는 ADCs보다 더 높은 DAR 값 및 더 낮은 응집물 수준을 일반적으로 실증하였다. 그러나, A431 대조군 세포의 nM-수준 사멸은 ADCs의 이들 카테고리의 양쪽에서 관측되었고, 디설파딜- 및 설폰아미드-기반 링커가 검사된 검정 조건 하에 효소-절단가능한 링커보다 배양액에서 덜 안정적이었다는 것을 시사하였다.

[0677] 특이적 링커-독소 말레이미도-PEG₂-val-cit-pAB-에리불린 (VCP-에리불린)은 상이한 위 및 유방 암 세포주에서 특이성 및 효력에 대하여 추가로 검사되었다. VCP-에리불린은, 항-인간 her2 항체 트라스투주맙에 더하여, MORAb-003 및 MORAb-009에 콘주게이션되었다. MORAb-003-VCP-에리불린은, 폴레이트 수용체 알파 (FR)의 낮은 수준, 및 잔존 3 FR-음성 세포주에서 거의 사멸 없음을 발현시키는, NCI-N87 세포에서 약하지만 특이적 사멸을 실증하였다. MORAb-009-VCP-에리불린은, 메소텔린의 중간 정도 수준을 발현시키는, NCI-N87 세포에서 강력한 세포독성을 또한 실증하였다. 트라스투주맙-VCP-에리불린은, her2의 높은 수준을 발현시키는 2 세포주인, NCI-N87 및 BT-474 세포에서 매우 강력하였고 ($3 - 6$ pM, IC_{50}), her2를 중간 정도로만 발현시키는, ZR-75 유방 암 세포에서 또한 강력하였다. MORAb-003, MORAb-009, 및 트라스투주맙 VCP-에리불린 ADCs는 모두 NUGC3 세포에서 낮은 세포독성을 실증하였고, FR, 메소텔린, 또는 her2, 각각의 표적 항원을 발현시키지 않는다.

2.3.2 석신이미드-기반 ADCs의 세포독성

[0679] 석신이미드-기반 ADCs의 세포독성에서 추세는 IGROV1 세포에 대하여 말레이미드-기반 ADCs와 유사하였고, PEG₈ 스페이서 ADCs는 낮은 DAR 값에 더하여 낮은 세포독성을 실증하였다. 양쪽 IGROV1 및 NCI-H2110 세포에서 더 낮은 세포독성은 상응하는 말레이미드-기반 ADCs와 비교하여 효소-절단가능한 링커를 가진 석신이미드-기반 ADCs에 대하여 일반적으로 관측되었고, 이것은 아마도 그것의 더 낮은 DAR 값 때문이었다. A431 세포의 부정확한 사멸은, 상응하는 말레이미드-기반 ADCs와 유사하게, 디설파딜- 및 설폰아미드-기반 링커로 또한 관측되었다. 이것은, 콘주게이션 화학 보다, 절단 부위에서 잠재적으로 일어나는 증가된 불안정을 지적한다.

[0680] 2-단계 콘주게이션이 수행된 경우, 더 높은 DAR 값은 직접적인 석신이미드 콘주게이션 접근법으로 수득된 것에 비해 관측되었다. 이들 더 높은 DAR 값은 더 높은 효력과 상관하였다. VCP-에리불린 MORAb-003 ADC에 대하여, 양쪽 IGROV1 및 NCI-H2110 세포에서 강력한 세포독성을 관측되었다. 비-절단가능한 MORAb-003 ADCs가 IGROV1 세포 ($1 - 4$ nM)에서 효력을 실증하였던 동안, DAR 값이 비교할만하였어도, 이들은 여전히 이러한 방법 (38 pM)으로 제조된 VCP-에리불린 MORAb-003 ADC보다 덜 강력하였다. 게다가, 2-단계 방법을 사용하여 제조된 비-절단가능한 MORAb-003 ADCs는 IGROV1 세포주에서 상응하는 말레이미드-기반 ADCs보다 약간 덜 강력하였고, 이는 그것의 더 낮은 DAR 값 때문일 수 있다. 그것의 말레이미드-기반 대응물과 유사하게, 2-단계 방법을 사용하여 제조된 비-절단가능한 ADCs는 NCI-2110 세포에서 거의 모든 세포독성을 또한 상실하였다.

2.4 항-인간 메소텔린 (LCcys80) ADCs의 생체물리학적 특성규명

[0682] MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-에리불린 (ER-001159569)는 8 상이한 항-인간 메소텔린 항체에 콘주게이션되었다 (표 1). 친계 항체의 결합 친화성은, 섹션 1.6.1에서 상기 기재된 바와 같이, BIACore 분석에 의해 결정되었다. 모든 항-인간 메소텔린 ADCs에 대하여 응집 수준은 SEC-HPLC에 의해 결정되었고 DAR은 HIC-HPLC를 사용하여 분석되었다. 시험관내 효력을 하기에서 크리스탈 바이올렛 세포-기반 세포독성 검정을 사용하여 평가되었다: A3 (인간 메소텔린 (MSLN)으로 안정적으로 형질감염된 A431, MSLN^{hi}), OVCAR3 (인간 난소, MSLN^{hi}), HEC-251 (인간 자궁내막, MSLN^{med}), H226 (인간 폐 편평상피 세포 중피종, MSLN^{lo}), 및 A431 친계 (MSLN^{neg}) 세포.DAR, 응집, 및 세포독성 분석의 결과는 표 50에서 나타난다.

표 50. 항-인간 메소텔린 (LCcys80) ADCs 의 생체물리학적 특성규명

친개 Mab		ADC												
		친화도			적재물	HIC	SEC-HPLC		세포 기반 세포독성 검정, EC50, nM					
		k_a ($\text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$)	k_d ($\text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$)	K_d (M^{-1})			약물-링크	DAR	% 응집물	% 모노머	A431	OVCAR3	HEC-251	H226
33011	xd				ER-001159569-000	1.92	8.97	91.03	40.67	0.038	3.950	>100	0.14	
	zu	2.2	0.65	3.4	ER-001159569-000	1.69	1.42	98.58	~100	0.064	26.500	>100	0.28	
111B10	xd	6.5	3.9	6.3	ER-001159569-000	1.90	4.25	95.75	38.10	0.034	13.960	<100	0.05	
	zu	5.1	3	6.5	ER-001159569-000	1.81	3.64	96.36	68.92	0.014	27.42	>100	0.12	
201C15	xd	2.4	0.26	1.1	ER-001159569-000	1.85	1.62	98.38	48.50	0.034	14.82	<100	0.27	
	zu	3.1	1.1	4.2	ER-001159569-000	1.80	5.84	94.16	68.88	0.290	23.42	>100	0.4	
346C6	xd	3.8	0.49	1.4	ER-001159569-000	1.56	5.28	94.72	34.49	0.087	5.73	<100	0.1	
	zu	133	93	8.9	ER-001159569-000	1.63	4.48	95.52	72.86	1.180	32.54	>100	0.55	

약어: xi – 카메라; zu – 인간화된.

[0683]

모든 항-인간 메소텔린 ADCs는 낮은 응집 수준 (< 10% 응집물)을 유지하였고 표적 세포주에서 높은 효력을 실증하였다. 높은 효력은 A3 및 OVCAR3에서 관측되었고, 반면에 HEC-251 및 H226 세포는 ADC 세포독성에 상대적으로 저항성이었다.

[0685]

선택된 서열:

[0686]

서열 식별 번호:1 (MORAb-003 중쇄 (HC))

```

1  EVQLVESGGG VVQPGRLRL SCSASGFTFS GYGLSWVRQA PGKGLEWVAM
51  ISSGGSYTYY ADSVKGRFAI SRDNAKNTLF LQMDSLRPED TGVYFCARHG
101 DDPAWFAYWG QGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
151 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY
201 ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK
251 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNK TKPREEQYNS
301 TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
351 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPPVL
401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

```

[0687]

서열 식별 번호:2 (MORAb-003 HC CDR1; 카밧): GYGLS

[0688]

서열 식별 번호:3 (MORAb-003 HC CDR2; 카밧): MISSGGSYTYYADSVKG

[0689]

서열 식별 번호:4 (MORAb-003 HC CDR3; 카밧): HGDDPAWFAY

[0690]

서열 식별 번호:5 (MORAb-003 중쇄 전장 전-단백질 아미노산 서열; 리더 서열 밑줄친)

```

1  MGWSCIILFL VATATGVHSE VQLVESGGGV VQPGRLRLS CSASGFTFSG
51  YGLSWVRQAP GKGLEWVAMI SSGGSYTYA DSVKGRFAIS RDNAKNTLFL
101 QMDSLRPEDT GVYFCARHGD DPAWFAYWGQ GTPVTVSSAS TKGPSVFPLA
151 PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL
201 YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC
251 PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVVDVSHE DPEVKFNWYV
301 DGVEVHNKTPREEQYNS YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
351 APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
401 EWESNGQOPEN NYKTPPPVLD SDGSFFLYSK LTVVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
451 EALHNHYTQK SLSLSPGK

```

[0691]

서열 식별 번호:6 (MORAb-003 경쇄 (LC))

```

1  DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSVSSSIS SNNLHWYQQK PGKAPKPWIY
51  GTSNLASGVP SRFSGSGSGT DYTFTISSLQ PEDIATYYCQ QWSSYPYMYT
101 FGQGTTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
151 WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TTLTLSKADYE KHKVYACEVT
201 HQGLSSPVTK SFNRGEC

```

[0692]

서열 식별 번호:7 (MORAb-003 LC CDR1; 카밧): SVSSSISSNNLH

- [0696] 서열 식별 번호:8 (MORAb-003 LC CDR2:카밧): GTSNLAS
- [0697] 서열 식별 번호:9 (MORAb-003 LC CDR3: 카밧): QQWSSYPYMYT
- [0698] 서열 식별 번호:10 MORAb-003 경쇄 전장 전-단백질 아미노산 서열 (리더 서열 밑줄친)

[0699]

1	<u>MGWSCIILFL</u> VATATGVHSD	IQLTQSPSSL	SASVGDRVTI	TCSVSSSISS
51	NNLHWYQQKP	GKAPKPWIYG	TSNLASGVPS	RFSGSGSGTD
101	EDIATYYCQQ	WSSYPYMYTF	GQGTKVEIKR	TVAAPSVFIF
151	TASVVCLLNN	FYPREAKVQW	KVDNALQSGN	PPSDEQLKSG

[0700]

201	LTLSKADYEK	HKVYACEVTH	QGLSSPVTKS	FNRGEC
-----	------------	------------	------------	--------

- [0701] 서열 식별 번호:11 (MORAb-003 HC nt)

[0702]

1	ATGGGATGGA	GCTGTATCAT	CCTCTTCTTG	GTAGCAACAG	CTACAGGTGT
51	CCACTCCGAG	GTCCAACCTGG	TGGAGAGCGG	TGGAGGTGTT	GTGCAACCTG
101	GCCGGTCCCT	GCGCCTGTCC	TGCTCCGCAT	CTGGCTTCAC	CTTCAGCGGC
151	TATGGGTTGT	CTTGGGTGAG	ACAGGCACCT	GGAAAAGGTC	TTGAGTGGGT
201	TGCAATGATT	AGTAGTGGTG	GTAGTTATAC	CTACTATGCA	GACAGTGTGA
251	AGGGTAGATT	TGCAATATCG	CGAGACACAG	CCAAGAACAC	ATTGTTCCCTG
301	CAAATGGACA	GCCTGAGACC	CGAAGACACC	GGGGTCTATT	TTTGTGCAAG
351	ACATGGGGAC	GATCCCACCT	GGTTCGCTTA	TTGGGGCCAA	GGGACCCCAG
401	TCACCGTCTC	CTCAGCCTCC	ACCAAGGGCC	CATCGGTCTT	CCCCCTGGCA
451	CCCTCCTCCA	AGAGCACCTC	TGGGGGCACA	GCGGCCCTGG	GCTGCCTGGT
501	CAAGGACTAC	TTCCCCGAAC	CGGTGACGGT	GTCGTGGAAC	TCAGGCGCCC
551	TGACCAGCGG	CGTGCACACC	TTCCCGGCTG	TCCTACAGTC	CTCAGGACTC
601	TACTCCCTCA	GCAGCGTGGT	GACCGTGCC	TCCAGCAGCT	TGGGCACCCA
651	GACCTACATC	TGCAACGTGA	ATCACAAGCC	CAGCAACACC	AAGGTGGACA
701	AGAAAGTTGA	GCCCCAATCT	TGTGACAAAA	CTCACACATG	CCCACCGTGC
751	CCAGCACCTG	AACTCCTGGG	GGGACCGTCA	GTCTTCCTCT	TCCCCCCTAA
801	ACCCAAGGAC	ACCCTCATGA	TCTCCGGAC	CCCTGAGGTC	ACATGCGTGG
851	TGGTGGACGT	GAGCCACGAA	GACCTGAGG	TCAAGTTCAA	CTGGTACGTG
901	GACGGCGTGG	AGGTGCATAA	TGCCAAGACA	AAGCCGCGGG	AGGAGCAGTA
951	CAACAGCACG	TACCGTGTGG	TCAGCGTCCT	CACCGTCCTG	CACCAAGGACT
1001	GGCTGAATGG	CAAGGAGTAC	AAGTGCAAGG	TCTCCAACAA	AGCCCTCCCA
1051	GCCCCCATCG	AGAAAACCAT	CTCCAAAGCC	AAAGGGCAGC	CCCGAGAACCC
1101	ACAGGTGTAC	ACCCTGCC	CATCCGGGA	TGAGCTGACC	AAGAACCAAGG
1151	TCAGCCTGAC	CTGCCTGGTC	AAAGGCTTCT	ATCCCAGCGA	CATGCCGTG
1201	GAGTGGGAGA	GCAATGGGCA	GCCGGAGAAC	AACTACAAGA	CCACGCCTCC
1251	CGTGCTGGAC	TCCGACGGCT	CCTTCTCTT	ATATTCAAAG	CTCACCGTGG
1301	ACAAAGAGCAG	GTGGCAGCAG	GGGAACGTCT	TCTCATGCTC	CGTGATGCAT
1351	GAGGCTCTGC	ACAACCAC	CACGCAGAAG	AGCCTCTCCC	TGTCTCCCGG
1401	GAAATGA				

[0703] 서열 식별 번호:12 (MORab-003 LC nt)

```

1 ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
51 CCACTCCGAC ATCCAGCTGA CCCAGAGCCC AAGCAGCCTG AGGCCAGCG
101 TGGGTGACAG AGTGACCAC ACCTGTAGTG TCAGCTCAAG TATAAGTTCC
151 AACAACTTGC ACTGGTACCA GCAGAAGCCA GGTAAAGGCTC CAAAGCCATG
201 GATCTACGGC ACATCCAACC TGGCTTCTGG TGTGCCAAGC AGATTCAGCG
251 GTAGCGGTAG CGGTACCGAC TACACCTTCA CCATCAGCAG CCTCCAGCCA
301 GAGGACATCG CCACCTACTA CTGCCAACAG TGGAGTAGTT ACCCGTACAT
351 GTACACGTTG GCCAAGGGGA CCAAGGTGGA AATCAAACGA ACTGTGGCTG
401 CACCATCTGT CTTCATCTTC CCGCCATCTG ATGAGCAGTT GAAATCTGGA
451 ACTGCCTCTG TTGTGTGCCT GCTGAATAAC TTCTATCCA GAGAGGCCAA
501 AGTACAGTGG AAGGTGGATA ACGCCCTCCA ATCAGGTAAC TCCCAGGAGA
551 GTGTCACAGA GCAGGACAGC AAGGACAGCA CCTACAGCCT CAGCAGCACC
601 CTGACGCTGA GCAAAGCAGA CTACGAGAAA CACAAAGTCT ACGCCTGCGA
651 AGTCACCCAT CAGGGCCTGA GCTCGCCCGT CACAAAGAGC TTCAACAGGG
701 GAGAGTGTAA A

```

[0704]

[0705] 서열 식별 번호:13 (MORab-003 HC CDR1; IMGT): GFTFSGYG

[0706] 서열 식별 번호:14 (MORab-003 HC CDR2; IMGT): ISSGGSYT

[0707] 서열 식별 번호:15 (MORab-003 HC CDR3; IMGT): ARHGDDPAWFAY

[0708] 서열 식별 번호:16 (MORab-003 LC CDR1; IMGT): SSISSNN

[0709] 서열 식별 번호:17 (MORab-003 LC CDR2; IMGT): GTS

[0710] 서열 식별 번호:18 (MORab-003 LC CDR3; IMGT): QQWSSYPYMT

[0711] 서열 식별 번호:19 (인간 FRA)

```

1 maqrmttqll lllvvvavvg eaqtria war tellnvcnma khhkekpgpe dklheqcrpw
61 rknaccstnt sqeahkdvsy lyrfnwnhcg emapackrhf iqdtclyecs pnlgpwiqqv
121 dqswrkerl nvlckedce qwwedcrtsy tcksnwhkgw nwtsgfnkca vgaacqpfhf
181 yfpptptvlcn eiwthsykvs nysrgsgrci qmwfdpaqgn pneevarfy aamsgagpwa
241 awpfllsial mllwlls

```

[0712]

[0713] 서열 식별 번호:20 (인간 FRA 뉴클레오파이드)

```

1 cattccttgg tgccactgac cacagcttt tcttcaggga cagacatggc tcagcggatg
61 acaacacaga tgctgctcct tctagtgtgg gtggctgttag taggggaggc tcagacaagg
121 attgcatggg ccaggactga gcttctcaat gtctgcatga acgccaagca ccacaaggaa
181 aagccaggcc ccgaggacaa gttgcatgag cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc
241 tggcttacca acaccagcca ggaagcccat aaggatgttt cctacctata tagattcaac
301 tggaccact gtggagagat ggcacctgcc tgccaaacggc atttcatcca ggacacctgc
361 ctctacaggt gctcccccaa cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc
421 aaagagcggg tactgaacgt gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtgggaagat
481 tggcgcaccc cctacacctg caagagaac tggcacaagg gctggactg gacttcaggg
541 tttaacaagt ggcgactggg agctgctgc caaccttcc atttctactt ccccacaccc
601 actgttctgt gcaatgaaat ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgagg
661 agtggccgct gcatccagat gtggttcgac ccagcccaagg gcaaccccaa tgaggaggtg
721 gcgaggctt atgctgcagc catgagtggg gctggccct gggcagcctg gcctttcctg
781 cttagcctgg ccctaattgtc gctgtggctg ctcagctgac ctcccttac ctctgtatac
841 ctggaaatcc ctggccctgtt cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg
901 tcgggcctct gacagccact ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat
961 ttggaaaaaa aaaaaaaaaa aa

```

[0714]

[0715] 서열 식별 번호:21 (인간 her2)

1 melaalcrwg lllallppga astqvctgtd mklrlpaspe thldmlrhly
 qgcqvvqgnl
 61 eltylptnas lsflqdqev qgyvliahq vrqvlqrlr ivrgtqlfed
 nyalavldng
 121 dplnnntpvt gaspgglrel qlrlsteilk ggvliqrnpq lcyqdtiwlk
 difhknnqla
 181 ltlidtnrsr achpcspmck gsrcwgesse dcqslrtvc aggcarckgp
 lptdccheqc
 241 aagctgpkhs dclaclhfnh sgicelhcpa lvyntdtfe smpnpegryt
 fgascvtacp
 301 ynylstdvgs ctlvcplhng evtaedgtqr cekcskpcar vcyglgmehl
 revravtsan

[0716]

361 iqefagckki fgslaflpes fdgdpasnta plqpeqlqvf etleeitgyl
 yisawpdslp
 421 dlsvfqnlqv irgrilhnga ysltlqqlgi swlglrlsre lsglalihh
 nthlcfvhtv
 481 pwdqlfrnph qallhtanrp edecvgegla chqlcarghc wgpqptqcvn
 csqflrgqec
 541 veecrvlqgl preyvnarhc lpchpecqpq ngsvtcfgpe adqcvacahy
 kdppfcvarc
 601 psgvkpdlsy mpiwkfpdee gacqpcpinc thscvdlddk gcpaeqrasp
 ltsiisavvg
 661 illvvvlgvv fgilikrrqq kirkymrrl lqetelvepl tpsgampnqa
 qmrilketel
 721 rkvkvlgsga fgtvykgiwi pdgenvkipp aikvlrents pkankeilde
 ayvmagvgsp
 781 yvsrllgic1 tstvqlvtql mpygcldhv renrgrlgsq dllnwcmqia
 kgmsyledvr
 841 lvhrdlaarn vlvkspnhvk itdfglarll dideteyhad ggkvpikwma
 lesilrrrft
 901 hqsdvwsysgv twelmtfga kpydgipare ipdillekger lpqppictid
 vymimvkewm
 961 idsecrprfr elvsefsrma rdpqrfvviq nedlgpaspl dstfyrsll
 dddmgdlvda
 1021 eeylvpqqgf fcpdpapgag gmvhhrhrss strsgggdlt lglepseeee
 prsplapseg
 1081 agsdvfdgdl gmgaakglqs lpthdpsplq rysedptvpl psetdgyvap
 ltcspqpeyv
 1141 nqpdvrvpp spregplaa rpagatlerp ktlspgkngv vkdvfafgga
 venpeyltpq
 1201 ggaapqphpp pafspafdn1 yywdqdpper gappstfkgt ptaenpeylg ldvpv

[0717]

[0718]

서열 식별 번호:22 (인간 her2 뉴클레오타이드)

```

1      ATGGAGCTGG CGGCCTTGTG CCGCTGGGG CTCCCTCCTCG CCCTCTTGCC
CCCCGGAGCC
61     GCGAGCACCC AAGTGTGCAC CGGCACAGAC ATGAAGCTGC GGCTCCCTGC
CAGTCCCCAG
121    ACCCACCTGG ACATGCTCCG CCACCTCTAC CAGGGCTGCC AGGTGGTGCA
GGGAAACCTG
181    GAACTCACCT ACCTGCCAAC CAATGCCAGC CTGTCCTTCC TGCAGGATAT
CCAGGAGGTG

```

[0719]

```

241    CAGGGCTACG TGCTCATCGC TCACAACCAA GTGAGGCAGG TCCCCTGCA
GAGGCTGCGG
301    ATTGTGCGAG GCACCCAGCT CTTTGAGGAC AACTATGCC TGGCCGTGCT
AGACAATGGA
361    GACCCGCTGA ACAATAACCAC CCCTGTACA GGGGCCTCCC CAGGAGGCCT
GCAGGGAGCTG
421    CAGCTTCGAA GCCTCACAGA GATCTTGAAA GGAGGGGTCT TGATCCAGCG
GAACCCCCAG
481    CTCTGCTACC AGGACACGAT TTTGTGGAAG GACATCTTCC ACAAGAACAA
CCAGCTGGCT
541    CTCACACTGA TAGACACCAA CCGCTCTCGG GCCTGCCACC CCTGTTCTCC
GATGTGTAAG
601    GGCTCCCGCT GCTGGGGAGA GAGTTCTGAG GATTGTCAGA GCCTGACGCG
CACTGTCGT
661    GCCGGTGGCT GTGCCCGCTG CAAGGGCCA CTGCCCACTG ACTGCTGCCA
TGAGCAGTGT
721    GCTGCCGGCT GCACGGGCC CAAGCACTCT GACTGCCTGG CCTGCCTCCA
CTTCAACCAC
781    AGTGGCATCT GTGAGCTGCA CTGCCAGCC CTGGTCACCT ACAACACAGA
CACGTTTGAG
841    TCCATGCCCA ATCCCGAGGG CCGGTATACA TTCGGCGCCA GCTGTGTGAC
TGCCTGTCCTC
901    TACAACCTACC TTTCTACGGA CGTGGGATCC TGCACCCCTCG TCTGCCCTCT
GCACAACCAA
961    GAGGTGACAG CAGAGGATGG AACACAGCGG TGTGAGAAGT GCAGCAAGCC
CTGTGCCCGA
1021   GTGTGCTATG GTCTGGCAT GGAGCACTTG CGAGAGGTGA GGGCAGTTAC
CAGTGCCAAT
1081   ATCCAGGAGT TTGCTGGCTG CAAGAAGATC TTTGGGAGCC TGGCATTCT
GCCGGAGAGC
1141   TTTGATGGGG ACCCAGCCTC CAAACACTGCC CCGCTCCAGC CAGAGCAGCT
CCAAGTGTGTT
1201   GAGACTCTGG AAGAGATCAC AGGTTACCTA TACATCTCAG CATGGCCGA
CAGCCTGCCCT
1261   GACCTCAGCG TCTTCAGAA CCTGCAAGTA ATCCGGGGAC GAATTCTGCA
CAATGGCGCC
1321   TACTCGCTGA CCCTGCAAGG GCTGGGCATC AGCTGGCTGG GGCTGCGCTC
ACTGAGGGAA
1381   CTGGGCAGTG GACTGGCCCT CATCCACCAT AACACCCACC TCTGCTTCGT
GCACACGGTG

```

[0720]

1441 CCCTGGGACC AGCTTTTCG GAACCCGCAC CAAGCTCTGC TCCACACTGC
 CAACCGGCCA
 1501 GAGGACGAGT GTGTGGCGA GGGCCTGGCC TGCCACCAGC TGTGCGCCCG
 AGGGCACTGC
 1561 TGGGGTCCAG GGCCCACCCA GTGTGTCAAC TGCAGCCAGT TCCTTCGGGG
 CCAGGAGTGC
 1621 GTGGAGGAAT GCCGAGTACT GCAGGGGCTC CCCAGGGAGT ATGTGAATGC
 CAGGCAGTGT
 1681 TTGCCGTGCC ACCCTGAGTG TCAGCCCCAG AATGGCTCAG TGACCTGTT
 TGGACCGGAG
 1741 GCTGACCAGT GTGTGGCTG TGCCCCTAT AAGGACCCTC CCTTCTGCCT
 GGCCGCTGC
 1801 CCCAGCGGTG TGAAACCTGA CCTCTCCTAC ATGCCCATCT GGAAGTTCC
 AGATGAGGAG
 1861 GGCGCATGCC AGCCTTCCCC CATCAACTGC ACCCACTCCT GTGTGGACCT
 GGATGACAAG
 1921 GGCTGCCCG CCGAGCAGAG AGCCAGCCCT CTGACGTCCA TCATCTCTGC
 GGTGGTTGGC
 1981 ATTCTGCTGG TCGTGGTCTT GGGGGTGGTC TTTGGGATCC TCATCAAGCG
 ACGGCAGCAG
 2041 AAGATCCGGA AGTACACGAT GCGGAGACTG CTGCAGGAAA CGGAGCTGGT
 GGAGCCGCTG
 2101 ACACCTAGCG GAGCGATGCC CAACCAGGCG CAGATGCGGA TCCTGAAAGA
 GACGGAGCTG
 2161 AGGAAGGTGA AGGTGCTTGG ATCTGGCGCT TTTGGCACAG TCTACAAGGG
 CATCTGGATC
 2221 CCTGATGGGG AGAATGTGAA ATTCCAGTG GCCATCAAAG TGTTGAGGGA
 AACACATCC
 2281 CCCAAAGCCA ACAAAAGAAAT CTTAGACGAA GCATACGTGA TGGCTGGTGT
 GGGCTCCCCA
 2341 TATGTCTCCC GCCTTCTGGG CATCTGCCTG ACATCCACGG TGCAGCTGGT
 GACACAGCTT
 2401 ATGCCCTATG GCTGCCTCTT AGACCATGTC CGGGAAAACC GCGGACGCCT
 GGGCTCCCAG
 2461 GACCTGCTGA ACTGGTGTAT GCAGATTGCC AAGGGGATGA GCTACCTGGA
 GGATGTGCGG
 2521 CTCGTACACA GGGACTTGGC CGCTCGAAC GTGCTGGTCA AGAGTCCCAA
 CCATGTCAA
 2581 ATTACAGACT TCGGGCTGGC TCGGCTGCTG GACATTGACG AGACAGAGTA
 CCATGCAGAT

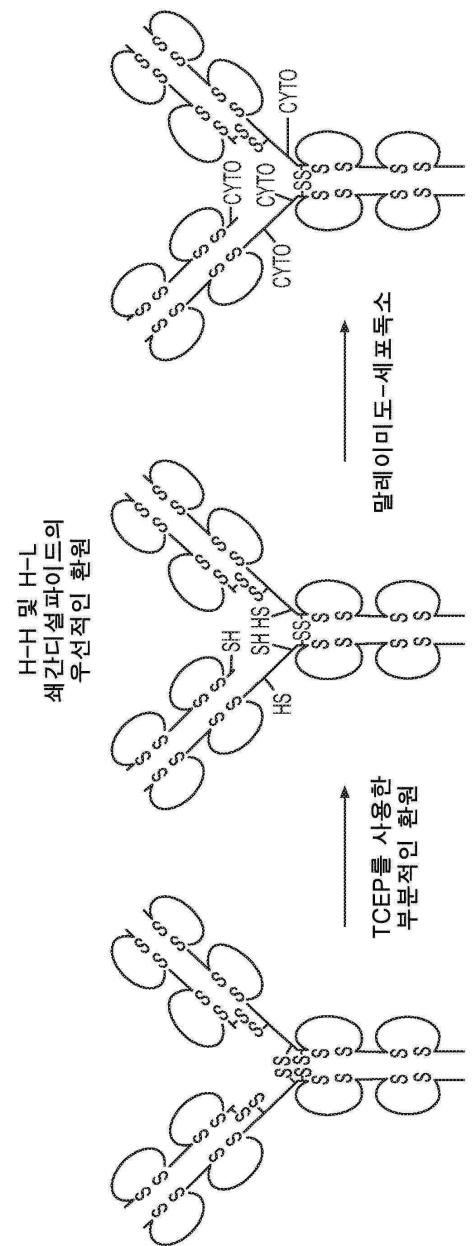
[0721]

2641 GGGGGCAAGG TGCCCATCAA GTGGATGGCG CTGGAGTCCA TTCTCCGCCG
 GCGGTTCA
 2701 CACCAAGAGTG ATGTGTGGAG TTATGGTGTG ACTGTGTGGG AGCTGATGAC
 TTTTGGGGCC
 2761 AAACCTTACG ATGGGATCCC AGCCCGGGAG ATCCCTGACC TGCTGGAAAA
 GGGGGAGCGG
 2821 CTGCCCCAGC CCCCCATCTG CACCATTGAT GTCTACATGA TCATGGTCAA
 ATGTTGGATG
 2881 ATTGACTCTG AATGTCGGCC AAGATTCCGG GAGTTGGTGT CTGAATTCTC
 CCGCATGGCC
 2941 AGGGACCCCC AGCGCTTGT GGTCACTCCAG AATGAGGACT TGGGCCAGC
 CAGTCCCTTG
 3001 GACAGCACCT TCTACCGCTC ACTGCTGGAG GACGATGACA TGGGGGACCT
 GGTGGATGCT
 3061 GAGGAGTATC TGGTACCCCCA GCAGGGCTTC TTCTGTCCAG ACCCTGCC
 GGGCGCTGGG
 3121 GGCATGGTCC ACCACAGGCA CCGCAGCTCA TCTACCAGGA GTGGCGGTGG
 GGACCTGACA
 3181 CTAGGGCTGG AGCCCTCTGA AGAGGAGGCC CCCAGGTCTC CACTGGCACC
 CTCCGAAGGG
 3241 GCTGGCTCCG ATGTATTGTA TGGTGACCTG GGAATGGGGG CAGCCAAGGG
 GCTGCAAAGC
 3301 CTCCCCACAC ATGACCCCCAG CCCTCTACAG CGGTACAGTG AGGACCCCAC
 AGTACCCCTG
 3361 CCCTCTGAGA CTGATGGCTA CGTTGCCCGG CTGACCTGCA GCCCCCAGCC
 TGAATATGTG
 3421 AACCAGCCAG ATGTCGGCC CCAGCCCCCT TCGCCCCGAG AGGGCCCTCT
 GCCTGCTGCC
 3481 CGACCTGCTG GTGCCACTCT GGAAAGGCC AAGACTCTCT CCCCAGGGAA
 GAATGGGGTC
 3541 GTCAAAGACG TTTTGCCTT TGGGGGTGCC GTGGAGAACCC CCGAGTACTT
 GACACCCAG
 3601 GGAGGAGCTG CCCCTCAGCC CCACCCCTCT CCTGCCTTCA GCCCAGCCTT
 CGACAACCTC
 3661 TATTACTGGG ACCAGGACCC ACCAGAGCGG GGGGCTCCAC CCAGCACCTT
 CAAAGGGACA
 3721 CCTACGGCAG AGAACCCAGA GTACCTGGGT CTGGACGTGC CAGTGTGA

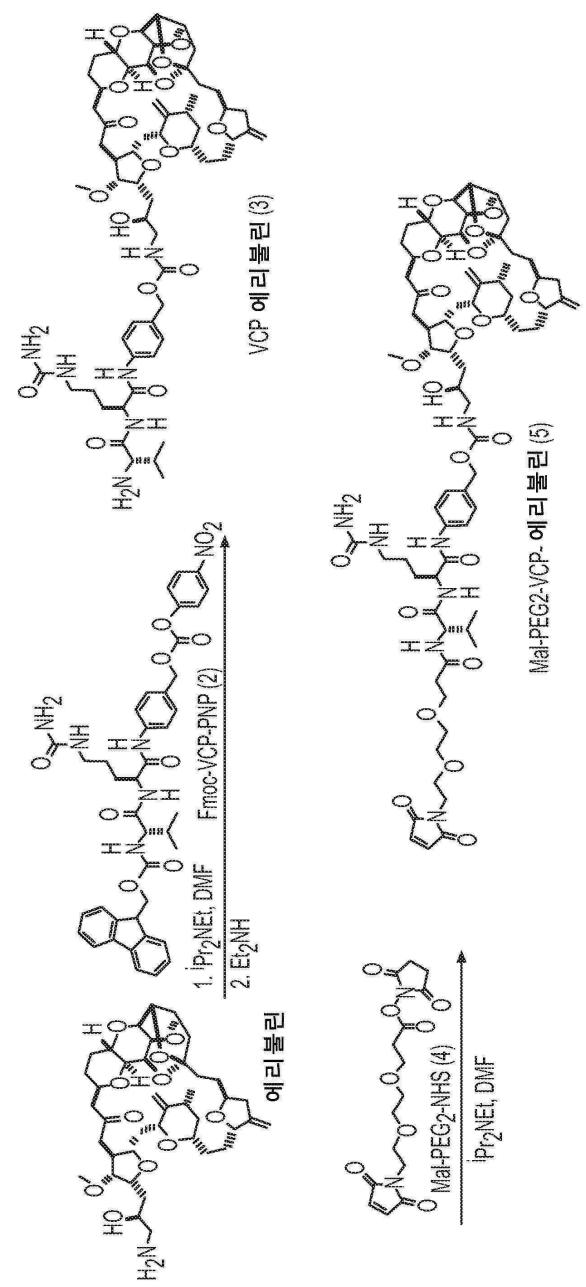
[0722]

도면

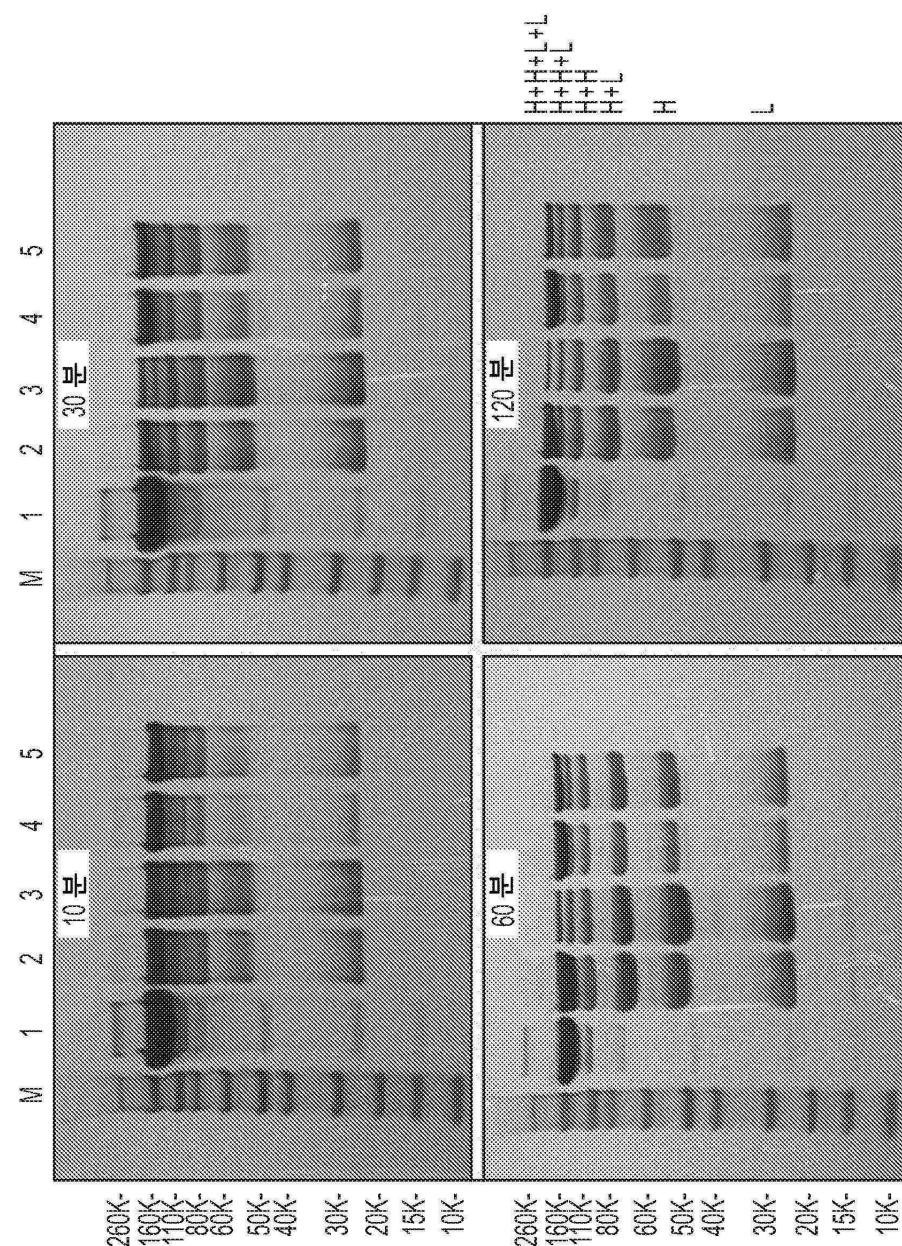
도면1



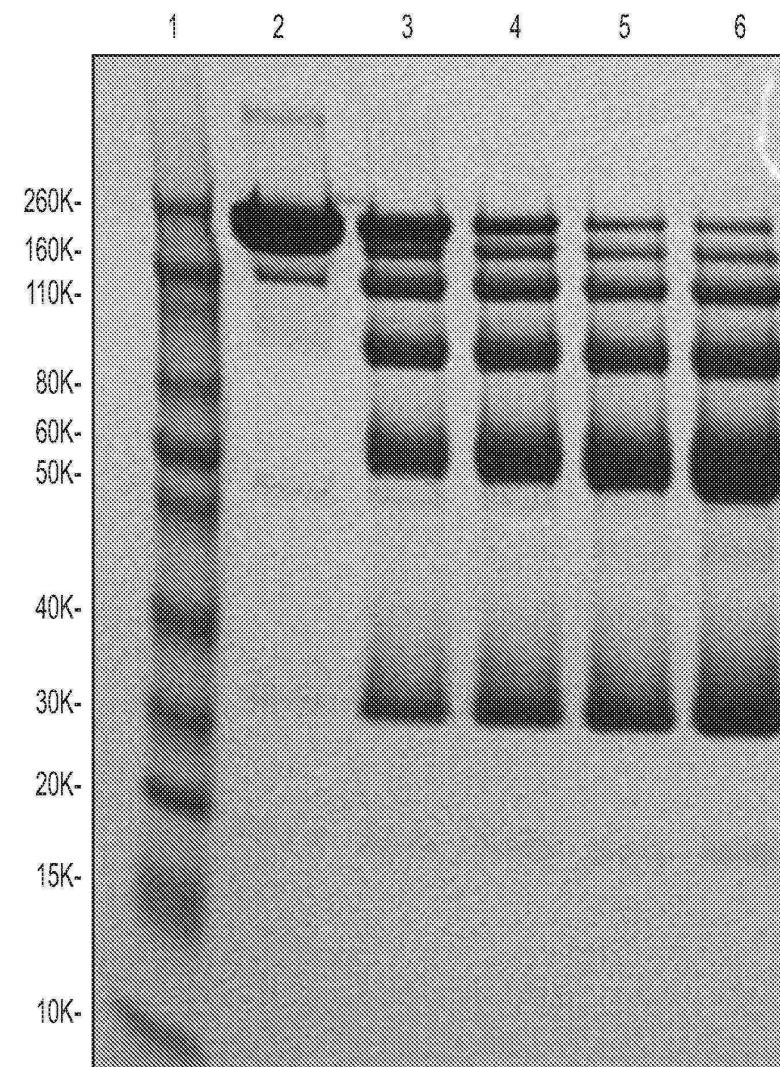
도면2



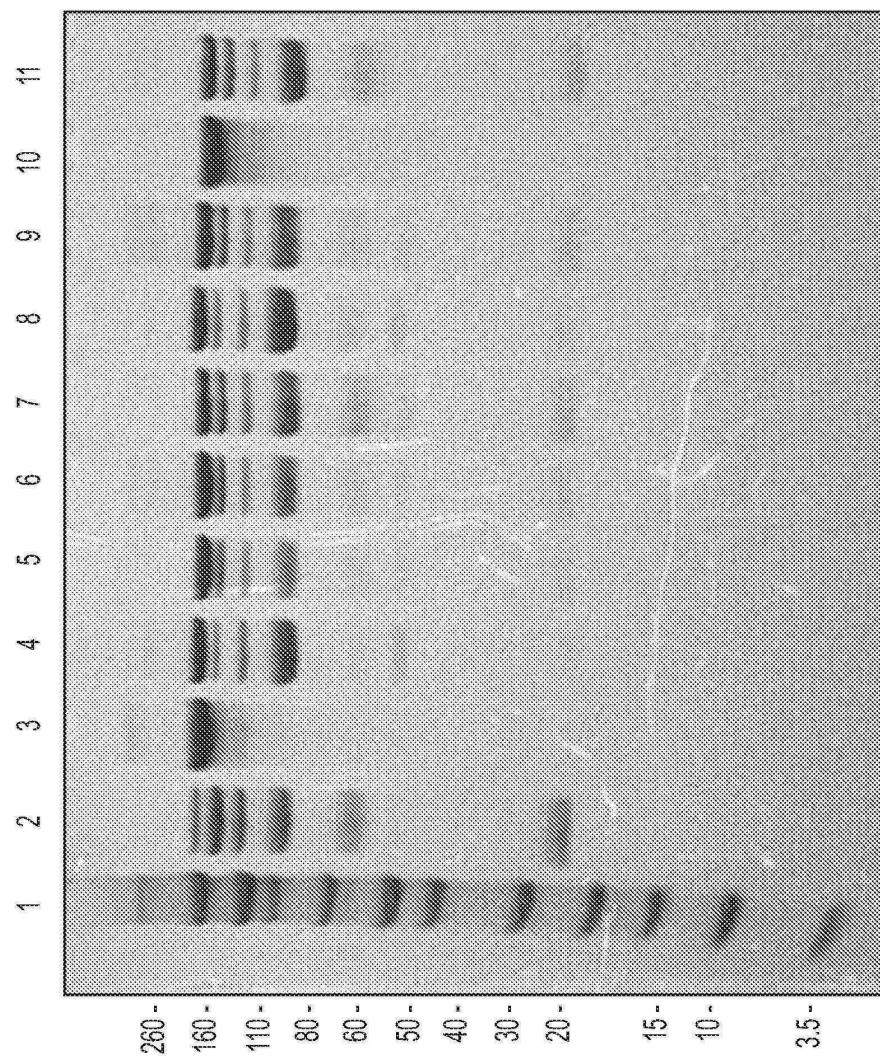
도면3



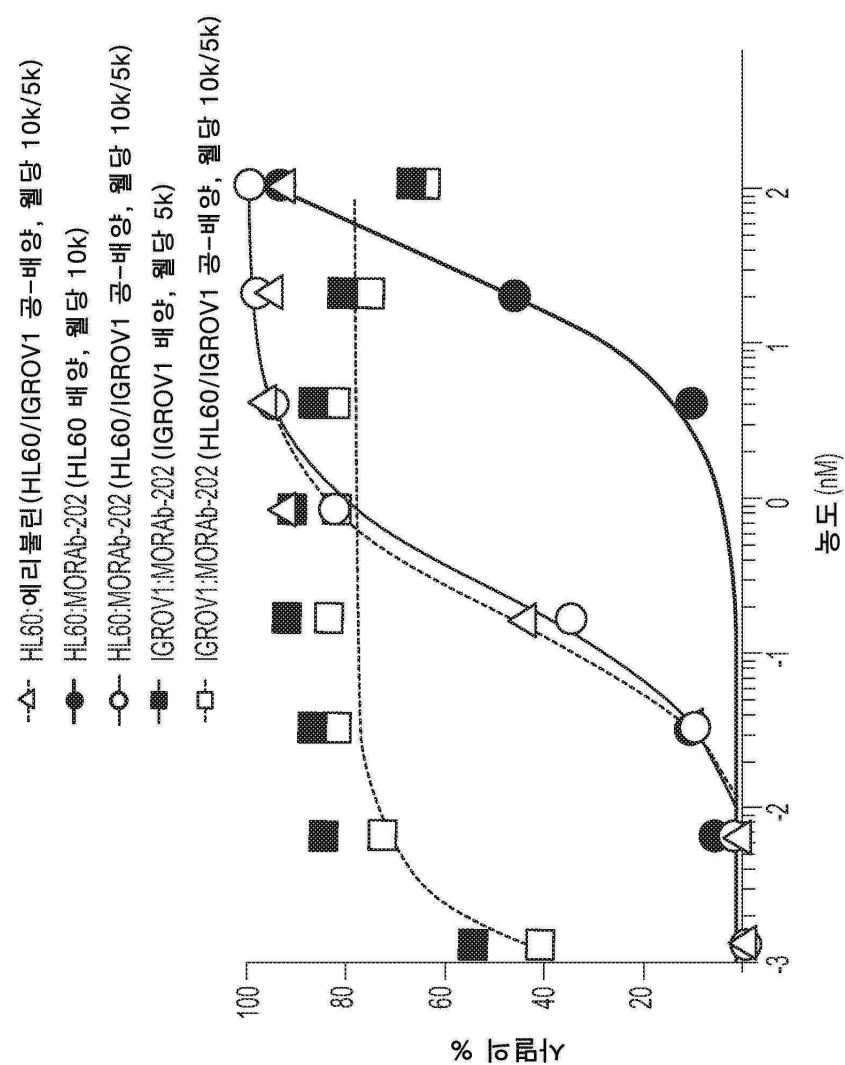
도면4



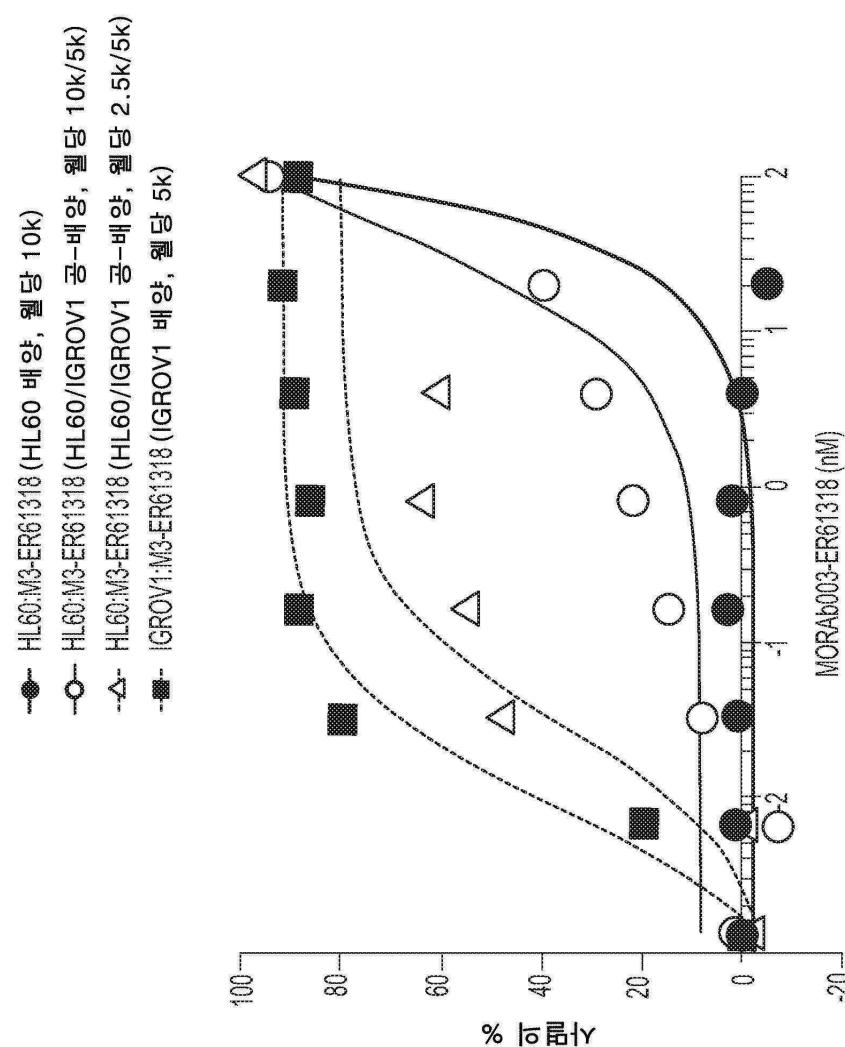
도면5



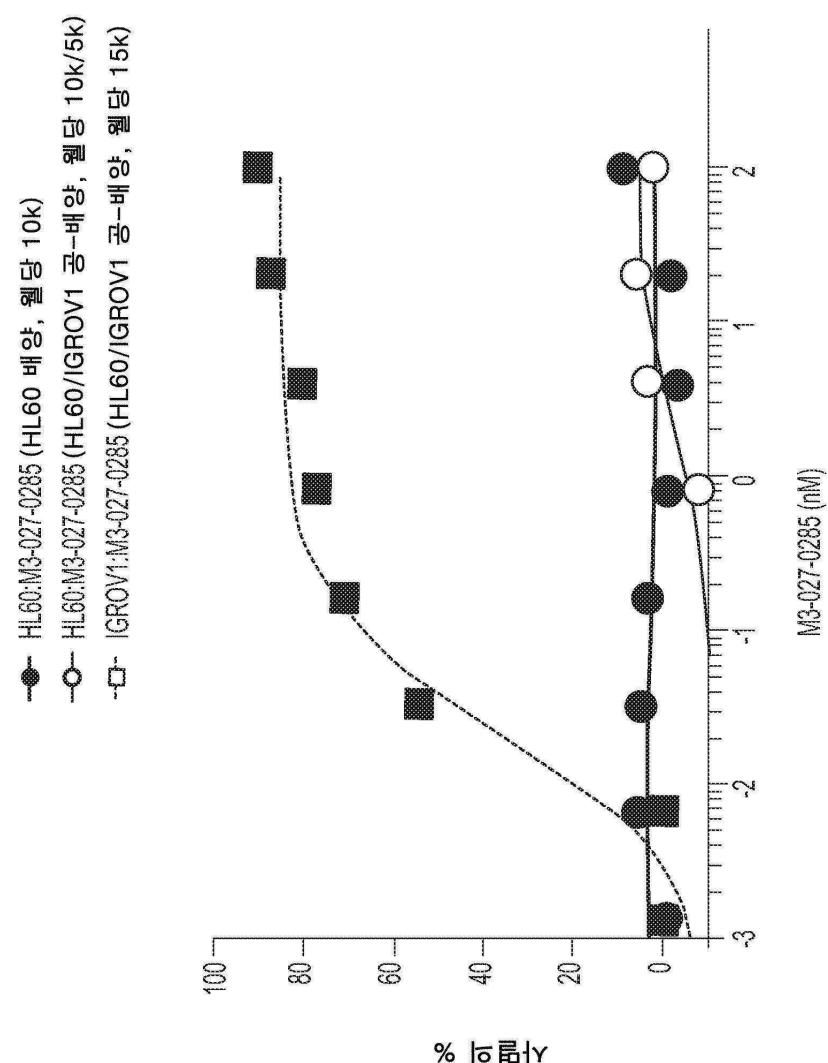
도면 6a



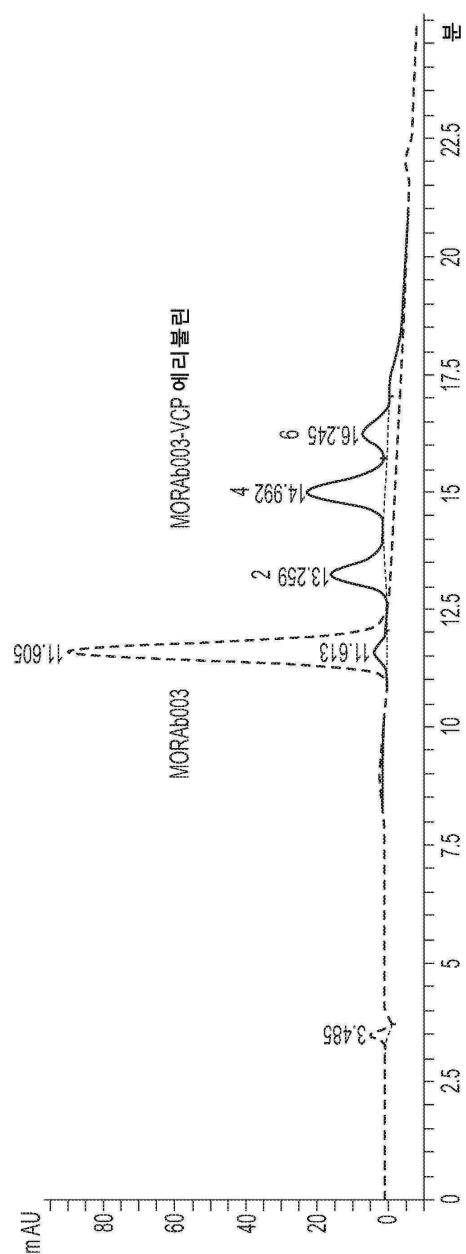
도면 6b



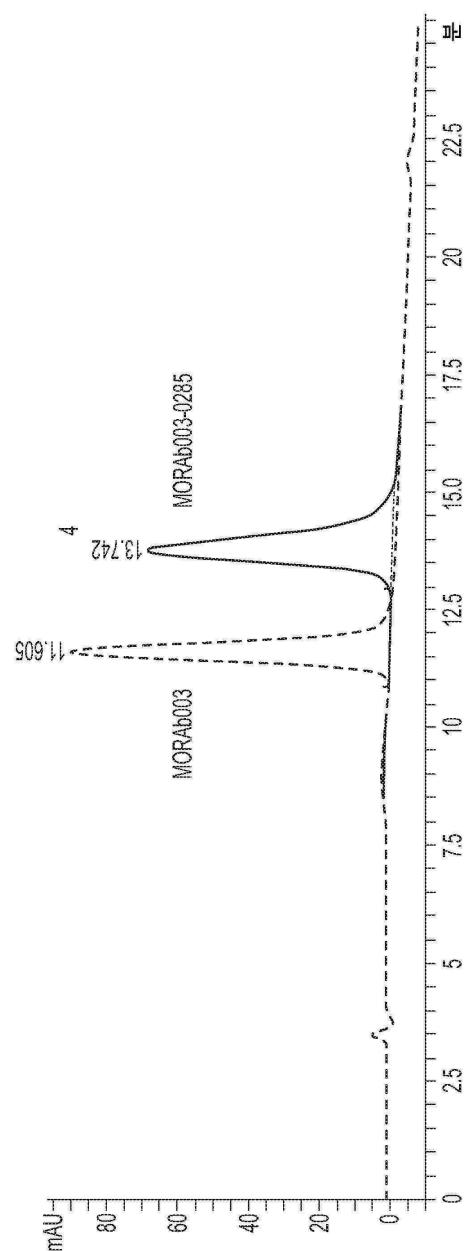
도면 6c



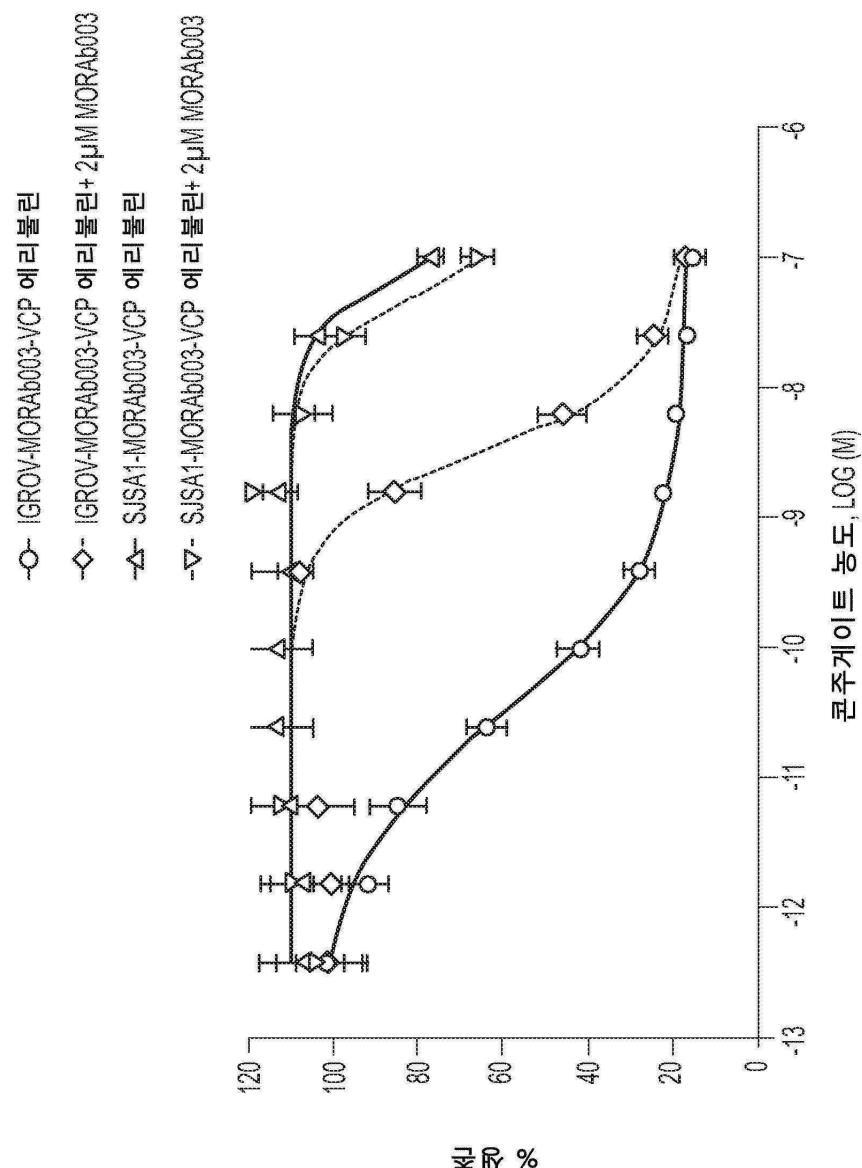
도면 7a



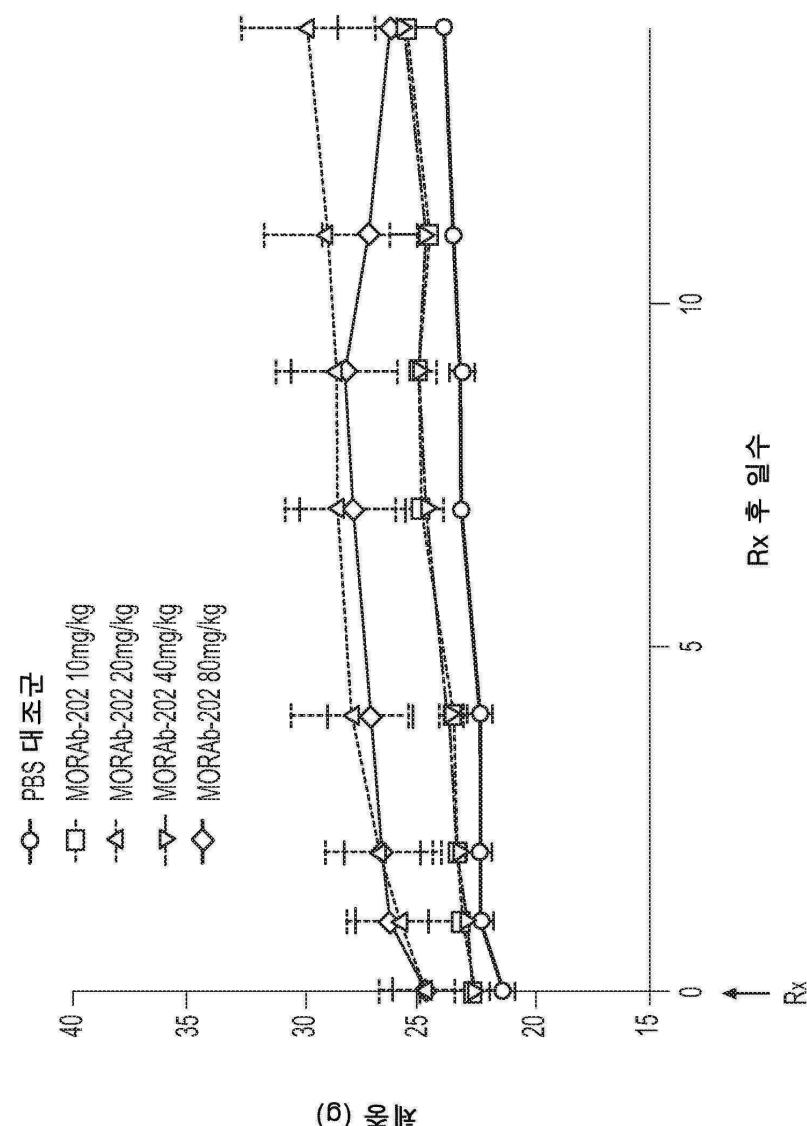
도면7b



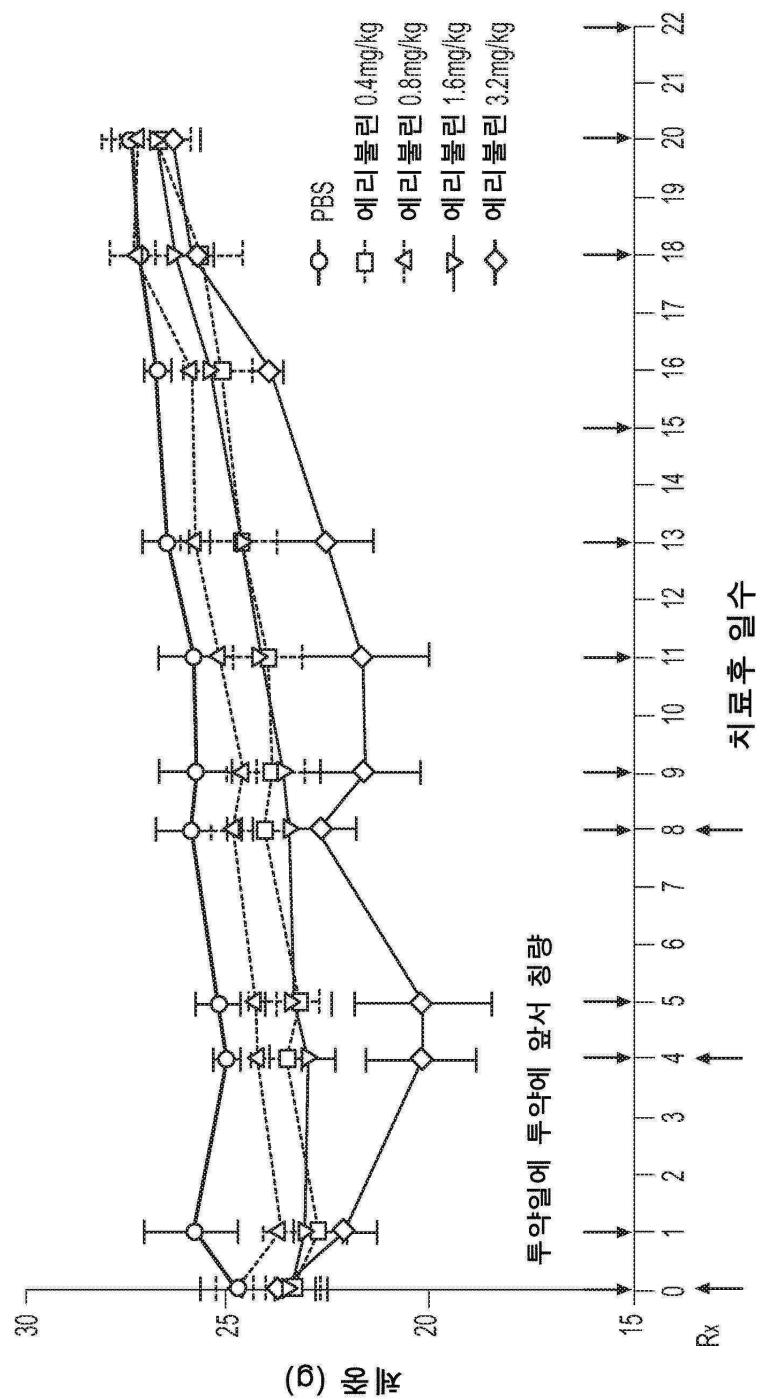
도면8



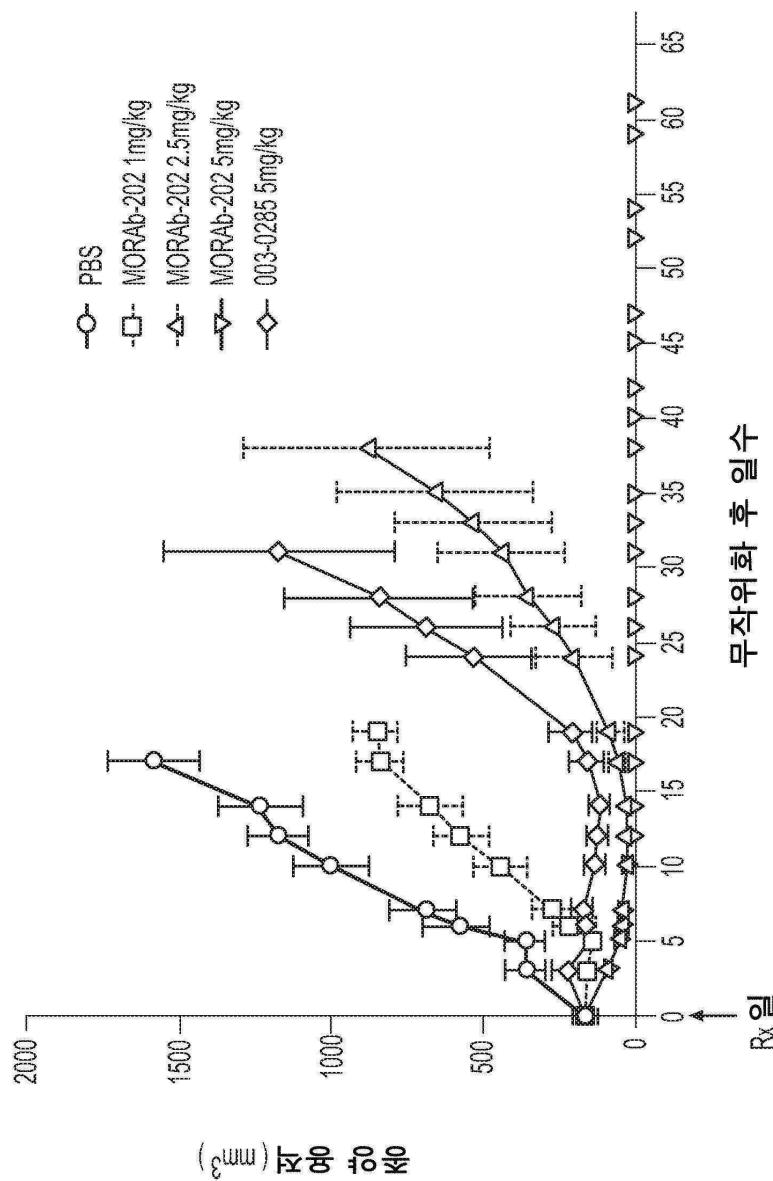
도면9



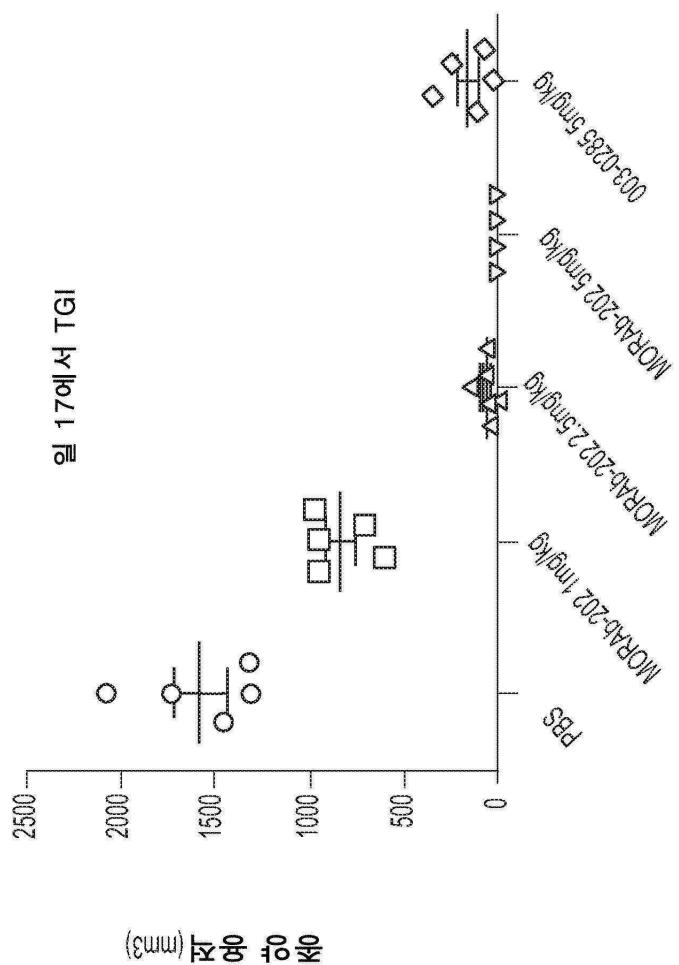
도면 10



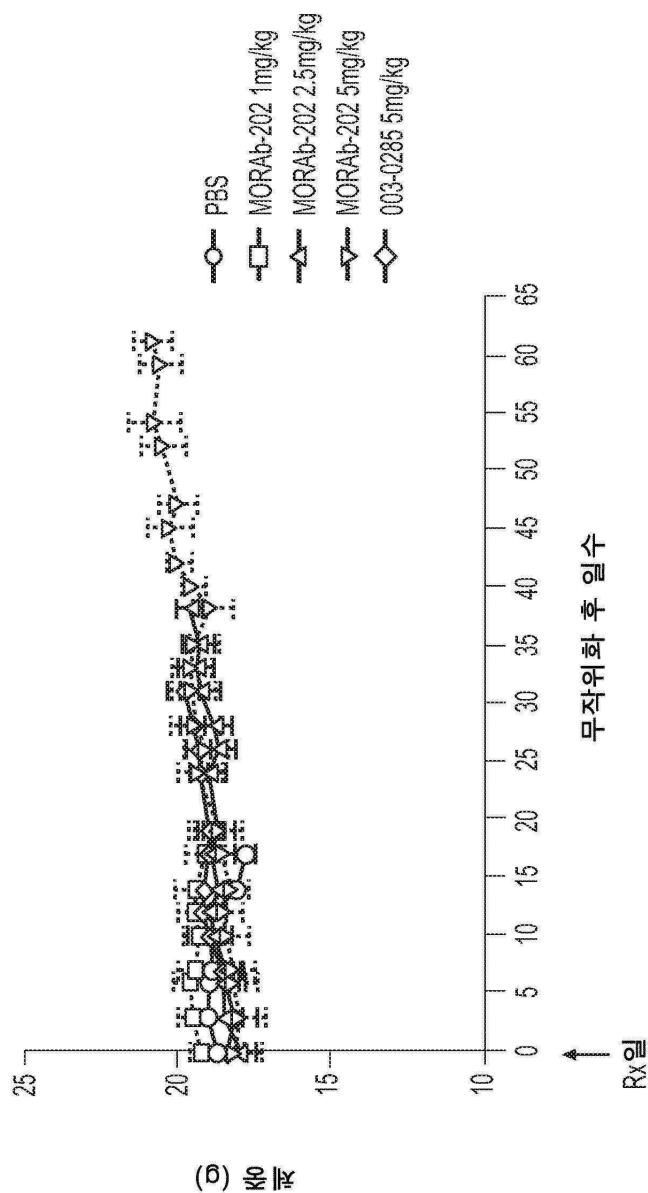
도면11



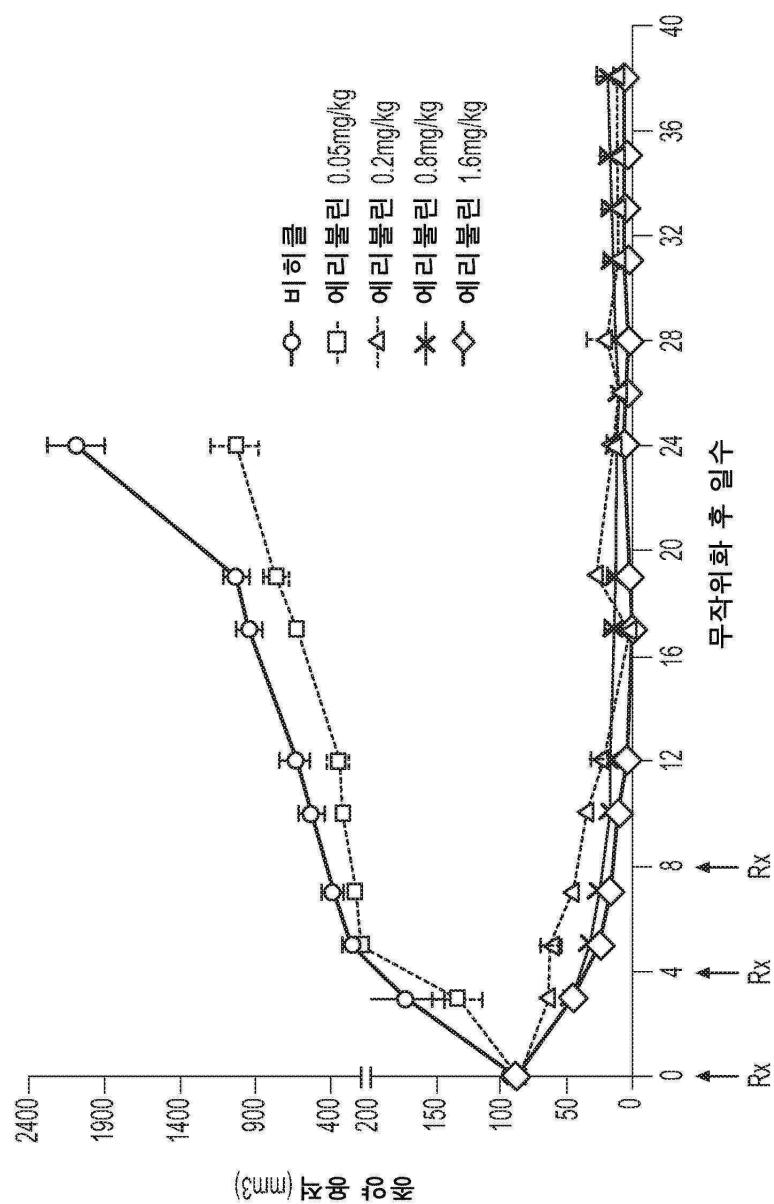
도면 12



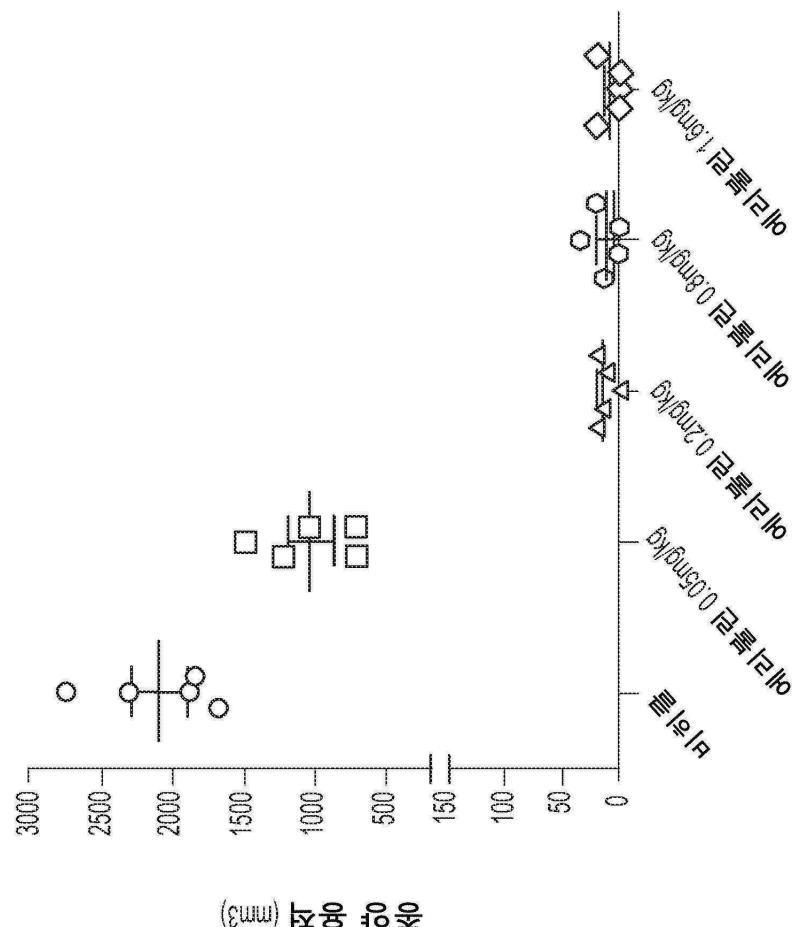
도면13



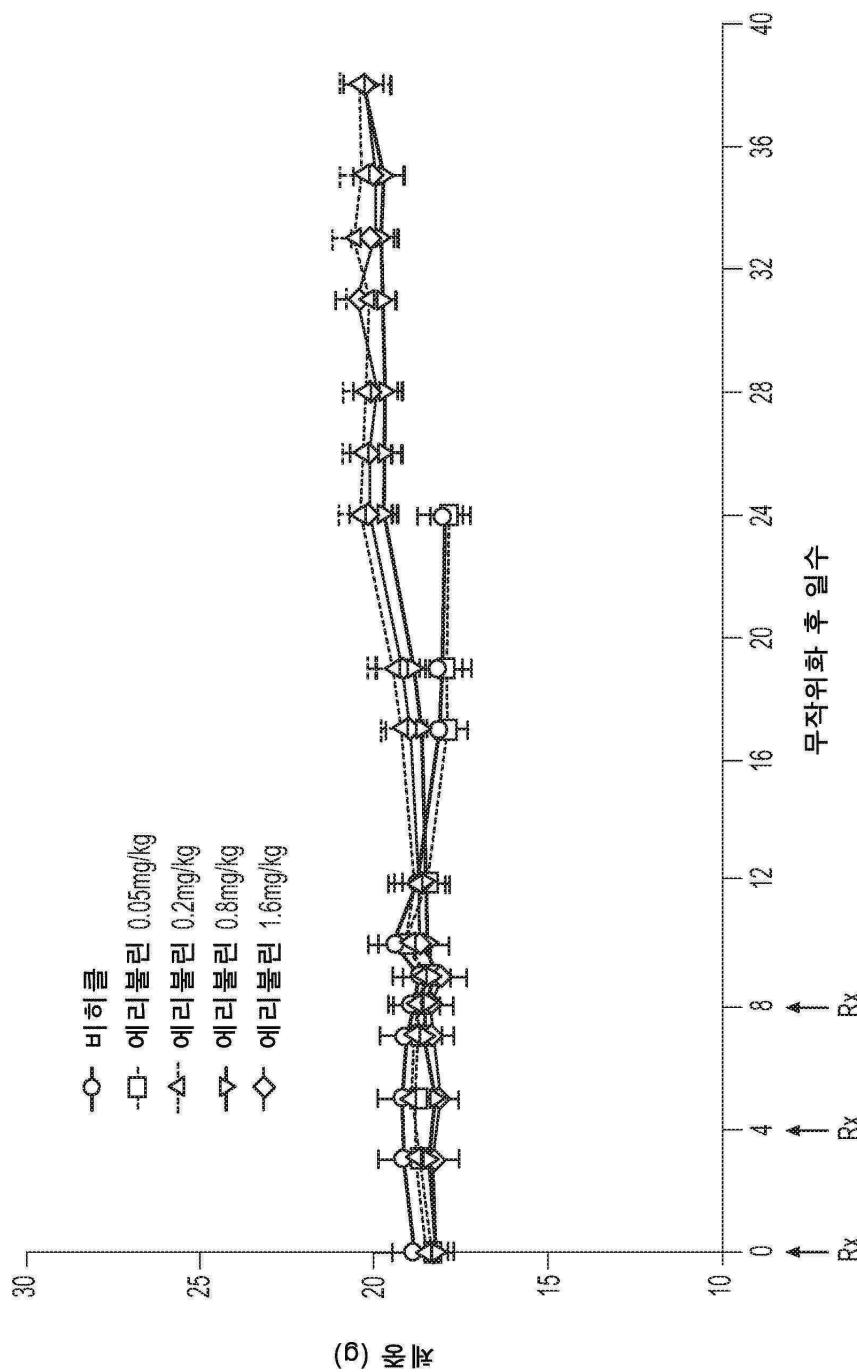
도면 14



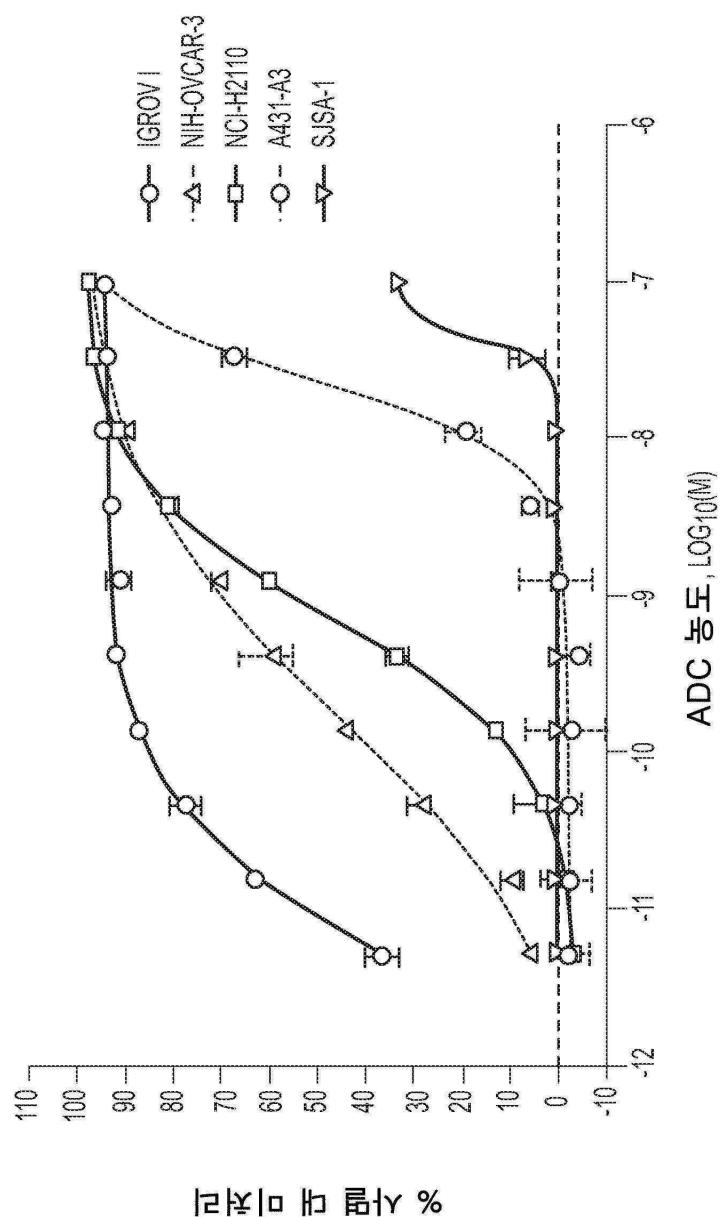
도면 15



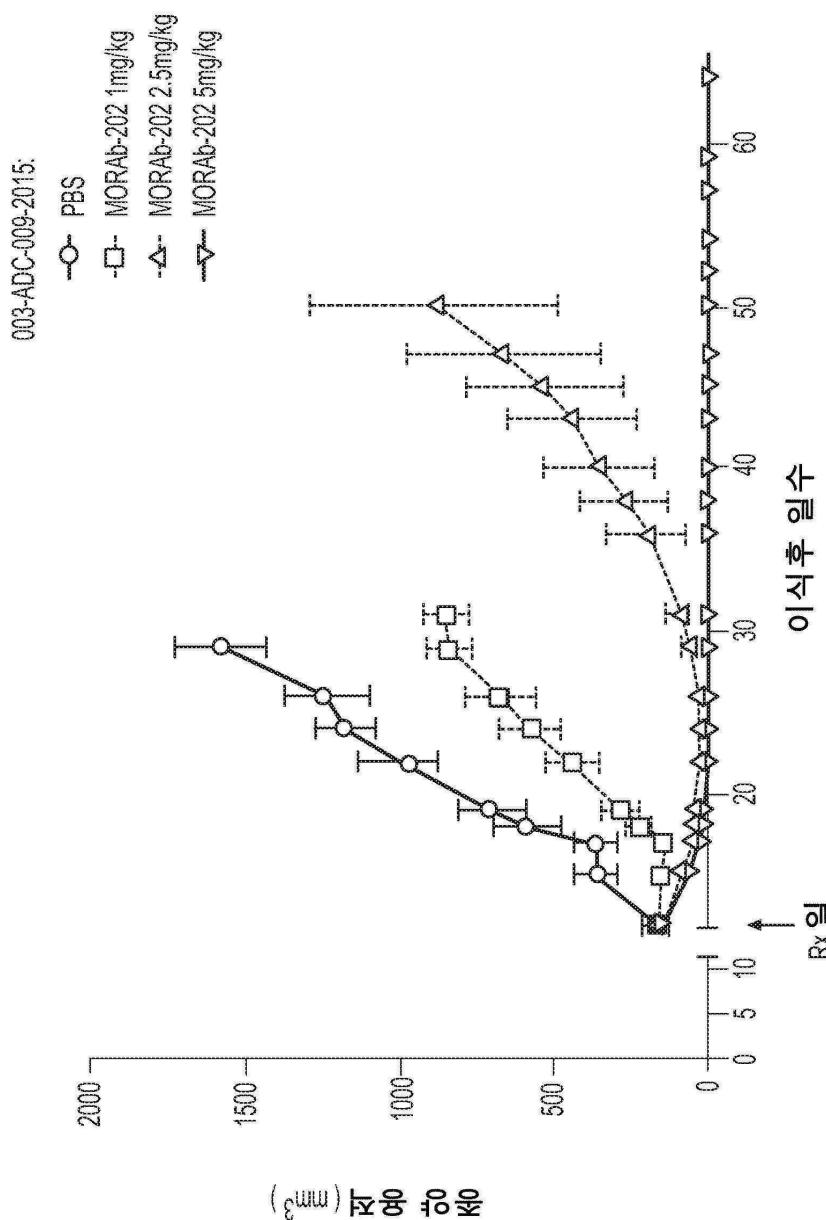
도면 16



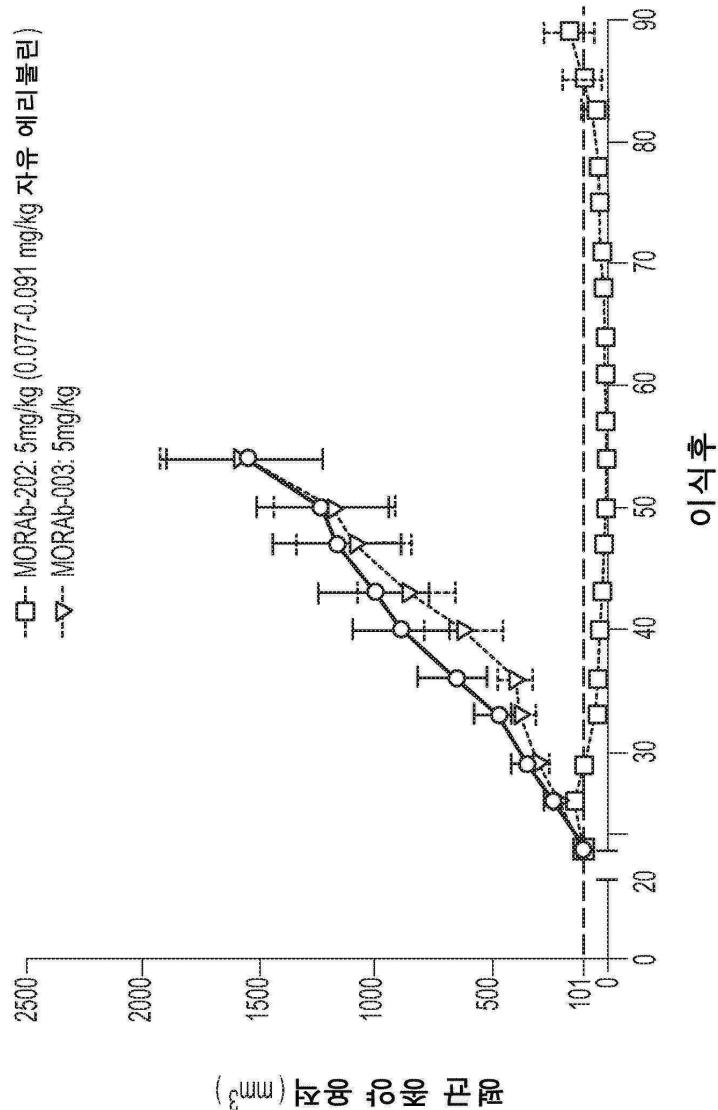
도면 17



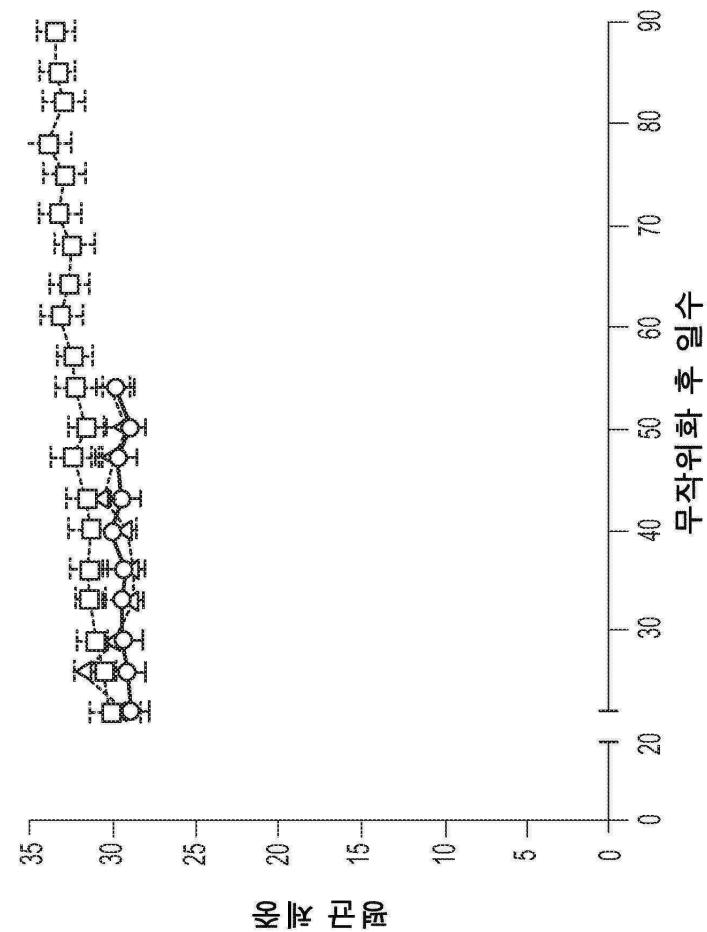
도면18



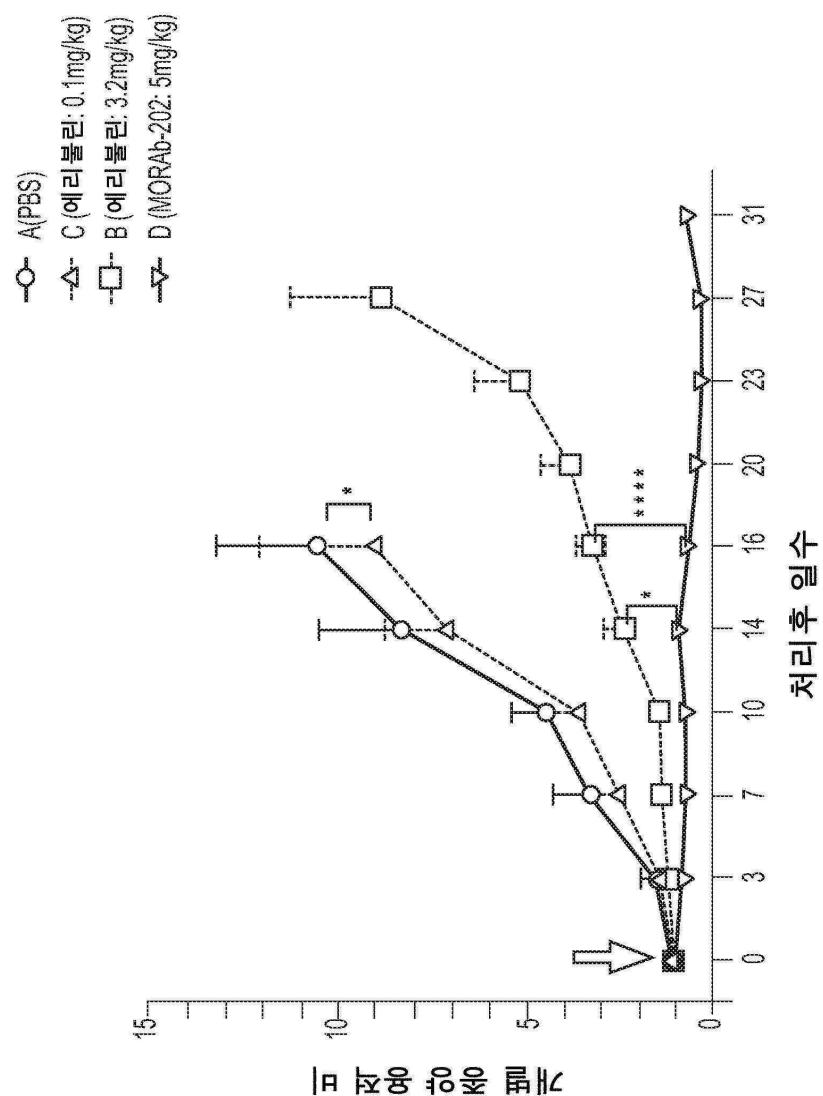
도면 19a



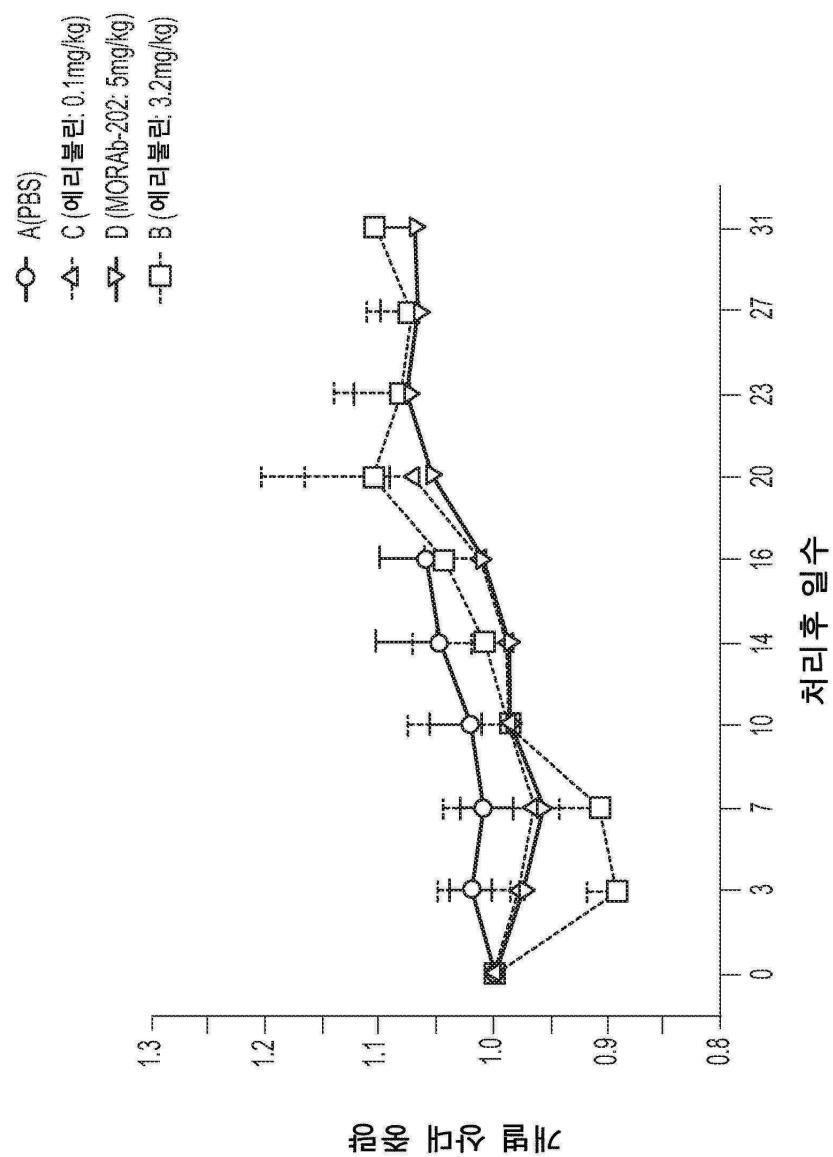
도면 19b



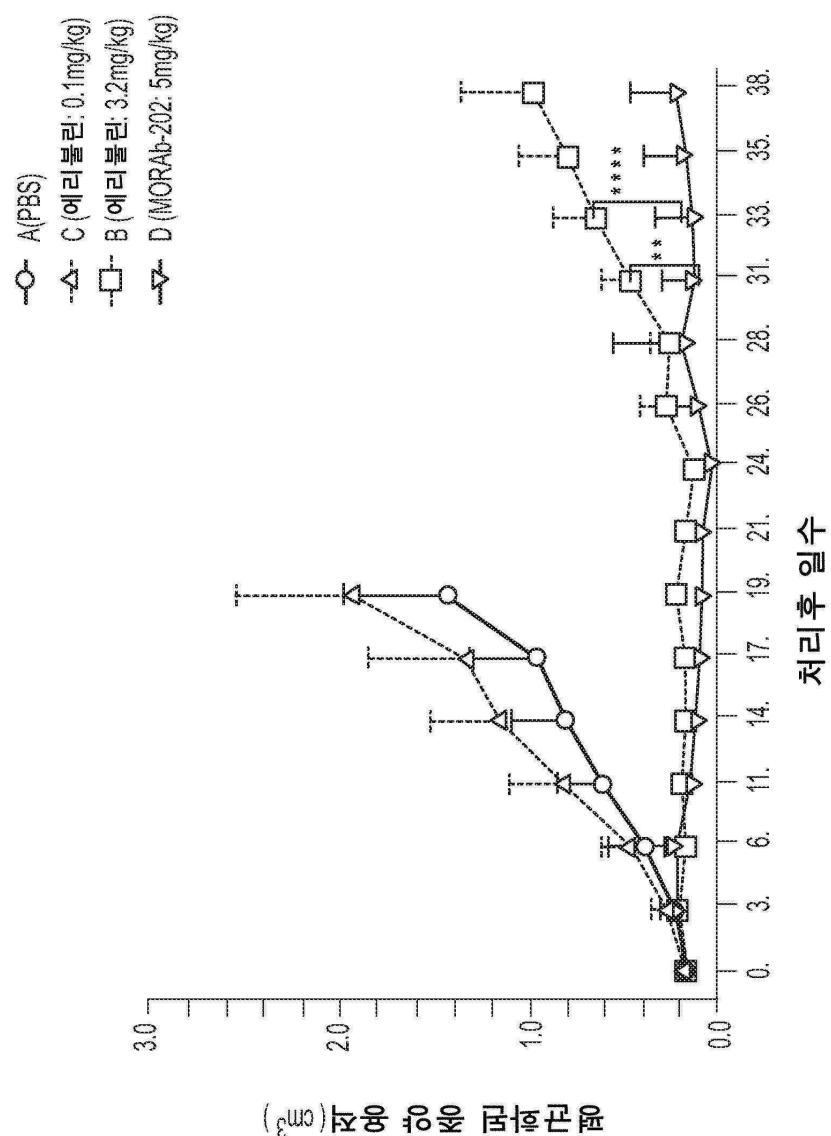
도면20a



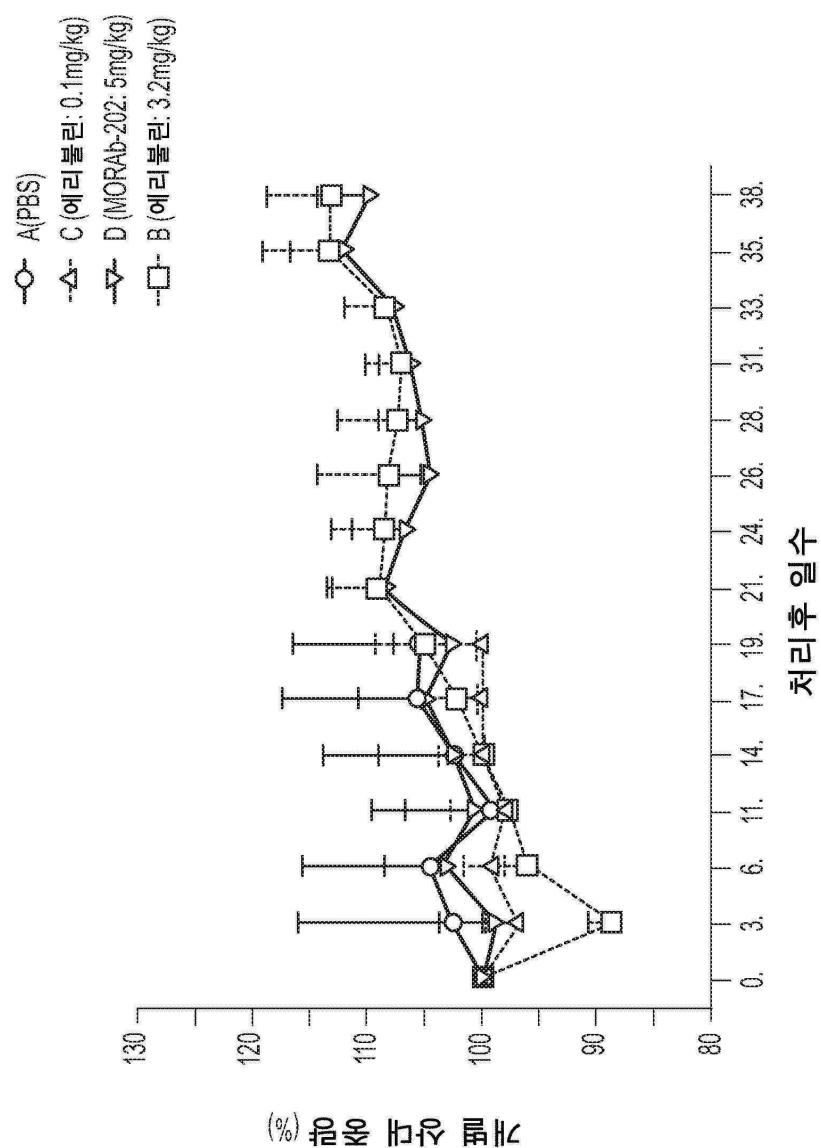
도면20b



도면 20c

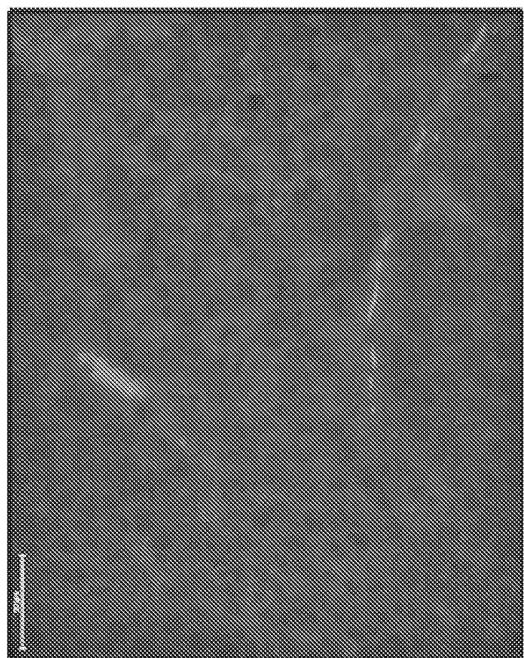


도면 20d

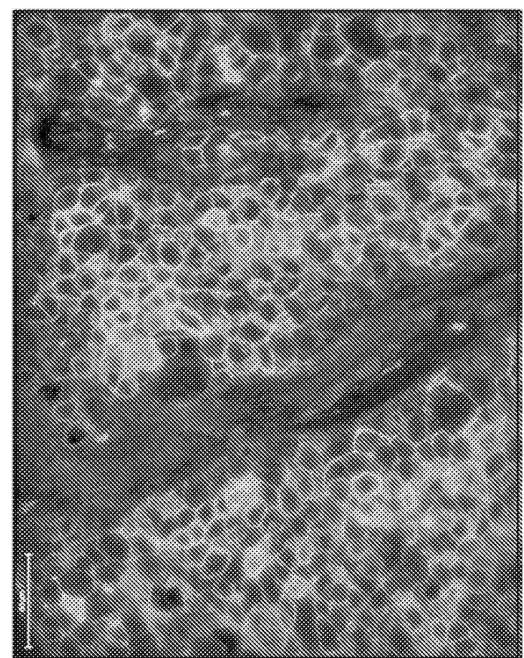


도면21a

비히클

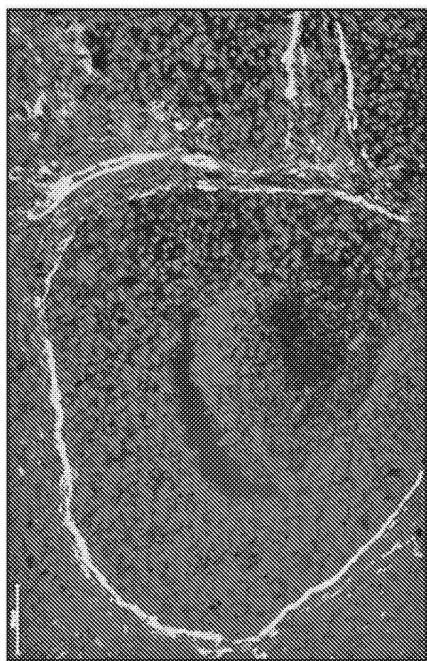


MORAb-202 (5 mg/kg)

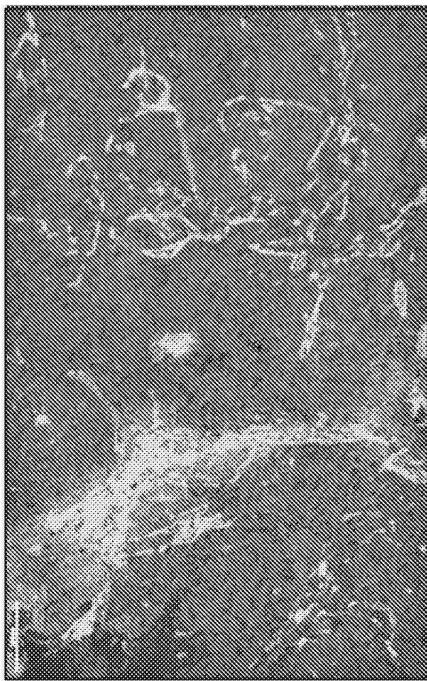


도면21b

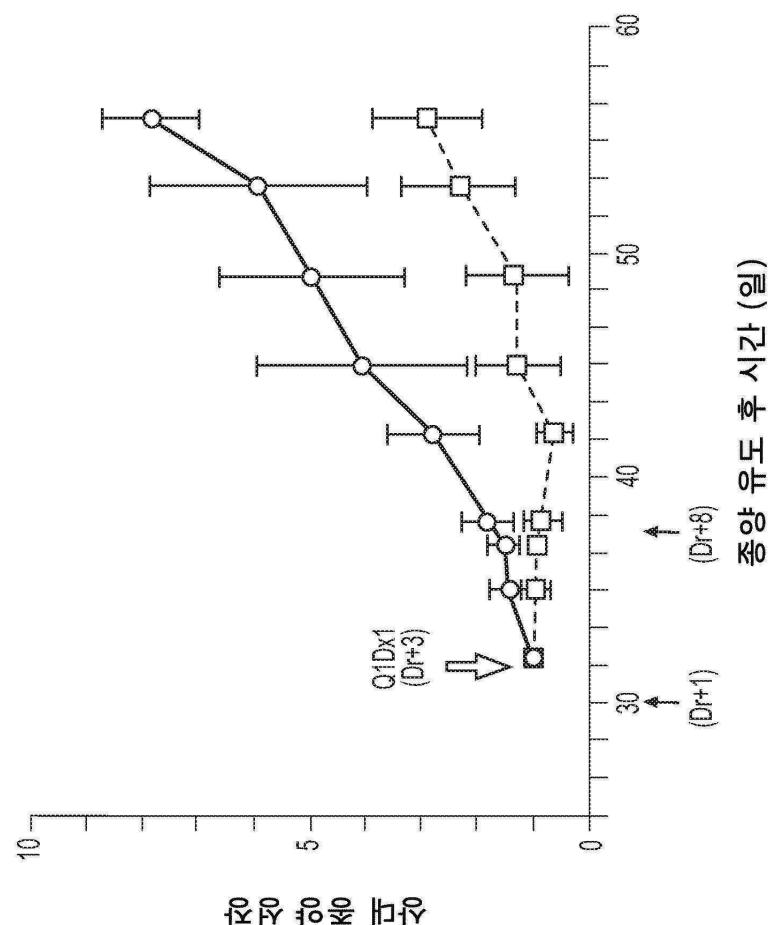
MORAb-202 (5 mg/kg)



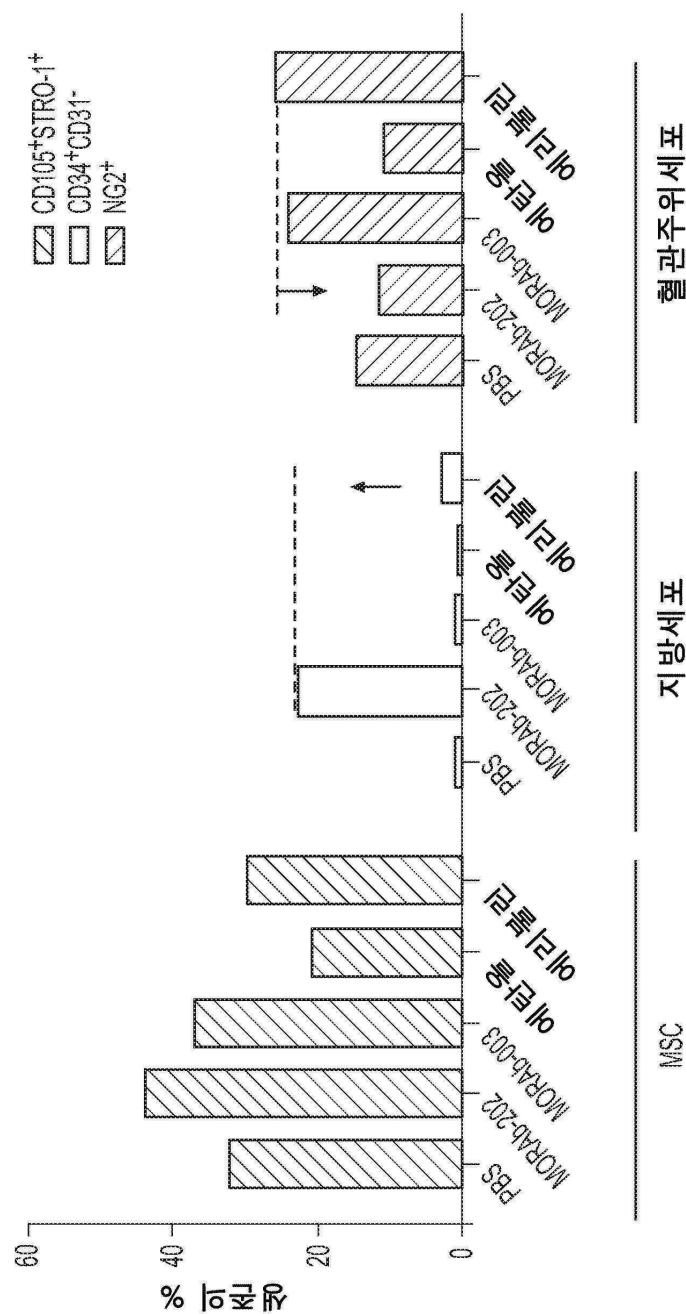
미처리



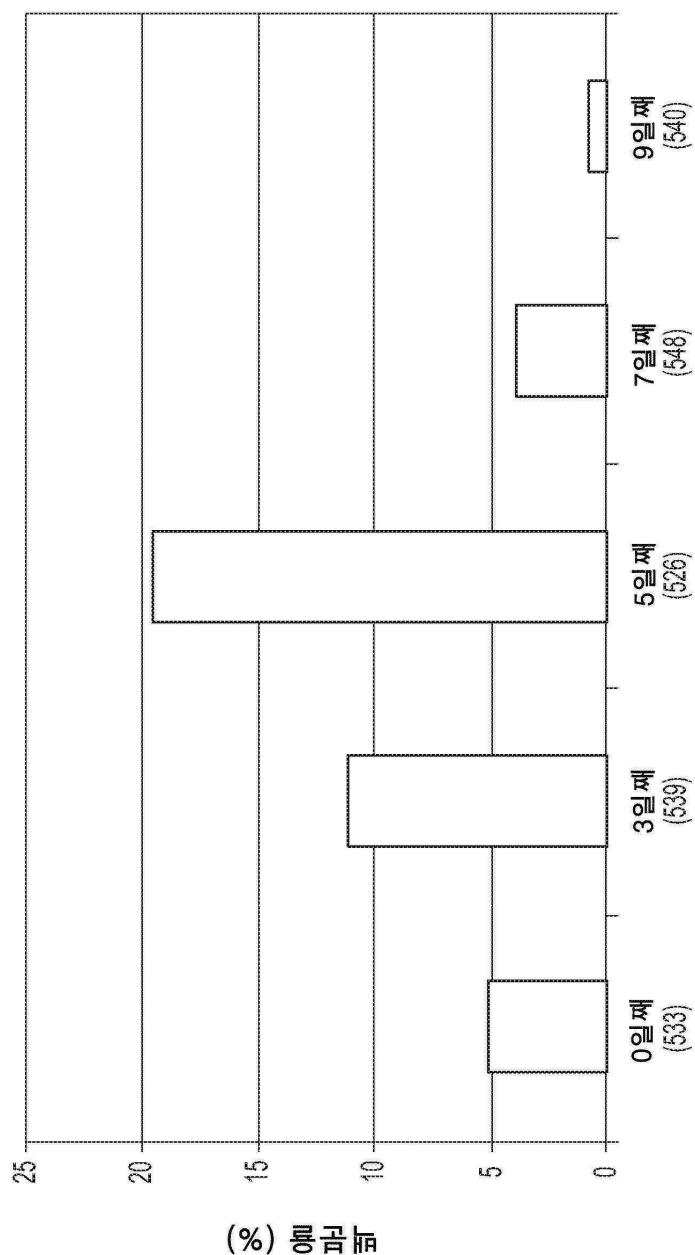
도면 21c



도면22



도면23



서 열 목 록

- <110> EISAI CO., LTD.
 EISAI INC.
 MORPHOTEK, INC.
- <120> ERIBULIN-BASED ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND METHODS OF USE
- <130> 08061.0024-00304
- <140> PCT/US2017/020529
- <141> 2017-03-02
- <150> 62/302,562
- <151> 2016-03-02

<160> 368

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

Lys

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 2

Gly Tyr Gly Leu Ser

1 5

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 3

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

1 5 10 15

Gly

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 4

His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 5

<211> 468

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 5

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

1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe

35 40 45

Ser Gly Tyr Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Val Ala Met Ile Ser Ser Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala

65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn

85 90 95

Thr Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val

100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 245 250 255
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 260 265 270
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 275 280 285
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 290 295 300

 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 305 310 315 320
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 325 330 335
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 340 345 350
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 355 360 365
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

 370 375 380
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 385 390 395 400
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 405 410 415
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 420 425 430
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 435 440 445

 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 450 455 460
 Ser Pro Gly Lys
 465
 <210> 6
 <211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 6

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 7
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 7
 Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn Asn Leu His

1 5 10

<210> 8
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 8

Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 9
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 9

Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 10
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
 <400> 10

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

1 5 10 15

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

20	25	30
Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile		
35	40	45
Ser Ser Asn Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro		
50	55	60
Lys Pro Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser		
65	70	75
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser		
85	90	95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser		
100	105	110
Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile		
115	120	125
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp		
130	135	140
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn		
145	150	155
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu		
165	170	175
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp		
180	185	190
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
195	200	205
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
210	215	220
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
225	230	235
<210> 11		
<211> 1407		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 11

atggatgga gctgtatcat cctttctt gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgag	60
gtccaaactgg tggagagcgg tggaggtgtt gtgcaacctg gccggccct ggcgtgtcc	120
tgctccgcat ctggcttcac cttcagcggc tatgggttgt ctgggtgag acaggcacct	180
ggaaaaggct ttgagtggt tgcaatgatt agtagtggt gttagttatac ctactatgca	240
gacagtgtga agggtagatt tgcaatatcg cgagacaacg ccaagaacac attttctg	300
caaattggaca gcctgagacc cgaagacacc gggcttattttgtcaag acatggggac	360
gatccgcct gttcgctta ttggggccaa gggacccgg tcaccgtctc ctcagcctcc	420
accaagggcc catcggtctt cccctggca ccctcctcca agagcacctc tggggcaca	480
gcggccctgg gctgcgttgtt caaggactac ttcccccgaac cggtgacgggt gtcgtggaa	540
tcaggcgtcc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccggctg tcctacagtc ctcaggactc	600
tactccctca gcagcgttgtt gaccgtgccc tccagcagct tggcacccca gacctacatc	660
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagtta gcccaaatct	720
tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactccctggg gggaccgtca	780
gtctccctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac ccctgaggtc	840
acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtaacgt	900
gacgcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	960
taccgtgtgg tcagcgtctt caccgtctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	1020
aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc	1080
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccggga tgagctgacc	1140
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgt	1200
gagtgggaga gcaatggca gcccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	1260
tccgacggct cttttttttt atattcaaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1320
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag	1380
accctctccc tgtctccgg gaaatga	1407

<210> 12

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 12

atggatgga gcgttatcat cctttcttg gtagcaacag ctacagggtt ccactccgac 60

atccagctga cccagagccc aagcagcctg agcgcgcagcg tgggtgacag agtgcaccat 120
 acctgtatgt tcagctcaag tataagttcc aacaacttgc actggatcca gcagaagcca 180
 gttaaggctc caaagccatg gatctacggc acatccaacc tggcttctgg tgtccaaaggc 240
 agattcagcg gtacggtag cggtaccgac tacacccatca ccatcagcag cttccagcca 300
 gaggacatcg ccacctaacta ctgccaacag tggatgtt acccgatcat gtacacgttc 360
 ggccaaggga ccaaggtgga aatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420
 ccgcacatcg atgacgatgtt gaaatctggaa actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aagggtggata acgcctcca atcggtaac 540
 tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
 ctgacgtgtga gcaaaggcaga ctacgagaaa cacaaggct acgcctgcga agtcacccat 660
 cagggcctga gctcgccgt cacaagagc ttcaacaggg gagatgtt a 711

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Gly

1 5

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 14

Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr

1 5

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 15

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 16

Ser Ser Ile Ser Ser Asn Asn

1 5

<210> 17

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 17

Gly Thr Ser

1

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 18

Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 19

<211> 257

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Val Trp Val

1 5 10 15

Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu

20 25 30

Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly

35 40 45

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala

50 55 60

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr

65 70 75 80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys

85 90 95

Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn

100 105 110

Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg

115 120 125

Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu

130 135 140

Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp

145 150 155 160

Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln

165 170 175

Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile

180 185 190

Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg

195 200 205

Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu

210 215 220

Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala

225 230 235 240

Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu

245 250 255

Ser

<210>

20

<211> 982

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

cattccttgg tgcactgac cacagcttt tcttcaggga cagacatggc tcagcggatg	60
acaacacagc tgctgctcct tctagtgtgg gtggctgttag taggggaggc tcagacaagg	120
attgcattgg ccaggactga gcttctcaat gtctgcatac acgccaagca ccacaaggaa	180
aagccaggcc ccgaggacaa gttgcatac cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc	240
tgttctacca acaccagcca ggaagcccat aaggatgtt cttaccata tagattcaac	300
tggaaccact gtggagagat ggcacctgcc tgcaaacggc atttcatcca ggacacctgc	360

ctctacgagt gctcccaa cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc	420
aaagagcggg tactgaacgt gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtggaaagat	480
tgtcgacct cctacacctg caagagcaac tggcacaagg gctggactg gacttcagg	540
ttaacaagt ggcgcgtggg agtcgcctgc caaccttcc atttctactt ccccacaccc	600
actgttctgt gcaatgaaat ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgaggg	660
agtggccgct gcatccagat gtggttcgac ccagccagg gcaacccaa tgaggaggtg	720
gcgaggttct atgctgcagc catgagtggg gctggccct gggcagcctg gccttcctg	780

cttagcctgg ccctaattgt gctgtggctg ctcaatgtac ctcttttac cttctgatac	840
ctggaaatcc ctgcctgtt cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg	900
tccggccctt gacagccact ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat	960
ttggaaaaaa aaaaaaaaaa aa	982

<210> 21

<211> 1255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15

Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys
 20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
 35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
 50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
 65 70 75 80

Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu
 85 90 95

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
 100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro
 115 120 125

Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser
 130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln
 145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn
 165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys
 180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser
 195 200 205

Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys
 210 215 220

Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys
 225 230 235 240

Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu

245	250	255	
His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val			
260	265	270	
Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg			
275	280	285	
Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu			
290	295	300	
Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln			
305	310	315	320
Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys			
325	330	335	
Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu			
340	345	350	
Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys			
355	360	365	
Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp			
370	375	380	
Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe			
385	390	395	400
Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro			
405	410	415	
Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg			
420	425	430	
Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu			
435	440	445	
Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly			
450	455	460	
Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val			
465	470	475	480
Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr			
485	490	495	
Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His			

500	505	510
Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys		
515	520	525
Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys		
530	535	540
Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys		
545	550	555
Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys		
565	570	575
Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp		
580	585	590
Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu		
595	600	605
Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln		
610	615	620
Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys		
625	630	635
640		
Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser		
645	650	655
Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly		
660	665	670
Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg		
675	680	685
Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly		
690	695	700
Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu		
705	710	715
720		
Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys		
725	730	735
Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile		
740	745	750

Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu
 755 760 765
 Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg
 770 775 780
 Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu
 785 790 795 800
 Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg

 805 810 815
 Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly
 820 825 830
 Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala
 835 840 845
 Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
 850 855 860
 Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
 865 870 875 880

 Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
 885 890 895
 Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
 900 905 910
 Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
 915 920 925
 Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
 930 935 940
 Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met

 945 950 955 960
 Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
 965 970 975
 Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu
 980 985 990
 Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu
 995 1000 1005

Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr Leu

1010 1015 1020

Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly Ala Gly

1025 1030 1035 1040

Gly Met Val His His Arg His Ser Ser Ser Thr Arg Ser Gly Gly

1045 1050 1055

Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu Ala Pro Arg

1060 1065 1070

Ser Pro Leu Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser Asp Val Phe Asp Gly

1075 1080 1085

Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu Gln Ser Leu Pro Thr His

1090 1095 1100

Asp Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu

1105 1110 1115 1120

Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln

1125 1130 1135

Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro

1140 1145 1150

Arg Glu Gly Pro Leu Pro Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu

1155 1160 1165

Arg Pro Lys Thr Leu Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val

1170 1175 1180

Phe Ala Phe Gly Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr Pro Gln

1185 1190 1195 1200

Gly Gly Ala Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala

1205 1210 1215

Phe Asp Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala

1220 1225 1230

Pro Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr

1235 1240 1245

Leu Gly Leu Asp Val Pro Val

1250	1255					
<210>	22					
<211>	3768					
<212>	DNA					
<213>	Homo sapiens					
<400>	22					
atggagctgg	cgcccttgg	ccgctgggg	ctcctcctcg	ccctcttgcc	ccccggagcc	60
gcgagcaccc	aagtgtgcac	cggcacagac	atgaagctgc	ggctccctgc	cagtcccgag	120
acccacacctgg	acatgctccg	ccacctctac	caggcgtgcc	aggtggtgca	gggaaacctg	180
gaactcacct	acctgcccac	caatgccagc	ctgtccccc	tgcaggatat	ccaggaggtg	240
cagggctacg	tgtctatgc	tcacaaccaa	gtgaggcagg	tcccactgca	gaggctgcgg	300
attgtgcgag	gcacccagct	cttgaggac	aactatgcc	tggccgtgct	agacaatgga	360
gaccgcgtga	acaataccac	ccctgtcaca	ggggcctccc	caggaggcct	gccccggctg	420
cagcttcgaa	gcctcacaga	gatttgaaa	ggaggggtct	tgcgtccagc	gaacccccag	480
ctctgcgtacc	aggacacgat	tttggaaag	gacatcttcc	acaagaacaa	ccagctggct	540
ctcacactga	tagacaccaa	ccgctctcg	gcctgccacc	cctgttctcc	gatgtgtaa	600
ggctcccgct	gctggggaga	gagttctgag	gattgtcaga	gcctgacgct	cactgtctgt	660
gccgggtggct	gtgcccgtg	caagggcca	ctgcccactg	actgctgcca	tgaggcgtgt	720
gctggccgct	gcacggcc	caagcactct	gactgcctgg	cctgcctcca	cttcaaccac	780
agtggcatct	gtgagctgca	ctgcccagcc	ctggcacct	acaacacaga	cacgtttgag	840
tccatgcca	atcccgaggg	ccggatata	ttcggccca	gctgtgtgac	tgcctgtccc	900
tacaactacc	tttctacgga	cgtggatcc	tgcaccctcg	tctgccccct	gcacaaccaa	960
gaggtgacag	cagaggatgg	aacacagcgg	tgtgagaagt	gcagcaagcc	ctgtgcccgaa	1020
gtgtgctatg	gtctggcat	ggagcacttg	cgagaggta	ggcagttac	cagtgcctat	1080
atccaggagt	ttgctggctg	caagaagatc	tttgggagcc	tggcatttct	gccggagagc	1140
tttgcgtgggg	acccagcctc	caacactgccc	ccgctccagc	cagaggcagct	ccaagtgttt	1200
gagactctgg	aagagatcac	aggtaacca	tacatctcag	catggccgga	cagcctgcct	1260
gacctcagcg	tctccagaa	cctgcaagta	atccgggac	gaattctgca	caatggcc	1320
tactcgctga	ccctgcaagg	gctggcattc	agctggctgg	ggctgcgtc	actgaggaa	1380
ctggcagtg	gactggccct	catccacca	aacacccacc	tctgctcg	gcacacggta	1440
ccctgggacc	agctttcg	gaacccgcac	caagctctgc	tccacactgc	caaccggcca	1500

gaggacgagt gtgtggcga gggcctggcc tgccaccagc tgtgcgccc agggcactgc	1560
tgggtccag gccccaccca gtgtgtcaac tgcagccagt tcctcgggg ccaggagtgc	1620
gtggaggaat gccgagtaact gcagggctc cccagggagt atgtaatgc caggactgt	1680
ttgccgtgcc accctgagtg tcagccccag aatggctcag tgacctgttt tggaccggag	1740
gctgaccagt gtgtggcctg tgcccactat aaggaccctc cttctgcgt gccccgtgc	1800
cccgccgtg taaaacctga cctctctac atgcccacatc ggaagttcc agatgaggag	1860
ggcgcacatgcc acccttgcac catcaactgc acccactcct gtgtggaccc ggtatgacaag	1920
ggctgccccg ccgagcagag agccagccct ctgacgtcca tcatctctgc ggtgggtggc	1980
attctgtcg tctgggtctt ggggggtggc tttggatcc tcatcaagcg acggcagcag	2040
aagatccgga agtacacatgc gcgagactg ctgcaggaaa cggagctggt ggagccgtg	2100
acacactagcg gagegatgcc caaccaggcg cagatgcggta tcctgaaaga gacggagctg	2160
aggaaggta aggtgcttgg atctggcgct tttggcacag tctacaaggg catctggatc	2220
cctgatgggg agaatgtgaa aattccagtg gccatcaaag tggtagggaa aaacacatcc	2280
cccaaagcca acaaagaaat ctttagacgaa gcatacgtga tggctgggtgt gggctcccc	2340
tatgtctccc gccttctggg catctgcctg acatccacgg tgcagctggt gacacagctt	2400
atgcctatg gtcgcctt agaccatgtc cggaaacc gggacgcct gggctccag	2460
gacctgctga actgggtat gcagattgcc aaggggatga gctacctggta ggtatgtgcgg	2520
ctcgatcaca gggacttggc cgctcggAAC gtgcggta agagtccaa ccatgtcaaa	2580
attacagact tcgggctggc tcggctgcgt gacattgacg agacagagta ccatgcagat	2640
ggggcaagg tgcccatcaa gtggatggcg ctggagtccttctccggc ggggttcacc	2700
caccagagt atgtgtggag ttatgggtgtg actgtgtggg agctgtatgac ttttggggcc	2760
aaacacctacg atggatccc agcccgaggag atccctgacc tgctggaaaa gggggagcgg	2820
ctgccccagc ccccatctg caccattgtat gtctacatga tcatggtaaa atgttggatg	2880
attgactctg aatgtcgcc aagattccgg gagttgggtgt ctgaattctc ccgcattggcc	2940
agggacccccc agcgctttgt ggtcatccag aatgaggact tggggccagc cagtccctt	3000
gacagcacct tctaccgctc actgctggag gacatgaca tgggggaccc ggtggatgt	3060
gaggagtagtac tggtagccca gcagggcttc ttctgtccag accctgcccc gggcgctgg	3120
ggcatggtcc accacaggca ccgcagctca tctaccagga gtggcggtgg ggacactgaca	3180
ctagggctgg agccctctga agaggaggcc cccaggtctc cactggcacc ctccgaaggg	3240
gctggctccg atgtatttga tggtgacctg ggaatggggg cagccaaagg gctgcaaagc	3300
ctccccacac atgacccag ccctctacag cggtacagtg aggacccac agtacccctg	3360

ccctctgaga ctgatggcta cgttgcccc ctgacctgca gccccagcc tgaatatgtg	3420
aaccagccag atgttggcc ccagccccct tcgccccgag agggccctct gcctgctgcc	3480
cgacctgctg gtgccactct ggaaaggccc aagactctct ccccaggaa gaatgggtc	3540
gtcaaagacg ttttgcctt tgggggtgcc gtggagaacc ccgagtaactt gacacccag	3600

ggaggagctg cccctcagcc ccaccctct cctgccttca gcccagcctt cgacaacctc	3660
tattactggg accaggaccc accagagcgg ggggctccac ccagcacctt caaaggaca	3720
cctacggcag agaaccaga gtacctgggt ctggacgtgc cagtgtga	3768

<210> 23

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 24

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ile Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 25

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Ser Gly

100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 26

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 28

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

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

50 55 60

Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
100	105		

<210>	29
<211>	123
<212>	PRT
<213>	Artificial Sequence
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400>	29

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

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

115	120	
<210>	30	
<211>	112	
<212>	PRT	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"	

<400> 30

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

1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser

85 90 95

Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 31

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 31

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95
 Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125
 <210> 32
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
 <400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
 Tyr Leu Ala Ser Thr 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 Cys
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser
 85 90 95
 Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 33
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
 <400> 33
 Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro

1	5	10	15
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala			
20	25	30	
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly			
35	40	45	
Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly			
50	55	60	
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met Thr			
65	70	75	80
Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Asn Gly			
85	90	95	
Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	
Leu Val Thr Val Ser Ser			

115			
<210> 34			
<211> 108			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"			
<400> 34			

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

1	5	10	15
Gly Thr Ile Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile			

35	40	45	
Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys			
65	70	75	80
Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr			

85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105

<210> 35

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asn Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 36

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

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Ser Ala Ser Thr 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 Cys			
65	70	75	80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr			
85	90	95	
Ser Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
100	105		

<210> 37

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 37

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30	
----	----	----	--

Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly

35	40	45	
----	----	----	--

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50	55	60	
----	----	----	--

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ala Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr

85	90	95	
----	----	----	--

Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

Ser Leu

<210> 38

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 38

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Ala Ser Glu Pro Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser

85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 39

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20	25	30
Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile		
35	40	45
Gly Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys		
50	55	60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
65	70	75
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
85	90	95
Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
100	105	110
Val Thr Val Ser Ser		

115		
<210>	40	
<211>	110	
<212>	PRT	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400>	40	
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val		
20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala 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 Cys		
65	70	75
Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser		
85	90	95
Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		

100 105 110

<210> 41

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 41

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly

85 90 95

Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 42

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 42

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn

20	25	30
Asn Asn Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu		
35	40	45
Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val		
65	70	75
Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp		
85	90	95
Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys		
100	105	110

<210>	43
<211>	125
<212>	PRT
<213>	Artificial Sequence
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400>	43

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

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

Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 44

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 44

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr 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 Cys Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp

85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 45

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 45

gagggtccaac tgggtggagag cgggtggaggt gttgtgcaac ctggccggtc cctgcgcctg 60

tcctgtccg catctggctt caccttcagc ggctatgggt tgtcttgggt gagacaggca 120

cctggaaaag gtcttgagtg gggttgcattg attagtagtg gtggtagtta tacctactat 180

gcagacagt gtaaggtag atttgcata tcgcgagaca acgccaagaa cacatttttc	240
ctgcaaatgg acagcctgag acccgaagac accggggctt atttttgtgc aagacatggg	300
gacgatcccg cctgggtcgc ttattgggc caagggaccc cggtcaccgt ctcctca	357
<210> 46	
<211> 330	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 46	
gacatccagc tgacccagag cccaaggcgc ctgagcgcca gctgggtga cagagtgacc	60
atcacctgta gtgtcagctc aagtataagt tccaaacaact tgcactggta ccagcagaag	120
ccaggttaagg ctccaaagcc atggatctac ggcacatcca acctggcttc tgggtgtgcca	180
agcagattca gcggtagcgg tagcggtacc gactacacct tcaccatcag cagcctccag	240
ccagaggaca tcgcccccta ctactgcca cagtgagta gttaccgta catgtacacg	300
ttcgcccaag ggaccaaggt ggaaatcaaa	330
<210> 47	
<211> 357	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 47	
caggtaaac tgcagcagtc tgggccttagt ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata	60
tcctgcaagg ctctggta ctcatctact ggctacacca tgaactgggt gaaggcagagc	120
catgaaaga gcttgagtg gattggactt attactcctt acaatggtgc ttctagctac	180
aaccagaagt tcagggcaa ggccacatta actgttagaca agtcatccag cacagcctac	240
atggacctcc tcagtctgac atctgaagac tctgcgtctt atttctgtgc aaggggggt	300
tacgacggga ggggtttga ctactggga tccgggaccc cggtcaccgt ctcctca	357
<210> 48	
<211> 318	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 48

gacatcgagc tcactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgttaatg tacatgcact ggtaccagca gaagttaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg ctctggagt cccaggtcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg aaactttac tctctacaa tcagcagcgt ggaggctgaa 240

gatgtatgaa ctatattactg ccagcagtgg agtaaggacc ctctcacgtt cggatccgg 300

accaagggtgg aaatcaaa 318

<210> 49

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 49

cagtcgggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcacccgtct ctggaatctc cctcagtagc gatgcaataa gctgggtccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tcaaatatcatt cggaaatcatt aatgggtggtg gtaacacata ctacgcgagc 180

tggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgatct gaaaatcacc 240

agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggattca acatgggtgg 300

ggtaatagtg attattatata ttacggcatg gacctctggg gcccaggcac cctggtcact 360

gtctttca 369

<210> 50

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 50

gaagtgttga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtacc 60

atcaagtgcc	aggccagtc	gagcattagt	agtgtttgt	cctggtatca	gcagaaacca	120
gggcagcctc	ccaagctcct	gatctatctg	gcatccactc	tggcatctgg	ggtcccatcg	180
cggttcagcg	gcagtagatc	tggacagag	ttcactctca	ccatcagcga	cctggagtg	240
gacgatgctg	ccacttacta	ctgtcaaacc	aattatggta	ctagtagtag	taattatggt	300
tttgcttcg	gccccggac	cgagggtggc	gtcaaa			336
<210>	51					
<211>	378					
<212>	DNA					
<213>	Artificial Sequence					
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"					
<400>	51					
gaagtccaac	tggtgaaag	cgggggagga	ctgggcagc	cgggcggatc	cctccggctg	60
tcatgtgcgt	catcggaaat	ttccctctcc	tccgacgcga	ttagctgggt	cagacaggcc	120
cccgaaagg	ggctggagta	catcggtatc	atcaacggcg	gccccaaacac	ctactacgcc	180
tctggggcca	aggccgctt	caccatctcg	cggcataatt	ccaagaacac	tctgtacttg	240
caaataact	ccctgagggc	cgaggacacc	gccgttact	actgcgcgcg	cggcatccag	300
cacgggtgt	gaaacagcga	ctactactac	tatggatgg	atctgtgggg	ccagggaaact	360
cttgtgaccg	tgtcgta					378
<210>	52					
<211>	336					
<212>	DNA					
<213>	Artificial Sequence					
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"					
<400>	52					
gacattcaga	tgaccctgtc	cccaagctcg	ctgtccgcct	ccgtggcgaa	ccgcgtgacc	60
atcacgtgcc	aggcgcccc	gtcaatttgc	agcgtgtct	cctggatcca	acagaagccg	120
gggaaagcac	ccaagctgt	gatctacttg	gcctccactc	tggcctcggt	agtgccttca	180
cggttctccg	gatcggatc	tggtaactgtat	ttcacccctca	ccatctcgag	ccttcgtgtc	240
gaggacatcg	ctacttacta	ttgtcaaacc	aactacggaa	cctccagctc	caactacggc	300
tttgcttcg	gtggcggttac	caagggtcgaa	atcaaa			336

<210> 53

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 53

cagtcgggtgg	aggagtccgg	gggtcgccctg	gtcacgcctg	ggacacccct	gacactcacc	60
tgcacacgtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga gctgggtccg ccaggctcca						120
gggaaggggc tggaaatggat cggatccatt agtactggtg gtctcgatt ctacgcgaac						180
tggcCAAAG gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtgatct gaaaatgacc						240
agtctgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtggca gaaatggtg tgtagttat						300
atttctatt atttgactt gtggggccaa ggcaccctcg tcactgtctc ttca						354

<210> 54

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 54

gcattcgaat	tgaccagac	tccatcctcc	gtggaggcag	ctgtgggagg	cacaatcacc	60
atcaagtgcc	aggccagtca	gagcatttagt	agttacttat	cctggtatca	gcagaaacca	120
gggcagcctc	ccaagctct	gatctattct	gcatccactc	tggcatctgg	ggtctcatcg	180
cggttcaaag	gcagtggatc	tgggacagag	tacactctca	ccatcagcga	cctggagtgt	240
gccgatgctg	ccacttactt	ctgtcaaagc	tattatgata	ttggtaactag	tacttgcgc	300
ggagggacccg	aggtggtcg	caaa				324

<210> 55

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 55

gaagtgcagc tgggtggaaatc tggcgccgga ctgggtgcagc ctggcgatc tctgagactg	60
tcttgcgcg cctccggctt ctccctgaac aactacgcca tgtcctgggt gcgacaggcc	120
cctggcaaaag gcctggaaatg gatcggtcc atcagcacag gggccgtggc cttctaccc	180
aattgggcca agggccgggtt caccatcagc cgggacaact ccaagaacac cctgtaccc	240
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc ggcgtgtact actgtgccag aaacggcgga	300

ggctcctaca tcttctacta ctgcacctg tggggccagg gcaccctcg gacagtgtca	360
tct	363

<210> 56

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 56

gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtgggcga cagagtgacc	60
atcacctgtc aggcctccca gtccatctcc tcctacctgt cctggtatca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactct gcctccacac tggcctccgg cgtccctct	180

agattctccg gctctggctc tggcacccgac tttaccctga ccatcagctc cctccagtg	240
gaggatggccg ccacctacta ctgcccgtcc tactacgaca tggcacccctc caccttcggc	300
ggaggcacca aggtggaaat caaa	324

<210> 57

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 57

cagtcagtga aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc	60
tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatgg gctgggtccg ccaggctcca	120

gggaaggggc tggaaatacat cggaaccatt aatattggtg gtgcgtata ttacgcgagc	180
tggcggaaatg gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtgatct gaaagcgccc	240

agtctgacag ccgaggacac ggccacctat ttctgtgccat gatattataa tggtggttagt 300
 tatgacatct gggcccagg caccctggtc accgtcttt ta 342
 <210> 58
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 58
 gatgttgtga tgaccagac tccagcctcc gcgtctgaac ctgtgggagg cacagtacc 60

 atcaagtgcc aggccagtga gaggcattat cgcttattgg cctggatca gcagaaacca 120
 gggcagcctc ccaagctcct gatctatgtat acatccactc tggcatctgg ggcccccattcg 180
 cggtaaaag gcagtggata tggacagag ttcaactctca ccatcagcgg cgtgcagtgt 240
 gaagatctg ccacttacta ctgtcaaggc gtttattatg ctgatagttt tggattgct 300
 ttccggggag ggaccgagggt ggtggtcaaa 330
 <210> 59
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 59
 cagggtgcgc tggtaatc tggcgaggat ctgggcgc tctgagactg 60
 tcctgttccg cctccggat cgacctgtcc tcctacgcta tggctgggt ggcacaggct 120
 cctggcaagg gcctggagta catggcacc atcaacatcg gggcagagt gtactacgcc 180
 tcctggccca agggccgggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtacctc 240
 cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc ggcgtgtact actgcgcgg gtactacaac 300
 ggcggctcct acgatatctg gggccagggc acactcgtga ccgtgtcctc t 351

 <210> 60
 <211> 330
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 60

gatatccaga tgacctcacc cccctccacc ctgtctgcct ctgtggcgaa cagatgtacc	60
atcacctgtc aggccctccga gtccatctac cgggtgctgg cctggatca gcagaaggct	120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgac accagcacac tggcctccgg cgtccctct	180
agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccatctccag cctccagtgc	240
gacgacgccc ccacctaata ttgtcaggcg ggctactacg ccgactccta cgaaatcgct	300

ttcgccggag gcaccaaggt ggaaatcaaa	330
----------------------------------	-----

<210> 61

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 61

cagtcgggtgg aggagtccgg cggtcgcctg gtaaaggctg acgaatccct gacactcacc	60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtagt tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca	120
ggggaggggc tggaaatggat cggaaaccatt agtactggtg gtatcacata ctacgcgagc	180
tggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgatct gaaaatcacc	240

agtccgacaa ccgaggacac ggccacccat ttctgtgcga gagggggata tgctgctagt	300
agtgcattt atctcccgta ctactttgac ttgtggggcc aagggaccct ggtcaccgtc	360
tcctca	366

<210> 62

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 62

gcagccgtgc tgacctcagac accatcaccc gtgtctgcag ctgtggggagg cacagtacc	60
atcagttgcc agtccagtca gagtgatata aataataaca acttagcctg gtttcagcag	120

aaaccggc agcctccaa gcttctgatc tatctggcat ccactctggc atctgggtc 180
ccatcacgt tcagcggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcggcgt 240
cagtgtaacg atgctgccac ttattactgt ctagtggtt gtatgtatg tgctgatact 300
tttgcttcg gcggaggac tgagggtgt gtcaaa 336

<210> 63

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 63

gaagtgccgc tgggtggaaatc tggccggcga ctgggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcttgtgcgc cctccggcgtt ctccctgtcc tcctacgcta tgcgtgggt gcgcacaggcc 120
cctggcaagg gcctggaaatg gatcggcacc atctctaccg gcggaaattac ctactacgcc 180
tcctggccca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtaccc 240
cagatgaact ccctgccccg cgaggacacc ggcgtgtact attgtgttag aggcggctac 300
ggcccccagct ccgcttacta cctccctac tacttcgacc tgtggggcca gggcacccctc 360
gtgacagatgt catct 375

<210> 64

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 64

gatattcaga tgaccaggc cccctccagc ctgtccgctt ctgtgggcga cagagtgacc 60
atcacctgtc agtccctccca gtccgtgtat aacaacaaca acctggcctg gtatcagcag 120
aaaccggca aggtgccccaa gctgtgtatc tacctggcct ccacactggc ctctggcgt 180
ccctctagat tctccggctc tggctctggc accgacttta ccctgaccat cagctccctc 240
cagtgcgagg atgccggcac ctactattgc ctggggcggct ggcacgacga cgccgatacc 300

tttgcttttgc gggaggcacta caagggtggaa atcaaa 336

<210> 65

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 65

Gly Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 66

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

1 5 10 15

Gly

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 67

Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 68

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 69
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 69

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 70
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 70

Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr

1 5

<210>
 71
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 71

Asp Thr Tyr Ile His

1 5

<210> 72
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 72

Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210

> 73

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 73

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala

1 5 10

<

210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 75

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 76

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 77

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 77
 Ser Asp Ala Ile Ser

1 5

<210> 78
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 78

Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 79
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223>

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

<400> 79

Gly Ile Gln His Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Leu

<210> 80
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 80

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val Leu Ser

1 5 10

<210> 81

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 81

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 82

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 82

Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala

1 5 10

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 83

Ser Asp Ala Ile Ser

1 5

<210> 84

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 84

Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 85

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 85
 Gly Ile Gln His Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1 5 10 15
 Asp Leu

<210> 86
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 86

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val Leu Ser
 1 5 10

<210> 87
 <
 211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 87

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 88
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 88

Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala
 1 5 10

<210> 89

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 89

Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 90

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 90

Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 91

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 91

Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 92

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 92

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 93

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 93

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 94

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

<210> 95

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 95

Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 96

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 96

Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 97

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

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

<400> 97

Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 98

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 99

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 100

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 101

Ser Tyr Ala Met Gly

1 5

<210> 102

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 102

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 103

Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5

<210> 104

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 104

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val Leu Ala

1 5 10

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 105

Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 106

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 106

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1 5 10

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 107

Ser Tyr Ala Met Gly

1 5

<210>

> 108

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 108

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 109

Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 110

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val Leu Ala

1 5 10

<210> 111

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 111

Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 112

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 112

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1 5 10

<210> 113

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 113

Ser Tyr Ala Met Ile

1 5

<210> 114

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 114

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 115

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 115

Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Leu

<210> 116

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 116

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 117

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 118

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 118

Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala

1 5 10

<210> 119

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 119

Ser Tyr Ala Met Ile

1 5

<210> 120

<211> 16

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 120

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 121

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 121

Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Leu

<210> 122

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 122

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 123

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 124

Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala

1 5 10

<210> 125

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 125

ggctatgggt tgtct 15

<210> 126

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 126

atgattagta gtggtagttatacctac tatgcagaca gtgtgaagg 51

<210> 127

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 127

catggggacg atccgcctg gttcgctat 30

<210> 128

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 128

agtgtcagct caagtataag ttccaacaac ttgcac 36

<210> 129

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 129

ggcacatcca acctggcttc t

21

<210> 130

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 130

caacagtgga gtagttaccc gtacatgtac acg

33

<210> 131

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 131

ggctacacca tgaac

15

<210> 132

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 132

cttattactc cttaaatgg tgcttctagc tacaaccaga agttcagggg c

51

<210> 133

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 133

gggggttacg acgggagggg ttttactac	30
<210> 134	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 134	
agtccagct caagtgttaag ttacatgcac	30
<210> 135	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 135	
gacacatcca aactggcttc t	21
<210> 136	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 136	
cagcagtggaa gtaaggcaccc tctcacg	27
<210> 137	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 137	

agcgatgcaa taagc

15

<210> 138

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 138

atcattaatg gtgggtgtaa cacatactac gcgagctggg cgaaaggc

48

<210> 139

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 139

ggcattcaac atgggtggtaatagtgtatattttttt acggcatgga cctc

54

<210> 140

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 140

caggccagtc agagcattag tagtgtcttg tcc

33

<210> 141

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 141

ctggcatcca ctctggcatc t

21

<210> 142

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 142

caaaccattt atggtaactat tagtagtaat tatggtttg ct

42

<210> 143

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 143

tccgacgcga tttagc

15

<210> 144

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 144

atcatcaacg gccccggaaa cacctactac gcctcctggg ccaaggcc

48

<210> 145

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 145

ggcatccagc acggtggtgg aaacagcgac tactactact atggatgga tctg	54
<210> 146	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 146	
caggcgtccc agtcaattag cagcgtgctc tcc	33
<210> 147	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 147	
ttggcctcca ctctggcctc g	21
<210> 148	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 148	
caaaccaact acggaacctc cagctcaac tacggcttg cc	42
<210> 149	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 149	

aactatgcaa tgagc	15
<210> 150	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 150	
tccatttagta ctgggtgtc cgcattctac gcgaactggg caaaaggc	48
<210> 151	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 151	
aatgggtgtg gtatgttatat tttctattat tttgacttg	39
<210> 152	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 152	
caggccagtc agagcattag tagttactta tcc	33
<210> 153	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 153	

tctgcatcca ctctggcata t

21

<210> 154

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 154

caaagctatt atgatattgg tactagtact

30

<210> 155

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 155

aactacgcca tgtcc

15

<210> 156

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 156

tccatcagca caggcggcct ggccttctac gccaattggg ccaaggcc

48

<210> 157

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 157

aacggcggag gctctacat cttctactac ttgcacctg	39
<210> 158	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 158	
caggcctccc agtccatctc ctcctacctg tcc	33
<210> 159	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 159	
tctgcctcca cactggcctc c	21
<210> 160	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 160	
cagtcctact acgacatcg cacctccacc	30
<210> 161	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 161	

agctatgcaa tggc 15

<210> 162
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 162
 accattaata ttgggtgtcg cgtatattac gcgagctggg caaaaggc 48
 <210> 163
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 163
 tattataatg gtggtagtta tgacatc 27
 <210> 164
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 164
 caggccagtg agagcattta tcgcgtattg gcc 33
 <210> 165
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 165

gatacatcca ctctggcata t

21

<210> 166

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 166

caaggcggtt attatgctga tagttatggt attgct

36

<210> 167

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 167

tcctacgcta tggc

15

<210> 168

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 168

accatcaaca tcggcgccag agtgtactac gcctcctggg ccaaggc

48

<210> 169

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 169

tactacaacg gcggctccta cgatata

27

<210> 170

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 170

caggcctccg agtccatcta ccgggtgctg gcc

33

<210> 171

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 171

gacaccagca cactggcctc c

21

<210> 172

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 172

cagggcggct actacgccga ctcctacgga atcgct

36

<210> 173

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 173

agttatgcaa tgatc	15
<210> 174	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 174	
accattatgtat ctggtggtat cacatactac gcgagctggg cgaaaggc	48
<210> 175	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 175	
ggggatatg ctgttagtag tgcttattat ctccgtact acttgactt g	51
<210> 176	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 176	
cagtcctccc agtccgtgta taacaacaac aacctggcc	39
<210> 177	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 177	

ctggcatcca ctctggcatc t 21

<210>	178	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400>	178	
ctaggtggtt gtgatgatga tgctgatact tttgct		36
<210>	179	
<211>	15	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400>	179	
tcctacgcta tgatc		15
<210>	180	
<211>	48	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400>	180	
accatctcta ccggcggaat tacctactac gcctcctggg ccaaggc		48
<210>	181	
<211>	51	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400>	181	

ggcggtacg ccggcagctc cgcttactac ctgcctact acttcgacct g 51

<210> 182

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 182

cagtcctccc agtcgtgtta taacaacaac aacctggcc 39

<210> 183

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 183

ctggcctcca cactggcctc t 21

<210> 184

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 184

ctggcggct gcgacgacga cgccgatacc tttgct 36

<210> 185

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 185

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr

<210> 186

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 186

Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser

1 5

<210> 187

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 187

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 188

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 188

Ser Ser Val Ser Tyr

1 5

<210> 189

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 189

Asp Thr Ser

1

<210> 190

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 190

Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr

1 5

<210> 191

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 191

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 192

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 192

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 193

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 193

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 194

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 194

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 195

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 195

Ser Ala Ser

1

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 196

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 197

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala

1 5

<210> 198

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 198

Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr

1 5

<210> 199

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 199

Ala Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Leu

20

<210> 200

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 200

Gln Ser Ile Ser Ser Val

1 5

<210> 201

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 201

Leu Ala Ser

1

<210> 202

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 202

Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala

1 5 10

<210> 203

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 203

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala

1 5

<210> 204

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 204

Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr

1 5

<210> 205

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 205

Ala Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Leu

20

<210> 206

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 206

Gln Ser Ile Ser Ser Val

1 5

<210> 207

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 207

Leu Ala Ser

1

<210> 208

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 208

Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala

1 5 10

<210> 209

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 209

Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala

1 5

<210> 210

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 210

Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala

1 5

<210> 211

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 211

Gly Arg Asn Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu

1 5 10 15

<210> 212

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 212

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 213

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 213

Ser Ala Ser

1

<210> 214

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 214

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

<210> 215

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 215

Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala

1 5

<210> 216

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 216

Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala

1 5

<210> 217

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 217

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

1 5 10 15

<210> 218

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 218

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 219

<211

> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 219

Ser Ala Ser

1

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 220

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr

1 5 10

<210> 221

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 221

Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 222

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 222

Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val

1 5

<210> 223

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 223

Ala Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5 10

<210> 224

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 224

Glu Ser Ile Tyr Arg Val

1 5

<210> 225

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 225

Asp Thr Ser

1

<210> 226

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 226

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1 5 10

<210> 227

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 227

Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 228

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 228

Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val

1 5

<210> 229

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 229

Ala Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile

1 5 10

<210> 230

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 230

Glu Ser Ile Tyr Arg Val

1 5

<210> 231

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 231

Asp Thr Ser

1

<210> 232

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 232

Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala

1

5

10

<210> 233

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 233

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 234

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 234

Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr

1

5

<210> 235

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

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

<400> 235

Ala Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Leu

<210> 236

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 236

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn

1 5

<210> 237

<211> 3

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 237

Leu Ala Ser

1

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 238

Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala

1 5 10

<210> 239

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223>

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

<400> 239

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 240

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 240

Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr

1 5

<210> 241

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 241

Ala Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Leu

<210> 242
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 242

Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn

1 5

<210> 243
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 243
 Leu Ala Ser
 1
 <210> 244
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 244
 Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala
 1 5 10
 <210> 245
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 245
 ggcttcacct tcagcggcta tggg 24

<210> 246
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 246
 attagtagtg gtggtagtta tacc 24
 <210> 247

<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"		
<400>	247	
gcaagacatg gggacgatcc cgcctggtc gcttat		36
<210>	248	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"		
<400>	248	
tcaagtataa gttccaacaa c		21
<210>	249	
<211>	9	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"		
<400>	249	
ggcacatcc		9
<210>	250	
<211>	33	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"		
<400>	250	
caacagtgga gtagttaccc gtacatgtac acg		33
<210>	251	
<211>	24	

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 251

ggttactcat tcactggcta cacc 24

<210> 252
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 252

attactcctt acaatggtgc ttct 24
 <210> 253
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 253

gcaagggggg gttacgacgg gaggggttt gactac 36

<210> 254
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 254

tcaagtgtaa gttac 15
 <210> 255
 <211> 9
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 255

gacacatcc

9

<210> 256

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 256

cagcagt gga gtaaggcaccc tctcacg

27

<210> 257

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 257

ggaatctccc tcagtagcga tgca

24

<210> 258

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 258

attaatggtg gtggtaaacac a

21

<210> 259

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 259
 gccagaggca ttcaacatgg tggtgtaat agtgattatt attattacgg catggaccc 60

60

<210> 260
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 260
 cagagcatta gtagtgtc 18

18

<210> 261
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 261
 ctggcatct 9

9

<210> 262
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 262
 caaaccaatt atggtaactag tagtagtaat tatggtttg ct 42

42

<210> 263
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 263

ggaatttccc tctccctccga cgcg 24

<210> 264

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 264

atcaacggcg gcgaaacac c 21

<210> 265

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 265

gcgcgccggca tccagcacgg tggtgaaac agcgactact actactatgg gatggatctg 60

60

<210> 266

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 266

cagtcatttgcacgtt 18

<210> 267

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 267

ttggcctcc 9

<210> 268

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 268

caaaccac act acggaacctc cagctccaac tacggcttg cc 42

<210> 269

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 269

ggattctccc tcaataacta tgca 24

<210> 270

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 270

attagtactg gtggctcg a 21

<210> 271

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 271

ggcagaaatg tgggtggtag ttatatttc tattatttg acttg 45

<210> 272

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 272

cagagcatttta gtagttac 18

<210> 273

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 273

tctgcattcc 9

<210> 274

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 274

caaagctatt atgatattgg tactagta 30

<210> 275

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 275

ggcttctccc tgaacaacta cgcc 24

<210> 276

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 276

atcagcacag gccgcctggc c 21

<210> 277

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 277

gccagaaacg gcgaggctc ctacatctc tactacttg acctg 45

<210> 278

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 278

cagtcatct cctctac 18

<210> 279

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 279

tctgcctcc 9

<210> 280

<400> 280

000

<210> 281

<400> 281

000

<210> 282

<400> 282

000

<210> 283

<400> 283

000

<210> 284

<400> 284

000

<210> 285

<400> 285

000

<210> 286

<400> 286

000

<210> 287

<400> 287

000

<210> 288

<400> 288

000

<210> 289

<400> 289
000
<210> 290
<400> 290
000
<210> 291
<400> 291
000
<210> 292
<400> 292
000
<210> 293
<400> 293
000
<210> 294
<400> 294
000
<210> 295
<400> 295
000
<210> 296
<400> 296
000
<210> 297
<400> 297
000
<210> 298
<400> 298
000
<210> 299
<400> 299
000
<210> 300
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 300

cagtcctact acgacatcg cacctccacc 30

<210> 301

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 301

ggaatcgacc tcagtagcta tgca 24

<210> 302

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 302

attaatattg gtggtcgcgt a 21

<210> 303

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 303

gccagatatt ataatggtgg tagttatgac atc 33

<210> 304

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 304

gagagcattt atcgcgta 18

<210> 305

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 305

gatacatcc 9

<210> 306

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 306

caaggcggtt attatgctga tagttatggt attgct 36

<210> 307

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 307

ggaatcgacc tgtcctccta cgct 24

<210> 308

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 308

atcaacatcg gcggcagagt g

21

<210> 309

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 309

gccccgtact acaacggcgg ctcctacgt atc

33

<210> 310

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 310

gagtccatct accgggtg

18

<210> 311

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 311

gacaccagc

9

<210> 312

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 312

caggcgccgt actacgccga ctcctacgga atcgct 36

<210> 313

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 313

ggattctccc tcagtagtta tgca 24

<210> 314

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 314

attagtactg gtggtatcac a 21

<210> 315

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 315

gccagagggg gatatgctgc tagtagtgc tattatctcc cgtactactt tgacttg 57

<210> 316

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 316

cagagtgttt ataataataa caac

24

<210> 317

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 317

ctggcatcc

9

<210> 318

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 318

c taggtggtt gtgatgatga tgctgatact tttgct

36

<210> 319

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 319

ggcttctccc tgtcctccta cgct

24

<210> 320

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 320

atctctaccg gcggaaattac c

21

<210> 321

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 321

gctagaggcg gctacgcccgc cagctccgct tactacctgc cctactactt cgacctg

57

<210> 322

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 322

cagtcgtgtataacaacaa caac

24

<210> 323

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 323

ctggcctcc

9

<210> 324

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 324

ctggcggct gcgacgacga cgccgatacc tttgct 36

<210> 325

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 325

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Ser Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

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

<210> 326
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 326
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60
 Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
 85 90 95
 Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

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

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 327

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 327

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu 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 Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 328
 <211> 214
 <212> PRT
 <213
 > Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
 <400> 328
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
 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 Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60
 Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

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

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His 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> 329
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
 <400> 329

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala
 20 25 30

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

100 105 110
 Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115	120	125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
130	135	140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		
145	150	155
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe		
165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu		
225	230	235
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
305	310	315
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		

370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Pro Gly Lys
 450
<210> 330
<211> 219
<
212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 330

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

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

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 331

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 331

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

325 330 335

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

340	345	350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr		
355	360	365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
370	375	380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
385	390	395
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
405	410	415
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
420	425	430
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
435	440	445
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	
<210> 332		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400> 332		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val		
20	25	30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Leu Ala Ser Thr 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 Cys		
65	70	75
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser		

85	90	95
Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
180 185 190		
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	
<210> 333		
<211> 448		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400> 333		
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro		
1	5	10
15		
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala		
20	25	30
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly		
35	40	45
Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly		
50	55	60
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met Thr		

65	70	75	80
Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Asn Gly			
85	90	95	
Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro			
115	120	125	
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly			
130	135	140	
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn			
145	150	155	160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln			
165	170	175	
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser			
180	185	190	
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser			
195	200	205	
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr			
210	215	220	
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
245	250	255	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
260	265	270	
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
275	280	285	
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
290	295	300	
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr			
305	310	315	320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

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

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

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

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

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

435 440 445

<210> 334

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 334

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

1 5 10 15

Gly Thr Ile Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr

85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 335

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 335

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

50 55 60

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

Arg Asn Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu 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 Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 336

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 336

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr 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 Cys
 65 70 75 80
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr
 85 90 95
 Ser Thr Phe Gly 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> 337
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
 <400> 337
 Gln Ser Val Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala
 20 25 30
 Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly

35	40	45
Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly		
50	55	60
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ala Pro		
65	70	75
Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr		
85	90	95
Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val		
100	105	110
Ser Leu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser		
115	120	125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys		
130	135	140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu		
145	150	155
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu		
165	170	175
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr		
180	185	190
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val		
195	200	205
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
225	230	235
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
245	250	255
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
260	265	270
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
275	280	285
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		

290	295	300	
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr Lys Cys Lys Val			
305	310	315	320
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala			
325	330	335	
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg			
340	345	350	
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly			
355	360	365	
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro			
370	375	380	
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser			
385	390	395	400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln			
405	410	415	
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His			
420	425	430	
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
435	440		
<210>	338		
<211>	217		
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"			
<400> 338			
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Ala Ser Glu Pro Val Gly			
1	5	10	15
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val			
20	25	30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser

85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 339

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 339

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

 Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile 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 Leu Leu 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 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 Pro 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 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 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> 340

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 340

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala 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 Cys

65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser

85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 341

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 341

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly

85 90 95

Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
290	295	300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro		
325	330	335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
340	345	350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
355	360	365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
405	410	415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
420	425	430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
435	440	445
Ser Pro Gly Lys		
450		
<210> 342		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		
<400> 342		
Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly		

1	5	10	15
Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn			
20	25	30	
Asn Asn Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu			
35	40	45	
Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val			
65	70	75	80
Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp			
85	90	95	
Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys			
100	105	110	
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu			
115	120	125	
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe			
130	135	140	
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln			
145	150	155	160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser			
165	170	175	
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu			
180	185	190	
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser			
195	200	205	
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215		
<210>	343		
<211>	455		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"		

<400> 343

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe

100 105 110

Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys

195 200 205

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

210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230 235 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 344

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 344

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr 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 Cys Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp

85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 345

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 345

gaggtc当地 60
tggtgagag cggtaggt gttgtcaac ctggccgtc cctgcgc当地tcctgctccg catctggctt caccttcagg ggctatgggt tgtcttgggt gagacaggca 120
cctggaaaag gtcttgagtg gtttgcaatg attagtagtg gtggtagtta tacctactat 180
gcagacagtg tgaagggttag atttgcaata tcgcgagaca acgccaagaa cacatgttc 240
ctgcaaatgg acagcctgag acccgaagac accggggctt attttgc aagacatggg 300
gacgatcccg cttgggttcgc ttattggggc caagggaccc cggtcaccgt ctcctc当地 360
tccaccaagg gcccattcggt ctccccctg gcaccctc当地 ccaagagcac ctctggggc 420
acagcggccc tggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtc当地 480aactcaggcg ccctgaccag cggcgtc当地 accttccgg ctgtcctaca gtcctc当地 540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gttgggc当地 ccagacctac 600
atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaagggtgg acaagaaagt tgagcccaa 660
tcttgacaa aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactc当地 ggggggaccg 720
tcagtc当地 tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatcttccg gaccctc当地 780
gtcacatgctg tggctgggca cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca taatgcaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900acgtaccgtg tggctcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
tacaagt gca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaa 1020
gccaaggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc cccatcccg ggatgagctg 1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgc当地 gtcaaaggct tctatcccg cgacatcgcc 1140
gtggagtgcc agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgca tccctgctg 1200
gactccgacg gtc当地 ttttctt cttatattca aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggc当地 tgcacaacca ctacacgca 1320

aagaggctct ccctgtctcc cgggaaatga 1350

<210> 346

<211> 654

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 346

gacatccagc tgacccagag cccaaagcagc ctgagcgcca gcgtgggtga cagagtgacc	60
atcacctgta gtgtcagctc aagtataagt tccaaacaact tgcactggta ccagcagaag	120
ccaggttaagg ctccaaagcc atggatctac ggcacatcca acctggcttc tggtgtgcc	180
agcagattca gcggtagcgg tagcggtacc gactacacct tcaccatcag cagcctccag	240

ccagaggaca tcgcccaccta ctactgccaa cagtgagta gtaccgta catgtacacg	300
ttcgccaag ggaccaaggt ggaatcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc	360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat	420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaagggtgg ataacgcctt ccaatcggt	480
aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc	540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc	600
catcaggccc tgagtcgccc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttaa	654

<210> 347

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 347

caggtacaac tgacgcagtc tgggcctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata	60
tcctgcaagg ctctggta ctcattcaact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc	120
catgaaaga gccttgagtg gattggactt attactcctt acaatggtc ttctagctac	180
aaccagaagt tcagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagctac	240
atggacacctc tcagtctgac atctgaagac tctgcagttt atttctgtgc aagggggggt	300

tacgacggga ggggtttga ctactggga tccgggaccc cggtcaccgt ctcctcagcc	360
tccaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctggggc	420
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tactccccg aaccggtgac ggtgtcggt	480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccgg ctgtcctaca gtcctcagga	540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttggcac ccagacccat	600

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaagggtgg acaagaaaagt tgagccaaa	660
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccc tgcccagcac ctgaactcct ggggggacccg	720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag	780
gtcacatgctc tgggtggta cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggta	840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc	900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaa	1020
gccaaaggc accacccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg	1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatccag cgacatcgcc	1140
gtggagtgg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tccctgtctg	1200
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	1260
cagggaaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	1320
aagagccctc ccctgtctcc cggaaatga	1350
<210> 348	
<211> 642	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 348	
gacatcgagc tcactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccaggggaa gaaggtcacc	60
atgacctgca gtgccagctc aagtgttaatg tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc	120
acctccccca aaatggat ttatgacaca tccaaactgg ctctggatg cccaggtcgc	180
ttcagtggca gtgggtctgg aaactttac tctctacaa tcagcagcgt ggaggctgaa	240
gatgatgcaa ctattactg ccagcagtgg agtaaggacc ctctcacgtt cggatccggg	300
accaagggtgg aaatcaaacg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccccatct	360
gatgagcgt tggaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa ctatccc	420
agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcggtaa ctcccaggag	480
agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg	540
agcaaaaggcactacgagaa acacaaaggcactgc aagtccacca tcaggccctg	600
agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt aa	642

<210> 349

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 349

cagtcggtgg	aggagtccgg	gggtcgccctg	gtcacgcctg	ggacacccct	gacactcacc	60
tgcaccgtct	ctggaatctc	cctcagtagc	gatgcaataa	gctgggtccg	ccaggctcca	120
gggaaggggc	tcaatacat	cggaaatcatt	aatggtggtg	gtaacacata	ctacgcgagc	180
tggcgaaag	gccgattcac	catctccaaa	acctcgacca	cggtggtatct	gaaaatcacc	240
agtccgacaa	ccgaggacac	ggccacctat	ttctgtgcca	gaggcattca	acatggtggt	300
ggtaatagt	attattatta	ttacggcatg	gacctctggg	gcccaggcac	cctggtcact	360
gtctcttcag	catccaccaa	gggcccacatg	gtctcccc	tggcacccctc	ctccaagagc	420
acctctgggg	gcacagcggc	cctgggtc	ctggtaagg	actacttccc	cgaaccgggt	480
acggtgtcgt	ggaactcagg	cgcctgacc	agcggcgtc	acaccttccc	ggctgtccta	540
cagtcctcag	gactctactc	cctcagcagc	gtggtgaccg	tgccctccag	cagcttgggc	600
acccagacct	acatctgcaa	cgtgaatcac	aagcccagca	acaccaaggt	ggacaagaaa	660
gtttagccca	aatcttgta	caaaactcac	acatgeccac	cgtgcccagc	acctgaactc	720
ctggggggac	cgtcagtctt	ccttcccc	ccaaaaccca	aggacacccct	catgatctcc	780
cggacccctg	aggtcacatg	cgtggtggtg	gacgtgagcc	acgaagaccc	tgaggtcaag	840
ttcaacttgt	acgtggacgg	cgtggaggtg	cataatgcca	agacaagcc	gcgggaggag	900
cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	gtcctcaccg	tcctgcacca	ggactggctg	960
aatggcaagg	agtacaagt	caaggtctcc	aacaaagccc	tcccagcccc	catcgagaaa	1020
accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	gaaccacagg	tgtacacccct	gccccatcc	1080
cgggatgagc	tgaccaagaa	ccaggtcagc	ctgacctgcc	tggtaaagg	cttctatccc	1140
agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	1200
cctccgtgc	tggactccga	cggctccttc	ttcttatatt	caaagctcac	cgtggacaag	1260
agcaggtggc	agcagggaa	cgtctctca	tgctccgtga	tgcatgaggc	tctgcacaac	1320
cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	cccgaaaat	ga		1362

<210> 350

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 350

gaagtgttga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtacc	60
atcaagtgcc aggccagtc gaggcattgt agtgtcttgt cctggatca gcagaaacca	120
gggcagcctc ccaagctcct gatctatctg gcatccactc tggcatctgg ggtcccatcg	180
cggttcagcg gcagtagatc tgggacagag ttcaactctca ccatcagcga cctggagtgt	240
gacgatgctg ccacttacta ctgtcaaacc aattatggta ctagtagtag taattatggt	300

tttgcttcg gcgaggagac cgaggtggc gtcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc	360
ttcatcttcc cgccatctga tggcagttt aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggaa aggtggataa cgccctccaa	480
tcgggtaact cccaggagag tggcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcaccc tgacgctgag caaaggcagac tacgagaaac acaaagtcta cgccctgcgaa	600
gtcacccatc agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga	660
	660

<210> 351

<211> 1371

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 351

gaagtccaaac tggtgaaag cgggggagga ctgggtgcage cggggggatc cctccggctg	60
tcatgtgctg catcgaaat ttccctctcc tccgacgcga ttagctgggt cagacaggcc	120
cccgaaagg ggctggagta catcggtatc atcaacggcg gcgaaacac ctactacgcc	180
tcctgggcca agggccgctt caccatctcg cggcataatt ccaagaacac tctgtacttg	240
caaataactt ccctgaggcgc cgaggacacc ggcgtgtact actgcgcgcg cggcatccag	300

cacgggtggta gaaacagcga ctactactac tatggatgg atctgtgggg ccaggaaact	360
cttgcgtaccg tgcgtcagc atccaccaag ggcccatcg tcttccccc ggcaccctcc	420

tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttccc	480
gaaccggta cgggtcggtg gaactcaggc gccctgacca gccggctgca caccttccc	540
gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtaaccgt gccctccagc	600
agcttggca cccagaccta catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaggta	660
gacaagaaag ttgagccaa atcttgtac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca	720
cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc	780
atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc gtgggtggg acgtgagcca cgaagaccct	840
gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggagggtgc ataatgcca gacaaagccg	900
cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggcagcg tcctcaccgt cctgcaccag	960
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggcttcca acaaagccct cccagcccc	1020
atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg	1080
cccccatccc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc	1140
ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac	1200
aagaccacgc ctcccggtct ggactccgac ggctccttct tcttatattc aaagcttacc	1260
gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaaac gtcttctcat gctccgtat gcatgaggct	1320
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc ccggaaatg a	1371
<210> 352	
<211> 660	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 352	
gacattcaga tgaccaggc cccaaatcg ctgtccgcct ccgtggcga ccgcgtgacc	60
atcacgtgcc aggcgtccca gtcaatttgc agcgtgtctt cctggtaacca acagaagccg	120
gggaaagcac ccaagctgtctt gatctacttgc gcctccactc tggcctcggg agtgccttca	180
cgggtctccg gatcggtatc tggtaactgtat ttccatctca ccatctcgag ctttcgtgc	240
gaggacatcg ctacttacta ttgtcaaacc aactacggaa cctccagctc caactacggc	300
tttgccttcg gtggcgggac caaggtcgaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc	360
tttcatcttcg cggcatctga tgagcgttg aatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact tctatccag agaggccaa gtacagtggaa aggtggataa cgccctccaa	480

tcggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcaccc tgacgctgag caaaggagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa	600
gtcacccatc agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga	660
	660
<210> 353	
<211> 1347	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 353	
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacaccct gacactcacc	60
tgcacagtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga gctgggtccg ccaggctcca	120
ggaaagggc tggaaatggat cgatccatt agtactggtg gtctcgatt ctacgcgaac	180
tggccaaaag gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtgatct gaaaatgacc	240
agtctgacaa ccgaggacac ggccacccat ttctgtggca gaaatggtg tgtagttat	300
attttctatt attttgactt gtggggccaa ggcaccctcg tcactgtctc ttcagcatcc	360
accaagggcc catcggttt cccctggca ccctcctcca agagcacctc tggggcaca	420
gcggccctgg gtcgcctggt caaggactac ttcccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac	480
tcagggcccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccggctg tcctacagtc ctcaggactc	540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc	600
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agaaagttaa gcccaatct	660
tgtgacaaaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	720
gtctccctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac ccctgaggtc	780
acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtagtgc	840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	900
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagttac	960
aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc	1020
aaagggcagg cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccggga tgagctgacc	1080
aagaaccagg tcagcgtgac ctgcctggc aaaggcttct atcccagcga catgcgtgg	1140
gagtgggaga gcaatggca gcccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	1200
tccgacggct cttttttttt atattcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1260

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag	1320
agcctctccc tgtctccgg gaaatga	1347
<210> 354	
<211> 648	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 354	
gcattcaat tgacccagac tccatcctcc gtggaggcag ctgtgggagg cacaatcacc	60
atcaagtgcc aggccagtca gaggcattagt agttacttat cctggatca gcagaaacca	120
gggcagcctc ccaagctct gatctattct gcatccactc tggcatctgg ggtctcatcg	180
cggtaaaag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcga cctggagtgt	240
gccgatgctg ccacttactt ctgtcaaagg tattatgata ttggacttag tacttcggc	300
ggagggaccg aggtggcgt caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catctcccg	360
ccatctgatg acgagttgaa atctggaact gcctctgtg tgtgcctgt gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaaat gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
caggagagtgc acacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccgt	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cggccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttga	648
<210> 355	
<211> 1356	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 355	
gaagtgcagc tgggtgaatc tggcgccgga ctgggtcagc ctggcgatc tctgagactg	60
tcttgtccg cctccggctt ctccctgaac aactaegcca tgtcctgggt gcgacaggcc	120
cctggcaag gcctggaaatg gatcggtcc atcagcacag gcccgcgtgc cttctacgcc	180
aattggcca agggccgggtt caccatcagc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctc	240

cagatgaact ccctcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccag aaacggcggaa	300
ggctcctaca tcttctacta cttcgacctg tggggccagg gcaccctcg gacagtgtca	360
tctgcattca ccaagggccc atcggtttc cccctggcac ctcctccaa gagcacctct	420
ggggcacag cggccctggg ctgcctggc aaggactact tccccgaaacc ggtgacggtg	480
tcgttggact caggccctt gaccagcggc gtgcacacct tcccgctgt ctcacagtcc	540
tcaggactct actcccttag cagcgtggc accgtgcctt ccagcagctt gggcacccag	600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttag	660
ccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccacgtgcc cagcacctga actcctgggg	720
ggaccgtcag tttcccttt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctccggacc	780
cctgaggta catcgctggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttaac	840
tgttacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcgtac	900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtctgc accaggactg gctaatggc	960
aaggagtaca atgcaaggt ctccaacaaa gcccctccag ccccatcga gaaaaccatc	1020
tccaaaggca aaggccagcc cgagaacca caggttaca ccctcccccc atccggat	1080
gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggta aaggcttcta tccagcgcac	1140
atcgccgtgg agtgggagag caatggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc	1200
gtgcgtggact ccgacggctc cttttctta tattcaaaac tcaccgtgga caagagcagg	1260
tggcagcagg ggaacgtttt ctcatgtcc gtgtatgcg aggctctgca caaccactac	1320
acgcagaaga gcctctccct gtctccggg aaatga	1356
<210> 356	
<211> 648	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 356	
gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgtt ctgtggcga cagagtgacc	60
atcacctgtc aggctccca gtccatctcc tccatctgt cctggatca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactct gcctccacac tggcctccgg cgtccctct	180
agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga ccatcagctc cctccagtgc	240
gaggatgccg ccacctacta ctgccagtcc tactacgaca tcggcacctc caccttcggc	300

ggaggcacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgtg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cggcgtcac aaagagctc aacagggag agtgttga	648
<210> 357	
<211> 1335	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 357	
cagtcagtga aggagtccgg gggtcgcctg gtcaacgcctg ggacacccct gacactcacc	60
tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatgg gctgggtccg ccaggctcca	120
gggaaggggc tggaaatacat cggaaccatt aatattggtg gtgcgtata ttacgcgagc	180
tggcAAAAG gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtgatct gaaagcgccc	240
agtctgacag ccgaggacac ggccacccat ttctgtgcca gatattataa tgggttagt	300
tatgacatct gggcccagg caccctggtc accgtctt tagcatccac caagggccca	360
tcggcttcc ccctggcacc ctccctcaag agcacctctg gggcacagc ggccctggc	420
tgcctggtca aggactactt ccccgaaaccg gtgacggtgt cgtgaaactc aggcgcctg	480
accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtct caggactcta ctccctcagc	540
agcgtggtga ccgtgcctc cagcagcttgc ggcacccaga cttacatctg caacgtgaaat	600
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc ccaaattttg tgacaaaact	660
cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctccctgggg gaccgtcagt cttcccttcc	720
cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccgaccc ctgaggtcac atgcgtggtg	780
gtggacgtga gcccacgaaga ccctgaggta aagtcaact ggtacgtgga cggcgtggag	840
gtgcataatg ccaagacaaa gcccggggag gagcagtaca acagcacgtt ccgtgtggtc	900
agcgtccctca ccgtcctgca ccaggacttgc ctgaatggca aggacttacaa gtgcaaggtc	960
tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc	1020
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccggtatc agctgaccaa gaaccaggtc	1080

agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgcccgtgga gtgggagagc	1140
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc	1200
ttcttcttat attcaaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtttc	1260
tcatgctccg tcatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg	1320
tctccggga aatga	1335

<210> 358

<211> 654

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 358

gatgttgtga tgacccagac tccagcctcc gcgtctgaac ctgtgggagg cacagtacc	60
atcaagtgcc aggccagtga gaggcattat cgcgtattgg cctggatca gcagaaacca	120
ggcgcgcctc ccaagctcct gatctatgt acatccactc tggcatctgg ggcccatcg	180
cggttcaaaag gcagtggata tggacagag ttcactctca ccatcagcgg cgtgcagtgt	240
gaagatgctg ccactacta ctgtcaaggc ggttattatg ctgatagttt tggtattgt	300

ttcggcggag ggacccgaggt ggtggtcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtttcatc	360
ttccgcctat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgt cctgctgaat	420
aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaagggtgg ataacccctt ccaatcggt	480
aactccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc	540
accctgacgc ttagcaaaagc agactacgaa aacacaaaag tctacgcctg cgaagtacc	600
catcaggccc ttagctcgcc cgtcacaaag agctcaaca gggagagtg ttga	654

<210> 359

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 359

cagggtgcagc tgggtggaaatc tggcgaggaa ctgggtgcagc ctggcggtc tctgagactg	60
tcctgttccg cctccggaaat cgcacgtgtcc tcctacgcta tgggctgggt ggcacaggct	120

cctggcaagg gcctggagta catggcacc atcaacatcg gggcagagt gtactaccc	180
tcctggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtaccc	240
cagatgaact ccctgcggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcccg gtactacaac	300
ggcggtcct acgatatctg gggccaggc acactcgtga ccgtgtcctc tgcatccacc	360
aaggcccat cggtttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gccctggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggactca	480
ggcgcctga ccagcggcgt gcacacccctc ccggctgtcc tacagtccctc aggactctac	540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgcctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt	660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	720
ttcctttcc cccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	780
tgcgtggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggta agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac	900
cgtgtggta gcgtcctcac cgtcctgac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggta ccaacaaagc cctccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccggatga gctgaccaag	1080
aaccaggta gcctgaccc cctggtaaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccgt gctggactcc	1200
gacggctcct tcttcttata ttcaaagtc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg	1260
aacgtttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
ctctccctgt ctccggaa atga	1344
<210> 360	
<211> 654	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 360	
gatatccaga tgacccagtc cccctccacc ctgtctgcct ctgtggcga cagagtgacc	60
atcacctgtc aggccctcga gtccatctac cgggtgtgg cctggatca gcagaagcct	120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgac accagcacac tggcctccgg cgtccctct	180

agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccatctccag cctccagtgc	240
gacgacgccc ccacctacta ttgtcaggc ggctactacg ccgactccta cggaatcgct	300
ttcggcggag gcaccaaggt ggaaatcaa cgaactgtgg ctgcaccate tgtttcatc	360
ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgt cctgcigaat	420
aactctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgcct ccaatcggt	480
aactccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc	540
accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtacc	600
catcagggcc tgagctgccc cgtcacaaag agcttcaaca gggagagtg ttga	654
<210> 361	
<211> 1359	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"	
<400> 361	
cagtcggtgg aggagtccgg cggtcgcctg gtaaaagcctg acgaatccct gacactcacc	60
tgcacagcct ctggattctc cctcagtagt tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca	120
ggggaggggc tggaatggat cggaaccatt agtactggtg gtatcacata ctacgcgagc	180
tggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtgatct gaaaatcacc	240
agtccgacaa ccgaggacac ggccacccat ttctgtgcca gagggggata tgctgctagt	300
agtgcattt atctcccgta ctactttgac ttgtgggccc aaggaccct ggtcaccgtc	360
tcctcagcat ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctccctc caagagcacc	420
tctggggca cagcgccct gggctgcctg gtcaaggact actccccga accggtgacg	480
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccaggc ggcgtgcaca cttccggc tgtcctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cttccagcag cttggcacc	600
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt	660
gagcccaaat ctgtgacaa aactcacaca tgcccacgt gcccagcacc tgaactcctg	720
gggggaccgt cagtcttccct ttccccccca aaacccaagg acaccctcat gatctccgg	780
acccctgagg tcacatgcgt ggtggtgac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	840
aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgac ggaggagcag	900
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	960

ggcaaggagt acaagtgc aa ggtctccaa ac aaggccctcc cagccccat cgagaaaacc	1020
atctccaaag ccaaaggc gccccgagaa ccacagggtt acaccctgcc cccatcccg	1080
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccac	1140
gacatcgccg tggagtgggag gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgc	1200
cccggtctgg actccgacgg ctccttcttc ttatattcaa agtcaccgt ggacaagagc	1260
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctt gcacaaccac	1320
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccc gggaaatga	1359

<210> 362

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 362

gcagccgtgc tgaccagac accatcaccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtacc	60
atcagttgcc agtccagtca gagtgtttat aataataaca acttagcctg gtttcagcag	120
aaacccgggc agcctccaa gcttctgatc tatctggcat ccactctggc atctgggtc	180
ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagtca ctctcaccat cagcggcgtg	240
cagtgtgacg atgctgccac ttattactgt ctaggtgggt gtgatgatga tgctgatact	300

tttgcttcg gggggggac tgaggtggtg gtcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc	360
ttcatctcc cgccatctga tgagcagttt aatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa	480
tcggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa	600
gtcacccatc agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga	660
	660

<210> 363

<211> 1368

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 363

gaagtgcagc tggtgaatc tggcgccgga ctggcgcagc ctggcgatc tctgagactg	60
tcttgtccg cctccggctt ctccctgtcc tcctacgcta tgcacgggt gcgacaggcc	120
cctggcaagg gcctggaaatg gatcggcacc atcttacccg gcggaaattac ctactaccc	180
tcctgggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtaccc	240
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtcttag aggccgtac	300

gccgccagct ccgttacta cctgccctac tacttcgacc tggggccca gggcacccctc	360
gtgacagtgt catctgcac caccaaggcc ccatcggtct tccccctggc accctctcc	420
aagagcacct ctggggcac acggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttcccgaa	480
ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccgct	540
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcggtt tgaccgtgcc ctccagcgc	600
ttggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac	660
aagaaagttt agccaaatc ttgtgacaaa actcacat gcccaccgtg cccagcacct	720

gaactctgg ggggaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga caccctcatg	780
atctccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag	840
gtcaagttca actggtaatgtt ggacggcggtt gaggtgcata atgccaagac aaagccgccc	900
gaggaggactt acaacagcac gtaccgtgtt gtcagcgatcc tcaccgtct gcaccaggac	960
tggctgaatg gcaaggagta caagtgcagat gtctccaaca aagccctccc agcccccattc	1020
gagaaaacca tctccaaagc caaaggccag ccccgagaac cacagggtta caccctgccc	1080
ccatcccggtt atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctgtt caaaggcttc	1140

tatcccagcg acatcgccgt ggagtggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag	1200
accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttct tatattcaaa gctcaccgtt	1260
gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtt ttctcatgtt ccgtgtatgc tgaggctgt	1320
cacaaccact acacgcagaa gaggctctcc ctgtctccgg ggaaatgtt	1368

<210> 364

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 364

gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc agtcctccca gtccgtgtat aacaacaaca acctggctg gtatcagcag 120
 aaacccggca aggtgccaa gctgctgatc tacctggctt ccacactggc ctctggcgtg 180
 ccctctagat tctccggctc tggctctggc accgacttta ccctgaccat cagctccctc 240
 cagtgcgagg atgcccac ctactattgc ctggcggct gcgacgacga cgccgatacc 300
 tttgctttg gcgaggcac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360
 ttcatcttcc cccatctga tgacgatggaa atcaaacgaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggaa aggtggataa cgccctccaa 480

tcggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540
 agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600
 gtcacccatc agggcctgag ctgcggctc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga 660
 660

<210> 365

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 365

Ala His Lys Asp

1

<210> 366

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 366

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

1 5 10

<210> 367

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 367

Gly Phe Leu Gly

1

<210> 368

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 368

Ala Leu Ala Leu

1