	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2018-0014714 (43) 공개일자 2018년02월09일
<hr/>		
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C07K 16/22 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)	(71) 출원인 노파르티스 아게 스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35	
(52) CPC특허분류 C07K 16/22 (2013.01) A61K 45/06 (2013.01)	(72) 발명자 첸, 지준 중국 201203 상하이 상하이 푸둥 뉴 에어리어 장 지앙 하이-테크 파크 진케 로드 레인 3728 빌딩 3 차이나 노바티스 인스티튜츠 포, 바이오메디칼 리 서치 코., 엘티디.	
(21) 출원번호 10-2017-7034690	뎡, 수준 중국 201203 상하이 상하이 푸둥 뉴 에어리어 장 지앙 하이-테크 파크 진케 로드 레인 3728 빌딩 3 차이나 노바티스 인스티튜츠 포, 바이오메디칼 리 서치 코., 엘티디.	
(22) 출원일자(국제) 2016년05월26일 심사청구일자 없음	(뎡, 수준 계속)	
(85) 번역문제출일자 2017년11월30일	(74) 대리인 양영준, 이상영	
(86) 국제출원번호 PCT/IB2016/053095		
(87) 국제공개번호 WO 2016/193872 국제공개일자 2016년12월08일		
(30) 우선권주장 PCT/CN2015/080887 2015년06월05일 중국(CN)		

전체 청구항 수 : 총 58 항

(54) 발명의 명칭 골 형태형성 단백질 9 (BMP9)를 표적화하는 항체 및 그에 대한 방법

### (57) 요약

본 발명은 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 및 그의 항원-결합 단편 및 그의 조성물 및 사용 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)  
C07K 2317/51 (2013.01)  
C07K 2317/515 (2013.01)  
C07K 2317/52 (2013.01)  
C07K 2317/55 (2013.01)  
C07K 2317/56 (2013.01)  
C07K 2317/565 (2013.01)  
C07K 2317/73 (2013.01)  
C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자

**혜, 윤**

중국 201203 상하이 상하이 푸둥 뉴 에어리어 장지  
양 하이-테크 파크 진케 로드 라인 3728 빌딩 3 차  
이나 노바티스 인스티튜츠 포, 바이오메디칼 리서  
치 코., 엘티디.

**후양, 다강**

중국 201907 상하이 상하이 바오산 디스트릭트 유  
닛 93 줄리안 로드 589

**쿠글러, 마르쿠스**

독일 82152 플라네그 레나-크리스트-스트라쎄 48  
모르포시스 아게

**리, 치안**

중국 201204 상하이 푸둥 뉴 에어리어 이스트 진안  
로드 라인 458 빌딩 29 룸 101

**루, 크리스 상양**

중국 201203 상하이 푸둥 뉴 에어리어 상하이 장지  
양 하이-테크 파크 할레이 로드 라인 898 빌딩 넘  
버 8 차이나 노바티스 인스티튜츠 포, 바이오메디  
칼 리서치 코., 엘티디.

**루오, 시아오**

중국 201203 상하이 푸둥 뉴 에어리어 상하이 장지  
양 하이-테크 파크 할레이 로드 라인 898 빌딩 넘  
버 8 차이나 노바티스 인스티튜츠 포, 바이오메디  
칼 리서치 코., 엘티디.

**샨, 용치양**

중국 201203 상하이 푸둥 뉴 에어리어 상하이 장지  
양 하이-테크 파크 할레이 로드 라인 898 빌딩 넘  
버 8 차이나 노바티스 인스티튜츠 포, 바이오메디  
칼 리서치 코., 엘티디.

**티조트-다귀테, 카트린 올리케**

독일 82152 플라네그 레나-크리스트-스트라쎄 48  
모르포시스 아게

**우, 징**

중국 201203 상하이 상하이 푸둥 뉴 에어리어 장지  
양 하이-테크 파크 진케 로드 라인 3728 빌딩 3 차  
이나 노바티스 인스티튜츠 포, 바이오메디칼 리서  
치 코., 엘티디.

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

인간 BMP9에 결합하고

- (a) 각각 서열식별번호: 61, 62 및 63의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 71, 72 및 73의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (b) 각각 서열식별번호: 64, 65 및 66의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 74, 75 및 76의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (c) 각각 서열식별번호: 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 11, 12 및 13의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (d) 각각 서열식별번호: 4, 5 및 6의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 14, 15 및 16의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (e) 각각 서열식별번호: 21, 22 및 23의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 31, 32 및 33의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (f) 각각 서열식별번호: 24, 25 및 26의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 34, 35 및 36의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (g) 각각 서열식별번호: 41, 42 및 43의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 51, 52 및 53의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (h) 각각 서열식별번호: 44, 45 및 46의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 54, 55 및 56의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (i) 각각 서열식별번호: 81, 82 및 83의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 91, 92 및 93의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (j) 각각 서열식별번호: 84, 85 및 86의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 94, 95 및 96의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (k) 각각 서열식별번호: 101, 102 및 103의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 111, 112 및 113의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (l) 각각 서열식별번호: 104, 105 및 106의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 114, 115 및 116의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (m) 각각 서열식별번호: 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 131, 132 및 133의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (n) 각각 서열식별번호: 124, 125 및 126의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 134, 135 및 136의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (o) 각각 서열식별번호: 141, 142 및 143의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 151, 152 및 153의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (p) 각각 서열식별번호: 144, 145 및 146의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 154, 155 및 156의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (q) 각각 서열식별번호: 161, 162 및 163의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 171, 172 및 173의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열; 또는
- (r) 각각 서열식별번호: 164, 165 및 166의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 174, 175 및 176의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열

을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

## 청구항 2

제1항에 있어서,

- (a) 서열식별번호: 67의 VH 서열;
- (b) 서열식별번호: 7의 VH 서열;
- (c) 서열식별번호: 27의 VH 서열;
- (d) 서열식별번호: 47의 VH 서열;
- (e) 서열식별번호: 87의 VH 서열;
- (f) 서열식별번호: 107의 VH 서열;
- (g) 서열식별번호: 127의 VH 서열;
- (h) 서열식별번호: 147의 VH 서열; 또는
- (i) 서열식별번호: 167의 VH 서열

을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

## 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) 서열식별번호: 77의 VL 서열;
- (b) 서열식별번호: 17의 VL 서열;
- (c) 서열식별번호: 37의 VL 서열;
- (d) 서열식별번호: 57의 VL 서열;
- (e) 서열식별번호: 97의 VL 서열;
- (f) 서열식별번호: 117의 VL 서열;
- (g) 서열식별번호: 137의 VL 서열;
- (h) 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는
- (i) 서열식별번호: 177의 VL 서열

을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

## 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 서열식별번호: 67의 VH 서열 및 서열식별번호: 77의 VL 서열;
- (b) 서열식별번호: 7의 VH 서열 및 서열식별번호: 17의 VL 서열;
- (c) 서열식별번호: 27의 VH 서열 및 서열식별번호: 37의 VL 서열;
- (d) 서열식별번호: 47의 VH 서열 및 서열식별번호: 57의 VL 서열;
- (e) 서열식별번호: 87의 VH 서열 및 서열식별번호: 97의 VL 서열;
- (f) 서열식별번호: 107의 VH 서열 및 서열식별번호: 117의 VL 서열;
- (g) 서열식별번호: 127의 VH 서열 및 서열식별번호: 137의 VL 서열;
- (h) 서열식별번호: 147의 VH 서열 및 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는

(i) 서열식별번호: 167의 VH 서열 및 서열식별번호: 177의 VL 서열  
을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

- (d) 서열식별번호: 69의 중쇄 서열;
  - (b) 서열식별번호: 9의 중쇄 서열;
  - (a) 서열식별번호: 29의 중쇄 서열;
  - (c) 서열식별번호: 49의 중쇄 서열;
  - (e) 서열식별번호: 89의 중쇄 서열;
  - (f) 서열식별번호: 109의 중쇄 서열;
  - (g) 서열식별번호: 129의 중쇄 서열;
  - (h) 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 또는
  - (i) 서열식별번호: 169의 중쇄 서열
- 을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 서열식별번호: 79의 경쇄 서열;
  - (b) 서열식별번호: 19의 경쇄 서열;
  - (c) 서열식별번호: 39의 경쇄 서열;
  - (d) 서열식별번호: 59의 경쇄 서열;
  - (e) 서열식별번호: 99의 경쇄 서열;
  - (f) 서열식별번호: 119의 경쇄 서열;
  - (g) 서열식별번호: 139의 경쇄 서열;
  - (h) 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는
  - (i) 서열식별번호: 179의 경쇄 서열
- 을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 서열식별번호: 69의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 79의 경쇄 서열;
- (b) 서열식별번호: 9의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 19의 경쇄 서열;
- (c) 서열식별번호: 29의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 39의 경쇄 서열;
- (d) 서열식별번호: 49의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 59의 경쇄 서열;
- (e) 서열식별번호: 89의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 99의 경쇄 서열;
- (f) 서열식별번호: 109의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 119의 경쇄 서열;
- (g) 서열식별번호: 129의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 139의 경쇄 서열;

(h) 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는  
(i) 서열식별번호: 169의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 179의 경쇄 서열  
을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, IgG이거나, 또는 IgG로부터 유래된 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 9

제8항에 있어서, IgG가 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 모노클로날 항체, 키메라 항체, 단일 쇄 항체, Fab 및 scFv로 이루어진 군으로부터 선택된 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 면역접합체의 성분인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 영역 내의 아미노산의 돌연변이를 통해 변경된 이펙터 기능을 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 교차-차단하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 14

(a) 인간 BMP10, 인간 BMP7 및 인간 BMP2보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 1000-배 더 큰 친화도를 갖고; (b) 1 nM 미만의 KD로 인간 BMP9, 시노 BMP9, 래트 BMP9 및 뮤린 BMP9에 결합하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편.

#### 청구항 15

(a) 인간 BMP9에 결합하고 인간 BMP9의 BMP 제I형 수용체, 예를 들어, ALK1, ALK2 또는 ALK3에 대한 결합을 억제하거나;  
(b) 인간 BMP9에 결합하고 인간 BMP9의 BMP 제II형 수용체, 예를 들어, ActIIRB에 대한 결합을 억제하거나; 또는  
(c) 인간 BMP9에 결합하고 인간 BMP9의 BMP 제I형 수용체, 예를 들어, ALK1, ALK2 또는 ALK3, 및 BMP 제II형 수용체, 예를 들어, ActIIRB 둘 다에 대한 결합을 억제하는  
단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 16

제15항에 있어서, 인간 BMP9의 상기 BMP 제I형 수용체, 상기 BMP 제II형 수용체, 또는 상기 BMP 제I형 수용체 및 상기 BMP 제II형 수용체에 대한 결합의 억제가 약 1 nM 이하의 IC50인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 17

(a) 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 21-25, 43-60, 86 및 96 내의 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하거나; 또는 (b) 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 83-85 및 95-100 내의 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 18

제17항에 있어서, (a) 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 G21, W22, S24, W25, F43, P44, L45, A46, D47, D48, K53, I56, L60, L63, Y86 및 K96을 포함하는 에피토프에서; (b) 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 S83, L85, L95, Y97, H98 및 E100을 포함하는 에피토프에서; (c) 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 G21, W22, S24, W25, F43, P44, L45, A46, D47, D48, K53, I56, L60, L63, Y86 및 K96으로 이루어진 에피토프에서; 또는 (d) 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 S83, L85, L95, Y97, H98 및 E100으로 이루어진 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 19

(a) 각각 서열식별번호: 184, 185 및 186의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 192, 193 및 194의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;

(b) 각각 서열식별번호: 181, 182 및 183의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 189, 190 및 191의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;

(c) 각각 서열식별번호: 197, 198, 및 199의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 205, 206, 및 207의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열; 또는

(d) 각각 서열식별번호: 200, 201, 및 202의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 208, 209, 및 210의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열

을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라, 인간화 또는 완전 인간인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물.

#### 청구항 22

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 추가의 치료제를 포함하는 조성물.

#### 청구항 23

세포를 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 제21항 또는 제22항의 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 BMP9의 활성을 감소시키는 방법.

#### 청구항 24

BMP9의 억제를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 제21항 또는 제22항의 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 BMP9를 억제하는 방법.

#### 청구항 25

제24항에 있어서, 환자가 간 질환을 갖는 것인 방법.

#### 청구항 26

제25항에 있어서, 간 질환이 C형 간염 바이러스 ("HCV") 감염; B형 간염 바이러스 ("HBV") 감염; 자가면역

간염; 알콜 노출; 독소 노출; 약물 노출; 간 외상; 담도 폐쇄; 원발성 담즙성 간경변증; 알라질 증후군; 만성 간 울혈; 비알콜성 지방간염 (NASH); 원발성 경화성 담관염; 혈색소증; 알파 1-항트립신 결핍; 및 윌슨병이거나 또는 이 중 하나 이상과 연관된 것인 방법.

#### 청구항 27

제25항에 있어서, 간 질환이 간 섬유증, 문맥 고혈압, 비알콜성 지방간염 (NASH), 지방간 질환, 및 간경변증으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

#### 청구항 28

제23항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

#### 청구항 29

제28항에 있어서, 추가의 치료제가 BMP9의 활성을 감소시키는 것인 방법.

#### 청구항 30

제28항에 있어서, 추가의 치료제가 siRNA, 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 가용성 수용체, 단백질, 또는 소분자인 방법.

#### 청구항 31

제28항에 있어서, 추가의 치료제가 항바이러스제, 항염증제, 항섬유화제, 항지방증제, 항아포토시스, 간보호제, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

#### 청구항 32

제31항에 있어서, 추가의 치료제가 테노포비르, 엔테카비르, 라미부딘, 텔비부딘, 아데포비르, PEG화 인터페론, 소포스부비르, 텔라프레비르, 다클라타스비르, 시메프레비르, 레다스프레비르, 코르티코스테로이드, GFT-505, 세니크리비록, 비타민 E, 피오글리타존, 메트포르민, 오베티콜산, GR-MD-02, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

#### 청구항 33

제28항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, (a) 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 및 추가의 치료제가 동시에 또는 순차적으로 투여되고/거나, (b) 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 추가의 치료제의 투여에 부가적으로 투여되는 것인 방법.

#### 청구항 34

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 35

인간 BMP9에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 VH 또는 VL 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드이며, 여기서 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

(a) 각각 서열식별번호: 61, 62 및 63의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 71, 72 및 73의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;

(b) 각각 서열식별번호: 64, 65 및 66의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 74, 75 및 76의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;

(c) 각각 서열식별번호: 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 11, 12 및 13의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;

(d) 각각 서열식별번호: 4, 5 및 6의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 14, 15 및 16의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;



- (e) 각각 서열식별번호: 21, 22 및 23의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 31, 32 및 33의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (f) 각각 서열식별번호: 24, 25 및 26의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 34, 35 및 36의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (g) 각각 서열식별번호: 41, 42 및 43의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 51, 52 및 53의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (h) 각각 서열식별번호: 44, 45 및 46의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 54, 55 및 56의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (i) 각각 서열식별번호: 81, 82 및 83의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 91, 92 및 93의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (j) 각각 서열식별번호: 84, 85 및 86의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 94, 95 및 96의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (k) 각각 서열식별번호: 101, 102 및 103의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 111, 112 및 113의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (l) 각각 서열식별번호: 104, 105 및 106의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 114, 115 및 116의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (m) 각각 서열식별번호: 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 131, 132 및 133의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (n) 각각 서열식별번호: 124, 125 및 126의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 134, 135 및 136의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (o) 각각 서열식별번호: 141, 142 및 143의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 151, 152 및 153의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (p) 각각 서열식별번호: 144, 145 및 146의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 154, 155 및 156의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- (q) 각각 서열식별번호: 161, 162 및 163의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 171, 172 및 173의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열; 또는
- (r) 각각 서열식별번호: 164, 165 및 166의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 174, 175 및 176의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열

을 포함하는 것인 단리된 폴리뉴클레오티드.

### 청구항 36

제35항에 있어서, 핵산 서열이

- (a) 서열식별번호: 67의 VH 서열;
- (b) 서열식별번호: 7의 VH 서열;
- (c) 서열식별번호: 27의 VH 서열;
- (d) 서열식별번호: 47의 VH 서열;
- (e) 서열식별번호: 87의 VH 서열;
- (f) 서열식별번호: 107의 VH 서열;
- (g) 서열식별번호: 127의 VH 서열;
- (h) 서열식별번호: 147의 VH 서열; 또는
- (i) 서열식별번호: 167의 VH 서열

을 포함하는 VH 서열을 코딩하는 것인 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 37

제35항 또는 제36항에 있어서, 핵산 서열이

- (a) 서열식별번호: 77의 VL 서열;
- (b) 서열식별번호: 17의 VL 서열;
- (c) 서열식별번호: 37의 VL 서열;
- (d) 서열식별번호: 57의 VL 서열;
- (e) 서열식별번호: 97의 VL 서열;
- (f) 서열식별번호: 117의 VL 서열;
- (g) 서열식별번호: 137의 VL 서열;
- (h) 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는
- (i) 서열식별번호: 177의 VL 서열

을 포함하는 VL 서열을 코딩하는 것인 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 38

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, VH 서열을 코딩하는 핵산 서열 및 VL 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하며, 여기서 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

- (a) 서열식별번호: 67의 VH 서열 및 서열식별번호: 77의 VL 서열;
- (b) 서열식별번호: 7의 VH 서열 및 서열식별번호: 17의 VL 서열;
- (c) 서열식별번호: 27의 VH 서열 및 서열식별번호: 37의 VL 서열;
- (d) 서열식별번호: 47의 VH 서열 및 서열식별번호: 57의 VL 서열;
- (e) 서열식별번호: 87의 VH 서열 및 서열식별번호: 97의 VL 서열;
- (f) 서열식별번호: 107의 VH 서열 및 서열식별번호: 117의 VL 서열;
- (g) 서열식별번호: 127의 VH 서열 및 서열식별번호: 137의 VL 서열;
- (h) 서열식별번호: 147의 VH 서열 및 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는
- (i) 서열식별번호: 167의 VH 서열 및 서열식별번호: 177의 VL 서열

을 포함하는 것인 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 39

제35항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

- (a) 서열식별번호: 69의 중쇄 서열;
- (b) 서열식별번호: 9의 중쇄 서열;
- (c) 서열식별번호: 29의 중쇄 서열;
- (d) 서열식별번호: 49의 중쇄 서열;
- (e) 서열식별번호: 89의 중쇄 서열;
- (f) 서열식별번호: 109의 중쇄 서열;
- (g) 서열식별번호: 129의 중쇄 서열;

- (h) 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 또는
  - (i) 서열식별번호: 169의 중쇄 서열
- 을 포함하는 것인 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 40

제35항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

- (a) 서열식별번호: 79의 경쇄 서열;
  - (b) 서열식별번호: 19의 경쇄 서열;
  - (c) 서열식별번호: 39의 경쇄 서열;
  - (d) 서열식별번호: 59의 경쇄 서열;
  - (e) 서열식별번호: 99의 경쇄 서열;
  - (f) 서열식별번호: 119의 경쇄 서열;
  - (g) 서열식별번호: 139의 경쇄 서열;
  - (h) 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는
  - (i) 서열식별번호: 179의 경쇄 서열
- 을 포함하는 것인 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 41

제35항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이

- (a) 서열식별번호: 69의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 79의 경쇄 서열;
  - (b) 서열식별번호: 9의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 19의 경쇄 서열;
  - (c) 서열식별번호: 29의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 39의 경쇄 서열;
  - (d) 서열식별번호: 49의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 59의 경쇄 서열;
  - (e) 서열식별번호: 89의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 99의 경쇄 서열;
  - (f) 서열식별번호: 109의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 119의 경쇄 서열;
  - (g) 서열식별번호: 129의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 139의 경쇄 서열;
  - (h) 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는
  - (i) 서열식별번호: 169의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 179의 경쇄 서열
- 을 포함하는 것인 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 42

- (a) 서열식별번호: 70의 중쇄 서열;
- (b) 서열식별번호: 68의 VH 서열;
- (c) 서열식별번호: 80의 경쇄 서열;
- (d) 서열식별번호: 78의 VL 서열;
- (e) 서열식별번호: 10의 중쇄 서열;
- (f) 서열식별번호: 8의 VH 서열;
- (g) 서열식별번호: 20의 경쇄 서열;

- (h) 서열식별번호: 18의 VL 서열;
- (i) 서열식별번호: 30의 중쇄 서열;
- (j) 서열식별번호: 28의 VH 서열;
- (k) 서열식별번호: 40의 경쇄 서열;
- (l) 서열식별번호: 38의 VL 서열;
- (m) 서열식별번호: 50의 중쇄 서열;
- (n) 서열식별번호: 48의 VH 서열;
- (o) 서열식별번호: 60의 경쇄 서열;
- (p) 서열식별번호: 58의 VL 서열;
- (q) 서열식별번호: 90의 중쇄 서열;
- (r) 서열식별번호: 88의 VH 서열;
- (s) 서열식별번호: 100의 경쇄 서열;
- (t) 서열식별번호: 98의 VL 서열;
- (u) 서열식별번호: 110의 중쇄 서열;
- (v) 서열식별번호: 108의 VH 서열;
- (w) 서열식별번호: 120의 경쇄 서열;
- (x) 서열식별번호: 118의 VL 서열;
- (y) 서열식별번호: 130의 중쇄 서열;
- (z) 서열식별번호: 128의 VH 서열;
- (aa) 서열식별번호: 140의 경쇄 서열;
- (bb) 서열식별번호: 138의 VL 서열;
- (cc) 서열식별번호: 150의 중쇄 서열;
- (dd) 서열식별번호: 148의 VH 서열;
- (ee) 서열식별번호: 160의 경쇄 서열;
- (ff) 서열식별번호: 158의 VL 서열;
- (gg) 서열식별번호: 170의 중쇄 서열;
- (hh) 서열식별번호: 168의 VH 서열;
- (ii) 서열식별번호: 180의 경쇄 서열; 또는
- (jj) 서열식별번호: 178의 VL 서열

중 어느 것의 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 중쇄 또는 경쇄를 코딩하는 핵산을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 43

- (a) 서열식별번호: 68의 VH 서열 및 서열식별번호: 78의 VL 서열;
- (b) 서열식별번호: 8의 VH 서열 및 서열식별번호: 18의 VL 서열;
- (c) 서열식별번호: 28의 VH 서열 및 서열식별번호: 38의 VL 서열;
- (d) 서열식별번호: 48의 VH 서열 및 서열식별번호: 58의 VL 서열;

- (e) 서열식별번호: 88의 VH 서열 및 서열식별번호: 98의 VL 서열;
- (f) 서열식별번호: 108의 VH 서열 및 서열식별번호: 118의 VL 서열;
- (g) 서열식별번호: 128의 VH 서열 및 서열식별번호: 138의 VL 서열;
- (h) 서열식별번호: 148의 VH 서열 및 서열식별번호: 158의 VL 서열; 또는
- (i) 서열식별번호: 168의 VH 서열 및 서열식별번호: 178의 VL 서열

중 어느 것의 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 VH 및 VL를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 44

제34항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 연속적 폴리뉴클레오티드 상에 배치된 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 45

제34항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 2개 이상의 연속적 폴리뉴클레오티드 상에 배치된 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 46

제34항 내지 제45항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

#### 청구항 47

제46항의 벡터를 포함하는 세포.

#### 청구항 48

의약의 제조에 있어서의 제1항 내지 제20항 중 어느 한 항의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 제21항 또는 제22항의 조성물, 제34항 내지 제45항 중 어느 한 항의 단리된 폴리뉴클레오티드, 제46항의 벡터, 또는 제47항의 세포의 용도.

#### 청구항 49

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 의약으로서 사용하기 위한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 50

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 요법에 사용하기 위한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 51

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 간 질환을 갖는 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 52

제51항에 있어서, 간 질환이 C형 간염 바이러스 ("HCV") 감염; B형 간염 바이러스 ("HBV") 감염; 자가면역 간염; 알콜 노출; 독소 노출; 약물 노출; 간 외상; 담도 폐쇄; 원발성 담즙성 간경변증; 알라질 증후군; 만성 간 울혈; 비알콜성 지방간염 (NASH); 원발성 경화성 담관염; 혈색소증; 알파 1-항트립신 결핍; 및 윌슨병이거나 또는 이와 연관된 것인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 53

제51항에 있어서, 간 질환이 간 섬유증, 문맥 고혈압, 비알콜성 지방간염 (NASH), 지방간 질환, 또는 간경변증으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 54

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, BMP9의 활성의 감소를 필요로 하는 환자에서 BMP9의 활성을 감소시키는 데 사용하기 위한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 55

표 1에 열거된 항체의 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 56

표 1에 열거된, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 57

(a) 표 1에 기재된 VH 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 아미노산 서열을 포함하고/거나

(b) 표 1에 기재된 VL 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 아미노산 서열을 포함하고/거나

(c) 표 1에 기재된 VH 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 아미노산 서열 및 표 1에 기재된 VL 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 아미노산 서열을 포함하고/거나;

(d) 표 1에 기재된 경쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열을 포함하고/거나

(e) 표 1에 기재된 중쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 포함하고/거나

(f) 표 1에 기재된 경쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열 및 표 1에 기재된 중쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 포함하는,

인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

#### 청구항 58

제55항 내지 제57항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

### 발명의 설명

### 기술 분야

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본 출원은 2015년 6월 5일에 출원된 PCT 출원 번호 PCT/CN2015/080887을 우선권 주장한다. 이 출원의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록
- [0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2016년 5월 4일에 생성된 상기 ASCII 카피는 PAT056928-WO-PCT02\_SL.txt로 명명되고 크기는 168,487 바이트이다.
- [0005] 서론
- [0006] 본 발명은 인간 BMP9에 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편, 그의 조성물 및 사용 방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

- [0007] 섬유증은 기관 또는 조직에서의 세포에 의한 과도한 섬유 결합 조직의 비정상적인 형성 또는 발생을 지칭하는 병리학적 과정이다. 섬유증과 관련된 과정이 정상적인 조직 형성 또는 복구의 일부로서 발생할 수 있지만, 이들 과정의 조절 이상은 변경된 세포 조성과 과도한 결합 조직 침착을 유도할 수 있고 이는 조직 또는 기관 기능을 점진적으로 손상시킨다.
- [0008] 간경변증을 포함하는 섬유화 간 질환은 전세계적으로 1억명이 넘는 사람에게 영향을 미치고 매년 1백만명이 넘는 사망을 유발한다. 섬유화 간 질환 및 간경변증의 주요 결과 중 하나인 문맥 고혈압은 다수의 질환의 합병증의 원인이다. 간경변증을 포함하는 섬유화 간 질환을 포함하는 간 질환을 위한 기존 요법은 낮은 효능 및 바람직하지 않은 부작용을 가질 수 있다. 더욱이, 현재 간경변증을 포함하는 섬유화 간 질환을 포함하는 간 질환을 위한 완전한 유효 치료 또는 치유법이 없다. 따라서, 섬유화 간 질환 및 간경변증을 포함하는 간 질환 (그의 결과 예컨대 문맥 고혈압 포함)을 억제하거나, 방지하거나 또는 역전시킬 수 있고, 따라서 대상체에서 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압을 치료하거나 또는 예방하는 데 사용될 수 있는 모이어티펜만 아니라 쇠약 질환을 진단하는 방법에 대한 큰 필요가 있다.

## 발명의 내용

- [0009] 본 발명은 단리된 BMP9-결합 분자 (예를 들어, BMP9-결합 항체 또는 그의 항원-결합 단편), 이러한 분자를 포함하는 제약 조성물, 이러한 분자 및 조성물을 제조하는 방법, 및 질환, 예를 들어, 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 및 문맥 고혈압을 치료하는 데 있어서 그의 사용 방법을 제공한다.
- [0010] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에서의 임의의 항체의 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0011] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-1의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0012] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-2의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0013] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-3의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0014] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-4의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0015] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-5의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0016] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-6의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0017] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-7의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0018] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-8의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0019] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-9의 6개의 CDR을 포함하는, BMP9에 대한 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0020] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호(SEQ ID NO): 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 11, 12 및 13의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0021] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 4, 5 및 6의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 14, 15 및 16의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.

- [0022] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 21, 22 및 23의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 31, 32 및 33의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0023] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 24, 25 및 26의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 34, 35 및 36의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0024] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 41, 42 및 43의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 51, 52 및 53의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0025] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 44, 45 및 46의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 54, 55 및 56의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0026] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 61, 62 및 63의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 71, 72 및 73의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0027] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 64, 65 및 66의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 74, 75 및 76의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0028] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 81, 82 및 83의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 91, 92 및 93의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0029] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 84, 85 및 86의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 94, 95 및 96의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0030] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 101, 102 및 103의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 111, 112 및 113의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0031] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 104, 105 및 106의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 114, 115 및 116의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0032] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 131, 132 및 133의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0033] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 124, 125 및 126의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 134, 135 및 136의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0034] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 141, 142 및 143의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 151, 152 및 153의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0035] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 144, 145 및 146의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 154, 155 및 156의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0036] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 161, 162 및 163의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 171, 172 및 173의 LCDR1, LCDR2, 및



LCDR3 서열을 포함한다.

- [0037] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 164, 165 및 166의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 174, 175 및 176의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함한다.
- [0038] 본 발명의 한 측면에서, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기 중 임의의 하나 이상에 대해 적어도 90%, 95%, 97%, 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 적어도 1개의 상보성 결정 (CDR) 서열을 포함한다:
- [0039] (a) 각각 서열식별번호: 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 11, 12 및 13의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0040] (b) 각각 서열식별번호: 4, 5 및 6의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 14, 15 및 16의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0041] (c) 각각 서열식별번호: 21, 22 및 23의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 31, 32 및 33의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0042] (d) 각각 서열식별번호: 24, 25 및 26의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 34, 35 및 36의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0043] (e) 각각 서열식별번호: 41, 42 및 43의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 51, 52 및 53의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0044] (f) 각각 서열식별번호: 44, 45 및 46의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 54, 55 및 56의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0045] (g) 각각 서열식별번호: 61, 62 및 63의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 71, 72 및 73의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0046] (h) 각각 서열식별번호: 64, 65 및 66의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 74, 75 및 76의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0047] (i) 각각 서열식별번호: 81, 82 및 83의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 91, 92 및 93의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0048] (j) 각각 서열식별번호: 84, 85 및 86의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 94, 95 및 96의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0049] (k) 각각 서열식별번호: 101, 102 및 103의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 111, 112 및 113의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0050] (l) 각각 서열식별번호: 104, 105 및 106의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 114, 115 및 116의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0051] (m) 각각 서열식별번호: 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 131, 132 및 133의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0052] (n) 각각 서열식별번호: 124, 125 및 126의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 134, 135 및 136의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0053] (o) 각각 서열식별번호: 141, 142 및 143의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 151, 152 및 153의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0054] (p) 각각 서열식별번호: 144, 145 및 146의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 154, 155 및 156의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0055] (q) 각각 서열식별번호: 161, 162 및 163의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 171, 172 및 173의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열; 또는
- [0056] (r) 각각 서열식별번호: 164, 165 및 166의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 174, 175 및

176의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열.

- [illegible]

도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 아미노산 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다.

[0065] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-9의 VH 및 VL 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-9의 VH 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 아미노산 서열, 및/또는 표 1에 기재된 바와 같은 BMP9-9의 VL 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 아미노산 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다.

[0066] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0067] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 7의 VH 서열; 서열식별번호: 27의 VH 서열; 서열식별번호: 47의 VH 서열; 서열식별번호: 67의 VH 서열; 서열식별번호: 87의 VH 서열; 서열식별번호: 107의 VH 서열; 서열식별번호: 127의 VH 서열; 서열식별번호: 147의 VH 서열; 또는 서열식별번호: 167의 VH 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0068] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 17의 VL 서열; 서열식별번호: 37의 VL 서열; 서열식별번호: 57의 VL 서열; 서열식별번호: 77의 VL 서열; 서열식별번호: 97의 VL 서열; 서열식별번호: 117의 VL 서열; 서열식별번호: 137의 VL 서열; 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는 서열식별번호: 177의 VL 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0069] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 7의 VH 서열 및 서열식별번호: 17의 VL 서열; 서열식별번호: 27의 VH 서열 및 서열식별번호: 37의 VL 서열; 서열식별번호: 47의 VH 서열 및 서열식별번호: 57의 VL 서열; 서열식별번호: 67의 VH 서열 및 서열식별번호: 77의 VL 서열; 서열식별번호: 87의 VH 서열 및 서열식별번호: 97의 VL 서열; 서열식별번호: 107의 VH 서열 및 서열식별번호: 117의 VL 서열; 서열식별번호: 127의 VH 서열 및 서열식별번호: 137의 VL 서열; 서열식별번호: 147의 VH 서열 및 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는 서열식별번호: 167의 VH 서열 및 서열식별번호: 177의 VL 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0070] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 9의 중쇄 서열; 서열식별번호: 29의 중쇄 서열; 서열식별번호: 49의 중쇄 서열; 서열식별번호: 69의 중쇄 서열; 서열식별번호: 89의 중쇄 서열; 서열식별번호: 109의 중쇄 서열; 서열식별번호: 129의 중쇄 서열; 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 또는 서열식별번호: 169의 중쇄 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0071] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 19의 경쇄 서열; 서열식별번호: 39의 경쇄 서열; 서열식별번호: 59의 경쇄 서열; 서열식별번호: 79의 경쇄 서열; 서열식별번호: 99의 경쇄 서열; 서열식별번호: 119의 경쇄 서열; 서열식별번호: 139의 경쇄 서열; 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는 서열식별번호: 179의 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0072] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 9의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 19의 경쇄 서열; 서열식별번호: 29의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 39의 경쇄 서열; 서열식별번호: 49의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 59의 경쇄 서열; 서열식별번호: 69의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 79의 경쇄 서열; 서열식별번호: 89의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 99의 경쇄 서열; 서열식별번호: 109의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 119의 경쇄 서열; 서열식별번호: 129의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 139의 경쇄 서열; 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는 서열식별번호: 169의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 179의 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 항원-결합 단편에 관한 것이다.

[0073] 본 발명은 또한 서열식별번호: 9의 중쇄 서열; 서열식별번호: 29의 중쇄 서열; 서열식별번호: 49의 중쇄 서열; 서열식별번호: 69의 중쇄 서열; 서열식별번호: 89의 중쇄 서열; 서열식별번호: 109의 중쇄 서열; 서열식별번호: 129의 중쇄 서열; 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 또는 서열식별번호: 169의 중쇄 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄, 및/또는 서열식별번호: 19의 경쇄 서열; 서열식별번호: 39의 경쇄 서열; 서열식별번호: 59의 경쇄 서열; 서열식별번호: 79의 경쇄 서열; 서열식별번호: 99의 경쇄 서열; 서열식별번호: 119의 경쇄 서열; 서열식별번호: 139의 경쇄 서열; 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는 서열식별번호: 179의 경쇄 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄를 갖는, BMP9에 결합하는 항체 및 그

의 항원-결합 단편을 포함한다.

- [0074] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은  $\leq 1$  nM의 KD로 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0075] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은  $\leq 500$  pM의 KD로 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0076] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은  $\leq 200$  pM의 KD로 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0077] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은  $\leq 100$  pM의 KD로 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0078] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은  $\leq 50$  pM의 KD로 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0079] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은  $\leq 20$  pM의 KD로 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0080] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP10보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 100-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0081] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP7보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 100-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0082] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP2보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 100-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0083] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP2, 인간 BMP7 및 인간 BMP10보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 100-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0084] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP10보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 1000-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0085] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP7보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 1000-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0086] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP2보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 1000-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0087] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP2, 인간 BMP7 및 인간 BMP10보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 1000-배 더 큰 친화도를 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0088] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 KD  $\leq 1$  nM로 시노 BMP9, 래트 BMP9 및/또는 마우스 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0089] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 KD  $\leq 0.5$  nM로 시노 BMP9, 래트 BMP9 및/또는 마우스 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0090] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 KD  $\leq 0.2$  nM로 시노 BMP9, 래트 BMP9 및/또는 마우스 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0091] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 KD  $\leq 0.05$  nM로 시노 BMP9, 래트 BMP9 및/또는 마우스 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0092] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 (a) 인간 BMP10, 인간 BMP7 및 인간 BMP2보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 1000-배 더 큰 친화도를 갖고; (b) KD  $\leq 1$  nM로 인간 BMP9, 시노 BMP9, 래트 BMP9 및 뮤린 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. KD를 언급하는 임의의 이전 측면에서, KD는, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 MSD-SET 검정에 의해 측정될 수 있다.
- [0093] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 비아코어(Biacore) 검정에서 인간 BMP9에 결합하고 인간



BMP10에 대한 검출가능한 결합을 갖지 않는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.

- [0094] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP9의 인간 BMP 제I형 수용체, 예를 들어, 인간 ALK1, 인간 ALK2 및/또는 인간 ALK3에 대한 결합을 억제하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0095] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP9의 인간 BMP 제II형 수용체, 예를 들어, 인간 ActRIIB, ActRIIA 및/또는 BMPRII에 대한 결합을 억제하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0096] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP9의 인간 BMP 제I형 수용체, 예를 들어, 인간 ALK1, 인간 ALK2 및/또는 인간 ALK3에 대한 결합을 억제하고; 인간 BMP9의 인간 BMP 제II형 수용체, 예를 들어, 인간 ActRIIB, ActRIIA 및/또는 BMPRII에 대한 결합을 억제하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 인간 BMP9에 대한 인간 BMP 제I형 수용체 및 인간 BMP 제II형 수용체 결합 둘 다의 상기 억제는 동시에 필요 없다.
- [0097] 임의의 상기 측면에서, 인간 BMP9의 BMP 제I형 및/또는 BMP 제II형 수용체에 대한 결합의 억제는  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M 또는  $1 \times 10^{-9}$  M 미만의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 농도에서 발생한다. 한 측면에서, 인간 BMP9의 BMP 제I형 및/또는 BMP 제II형 수용체에 대한 결합의 억제는, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 차단 ELISA 검정에서 측정 시  $1 \times 10^{-9}$  M 미만의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 농도에서 발생한다.
- [0098] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 검정에서 시험관내 또는 생체내 간 세포주 또는 1차 간 세포에서 BMP9-유도된 ID1 발현의 적어도 약 50%의 감소를 나타내는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0099] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은, 예를 들어, 본원에 기재된 검정에서 시험관내 인간 BMP9의 활성을 감소시키는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0100] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 HEKT-BRE-Luc 리포터 유전자 검정에서 측정 시 시험관내 인간 BMP9의 활성을 감소시키는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0101] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 생체내 인간 BMP9의 활성을 감소시키는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0102] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 임의의 이전 측면의 항체 또는 단리된 그의 항원-결합 단편을 교차-차단하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 임의의 이전 측면의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 약 500 nM 미만, 약 200nM 미만, 약 100 nM 미만, 약 10 nM 미만, 또는 약 1 nM 미만의 농도에서 교차-차단한다.
- [0103] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 (a) 인간 BMP10, 인간 BMP7 및 인간 BMP2보다 인간 BMP9에 대해 적어도 약 1000-배 더 큰 친화도를 갖고, (b) 1 nM 미만의 KD로 인간 BMP9, 시노 BMP9, 래트 BMP9 및 뮤린 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다. 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 모노클로날이다. 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 키메라, 인간화 또는 완전 인간이다.
- [0104] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 HEK293T-BRE-Luc 검정에서 측정 시 200 pM 미만의 IC50을 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 HEK293T-BRE-Luc 검정에서 측정 시 100 pM 미만의 IC50을 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 모노클로날이다. 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 키메라, 인간화 또는 완전 인간이다.
- [0105] 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 HEK293T-BRE-Luc 검정에서 측정 시 약 200 pM 미만의 IC50을 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 임의의 이전 측면을 포함하는 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 HEK293T-BRE-Luc 검정에서 측정 시 약 100 pM 이하의 IC50을 갖는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 모노클로날이다. 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 키메라, 인간화 또는 완전 인간이다.

다.

- [0106] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 인간 BMP9 성숙 단편 아미노산 잔기 21-25, 43-60, 86 및 96을 포함하는 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0107] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 인간 BMP9 성숙 단편 아미노산 잔기 21-25, 43-60, 86 및 96 내의 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0108] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 21-25, 43-60, 86 및 96을 포함하는 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 일부 측면에서, 결합은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 아미노산과 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 G21, W22, S24, W25, F43, P44, L45, A46, D47, D48, K53, I56, L60, L63, Y86 및 K96 사이의 직접적 상호작용을 포함한다.
- [0109] 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하고, a) 경쇄 가변 영역에서의 아미노산 잔기 Y32, D50, S91, D92, T93, S94, 및 L96; 및 b) 중쇄 가변 영역에서의 아미노산 잔기 W47, I50, L52, H56, H58, I102, W103, 및 S104를 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0110] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 21-25, 43-60, 86 및 96으로 이루어진 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 일부 측면에서, 결합은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 아미노산과 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 G21, W22, S24, W25, F43, P44, L45, A46, D47, D48, K53, I56, L60, L63, Y86 및 K96 사이의 직접적 상호작용을 포함한다.
- [0111] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 G21, W22, S24, W25, F43, P44, L45, A46, D47, D48, K53, I56, L60, L63, Y86 및 K96으로 이루어진 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0112] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 G21, W22, S24, W25, F43, P44, L45, A46, D47, D48, K53, I56, L60, L63, Y86 및 K96을 포함하는 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0113] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 인간 BMP9 성숙 단편 아미노산 잔기 83-85 및 95-100 내의 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0114] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 S83, L85, L95, Y97, H98 및 E100을 포함하는 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 일부 측면에서, 결합은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 아미노산과 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 S83, L85, L95, Y97, H98 및 E100 사이의 직접적 상호작용을 포함한다.
- [0115] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 S83, L85, L95, Y97, H98 및 E100으로 이루어진 에피토프에서 인간 BMP9의 성숙 단편에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 일부 측면에서, 결합은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 아미노산과 서열식별번호: 215의 아미노산 잔기 S83, L85, L95, Y97, H98 및 E100 사이의 직접적 상호작용을 포함한다.
- [0116] 한 측면에서, 본 발명은 각각 서열식별번호: 184, 185 및 186의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 192, 193 및 194의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어 무린 또는 인간화 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0117] 한 측면에서, 본 발명은 표 3에 기재된 바와 같은 B211G2인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명은 B211G2로부터 유래된 인간화 항체에 관한 것이다.
- [0118] 한 측면에서, 본 발명은 각각 서열식별번호: 200, 201, 및 202의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 208, 209, 및 210의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어 무린 또는 인간화 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다.
- [0119] 한 측면에서, 본 발명은 표 3에 기재된 바와 같은 4E10D7인 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명은 4E10D7로부터 유래된 인간화 항체에 관한 것이다.
- [0120] 한 측면에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 단리된 모노클로날 항체가

다. 한 측면에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 단리된 인간 모노클로날 항체이다. 한 측면에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 인간화 모노클로날 항체이다. 한 측면에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 단리된 키메라 항체이다. 한 측면에서, 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 인간 중쇄 불변 영역 및 인간 경쇄 불변 영역을 포함한다.

- [0121] 본 발명의 한 측면에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 단일쇄 항체이다.
- [0122] 본 발명의 한 측면에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 Fab 단편이다.
- [0123] 본 발명의 한 측면에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 scFv이다.
- [0124] 한 측면에서, 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 IgG이거나, 또는 IgG로부터 유래된다. 본 발명의 한 측면에서, IgG는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4이다.
- [0125] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 아미노산이 각각 인간 VH 또는 VL 배선 서열로부터의 항체 프레임워크로 치환된 프레임워크를 포함한다. 한 측면에서, 항체 프레임워크로 치환된 아미노산은 B211G2로부터이거나, 또는 그로부터 유래된다. 한 측면에서, 항체 프레임워크로 치환된 아미노산은 4E10D7로부터이거나, 또는 그로부터 유래된다. 일부 측면에서, 항체 프레임워크로 치환된 아미노산은 CDR 아미노산을 포함한다.
- [0126] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 면역접합체의 성분이다. 한 측면에서, 면역접합체는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 및 비제한적 예로서 하기 중 임의의 것: 효소, 독소, 호르몬, 성장 인자, 또는 약물을 포함할 수 있다.
- [0127] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 Fc 영역의 돌연변이를 통해 변경된 이펙터 기능을 갖는다.
- [0128] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 간 세포 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내 간 세포주 및/또는 1차 간 세포)에서 BMP9 활성, 예를 들어, BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화 또는 Id1 발현을 억제한다. 이러한 측면에서, 1차 간 세포는 간에 존재하는 임의의 세포 유형, 예를 들어, 간세포를 포함한다. 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 간 세포 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내 간 세포주 및/또는 1차 간 세포)에서 BMP9 활성, 예를 들어, BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화 또는 Id1 발현을 적어도 약 50%만큼 억제한다. 예를 들어, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 간 세포 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내 간 세포주 및/또는 1차 간 세포)에서 BMP9 활성, 예를 들어, BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화 또는 Id1 발현을 적어도 약 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%만큼 억제한다. BMP9 활성은 비제한적 예로서, smad1/5/8 인산화의 양, 또는 Id1 mRNA 또는 단백질 수준을 측정함으로써 측정될 수 있다.
- [0129] 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 시험관내 인간 BMP9의 활성을 감소시킨다. 본 발명의 한 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 HEK293T-BRE-Luc 리포터 유전자 검정에서 측정 시 시험관내 인간 BMP9의 활성을 감소시킨다.
- [0130] 한 측면에서, 본 발명은 예를 들어, 본원, 예를 들어, 표 1에 기재된 바와 같은 임의의 이전 측면의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 및 추가의 치료제를 제공한다. 추가의 치료제는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 조성물에 존재할 수 있거나, 또는 개별 조성물에 존재할 수 있다.
- [0131] 본 발명의 한 측면에서, 추가의 치료제는 BMP9의 활성을 감소시킨다.
- [0132] 본 발명의 한 측면에서, 추가의 치료제는 siRNA, 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 가용성 BMP9 수용체, 단백질 또는 소분자이다.
- [0133] 한 측면에서, 추가의 치료제는 항바이러스제, 항염증제, 항섬유화제, 항지방증제, 항아포토시스, 간보호제, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0134] 한 측면에서, 추가의 치료제는 테노포비르, 엔테카비르, 라미부딘, 텔비부딘, 아데포비르, PEG화 인터페론, 소포스부비르, 텔라프레비르, 다클라타스비르, 시메프레비르, 레다스프레비르, 코르티코스테로이드, GFT-505, 세니크리비르, 비타민 E, 피오글리타존, 메트포르민, 오베티콜산, GR-MD-02, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0135] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 예를 들어, 본원, 예를 들어, 표 1에 기재된 바와 같은 임의의 이전 측면을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 제공한다. 조성물은 임의로, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 추가의 치료제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0136] 한 측면에서, 예를 들어, 표 1에 기재된 바와 같은 본 발명의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 본원에 기재되거나 또는 관련 기술분야에 공지된 바와 같은 치료 방법 또는 절차와 함께 그를 필요로 하는 환자에게 투여될 수 있다. 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 방법 또는 절차 전에, 그 후에 또는 그와 동시에 투여될 수 있다. 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 또 다른 치료 방법 또는 절차에 부가적으로 투여될 수 있다.
- [0137] 한 측면에서, 본 발명은 세포에서 BMP9의 활성을 감소시키는 방법을 제공한다. 방법은 세포를, 예를 들어, 본원, 예를 들어, 표 1에 기재된 바와 같은 본 발명의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0138] 한 측면에서, 본 발명은 BMP9의 억제를 필요로 하는 환자에서 BMP9를 억제하는 방법을 제공한다. 방법은 환자에게, 예를 들어, 본원, 예를 들어, 표 1에 기재된 바와 같은 본 발명의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 환자는 간 질환을 갖는다. 일부 측면에서 간 질환은 본 발명의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로 치료된다. 일부 측면에서, 간 질환은 인자 예컨대 C형 간염 바이러스 ("HCV") 감염; B형 간염 바이러스 ("HBV") 감염; 자가면역 간염; 알콜 노출; 독소 노출; 약물 노출; 간 외상; 담도 폐쇄; 원발성 담즙성 간경변증; 알라질 증후군; 만성 간 울혈; 비알콜성 지방간염 (NASH); 원발성 경화성 담관염; 혈색소증; 알파 1-항트립신 결핍; 및 윌슨병 중 하나 이상과 연관된다. 일부 측면에서, 간 질환은 간 섬유증, 문맥 고혈압, 비알콜성 지방간염(NASH), 지방간 질환, 및 간경변증, 또는 그의 조합이다. 일부 측면에서, 간 질환은 간 섬유증이다. 일부 측면에서 간 질환은 문맥 고혈압이다. 일부 측면에서, 간 질환은 비알콜성 지방간염 (NASH)이다. 일부 측면에서, 간 질환은 지방간 질환이다. 일부 측면에서, 간 질환은 간경변증이다.
- [0139] 일부 측면에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 추가의 치료제와 함께 투여하는 것을 포함하는, 그를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법, 또는 환자에서 BMP9 활성을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 추가의 치료제는 BMP9의 활성을 감소시킨다. 일부 측면에서, 추가의 치료제는 siRNA, 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 가용성 수용체, 단백질, 또는 소분자이다. 일부 측면에서, 추가의 치료제는 항바이러스제, 항염증제, 항섬유화제, 항지방증제, 항아픔토시스, 간보호제, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 측면에서, 추가의 치료제는 테노포비르, 엔테카비르, 라미부딘, 텔비부딘, 아데포비르, PEG화 인터페론, 소포스부비르, 텔라프레비르, 다클라타스비르, 시메프레비르, 레다스프레비르, 코르티코스테로이드, GFT-505, 세니크리비르, 비타민 E, 피오글리타존, 메트포르민, 오베티콜산, GR-MD-02, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 측면에서, 본 발명의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 및 추가의 치료제는 동시에 또는 순차적으로 투여된다. 일부 측면에서, 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 추가의 치료제 투여에 부가적으로 투여된다.
- [0140] 한 측면에서, 본 발명은 임의의 이전 측면을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 1개 이상의 핵산 분자를 제공한다.
- [0141] 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 한 측면에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 VH 또는 VL 서열을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오타이드를 제공하며, 여기서 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0142] (a) 각각 서열식별번호: 1, 2 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 11, 12 및 13의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0143] (b) 각각 서열식별번호: 4, 5 및 6의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 14, 15 및 16의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0144] (c) 각각 서열식별번호: 21, 22 및 23의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 31, 32 및 33의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0145] (d) 각각 서열식별번호: 24, 25 및 26의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 34, 35 및 36의



LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;

- [0146] (e) 각각 서열식별번호: 41, 42 및 43의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 51, 52 및 53의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0147] (f) 각각 서열식별번호: 44, 45 및 46의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 54, 55 및 56의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0148] (g) 각각 서열식별번호: 61, 62 및 63의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 71, 72 및 73의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0149] (h) 각각 서열식별번호: 64, 65 및 66의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 74, 75 및 76의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0150] (i) 각각 서열식별번호: 81, 82 및 83의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 91, 92 및 93의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0151] (j) 각각 서열식별번호: 84, 85 및 86의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 94, 95 및 96의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0152] (k) 각각 서열식별번호: 101, 102 및 103의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 111, 112 및 113의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0153] (l) 각각 서열식별번호: 104, 105 및 106의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 114, 115 및 116의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0154] (m) 각각 서열식별번호: 121, 122 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 131, 132 및 133의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0155] (n) 각각 서열식별번호: 124, 125 및 126의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 134, 135 및 136의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0156] (o) 각각 서열식별번호: 141, 142 및 143의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 151, 152 및 153의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0157] (p) 각각 서열식별번호: 144, 145 및 146의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 154, 155 및 156의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열;
- [0158] (q) 각각 서열식별번호: 161, 162 및 163의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 171, 172 및 173의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열; 또는
- [0159] (r) 각각 서열식별번호: 164, 165 및 166의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 174, 175 및 176의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열.
- [0160] 한 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은: 서열식별번호: 7의 VH 서열; 서열식별번호: 27의 VH 서열; 서열식별번호: 47의 VH 서열; 서열식별번호: 67의 VH 서열; 서열식별번호: 87의 VH 서열; 서열식별번호: 107의 VH 서열; 서열식별번호: 127의 VH 서열; 서열식별번호: 147의 VH 서열; 또는 서열식별번호: 167의 VH 서열 중 임의의 하나를 포함한다.
- [0161] 일부 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 17의 VL 서열; 서열식별번호: 37의 VL 서열; 서열식별번호: 57의 VL 서열; 서열식별번호: 77의 VL 서열; 서열식별번호: 97의 VL 서열; 서열식별번호: 117의 VL 서열; 서열식별번호: 137의 VL 서열; 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는 서열식별번호: 177의 VL 서열 중 임의의 하나를 포함한다.
- [0162] 일부 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 7의 VH 서열 및 서열식별번호: 17의 VL 서열; 서열식별번호: 27의 VH 서열 및 서열식별번호: 37의 VL 서열; 서열식별번호: 47의 VH 서열 및 서열식별번호: 57의 VL 서열; 서열식별번호: 67의 VH 서열 및 서열식별번호: 77의 VL 서열; 서열식별번호: 87의 VH 서열 및 서열식별번호: 97의 VL 서열; 서열식별번호: 107의 VH

서열 및 서열식별번호: 117의 VL 서열; 서열식별번호: 127의 VH 서열 및 서열식별번호: 137의 VL 서열; 서열식별번호: 147의 VH 서열 및 서열식별번호: 157의 VL 서열; 또는 서열식별번호: 167의 VH 서열 및 서열식별번호: 177의 VL 서열 중 임의의 하나를 포함한다.

[0163] 일부 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 9의 중쇄 서열; 서열식별번호: 29의 중쇄 서열; 서열식별번호: 49의 중쇄 서열; 서열식별번호: 69의 중쇄 서열; 서열식별번호: 89의 중쇄 서열; 서열식별번호: 109의 중쇄 서열; 서열식별번호: 129의 중쇄 서열; 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 또는 서열식별번호: 169의 중쇄 서열 중 임의의 하나를 포함한다.

[0164] 일부 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 19의 경쇄 서열; 서열식별번호: 39의 경쇄 서열; 서열식별번호: 59의 경쇄 서열; 서열식별번호: 79의 경쇄 서열; 서열식별번호: 99의 경쇄 서열; 서열식별번호: 119의 경쇄 서열; 서열식별번호: 139의 경쇄 서열; 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는 서열식별번호: 179의 경쇄 서열 중 임의의 하나를 포함한다.

[0165] 일부 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 9의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 19의 경쇄 서열; 서열식별번호: 29의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 39의 경쇄 서열; 서열식별번호: 49의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 59의 경쇄 서열; 서열식별번호: 69의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 79의 경쇄 서열; 서열식별번호: 89의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 99의 경쇄 서열; 서열식별번호: 109의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 119의 경쇄 서열; 서열식별번호: 129의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 139의 경쇄 서열; 서열식별번호: 149의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 159의 경쇄 서열; 또는 서열식별번호: 169의 중쇄 서열; 및 서열식별번호: 179의 경쇄 서열 중 임의의 하나를 포함한다.

[0166] 일부 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 핵산은 서열식별번호: 10의 중쇄 서열; 서열식별번호: 8의 VH 서열; 서열식별번호: 20의 경쇄 서열; 서열식별번호: 18의 VL 서열; 서열식별번호: 30의 중쇄 서열; 서열식별번호: 28의 VH 서열; 서열식별번호: 40의 경쇄 서열; 서열식별번호: 38의 VL 서열; 서열식별번호: 50의 중쇄 서열; 서열식별번호: 48의 VH 서열; 서열식별번호: 60의 경쇄 서열; 서열식별번호: 58의 VL 서열; 서열식별번호: 70의 중쇄 서열; 서열식별번호: 68의 VH 서열; 서열식별번호: 80의 경쇄 서열; 서열식별번호: 78의 VL 서열; 서열식별번호: 90의 중쇄 서열; 서열식별번호: 88의 VH 서열; 서열식별번호: 100의 경쇄 서열; 서열식별번호: 98의 VL 서열; 서열식별번호: 110의 중쇄 서열; 서열식별번호: 108의 VH 서열; 서열식별번호: 120의 경쇄 서열; 서열식별번호: 118의 VL 서열; 서열식별번호: 130의 중쇄 서열; 서열식별번호: 128의 VH 서열; 서열식별번호: 140의 경쇄 서열; 서열식별번호: 138의 VL 서열; 서열식별번호: 150의 중쇄 서열; 서열식별번호: 148의 VH 서열; 서열식별번호: 160의 경쇄 서열; 서열식별번호: 158의 VL 서열; 서열식별번호: 170의 중쇄 서열; 서열식별번호: 168의 VH 서열; 서열식별번호: 180의 경쇄 서열; 또는 서열식별번호: 178의 VL 서열 중 임의의 하나를 포함한다.

[0167] 일부 측면에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 핵산은 서열식별번호: 8의 VH 서열 및 서열식별번호: 18의 VL 서열; 서열식별번호: 28의 VH 서열 및 서열식별번호: 38의 VL 서열; 서열식별번호: 48의 VH 서열 및 서열식별번호: 58의 VL 서열; 서열식별번호: 68의 VH 서열 및 서열식별번호: 78의 VL 서열; 서열식별번호: 88의 VH 서열 및 서열식별번호: 98의 VL 서열; 서열식별번호: 108의 VH 서열 및 서열식별번호: 118의 VL 서열; 서열식별번호: 128의 VH 서열 및 서열식별번호: 138의 VL 서열; 서열식별번호: 148의 VH 서열 및 서열식별번호: 158의 VL 서열; 또는 서열식별번호: 168의 VH 서열 및 서열식별번호: 178의 VL 서열 중 임의의 하나를 포함한다.

[0168] 일부 측면에서 본 발명은 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 코딩된 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 제시된 VL 서열, VH 서열, 경쇄 서열, 또는 중쇄 서열에 대해 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0169] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 핵산, 예를 들어, 1개 이상의 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 핵산은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함한다:

- [0170] 서열식별번호: 10의 중쇄 서열;
- [0171] 서열식별번호: 30의 중쇄 서열;
- [0172] 서열식별번호: 50의 중쇄 서열;
- [0173] 서열식별번호: 70의 중쇄 서열;
- [0174] 서열식별번호: 90의 중쇄 서열;
- [0175] 서열식별번호: 110의 중쇄 서열;
- [0176] 서열식별번호: 130의 중쇄 서열;
- [0177] 서열식별번호: 150의 중쇄 서열;
- [0178] 서열식별번호: 170의 중쇄 서열;
- [0179] 서열식별번호: 20의 경쇄 서열;
- [0180] 서열식별번호: 40의 경쇄 서열;
- [0181] 서열식별번호: 60의 경쇄 서열;
- [0182] 서열식별번호: 80의 경쇄 서열;
- [0183] 서열식별번호: 100의 경쇄 서열;
- [0184] 서열식별번호: 120의 경쇄 서열;
- [0185] 서열식별번호: 140의 경쇄 서열;
- [0186] 서열식별번호: 160의 경쇄 서열;
- [0187] 서열식별번호: 180의 경쇄 서열;
- [0188] 서열식별번호: 8의 VH 서열;
- [0189] 서열식별번호: 28의 VH 서열;
- [0190] 서열식별번호: 48의 VH 서열;
- [0191] 서열식별번호: 68의 VH 서열;
- [0192] 서열식별번호: 88의 VH 서열;
- [0193] 서열식별번호: 108의 VH 서열;
- [0194] 서열식별번호: 128의 VH 서열;
- [0195] 서열식별번호: 148의 VH 서열;
- [0196] 서열식별번호: 168의 VH 서열;
- [0197] 서열식별번호: 18의 VL 서열;
- [0198] 서열식별번호: 38의 VL 서열;
- [0199] 서열식별번호: 58의 VL 서열;
- [0200] 서열식별번호: 78의 VL 서열;
- [0201] 서열식별번호: 98의 VL 서열;
- [0202] 서열식별번호: 118의 VL 서열;
- [0203] 서열식별번호: 138의 VL 서열;
- [0204] 서열식별번호: 158의 VL 서열; 및
- [0205] 서열식별번호: 178의 VL 서열.

- [0206] 핵산과 관련된 본 발명의 측면은 핵산이 단일 연속적 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 1) 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 경쇄 또는 VL 및 2) 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 중쇄 또는 VH를 코딩하는 단일 연속적 폴리뉴클레오티드 상에 배치되는 실시양태를 고려한다. 본 발명은 또한 핵산이 2개 이상의 연속적 폴리뉴클레오티드, 예를 들어, 하나의 폴리뉴클레오티드는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 경쇄 또는 VL을 코딩하고 또 다른 폴리뉴클레오티드는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 중쇄 또는 VH를 코딩하는 것 상에 배치되는 실시양태를 고려한다.
- [0207] 본 발명은 또한 핵산 또는 폴리뉴클레오티드, 예를 들어, 본원에 기재된 것을 포함하는 벡터를 제공한다. 본 발명은 또한 이러한 핵산 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포, 예를 들어, 숙주 세포를 제공한다. 본 발명의 한 측면에서, 단리된 숙주 세포는 이러한 핵산 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다.
- [0208] 한 측면에서, 본 발명은 (1) 본 발명의 항체의 중쇄를 코딩하는 재조합 핵산 절편, 및 (2) 본 발명의 항체의 경쇄를 코딩하는 제2 재조합 핵산 절편을 포함하는 단리된 숙주 세포를 제공하며; 여기서 상기 DNA 절편은 각각 제1 및 제2 프로모터에 작동가능하게 연결되고, 상기 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 본 발명의 또 다른 측면에서, 단리된 숙주 세포는 각각 본 발명의 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 재조합 DNA 절편을 포함하며, 여기서 상기 DNA 절편은 프로모터에 작동가능하게 연결되고, 상기 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 한 측면에서, 숙주 세포는 비-인간 포유동물 세포주이다. 한 측면에서, 숙주 세포는 인간 세포주이다. 한 측면에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간 모노클로날 항체 또는 그의 항원-결합 단편이다. 한 측면에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 인간화 모노클로날 항체 또는 그의 항원-결합 단편이다.
- [0209] 본 발명은 의약의 제조에 있어서의, 본원에 기재된 바와 같은, BMP9에 대한 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 숙주 세포의 용도를 제공한다. 본 발명은 의약의 제조, 예를 들어, 요법에 사용하기 위한 의약의 제조, 예를 들어, 간 질환을 갖는 대상체를 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서의, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도를 제공한다. 본 발명은 BMP9의 활성의 감소를 필요로 하는 환자에서 BMP9의 활성을 감소시키는 데 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서의, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도를 제공한다. 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한, 본원에 기재된 바와 같은, BMP9에 대한 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명은 요법에 사용하기 위한, 본원에 기재된 바와 같은, BMP9에 대한 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명은 섬유화 상태를 치료하는 데 사용하기 위한, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명은 C형 간염 바이러스 ("HCV") 감염; B형 간염 바이러스 ("HBV") 감염; 자가면역 간염; 알콜 노출; 독소 노출; 약물 노출; 간 외상; 담도 폐쇄; 원발성 담즙성 간경변증; 알라질 증후군; 만성 간 울혈; 비알콜성 지방간염 (NASH); 원발성 경화성 담관염; 혈색소증; 알파 1-항트립신 결핍; 또는 윌슨병으로 이루어진 군으로부터 선택된 인자 중 하나 이상과 연관된 간 질환을 포함하는 간 질환을 치료하는 데 사용하기 위한, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명은 간 섬유증, 문맥 고혈압, 비알콜성 지방간염 (NASH), 지방간 질환, 또는 간경변증을 치료하는 데 사용하기 위한, 본원에 기재된 바와 같은 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0210] 한 측면에서, 본 발명은 BMP9의 활성의 감소를 필요로 하는 환자에서 BMP9의 활성을 감소시키는 데 사용하기 위한, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0211] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 열거된 CDR, 예를 들어, 1개 이상의 CDR을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다. 예를 들어, 인간 BMP9에 결합하는 상기 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 CDR, 예를 들어 표 1에 열거된 항체의 6개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함할 수 있다.
- [0212] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 열거된, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0213] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 VH 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 아미노산 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0214] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 VL 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 아미노산 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는

단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0215] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 VH 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 아미노산 서열, 및 표 1에 기재된 VL 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 VL 아미노산 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0216] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 경쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0217] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 중쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0218] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 경쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열, 및 표 1에 기재된 중쇄 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0219] 한 측면에서, 본 발명은 임의의 상기 측면의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0220] 한 측면에서, 본 발명은 표 1에 열거된 CDR을 포함하는, 인간 BMP9에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 인간 BMP9에 결합하는 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 CDR, 예를 들어 표 1에 열거된 항체의 6개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함할 수 있다.

[0221] 정의

[0222] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0223] 본원에 사용된 "BMP9"는 중간엽 줄기 세포의 골모세포 분화의 강력한 유도인자인 것으로 공지된 TGF $\beta$ /BMP 슈퍼패밀리의 관련 기술분야에 공지된 구성원인 (문헌 [Tang et al. (2008) J Cell Mol Med. [PMID: 19175684]] 참조) 단백질 골 형태형성 단백질 9 (BMP9) (또한 본원에서 상호교환가능하게 "BMP9", "BMP-9", "성장 분화 인자 2", "GDF-2", "GDF2", 및 "성장/분화 인자 2 전구체"로 언급됨) 또는 BMP9를 코딩하는 유전자 또는 핵산을 지칭하도록 의도된다. BMP9는 또한 중추 신경계에서의 콜린성 뉴런에 대한 분화 인자인 당뇨병성 마우스에서 혈당증을 감소시킬 수 있는 글루코스 대사의 조절에 수반되고, 철 항상성에서 역할을 하는 호르몬 (헵시딘)의 발현을 유도하는 것으로 밝혀졌다 (David et al. 2008. Circ Res. April 25; 102(8):914-22).

[0224] 대표적인 BMP9 서열은 아래 제시된 서열을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0225] BMP9/성장 분화 인자 2 [호모 사피엔스(Homo sapiens)] (NP\_057288) (서열식별번호: 213).

MCPGALWVALPLLSLLAGSLQGKPLQSWGRGSAGGNAHSPLGVPGGGLPE  
HTFNLKMFLNVKVDFLRSLNLSGVPSQDKTRVEPPQYIMIDLYNRYTSKSTTPA  
SNIVRSFSMEDAISITATEDFPFQKHILLFNISIPRHEQITRAELRLYVSCQNHVDPSH  
DLKGSVVIYDVLDTDAWDSATETKTFLVSQDIQDEGWETLEVSSAVKRWVRSD  
STKSKNKLEVTVESHRKGCDTLDSVPPGSRNLPPFVVFSDNHSSGKTETRLRE  
MISHEQESVLKLSKDGSTEAGESSHEEDTDGHVAAGSTLARRKRSAGAGSHCQ  
KTSLRVNFEDIGWDSWIIAPKEYEAYECKGGCFPLADDVTPTKHAIVQTLVHLK  
FPTKVKGACCVPTKLSPISVLYKDDMGVPTLKYHYEGMSVAECGCR

[0226]



[0227] BMP9/성장 분화 인자 2 [호모 사피엔스] (AF188285) (서열식별번호: 214)

cggtccagcc cggcagcggg tgagagtagg tgctggccaa gacgggtcct tcagagcaaa  
cagcagggag atgccggccc gctcctccc agctcctccc cgtgcccgct aacacagcac

[0228]

ggccgcctgc agtctcctct ctgggtgatt gcgcgggcct aagatgtgtc ctggggcact  
gtgggtggcc ctgcccctgc tctccctgct ggctggctcc ctacagggga agccactgca  
gagctgggga cgagggtctg ctgggggaaa cgcccacagc ccactggggg tgccctggagg  
tgggctgcct gagcacacct tcaacctgaa gatgttctg gagaacgtga aggtggattt  
cctgcgcagc cttaacctga gtgggggtccc ttgcagggac aaaaccaggg tggagccgcc  
gcaglacatg atgacctgt acaacaggta cagtcctgat aagtcgacta cgccagcgtc  
caacattgtg cggagcttca gcatggaaga tgccatctcc ataactgcca cagaggactt  
ccccctccag aagcacatct tctcttcaa catctccatt cctaggcatg agcagatcac  
cagagctgag ctccgactct atgtctctg tcaaaatcac gtggaccct ctcagacct  
gaaagggaagc gtggtcatit atgatgttct ggatggaaca gatgcctggg atagtgtac  
agagacaaa acctcctgg tgtcccagga cattcaggat gagggctggg agaccttga  
agtgtccagc gccgtgaagc gctgggtccg gtccgactcc accaagagca aaaataagct  
ggaagtgact gtggagagcc acagggaagg ctcgacacg ctggacatca gtgtccccc  
aggttcaga aacctgccct tcttgtgt ctttccaat gaccacagca gtggaacca  
ggagaccagg ctggagctga gggagatgat cagccatgaa caagagagcg tgcctaagaa  
gctgtccaag gacggctcca cagaggcagg tgagagcagt cagagggagg acacggatgg  
ccacgtggct gcggggctga ctttagccag gcggaaaagg agcgccgggg ctggcagcca  
ctgtcaaaag acctccctgc gggtaaaact cgaggacatc ggctgggaca gctggatcat  
tgcaccaag gagtatgaag cctacagtg taaggcggc tcttcttcc ccttggctga  
cgatgtgacg ccgacgaac acgctatcgt gcagaccctg gtgcatctca agttccccc  
aaagggtggc aaggcctgct gtgtgcccac caactgagc cccatctccg tctctaaa  
ggatgacatg gaggtgccc cctcaagta ccattacag ggcatgagcg tggcagagtg  
tggtgtagg tagtatctgc ctgcggggct ggggaggcag gccaaagggg ctccacatga  
gaggtcctgc atgcccctgg gcacaacaag gactgattca atctgcatgc cagcctggag  
gaggaaagg agcctgctct cctcccccac accccacca aagcatacac cgctgagctc  
aactgccagg gaaggctaag gaaatgggga tttagcaca acaggaaagc ctgggagggt  
tgttgggatg caaggagggt atgaaaagga gacaggggga aaaataatcc atagtacga  
gaaaacaaca gcagttagcc agaggagcac aggcgggcag gtcactgcag agactgatgg  
aagttagaga ggtggaggag gccagctcac tccaaaaccc ttggggagta gagggaagga  
gcaggcccg tctcacccc atcattgtat gttatttccc acaaccagt tggaggggca  
tggttccaa ttagagacc cg

[0229]

[0230] BMP9/성장 분화 인자 2의 성숙 단편 [호모 사피엔스] (NP\_057288로부터의 아미노산) (서열식별번호: 215):

SAGAGSHCQKTSLRVNFEDIGWDSWIIAPKEYEAYECKGGCFPLADDVTPTKHAIVQTL  
VHLKFPTKV GKACCVPTKLSPISVLYKDDMGVPTLKYHYEGMSVAECGR

[0231]

[0232] 류린 및 다른 동물 BMP9 분자는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 류린 BMP9에 대한 NP\_062379 및 래트 BMP9에 대한 NP\_001099566 참조).

[0233] 본원에 기재된 바와 같이, BMP9에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 BMP9 단백질에 결합한다. 본원에 사용된 "huBMP9"는 인간 BMP9 또는 그의 단편을 지칭한다.

[0234] 본원에 사용된 "BMP2"는 단백질 골 형태형성 단백질 2 (BMP2) 또는 BMP2를 코딩하는 유전자 또는 핵산을 의미한다. BMP2는 또한: BDA2; 및 BMP2A; 외부 ID OMIM: 112261 MGI: 88177 호몰로진(HomoloGene): 926 진카드(GeneCard): BMP2 진(Gene)으로 공지되어 있다. 종: 인간; 엔트레즈(Entrez): 650; 앙상블(Ensembl): ENSG00000125845; 유니프롯(UniProt): P12643; RefSeq (mRNA): NM\_001200; RefSeq (단백질): NP\_001191; 위치

(UCSC): 20번 염색체: 6.75 - 6.76 Mb. 종: 마우스; 엔트레즈: 12156; 앙상블: ENSMUSG00000027358; 유니프룻: P21274; RefSeq (mRNA): NM\_007553; RefSeq (단백질): NP\_031579; 위치 (UCSC): 2번 염색체: 133.55 - 133.56 Mb. 본원에 기재된 바와 같이, BMP2에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 BMP2 단백질에 결합한다.

[0235] 본원에 사용된 "BMP7"은 단백질 골 형태형성 단백질 7 (BMP7) 또는 BMP7을 코딩하는 유전자 또는 핵산을 의미한다. BMP7은 또한: 골형성 단백질-1; OP-1; 외부 ID OMIM: 112267 MGI: 103302 호몰로진: 20410 진카드: BMP7 유전자로 공지되어 있다. 종: 인간; 엔트레즈: 655; 앙상블: ENSG00000101144; 유니프룻: P18075; RefSeq (mRNA): NM\_001719; RefSeq (단백질): NP\_001710; 위치 (UCSC): 20번 염색체: 55.74 - 55.84 Mb. 종: 마우스; 엔트레즈: 12162; 앙상블: ENSMUSG00000008999; 유니프룻: P23359; RefSeq (mRNA): NM\_007557; RefSeq (단백질): NP\_031583; 위치 (UCSC): 2번 염색체: 172.87 - 172.94 Mb. 본원에 기재된 바와 같이, BMP7에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 BMP7 단백질에 결합한다.

[0236] 본원에 사용된 "BMP10"은 TGF $\beta$ /BMP 슈퍼패밀리의 관련 기술분야에 공지된 구성원인 골 형태형성 단백질 10 (BMP10) (또한 본원에서 "BMP10", "BMP-10", "MGC126783", 및 "골 형태형성 단백질 10 전구체"로 상호교환가능하게 언급됨)의 구성원 또는 BMP10을 코딩하는 유전자 또는 핵산을 의미한다. BMP10이 심장 심실 발생 동안 심근세포 증식 및 성숙을 조정하는 데 있어서 필수 성분인 것으로 제안된 바 있다. (Chen et al., (2004) Development. 131(9):2219-31 및 Neubaus et al., (1999) Mech Dev., 80(2): 181-4). 대표적인 BMP10 서열은 아래 제시된 서열을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0237] 골 형태형성 단백질 10 전전구단백질 [호모 사피엔스] (NP\_055297)

[0238] (서열식별번호: 216)

MGSLVLTLCALFCLAAYLVSGSPIMNLEQSPLEEDMSLFGDVFSEQDGVDFNTLL  
QSMKDEFLKTLNLSDIPTQDSAKVDPPEYMLELYNKFATDRTSMPSANIIRSFKNE  
DLFSQPVSFNVSIPHHEEVIMAE LRLYTLVQRDRMIYDGVDRKITTFFEVLESKGDN  
EGERNMLVLVS GEIYGTNSEWETFDVTD AIRRWQKSGSSTHQLVHIESKHDEAE  
DASSGRLEIDTSAQNKHNP LLIVFSDDQSSDKERKEELNEMISHEQLPELDNLGLD  
SFSSGPGE EALLQMR SNIIYDSTARIRRNAKGNYCKRTPLYIDFKEIGWDSWIIAPP  
GYEAYECRGVCNYPLAEHLTPTKHAIQALVHLKNSQKASKACCVPTKLEPISILY  
LDKGVVITYKFKYEGMAVSECGR

[0239]

[0240] 골 형태형성 단백질 10 [호모 사피엔스] (NM\_014482)

[0241] (서열식별번호: 217)

ggggagagga agagtggtag ggggagggag agagagagga agagtcca aactgtctc  
cagtgacagg agacatttac gtccacaag ataaactgc cacttagagc ccagggaagc  
taaacctcc tggcttgcc taggagctcg agcggagtca tgggctctct ggtcctgaca  
ctgtgcgcct tttctgcct ggagcgttac ttgtttctg gcagcccat calgaaccta  
gagcagctct ctctggaaga agatatgtcc ctctttgtg atgtttctc agagcaagac  
gggtgcact ttaacacact gctccagagc atgaaggatg agttcttaa gacactaaac  
ctctctgaca tccccacgca ggattcagcc aagggtgacc caccagagta catgttgga  
ctctacaaca aatttgcaac agatcggacc tccatgccct ctgccaacat cattaggagt  
ttcaagaatg aagatctgtt ttccagccg gtcagtttta atgggctccg aaaatacccc  
ctctcttca atgtgiccat tctcaccat gaagaggta tcatggctga acttaggcta  
tacacactgg tgcgaaggga tcgtatgata tacgatggag tagaccgga aattaccatt  
tttgaagtgc tggagagcaa aggggataac gagggagaaa gaaacatgct ggtcctgggtg  
ctggggaga tatatggaac caacagttag tgggagactt ttgatgtac agatgccatc  
agacgttggc aaaagtcagg ctcatccacc caccagctgg agggcccatc tgagagcaaa  
cacgatgaag ctgaggatgc cagcagtga cggtagaaa tagataccag tgcccagaat  
aagcataacc cttgtctcat cgtgtttct gatgacaaa gcagtgaca ggagagggaag  
gaggaactga atgaatgat ttccatgag caacctccag agctggaca cttgggcctg  
gatagcttt ccagtgacc tggggaagag gctttgtgc agatgagatc aaacatcctc  
tatgactcca ctgcccgaat cagaaggaa gccaaaggaa actactgtaa gaggaccccg  
ctctacatcg actcaaggga gattgggtgg gactcctgga tcatgctcc gcctggatac  
gaagcctatg aatgccgtgg tgtttgtaac taccctctgg cagagcatct cacaccaca  
aagcatgcaa ttatccaggc ctgtgtccac ctcaagaatt ccagaaagc ttccaaagcc  
tgctgtgtgc ccacaaagct agagcccatc tccatctct atttagaca agcgctgctc  
acctacaagt ttaatacga aggcattggc gtctccgaat gtggctgtag atagaagaag  
agtcctatgg cttatttaac aactgtaaat gtgtatatgt ggtgttcta ttaatgaga  
ttatttaata aggggtgtaca gtaatagagg ctgtctgcct tcaggaaatg gacaggtcag  
ttgtgttag gaaatgcata tttt

[0242]

[0243] 무린 및 다른 동물 BMP10 분자는 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 무린 BMP10에 대한 NP\_033886 참조). 본원에 기재된 바와 같이, BMP10에 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 BMP10 단백질에 결합한다.

[0244] "Smad"는 형질전환 성장 인자 베타 리간드로부터 핵으로 세포의 신호를 전달하는 세포내 단백질의 패밀리를 지칭하며, 여기서 이들은 하류 유전자 전사를 활성화시킨다 (예를 들어, 문헌 [Heldin CH (1997), Nature 390 (6659): 465-71; Attisano L (1998) Curr. Opin. Cell Biol. 10 (2): 188-94; Massague J (1998), Annu. Rev. Biochem. 67: 753-91; Attisano L (2002) Science 296 (5573): 1646-7; Whitman M (1998) Genes Dev. 12 (16): 2445-62; Wrana JL (2000) Sci. STKE 2000 (23): RE1; Wharton K, (2009), Development 136 (22): 3691-7] 참조). 수용체-조절 Smad (R-SMAD)는 Smad1, Smad2, Smad3, Smad5 및 Smad8/9를 포함한다. 용어 "smad"는 Smad에 대한 유전자, 예를 들어, Smad1, Smad5 또는 Smad8에 대한 유전자, 또는 Smad 단백질, 예를 들어, Smad1, Smad5 또는 Smad8을 포함한다. 이론에 얽매이지는 않지만, Smad1, Smad5 및 Smad8은 우선적으로 BMP9를 포함하는, 리간드의 BMP 서브패밀리에 의해 활성화되는 것으로 여겨진다. Smad 패밀리의 다수의 구성원은 그의 번호에 의해 함께 지칭된다. 따라서, 예를 들어, "Smad1/5/8"은 Smad1, Smad5 및/또는 Smad8을 지칭한다. "Smad1/5"는 Smad1 및/또는 Smad5를 지칭한다. 또한, 이론에 얽매이지는 않지만, Smad를 통한 신호전달은 Smad 단백질의 인산화를 유도하는 것으로 여겨진다. "pSmad"는 인산화된 Smad 단백질을 지칭한다.

[0245] "Id1"은 유전자 Id1 또는 단백질 Id1을 의미한다 (예를 들어, 문헌 [Benezra R, Cell 61 (1): 49-59; Hara E (1994) J Biol Chem 269 (3): 2139-45; Ruzinova MB (2003) Trends in Cell Biology 13 (8): 410-8; Perk J (2005) Nat Rev Cancer 5 (8): 603-614; Korchynskiy O (2002). J Biol Chem., 277 (7): 4883-91] 참조). DNA-결합 단백질 억제제 1 (Id1)은, 예를 들어, 전사 인자의 기본 HLH 패밀리의 구성원과 이중이량체를 형성할 수 있는 헬릭스-루프-헬릭스 (HLH) 단백질이다. 이론에 얽매이지는 않지만, Id1은 BMP9를 포함하는 BMP 신호전



달 경로에 대한 널리 공지된 표적 유전자이다.

- [0246] 본원에 사용된 용어 "섬유증"은 기관 또는 조직에서의 세포에 의한 과도한 섬유 결합 조직의 비정상적인 형성 또는 발생을 지칭한다. 섬유증과 관련된 과정이 정상적인 조직 형성 또는 복구의 일부로서 발생할 수 있지만, 이들 과정의 조절이상은 변경된 세포 구성과 과도한 결합 조직 침착을 유도할 수 있고 이는 조직 또는 기관 기능을 점진적으로 손상시킨다. 여러 유형의 섬유증, 예를 들어, 췌장 및 폐의 낭성 섬유증, 특히 소아에서 근육 내 주사의 합병증으로서 발생할 수 있는 주사 섬유증, 심내막심근 섬유증, 폐의 특발성 폐 섬유증, 종격 섬유증, 골수섬유증, 복막후 섬유증, 탄광부 진폐증의 합병증인 진행성 거대 섬유증, 및 신원성 전신 섬유증이 있다.
- [0247] 본원에 사용된 용어 "섬유화 장애", "섬유화 상태", 및 "섬유화 질환"은 섬유증을 특징으로 하는 장애, 상태 또는 질환을 지칭하는 데 상호교환가능하게 사용된다. 섬유화 장애의 예는 혈관 섬유증, 폐 섬유증 (예를 들어, 특발성 폐 섬유증), 췌장 섬유증, 간 섬유증 (예를 들어, "섬유화 간 질환", 예를 들어, 간경변증), 신섬유증, 근골격 섬유증, 심장 섬유증 (예를 들어, 심내막심근 섬유증, 특발성 심근병증), 피부 섬유증 (예를 들어, 경피증, 외상후, 수술적 피부 반흔형성, 켈로이드 및 피부 켈로이드 형성), 안구 섬유증 (예를 들어, 녹내장, 안구 경화증, 결막 및 각막 반흔형성, 및 익상편), 진행성 전신 경화증 (PSS), 만성 이식편 대-숙주 질환, 페이로니 병, 방광경후 요도 협착, 특발성 및 약리학상 유발된 복막후 섬유증, 종격 섬유증, 진행성 거대 섬유증, 증식성 섬유증 및 신생물성 섬유증을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0248] 본원에 사용된 용어 "섬유화 간 질환" 및 "간 섬유증"은 사용되고, 간에서의 세포에 의한 과도한 섬유 결합 조직 (예를 들어, 콜라겐을 포함하는 세포외 매트릭스 ("ECM") 단백질)의 비정상적인 형성 또는 발생을 특징으로 하는 간의 질환을 상호교환가능하게 지칭한다. 어떠한 특정한 이론에 얽매어는 것은 아니지만, 활성화된 간 성상 세포, 문맥 섬유모세포 및 근섬유모세포는 간에서의 주요 섬유발생 세포 (즉, ECM-생산 세포)인 것으로 여겨진다. 간 섬유증은 문맥 고혈압을 유발한다. 진행성 간 섬유증은 간경변증, 간부전을 일으킨다.
- [0249] 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편으로 치료될 수 있는 섬유화 간 질환 (간경변증 및/또는 문맥 고혈압을 일으키는 것 포함)은, 예를 들어, C형 간염 바이러스 ("HCV") 감염; B형 간염 바이러스 ("HBV") 감염; 자가면역 간염; 알콜, 독소 또는 약물 노출; 간 외상; 담도 폐쇄; 원발성 담즙성 간경변증; 알라질 중후군; 심장 질환 또는 간 유출 폐색을 포함하는 만성 간 울혈; 비알콜성 지방간염 (NASH); 원발성 경화성 담관염; 혈색소증; 알파 1-항트립신 결핍; 및 윌슨병에 의해 유발될 수 있다.
- [0250] 본원에 사용된 용어 "BMP9 항체", "항-BMP9 항체", "BMP9-결합 항체", "BMP9 길항제 항체" 등 (및 그의 항원-결합 단편)은 단백질 BMP9에 결합하는 항체 (및 그의 항원-결합 단편)를 포함한다.
- [0251] 본원에 사용된 용어 "세포"는 섬유화 반응을 겪기 쉬운 임의의 세포를 지칭하며, 이는 개별 세포, 조직, 및 조직 및 기관 내의 세포를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에 사용된 용어 세포는 세포 그 자체뿐만 아니라 세포를 둘러싸는 세포외 매트릭스 (ECM)를 포함한다. 예를 들어, 세포의 섬유화 반응의 억제제는 폐 (또는 폐 조직) 내의 하나 이상의 세포; 간 (또는 간 조직) 내의 하나 이상의 세포; 신장 (또는 신장 조직) 내의 하나 이상의 세포; 근육 조직 내의 하나 이상의 세포; 심장 (또는 심장 조직) 내의 하나 이상의 세포; 췌장 내의 하나 이상의 세포; 피부 내의 하나 이상의 세포; 골 내의 하나 이상의 세포, 혈관계 내의 하나 이상의 세포, 하나 이상의 줄기 세포, 또는 안구 내의 하나 이상의 세포의 섬유화 반응의 억제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0252] 본원에 사용된 용어 "상피-중간엽 이행" (EMT)은 배아 발생의 정상적인 과정인 상피로부터 중간엽 표현형으로의 전환을 지칭한다. EMT는 또한 이온 및 유체 수송체로서 기능하는 손상된 상피 세포가 매트릭스 재형성 중간엽 세포가 되는 과정이다. 암종에서, 이 형질전환은 변경된 세포 형태, 중간엽 단백질의 발현 및 증가된 침습성을 일으킨다. 시험관내 EMT를 규정하는 기준은 상피 세포 극성의 손실, 개별 세포로의 분리 및 세포 운동성의 획득 후 후속 분산을 수반한다 (문헌 [Vincent-Salomon et al., Breast Cancer Res. 2003; 5(2): 101-106] 참조). EMT 동안 발현, 분포, 및/또는 기능이 변하고, 인과적으로 수반되는 분자의 부류는 성장 인자 (예를 들어, 형질전환 성장 인자 (TGF)- $\beta$ , wnt), 전사 인자 (예를 들어, snail, SMAD, LEF, 및 핵  $\beta$ -카데닌), 세포-대-세포 부착 축의 분자 (카드헤린, 카테닌), 세포골격 조정자 (Rho 패밀리), 및 세포외 프로테아제 (매트릭스 메탈로프로테이나제, 플라스미노겐 활성화제)를 포함한다 (문헌 [Thompson et al., Cancer Research 65, 5991-5995, Jul. 15, 2005] 참조).
- [0253] 본원에 사용된 용어 "항체" 등은 전체 항체 및 그의 임의의 항원-결합 단편 (즉, "항원-결합 부분") 또는 단일

쇄를 포함한다. 자연 발생 "항체"는 디설피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 당단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인, CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 초가변 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 하기 순서로 아미노-말단으로부터 카르복시-말단으로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함하는 이뮤노글로불린의 숙주 조직 또는 인자에 대한 결합을 매개할 수 있다.

[0254] 본원에 사용된 용어 항체의 "항원-결합 단편", "그의 항원-결합 단편", "항원 결합 부분" 등은 주어진 항원 (예를 들어, BMP9)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유한 무손상 항체의 1개 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 무손상 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다. 용어 항체의 "항원 결합 부분" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab)<sub>2</sub> 단편; VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; VH 도메인으로 이루어진 단일 도메인 항체 (dAb) 단편 (Ward et al., 1989 Nature 341:544-546); 및 단리된 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다.

[0255] 게다가, Fv 단편의 2개의 도메인인 VL 및 VH는 개별 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여 이들이 단일 단백질 쇄가 될 수 있게 하는 인공 펩티드 링커에 의해 연결될 수 있으며 여기서 VL 및 VH 영역은 쌍형성되어 1가 분자를 형성한다 (단일 쇄 Fv (scFv)로 공지됨; 예를 들어, 문헌 [Bird et al., 1988 Science 242:423-426; 및 Huston et al., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883] 참조). 이러한 단일 쇄 항체는 항체의 1개 이상의 "항원 결합 부분"을 포함한다. 이들 항체 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 수득되고, 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝된다.

[0256] 항원 결합 부분은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv 내로 혼입될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136] 참조). 항체의 항원 결합 부분은 폴리펩티드 예컨대 피브로넥틴 유형 III (Fn3)에 기초한 스캐폴드 내로 그래프팅될 수 있다 (피브로넥틴 폴리펩티드 모노바디를 기재하는 미국 특허 번호 6,703,199 참조).

[0257] 항원 결합 부분은 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성하는 한 쌍의 탠덤 Fv 절편 (VH-CH1-VH-CH1)을 포함하는 단일 쇄 분자 내로 혼입될 수 있다 (문헌 [Zapata et al., 1995 Protein Eng. 8 (10):1057-1062]; 및 미국 특허 번호 5,641,870).

[0258] 본원에 사용된 용어 "친화도"는 단일 항원 부위에서의 항체와 항원 사이의 상호작용의 강도를 지칭한다. 각각의 항원 부위 내에서, 항체의 가변 영역 "아암"은 수많은 부위에서 항원과 약한 비-공유 결합력을 통해 상호작용하고; 상호작용이 더 많을수록, 친화도가 더 강해진다.

[0259] 본원에 사용된 용어 "결합력"은 항체-항원 복합체의 전체 안정성 또는 강도의 유익한 척도를 지칭한다. 이는 3가지의 주요 인자: 항체 에피토프 친화도; 항원 및 항체 둘 다의 결합가; 및 상호작용 부분의 구조적 배열에 의해 제어된다. 궁극적으로 이들 인자는 항체의 특이성, 즉, 특정한 항체가 정확한 항원 에피토프에 결합할 가능성을 규정한다.

[0260] 용어 "아미노산"은 자연 발생 및 합성 아미노산뿐만 아니라 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 지칭한다. 자연 발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 코딩된 것뿐만 아니라 나중에 변형되는 아미노산, 예를 들어, 히드록시프롤린, 감마-카르복시글루타메이트, 및 O-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 즉, 수소, 카르복실 기, 아미노 기 및 R 기에 결합된 알파 탄소를 갖는 화합물, 예를 들어, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 술폭시드, 메티오닌 메틸 술포늄을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R 기 (예를 들어, 노르류신) 또는 변형된 펩티드 백본을 갖지만, 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 보유한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만, 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화학적 화합물을 지칭한다.

[0261] 본원에 사용된 용어 "결합 특이성"은 하나의 항원 결정기와 반응하고 다른 항원 결정기와는 반응하지 않는 개별

항체 결합 부위의 능력을 지칭한다. 항체의 결합 부위는 분자의 Fab 부분에 위치하고 중쇄 및 경쇄의 초가변 영역으로부터 구축된다. 항체의 결합 친화도는 단일 항원 결정기와 항체 상의 단일 결합 부위 사이의 반응의 강도이다. 이는 항원 결정기와 항체의 결합 부위 사이에 작동하는 인력 및 척력의 합이다.

[0262] 2개의 물질 사이의 특이적 결합은 적어도  $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ,  $10^8 \text{ M}^{-1}$ ,  $10^9 \text{ M}^{-1}$ ,  $10^{10} \text{ M}^{-1}$ ,  $10^{11} \text{ M}^{-1}$ ,  $10^{12} \text{ M}^{-1}$ ,  $10^{13} \text{ M}^{-1}$ , 또는  $10^{14} \text{ M}^{-1}$ 의 평형 상수 (KA 또는  $K_A$ )를 갖는 결합을 의미한다. 어구 항체 (예를 들어, BMP9-결합 항체)에 "특이적으로 (또는 선택적으로) 결합하는"은 단백질 및 다른 생물체제의 이중 집단에서 동족 항원 (예를 들어, 인간 BMP9 단백질)의 존재를 결정하는 결합 반응을 지칭한다. 상기 언급된 평형 상수 (KA) 이외에도, 본 발명의 BMP9-결합 항체는 또한 전형적으로 약  $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , 또는 그 미만의 해리율 상수 (Kd 또는  $K_{off}$ )를 갖고, 비-특이적 항원 (예를 들어, BMP2, BMP10 또는 BMP7)에 대한 결합에 대한 그의 친화도보다 적어도 2-배 더 큰 친화도로 BMP9에 결합한다. 어구 "항원을 인식하는 항체" 및 "항원에 대해 특이적인 항체"는 본원에서 용어 "항원에 특이적으로 결합하는 항체"와 상호교환가능하게 사용된다.

[0263] 용어 "키메라 항체" (또는 그의 항원-결합 단편)는 (a) 항원 결합 부위 (가변 영역)가 상이한 또는 변경된 부류, 이펙터 기능 및/또는 종의 불변 영역, 또는 키메라 항체에 새로운 특성을 부여하는 완전히 상이한 분자, 예를 들어, 효소, 독소, 호르몬, 성장 인자, 약물 등에 연결되도록 불변 영역 또는 그의 부분이 변경되거나, 대체되거나 또는 교환되거나; 또는 (b) 가변 영역 또는 그의 부분이 상이한 또는 변경된 항원 특이성을 갖는 가변 영역으로 변경되거나, 대체되거나 또는 교환된 항체 분자 (또는 그의 항원-결합 단편)이다. 예를 들어, 마우스 항체는 그의 불변 영역을 인간 이뮤노글로불린으로부터의 불변 영역으로 대체함으로써 변형될 수 있다. 인간 불변 영역으로의 대체로 인해, 키메라 항체는 원래 마우스 항체에 비해 인간에서 감소된 항원성을 가지면서 항원을 인식하는 데 있어서의 그의 특이성을 보유할 수 있다.

[0264] 용어 "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산 및 핵산 서열 둘 다에 적용된다. 특정한 핵산 서열과 관련하여, 보존적으로 변형된 변이체는 동일한 또는 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 핵산, 또는 핵산이 아미노산 서열을 코딩하지 않는 경우, 본질적으로 동일한 서열을 지칭한다. 유전자 코드의 축중성 때문에, 다수의 기능적으로 동일한 핵산은 임의의 주어진 단백질을 코딩한다. 예를 들어, 코돈 GCA, GCC, GCG 및 GCU는 모두 아미노산 알라닌을 코딩한다. 따라서, 코돈에 의해 알라닌이 지정되는 모든 위치에서, 코돈은 코딩된 폴리펩티드를 변경시키지 않으면서 임의의 기재된 상응하는 코돈으로 변경될 수 있다. 이러한 핵산 변이는 보존적으로 변형된 변이의 일종인 "침묵 변이"이다. 폴리펩티드를 코딩하는 본원의 모든 핵산 서열은 또한 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 기재한다. 통상의 기술자는 핵산 내의 각각의 코돈 (통상적으로 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG, 및 통상적으로 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG 제외)이 기능적으로 동일한 분자를 생성하도록 변형될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 따라서, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산의 각각의 침묵 변이는 각각의 기재된 서열에 내포된다.

[0265] 폴리펩티드 서열의 경우에, "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산을 화학적으로 유사한 아미노산으로 치환시키는, 폴리펩티드 서열에 대한 개별 치환, 결실 또는 부가를 포함한다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 이러한 보존적으로 변형된 변이체는 본 발명의 다형성 변이체, 중간 상동체, 및 대립유전자에 부가적인 것이고 이를 배제하지 않는다. 하기 8개의 군은 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 함유한다: 1) 알라닌 (A), 글리신 (G); 2) 아스파르트산 (D), 글루탐산 (E); 3) 아스파라긴 (N), 글루타민 (Q); 4) 아르기닌 (R), 리신 (K); 5) 이소류신 (I), 류신 (L), 메티오닌 (M), 발린 (V); 6) 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y), 트립토판 (W); 7) 세린 (S), 트레오닌 (T); 및 8) 시스테인 (C), 메티오닌 (M) (예를 들어, 문헌 [Creighton, Proteins (1984)] 참조). 한 실시양태에서, 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특징을 유의하게 영향을 미치거나 또는 변경시키지 않는 아미노산 변형을 지칭하는 데 사용된다.

[0266] 본원에 사용된 용어 "차단하다"는 상호작용 또는 과정을 정지시키거나 방지하는 것, 예를 들어, 리간드-의존성 또는 리간드-비의존성 신호전달을 정지시키는 것을 지칭한다.

[0267] 본원에 사용된 용어 "인식하다"는 그의 입체형태적 에피토프를 발견하고 이와 상호작용 (예를 들어, 결합)하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 지칭한다.

[0268] 용어 "교차-차단하다", "교차-차단된", "교차-차단하는", "경쟁하다", "교차 경쟁하다" 및 관련 용어는 본원에서 표준 경쟁적 결합 검정에서 다른 항체 또는 결합체의 BMP9에 대한 결합을 방해하는 항체 또는 다른 결합체의

능력을 의미하는 데 상호교환가능하게 사용된다.

- [0269] 항체 또는 다른 결합체가 또 다른 항체 또는 결합 분자의 BMP9에 대한 결합을 방해할 수 있는 능력 또는 정도, 및 이로써 본 발명에 따라 교차-차단하는 것으로 언급될 수 있는지의 여부는 표준 경쟁 결합 검정을 사용하여 결정될 수 있다. 하나의 적합한 검정은 표면 플라즈몬 공명 기술을 사용하여 상호작용의 정도를 측정할 수 있는 비아코어 기술 (예를 들어 비아코어 3000 기기 (비아코어, 스웨덴 옘살라)를 사용하는 것에 의함)의 사용을 수반한다. 교차-차단을 측정하기 위한 또 다른 검정은 ELISA-기반 접근법을 사용한다. 기술이 실질적으로 유사한 결과를 생성할 것으로 예상되지만, 비아코어 기술에 의한 측정은 확정적인 것으로 간주된다.
- [0270] 용어 "중화시키다"는 항체가, 그의 표적에 결합 시, 표적의 활성, 수준 또는 안정성을 감소시키는 것; 예를 들어, BMP9 항체가, BMP9에 결합 시 BMP9의 활성, 수준 또는 안정성, 예컨대 Smad1/5/8의 인산화 및/또는 섬유증, 예를 들어, 간 섬유증에서의 신호전달 또는 그의 역할을 적어도 부분적으로 감소시킴으로써 BMP9를 중화시키는 것을 의미한다.
- [0271] 용어 "에피토프"는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 결정기를 의미한다. 에피토프는 통상적으로 분자의 화학적 활성 표면 기 예컨대 아미노산 또는 당 측쇄로 이루어지고 통상적으로 특정한 3차원 구조적 특징뿐만 아니라 특정한 전하 특징을 갖는다. 입체형태적 및 비입체형태적 에피토프는 전자에 대한 결합이 변성 용매의 존재 하에 상실되지만 후자에 대한 결합은 그렇지 않다는 점에서 구별된다.
- [0272] 용어 "에피토프"는 이뮤노글로불린에 특이적으로 결합하거나 또는 달리 분자와 상호작용할 수 있는 임의의 단백질 결정기를 포함한다. 에피토프 결정기는 일반적으로 분자의 화학적 활성 표면 기 예컨대 아미노산 또는 탄수화물 또는 당 측쇄로 이루어지고 특정한 3차원 구조적 특징뿐만 아니라 특정한 전하 특징을 가질 수 있다. 에피토프는 "선형" 또는 "입체형태적"일 수 있다.
- [0273] 용어 "선형 에피토프"는 단백질과 상호작용 분자 (예컨대 항체) 사이의 상호작용의 모든 지점이 단백질의 1차 아미노산 서열을 따라 선형으로 발생하는 (연속적) 에피토프를 지칭한다.
- [0274] 본원에 사용된 용어 IgG 항체에 대한 "고친화도"는 표적 항원, 예를 들어, BMP9에 대해  $10^{-8}$  M 이하,  $10^{-9}$  M 이하, 또는  $10^{-10}$  M, 또는  $10^{-11}$  M 이하의 KD를 갖는 항체를 지칭한다. 그러나, "고친화도" 결합은 다른 항체 이소형에 대해 달라질 수 있다. 예를 들어, IgM 이소형에 대한 "고친화도" 결합은  $10^{-7}$  M 이하, 또는  $10^{-8}$  M 이하의 KD를 갖는 항체를 지칭한다.
- [0275] 본원에 사용된 용어 "인간 항체" (또는 그의 항원-결합 단편)는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 기원의 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체 (및 그의 항원-결합 단편)를 포함하는 것으로 의도된다. 게다가, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우에, 불변 영역은 또한 이러한 인간 서열, 예를 들어, 인간 배선 서열, 또는 인간 배선 서열의 돌연변이된 버전으로부터 유래된다. 본 발명의 인간 항체 및 그의 항원-결합 단편은 인간 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다.
- [0276] 본원에 사용된 어구 "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물" (또는 그의 항원-결합 단편)은 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나 또는 동일한 유전자 공급원으로부터 유래된, 항체, 항체 단편, 이종특이적 항체 등을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 이 용어는 또한 단일 분자 조성의 항체 분자의 체제를 포함한다. 모노클로날 항체 조성물은 특정한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타낸다.
- [0277] 용어 "인간 모노클로날 항체" (또는 그의 항원-결합 단편)는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는, 단일 결합 특이성을 나타내는 항체 (및 그의 항원-결합 단편)를 지칭한다. 한 실시양태에서, 인간 모노클로날 항체는 불멸화 세포에 융합된 인간 중쇄 트랜스젠 및 경쇄 트랜스진을 포함하는 게놈을 갖는 트랜스제닉 비인간 동물, 예를 들어, 트랜스제닉 마우스로부터 수득된 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생산된다.
- [0278] 본원에 사용된 어구 "재조합 인간 항체" (또는 그의 항원-결합 단편)는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체 (및 그의 항원-결합 단편), 예컨대 인간 이뮤노글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소말인 동물 (예를 들어, 마우스) 또는 그로부터 제조된 하이브리도마로부터 단리된 항체, 인간 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포, 예를 들어, 트랜스펙토마로부터 단리된 항체, 재조합, 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열의 모두 또는 일부를 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함한다. 이러



한 재조합 인간 항체는 프레임워크 및 CDR 영역이 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는다. 한 실시양태에서, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이유발 (또는, 인간 Ig 서열에 대해 트랜스제닉인 동물이 사용된 경우에, 생체내 체세포 돌연변이유발)에 적용될 수 있고 따라서 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은 인간 배선 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 이와 관련되지만, 생체내 인간 항체 배선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재할 수 없는 서열이다.

[0279] 본원에 사용된 "인간화" 항체 (또는 그의 항원-결합 단편)는 인간에서 덜 면역원성이면서 비-인간 항체의 반응성을 보유하는 항체 (또는 그의 항원-결합 단편)이다. 이는, 예를 들어, 비-인간 CDR 영역을 보유하고 항체의 나머지 부분을 그의 인간 대응부 (즉, 불변 영역뿐만 아니라 가변 영역의 프레임워크 부분)로 대체함으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855, 1984; Morrison and Oi, Adv. Immunol., 44:65-92, 1988; Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536, 1988; Padlan, Molec. Immun., 28:489-498, 1991; 및 Padlan, Molec. Immun., 31:169-217, 1994]을 참조한다. 인간 공학 기술의 다른 예는 미국 특허 번호 5,766,886에 개시된 조마(Xoma) 기술을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0280] 용어 "동일한" 또는 퍼센트 "동일성"은 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열과 관련하여, 동일한 2개 이상의 서열 또는 하위 서열을 지칭한다. 2개의 서열은, 하기 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하거나 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의해 측정 시 비교 윈도우 또는 지정된 영역에 걸쳐 최대한 상응하도록 비교 및 정렬하였을 때 2개의 서열이 명시된 핵분율의 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드 (즉, 명시된 영역에 걸쳐, 또는, 명시되지 않은 경우, 전체 서열에 걸쳐 60%의 동일성, 임의로 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성)를 갖는 경우에, "실질적으로 동일하다". 임의로, 동일성은 적어도 약 50개의 뉴클레오티드 (또는 10개의 아미노산) 길이인 영역에 걸쳐, 또는 보다 바람직하게는 100 내지 500 또는 1000개 또는 그 초과 뉴클레오티드 (또는 20, 50, 200개 또는 그 초과 아미노산) 길이인 영역에 걸쳐 존재한다. 임의로, 동일성은 적어도 50개의 뉴클레오티드 (또는 10개의 아미노산) 길이인 영역에 걸쳐, 또는 보다 바람직하게는 100 내지 500 또는 1000개 또는 그 초과 뉴클레오티드 (또는 20, 50, 200개 또는 그 초과 아미노산) 길이인 영역에 걸쳐 존재한다.

[0281] 서열 비교를 위해, 전형적으로 1개의 서열은 시험 서열이 비교되는 참조 서열로서 작용한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우에, 시험 및 참조 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우에 하위서열 좌표가 지정되고, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터가 지정된다. 디폴트 프로그램 파라미터가 사용될 수 있거나, 또는 대안적 파라미터가 지정될 수 있다. 이어서 서열 비교 알고리즘은 프로그램 파라미터에 기초하여, 참조 서열 대비 시험 서열에 대해 퍼센트 서열 동일성을 계산한다.

[0282] 본원에 사용된 "비교 윈도우"는 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후에 서열이 인접 위치의 동일한 수의 참조 서열과 비교될 수 있는, 20 내지 600개, 통상적으로 약 50 내지 약 200개, 보다 통상적으로 약 100 내지 약 150개로 이루어진 군으로부터 선택된 인접 위치의 수 중 임의의 하나의 절편에 대한 언급을 포함한다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은, 예를 들어, 문헌 [Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c]의 국부 상동성 알고리즘에 의해, 문헌 [Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970]의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, 문헌 [Pearson and Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, 1988]의 유사성 방법에 대한 검색에 의해, 이들 알고리즘의 컴퓨터 구현 (위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575 소재의 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)의 위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package) 내의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA)에 의해, 또는 수동 정렬 및 육안 검사 (예를 들어, 문헌 [Brent et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (ringbou ed., 2003)] 참조)에 의해 수행될 수 있다.

[0283] 퍼센트 서열 동일성 및 서열 유사성을 결정하는 데 적합한 알고리즘의 2개의 예는 각각 문헌 [Altschul et al., Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 1977; 및 Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990]에 기재된 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립 생물 정보 센터(National Center for Biotechnology Information)를 통해 공중 이용가능하다. 이 알고리즘은 먼저 데이터베이스 서열 내의 동일한 길이의 워드와 정렬하였을 때 일부 양의 값의 역치 점수 T를 매칭하거나 또는 이를 만족시키는, 질의 서열 내의 길이 W의 짧은 워드를 확인함으로써 높은 점수화 서열 쌍 (HSP)을 확인하는 것을 수반한다. T는 이웃 워드 점수 역치로 지정된다 (Altschul et al., 상기 문헌). 이들 초기 이웃 워드 히트는 이를 함유하는 보다 긴 HSP를 발견하는 검색을 개시하기 위한 시드로서 작용한다. 워드 히트는 누적 정렬 점수가 증가될 수 있는 한 각각의 서열을 따라 양쪽 방향으로 연장된다. 누적 점수는 뉴클레오티드 서열에 대해 파라미터 M (매

칭 잔기의 쌍에 대한 보상 점수; 항상 >0) 및 N (미스매칭 잔기에 대한 페널티 점수; 항상 <0)을 사용하여 계산된다. 아미노산 서열의 경우, 점수화 매트릭스가 누적 점수를 계산하는 데 사용된다. 누적 정렬 점수가 그의 최대 달성 값으로부터 X의 양만큼 하락하거나; 1개 이상의 음으로 점수화된 잔기 정렬의 축적으로 인해 누적 점수가 0 이하로 떨어지거나; 또는 어느 한 쪽의 서열의 말단에 도달한 경우에 각각의 방향으로의 워드 히트의 연장이 중단된다. BLAST 알고리즘 파라미터 W, T, 및 X는 정렬의 감도 및 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램 (뉴클레오타이드 서열의 경우)은 디폴트로서 워드길이 (N) 11, 기대값 (E) 10, M=5, N=-4 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다. 아미노산 서열의 경우, BLASTP 프로그램은 디폴트로서 워드길이 3, 및 기대값 (E) 10, 및 BLOSUM62 점수화 매트릭스 (문헌 [Henikoff and Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915, 1989] 참조) 정렬 (B) 50, 기대값 (E) 10, M=5, N=-4, 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다.

[0284] BLAST 알고리즘은 또한 2개의 서열 사이의 유사성의 통계적 분석을 수행한다 (예를 들어, 문헌 [Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787, 1993] 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공된 유사성의 하나의 척도는 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이의 매치가 우연히 발생할 확률의 지표를 제공하는 최소 합계 확률 (P (N))이다. 예를 들어, 핵산은 참조 핵산에 대한 시험 핵산의 비교에서 최소 합계 확률이 약 0.2 미만, 보다 바람직하게는 약 0.01 미만, 및 가장 바람직하게는 약 0.001 미만인 경우에 참조 서열과 유사한 것으로 간주된다.

[0285] 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 또한 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여 ALIGN 프로그램 (버전 2.0)에 혼입된 문헌 [E. Meyers and W. Miller (Comput. Appl. Biosci., 4:11-17, 1988)]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 Blossom 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6을 사용하여 GCG 소프트웨어 패키지 ([www.gcg.com](http://www.gcg.com)에서 이용가능함) 내의 GAP 프로그램에 혼입된 문헌 [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48:444-453, 1970)] 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

[0286] 상기 언급된 서열 동일성의 백분율 이외에, 2개의 핵산 서열 또는 폴리펩티드가 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는 제1 핵산에 의해 코딩된 폴리펩티드가 아래 기재된 바와 같이 제2 핵산에 의해 코딩된 폴리펩티드에 대해 생성된 항체와 면역학적으로 교차 반응성이라는 것이다. 따라서, 폴리펩티드는 전형적으로, 예를 들어, 2개의 펩티드가 단지 보존적 치환에 의해 상이해지는 경우에 제2 폴리펩티드와 실질적으로 동일하다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는 2개의 분자 또는 그의 상보체가 아래 기재된 바와 같이 엄격한 조건 하에 서로 혼성화된다는 것이다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는 동일한 프라이머가 서열을 증폭시키는 데 사용될 수 있다는 것이다.

[0287] 본원에 사용된 용어 "단리된 항체" (또는 그의 항원-결합 단편)는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체 (또는 그의 항원-결합 단편)를 지칭한다 (예를 들어, BMP9에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 BMP9 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0288] 용어 "이소형"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 제공되는 항체 부류 (예를 들어, IgM, IgE, IgG 예컨대 IgG1 또는 IgG4)를 지칭한다. 이소형은 또한 Fc 기능을 변경시키는, 예를 들어, 이펙터 기능 또는 Fc 수용체에 대한 결합을 증진시키거나 또는 감소시키는 변형이 이루어진, 이들 부류 중 하나의 변형된 버전을 포함한다.

[0289] 본원에 사용된 용어 "Kassoc", "Ka" 또는 "K<sub>on</sub>"은 특정한 항체-항원 상호작용의 회합률을 지칭하는 것으로 의도되는 반면에, 본원에 사용된 용어 "Kdis", "Kd", 또는 "K<sub>off</sub>"은 특정한 항체-항원 상호작용의 해리율을 지칭하는 것으로 의도된다. 한 실시양태에서, 본원에 사용된 용어 "KD"는 Kd 대 Ka의 비 (즉 Kd/Ka)로부터 수득되고 몰 농도 (M)로서 표현되는 해리 상수를 지칭하는 것으로 의도된다. 항체에 대한 KD 값은 관련 기술분야에 널리 확립된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 항체의 KD를 결정하는 방법은 표면 플라즈몬 공명을 사용하거나, 또는 바이오센서 시스템 예컨대 비아코어® 시스템을 사용하는 것이다. 해리 상수가 약 10<sup>-9</sup> M 미만인 경우에, 용액 평형 동역학적 배제 KD 측정 (MSD-SET)은 항체의 KD를 결정하는 바람직한 방법이다 (예를 들어, 문헌 [Friquet, B., Chaffotte, A.F., Djavadi-Ohanian, L., and Goldberg, M.E. (1985). Measurements of the true affinity constant in solution of antigen-antibody complexes by enzyme-linked immunosorbent assay. J Immunol Meth 77, 305-319] 참조; 본원에 참조로 포함됨).

[0290] 본원에 사용된 용어 "IC50"은 시험관내 또는 생체내 검정에서 최대 반응의 50%, 즉, 최대 반응과 기준선 사이의 중간인 억제 반응을 유도하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 농도를 지칭한다.

- [0291] 용어 "이펙터 기능"은 항원-결합 도메인 이외의 항체의 도메인을 통한 결합에 의해 매개되는, 통상적으로 이펙터 분자의 결합에 의해 매개되는 항체 분자의 활성을 지칭한다. 이펙터 기능은, 예를 들어, 보체의 C1 성분의 항체에 대한 결합에 의해 매개되는 보체-매개 이펙터 기능을 포함한다. 보체의 활성화는 세포 병원체의 옵소닌화 및 용해에 중요하다. 보체의 활성화는 또한 염증 반응을 자극하고 또한 자가면역 과민반응에 수반될 수 있다. 이펙터 기능은 또한 항체의 불변 도메인의 Fc 수용체 (FcR)에 대한 결합 시 촉발될 수 있는 Fc 수용체 (FcR)-매개 이펙터 기능을 포함한다. 항체의 세포 표면 상의 Fc 수용체에 대한 결합은 항체-코팅된 입자의 포식 및 파괴, 면역 복합체의 제거, 킬러 세포에 의한 항체-코팅된 표적 세포의 용해 (항체-의존성 세포-매개 세포독성, 또는 ADCC로 불림), 염증 매개체의 방출, 태반 전달 및 이뮤노글로불린 생산의 제어를 포함하는, 다수의 중요하고 다양한 생물학적 반응을 촉발한다. 항체의 이펙터 기능은 항체의 이펙터 분자 예컨대 Fc 수용체 또는 보체 성분에 대한 친화도를 변경, 예를 들어, 증진시키거나 또는 감소시킴으로써 변경될 수 있다. 결합 친화도는 일반적으로 이펙터 분자 결합 부위를 변형시킴으로써 달라질 것이고, 이 경우에 관심 부위를 위치시키고 적합한 방식으로 부위의 적어도 일부를 변형시키는 것이 적절하다. 이펙터 분자에 대한 항체 상의 결합 부위에서의 변경은 전체 결합 친화도를 유의하게 변경시킬 필요는 없지만 비-생산적 결합에서와 같이 이펙터 매카니즘을 비효율적으로 만드는 상호작용의 기하구조를 변경시킬 수 있다는 것이 또한 고려된다. 이펙터 기능이 또한 이펙터 분자 결합에 직접적으로 수반되지는 않지만, 달리 이펙터 기능의 수행에 수반되는 부위를 변형시킴으로써 변경될 수 있다는 것이 추가로 고려된다.
- [0292] 용어 "핵산"은 본원에서 용어 "폴리뉴클레오타이드"와 상호교환가능하게 사용되고 단일- 또는 이중-가닥 형태의 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 및 그의 중합체를 지칭한다. 용어는 합성, 자연 발생, 및 비-자연 발생이고, 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고, 참조 뉴클레오타이드와 유사한 방식으로 대사되는 공지된 뉴클레오타이드 유사체 또는 변형된 핵산 잔기 또는 연결을 함유하는 핵산을 포괄한다. 이러한 유사체의 예는, 비제한적으로, 포스포로티오에이트, 포스포르아미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2'-O-메틸 리보뉴클레오타이드, 펩티드-핵산 (PNA)을 포함한다.
- [0293] 달리 나타내지 않는 한, 특정한 핵산 서열은 또한 그의 보존적으로 변형된 변이체 (예를 들어, 축중성 코돈 치환) 및 상보적 서열뿐만 아니라 명백하게 나타낸 서열을 함축적으로 포괄한다. 구체적으로, 아래 상술된 바와 같이, 축중성 코돈 치환은 1개 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다 (Batzner et al., Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991; Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985; 및 Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994).
- [0294] 용어 "작동가능하게 연결된"은 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, DNA) 절편 사이의 기능적 관계를 지칭한다. 전형적으로, 이는 전사 조절 서열의 전사되는 서열에 대한 기능적 관계를 지칭한다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서 서열은 적절한 숙주 세포 또는 다른 발현 시스템에서 코딩 서열의 전사를 자극하거나 또는 조정하는 경우에 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로, 전사되는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터 전사 조절 서열은 전사되는 서열에 물리적으로 인접하며, 즉, 이들은 시스-작용성이다. 그러나, 일부 전사 조절 서열, 예컨대 인핸서는 이들이 전사를 증진시키는 코딩 서열에 물리적으로 인접하거나 또는 근접하여 위치할 필요가 없다.
- [0295] 본원에 사용된 용어 "최적화된"은 뉴클레오타이드 서열이 생산 세포 또는 유기체, 일반적으로 진핵 세포, 예를 들어, 피키아(Pichia) 세포, 차이니스 햄스터 난소 세포 (CHO) 또는 인간 세포에 바람직한 코돈을 사용하여 아미노산 서열을 코딩하도록 변경된 것을 의미한다. 최적화된 뉴클레오타이드 서열은 또한 "모" 서열로 공지된 출발 뉴클레오타이드 서열에 의해 원래 코딩된 아미노산 서열을 완전히 또는 가능한 많이 보유하도록 조작된다. 본원에서 최적화된 서열은 포유동물 세포에 바람직한 코돈을 갖도록 조작된 바 있다. 그러나, 다른 진핵 세포 또는 원핵 세포에서의 이들 서열의 최적화된 발현이 또한 본원에서 고려된다. 최적화된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 아미노산 서열이 또한 최적화된 것으로 지칭된다.
- [0296] 용어 "폴리펩티드" 및 "단백질"은 본원에서 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하는 데 상호교환가능하게 사용된다. 용어는 자연 발생 아미노산 중합체 및 비-자연 발생 아미노산 중합체뿐만 아니라 1개 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공적인 화학적 모방체인 아미노산 중합체에 적용된다. 달리 나타내지 않는 한, 특정한 폴리펩티드 서열은 또한 그의 보존적으로 변형된 변이체를 함축적으로 포괄한다.
- [0297] 본원에 사용된 용어 "재조합 인간 항체" (또는 그의 항원-결합 단편)는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체 (및 그의 항원-결합 단편), 예컨대 인간 이뮤노글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉

또는 트랜스크로모소말인 동물 (예를 들어, 마우스) 또는 그로부터 제조된 하이브리도마로부터 단리된 항체, 인간 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포, 예를 들어, 트랜스펙토마로부터 단리된 항체, 재조합, 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열의 모두 또는 일부를 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함한다. 이러한 재조합 인간 항체는 프레임워크 및 CDR 영역이 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는다. 한 실시양태에서, 그러나, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이유발 (또는, 인간 Ig 서열에 대해 트랜스제닉인 동물이 사용된 경우에, 생체내 체세포 돌연변이유발)에 적용될 수 있고 따라서 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은 인간 배선 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 이와 관련되지만, 생체내 인간 항체 배선 레퍼토리 내에 자연적으로 존재할 수 없는 서열이다.

[0298] 용어 "재조합 숙주 세포" (또는 간단히 "숙주 세포")는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포를 지칭한다. 이러한 용어가 특정한 대상 세포뿐만 아니라 이러한 세포의 자손을 지칭하는 것으로 의도된다는 것이 이해되어야 한다. 특정 변형이 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 후속 세대에서 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은, 실제로, 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 본원에서 사용된 용어 "숙주 세포"의 범주 내에 여전히 포함된다.

[0299] 용어 "대상체"는 인간 및 비-인간 동물을 포함한다. 비-인간 동물은 모든 척추동물, 예를 들어, 포유동물 및 비-포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류, 및 파충류를 포함한다. 언급된 경우를 제외하고, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0300] 용어 "치료하다", "치료된", "치료하는", 및 "치료"는 증상을 완화시키거나 또는 질환, 상태, 또는 장애의 추가의 발생을 정지시키거나 또는 억제시키면서 질환 (예를 들어, 간 섬유증)의 증상, 합병증, 또는 생화학적 적응증의 발병을 방지하거나 또는 지연시키기 위한 조성물 또는 항체의 투여를 포함한다. 치료는 예방적 (질환의 발병을 방지하거나 또는 지연시키거나, 또는 그의 임상 또는 준임상 증상의 징후를 방지하기 위함) 또는 질환의 징후 후에 증상의 치료적 억제 또는 완화일 수 있다. 치료는 본원에 기재된 치료적 조치에 의해 측정될 수 있다. 본 발명의 "치료"의 방법은 이러한 치료의 부재 하에 예상되는 것을 넘어 대상체의 건강 또는 생존을 연장시키기 위해, 섬유화 질환 또는 상태 중 하나 이상의 증상을 치유하거나, 이의 중증도를 감소시키거나, 또는 이를 호전시키기 위해 대상체에게 BMP9 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, "치료"는 대상체에서 적어도 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 그 초과 만큼의, 섬유화 질환 증상 (예를 들어, 폐 섬유증과 연관된 숨가쁨, 피로, 기침, 체중 감소, 식욕 상실 또는 간 섬유증과 연관된 식욕부진, 피로, 체중 감소, 문맥 고혈압 및 복수)의 완화를 포함한다.

[0301] 용어 "벡터"는 이것이 연결된 또 다른 폴리뉴클레오타이드를 수송할 수 있는 폴리뉴클레오타이드 분자를 지칭하는 것으로 의도된다. 벡터의 하나의 유형은 추가의 DNA 절편이 라이게이션될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭하는 "플라스미드"이다. 벡터의 또 다른 유형은 추가의 DNA 절편이 바이러스 게놈 내로 라이게이션될 수 있는 바이러스 벡터이다. 특정 벡터는 이들이 도입된 숙주 세포에서 자율 복제될 수 있다 (예를 들어, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유동물 벡터). 다른 벡터 (예를 들어, 비-에피솜 포유동물 벡터)는 숙주 세포 내로의 도입 시 숙주 세포의 게놈 내로 통합될 수 있고, 이에 의해 숙주 게놈과 함께 복제된다. 더욱이, 특정 벡터는 작동가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡터" (또는 간단히, "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드의 형태이다. 본 명세서에서, "플라스미드" 및 "벡터"는 플라스미드가 가장 통상적으로 사용되는 벡터의 형태이기 때문에 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 그러나, 본 발명은 동등한 기능을 하는, 발현 벡터의 이러한 다른 형태, 예컨대 바이러스 벡터 (예를 들어, 복제 결손 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)를 포함하는 것으로 의도된다.

## 도면의 간단한 설명

[0302] 도 1: RGA 검정에서 하이브리도마 접근법에 의해 생성된 항-BMP9 항체의 시험관내 활성 시험. a. 하이브리도마-생성된 BMP9 항체의 인간 BMP2-, BMP7- 및 BMP9-유도된 RGA 활성에 대한 감소 곡선 및 IC50; b. 하이브리도마-생성된 BMP9 항체의 래트 BMP9-유도된 RGA 활성에 대한 감소 곡선 및 IC50.

도 2: RGA 검정에서 파지 디스플레이 접근법에 의해 생성된 항-BMP9 항체의 시험관내 활성 시험. a. 파지 디스플레이-생성된 BMP9 항체의 인간 BMP2-, BMP7- 및 BMP9-유도된 RGA 활성에 대한 감소 곡선 및 IC50; b. 파지 디스플레이-생성된 BMP9 항체의 래트 BMP9-유도된 RGA 활성에 대한 감소 곡선 및 IC50.



도 3: smad 1/5 인산화 검정에 의한 시험관내 활성 시험. a. CFSC 세포에서의 smad 1/5/8 염색에 의한 하이브리도마-생성된 BMP9 항체의 인간 BMP9 유도된 인산화에 대한 감소 곡선 및 IC50. b. CFSC 세포에서의 smad 1/5/8 염색에 의한 파지 디스플레이-생성된 BMP9 항체의 인간 BMP9 유도된 인산화에 대한 감소 곡선 및 IC50. c. 항-BMP9 항체의 부재 또는 존재 하에 HUVEC 세포에서의 BMP9-유도된 인산화 smad 1/5 및 ID1 발현의 웨스턴-블롯팅.

도 4. 하이브리도마-생성된 항-BMP9 항체를 사용한 BMP9 HDI 마우스 모델에서의 생체내 효능 연구. 상이한 처리군의 (a) 대표적인 간, (b) 간 중량 및 체중, (c) 간 기능이 비처리된 및 음성 대조군에 비해 제시된다. d. ID1의 mRNA 발현이 정량적 PCR에 의해 검출되었다. BMP9 cDNA는 마우스 BMP9를 코딩하는 pcDNA3.1-마우스 BMP9를 나타낸다. \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001, \*\*\*\*P<0.0001.

도 5. 파지 디스플레이-생성된 항-BMP9 항체를 사용한 BMP9 HDI 마우스 모델에서의 생체내 효능 연구. 상이한 처리군의 (a) 대표적인 간, (b) 간 중량 및 체중, (c) 간 기능이 비처리된 및 음성 대조군에 비해 제시된다. d. ID1의 mRNA 발현은 정량적 PCR에 의해 검출되었다. BMP9 cDNA는 마우스 BMP9를 코딩하는 플라스미드 pcDNA3.1-마우스 BMP9를 나타낸다. \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001, \*\*\*\*P<0.0001.

도 6. CC14 마우스 모델에서의 생체내 효능 연구. (a) 대조군 IgG 플러스 오일 또는 CC14 처리군, (b) 대조군 IgG 또는 하이브리도마-생성된 BMP9 Ab 플러스 CC14 처리군의 웨스턴 블롯 결과가 제시되었다. 우측 패널은 GAPDH 발현에 의해 정규화되었다. 유의차는 \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001로 표시된다. c, d. 상이한 군의 p-Smad 1/5/8 조직학 결과가 제시되었다. c. C57BL/6 마우스의 데이터. d. BALB/c 마우스의 데이터.

도 7. CC14 마우스 모델에서의 생체내 효능 연구. (a) 대조군 IgG 플러스 오일 또는 CC14 처리군, (b) 대조군 IgG 또는 파지 디스플레이-생성된 Ab 플러스 CC14 처리군의 웨스턴 블롯 결과가 제시되었다. 우측 패널은 GAPDH 발현에 의해 정규화되었다. 유의차는 \*P<0.05, \*\*P<0.01로 표시된다. (c) 상이한 군의 pSmad 1/5/8 조직학 결과를 제시되었다.

도 8. 마우스 항-BMP9 항체 (2B11G2 및 4E10D7)를 사용한 2주 CC14 간 섬유증 마우스 모델에서의 생체내 효능 연구. 상이한 처리군의 (a) 시리우스 레드 염색의 정량화, (b) 간 히드록시프롤린 함량, (c) 간 기능, (d) 간 중량이 비처리된 및 음성 대조군에 비해 제시된다. (e) ID1의 mRNA 발현이 정량적 PCR에 의해 검출되었다. \*P<0.05.

도 9. (a) 정상 마우스 및 (b) ANIT 래트 모델에서의 PK 검정.

도 10. 시노물구스 원숭이에서의 항체 BMP9-2의 단일 용량 투여 후 총 항-BMP6 농도 (각각의 선은 단일 원숭이로부터의 데이터를 나타냄).

도 11. 시노물구스 원숭이에서의 항체 BMP9-2 (MOR022962)의 다중-투여 연구 동안 총 항-BMP6 농도.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0303] 본 발명은 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편, 및 제약 조성물, 이러한 항체 및 조성물의 생산 방법, 및 사용 방법을 제공한다.
- [0304] BMP9 항체 및 그의 항원-결합 단편
- [0305] 본 발명은 인간 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0306] BMP9 신호전달은 간 섬유증/간경변증 및 문맥 고혈압의 발병기전에서 역할을 한다. BMP9 발현, 혈청 수준, 및 신호전달은 섬유화 상태, 예를 들어, 경변성 간 조직에서 증가된다. 어떠한 특정한 이론에 얽매는 것은 아니지만, 본 개시내용은 항섬유화 요법이 만성 간 질환 및/또는 문맥 고혈압, 예를 들어, 간 섬유증, 예를 들어, 비알콜성 지방간염 (NASH-), 바이러스 감염 (예를 들어, HBV- 또는 HCV-), 알콜, 독소-, 또는 면역-유도된 간 섬유증 또는 간경변증을 갖는 환자에게 이익이 되는 것으로 예상되기 때문에 BMP9 길항제 항체를 제안한다.
- [0307] 이러한 항-인간 BMP9 항체의 예는 서열이 표 1에 열거된 항체 BMP9-1, BMP9-2, BMP9-3, BMP9-4, BMP9-5, BMP9-6, BMP9-7, BMP9-8 및 BMP9-9이다.
- [0308] 항체 BMP9-1, BMP9-2, BMP9-3, BMP9-4, BMP9-5, BMP9-6, BMP9-7, BMP9-8 및 BMP9-9는 모두 고친화도로, 인간 BMP7, 인간 BMP10 및 인간 BMP2에 비해 높은 선택성으로 인간 BMP9에 결합한다. 이들 항체는 또한 Smad1/5/8

인산화 및 Id1 유도를 억제하고, 생체내 마우스 모델에서 간을 BMP9-유도된 손상으로부터 보호한다.

- [0309] 본원에 개시된 BMP9 길항제 항체는 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압의 진행을 안전하게 개선시키거나 또는 방지하는 신규 치료 접근법을 나타낸다. 어떠한 특정한 이론에 얽매이는 것은 아니지만, 본 개시내용은 이것이 BMP9 신호전달의 억제를 통해 발생할 수 있다는 것을 제안한다.
- [0310] 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP2, BMP10 또는 인간 BMP7 단백질 중 임의의 것보다 인간 BMP9 단백질에 대해 100-, 500- 또는 1000-배 더 고친화도로 결합하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다. BMP7에 대한 결합이 없는 BMP9에 대한 특이성은 중요하다: BMP7에 대한 녹-아웃 마우스는 신장, 안구 및 골 결손으로 출생 후 사망한다. 이에 따라, BMP7은 섬유증과 연관된 만성 심장 질환의 진행을 방지하는 데 중요하다. 따라서, 항-BMP9 항체의 BMP7과의 교차-반응성은 바람직하지 않다. 본원에 제공된 항체는 BMP7에 비해 BMP9에 대해 특이적이고; 예를 들어, 표 5 및 표 7을 참조한다. 도 1a 및 도 2a는 또한 인간 BMP2 및 BMP7 단백질에 비해 인간 BMP9에 대한 결합 특이성에 대한 증거를 보여준다.
- [0311] 본 발명의 항체는 실시예를 포함한 본원에 기재된 바와 같은 단리된 인간 및 인간화 모노클로날 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0312] 이러한 항-인간 BMP9 항체의 예는 서열이 표 1에 열거된 항체 BMP9-1, BMP9-2, BMP9-3, BMP9-4, BMP9-5, BMP9-6, BMP9-7, BMP9-8 및 BMP9-9이다.
- [0313] 항체 BMP9-2는 ELISA 결합 검정에서 인간 BMP9에 대해 고친화도로 결합하고, 인간 BMP2, 인간 BMP7 또는 인간 BMP10에 결합하지 않으며 (즉, 예를 들어, 인간 BMP9에 대한 결합에 대해 1000-배 더 크게, 예를 들어, 10,000-배 더 크게 선택적임), 즉, 인간 BMP2, BMP7 또는 BMP10에 대한 검출가능한 활성이 없다. 항체 BMP9-2는 또한 시험관내 ALKI 및 ActRIIB 수용체 둘 다에 대한 BMP9 결합을 억제한다. 경쟁 ELISA에 의해 측정 시, BMP9의 ALKI에 대한 결합은 최대 59% 억제되고 ActRIIB에 대한 결합은 최대 85% 억제된다. 이에 따라, 마우스에서의 단일 10 mg/kg 치료는 CC14-유도된 pSmad1/5/8의 억제 (IHC 및 웨스턴 블롯에 의해 측정 시)를 유도하였다. 이에 따라, 항체 BMP9-2의 단일 10 mg/kg 주사는 BMP9-유도된 Id1 생산에서의 감소를 유도하고 BMP9-유도된 간 중량 감소의 구출을 유도하였다.
- [0314] 항체 BMP9-1, BMP9-3 및 BMP9-4는 모두 인간 BMP2, BMP10 또는 BMP7 단백질에 비해 인간 BMP9 단백질에 대해 높은 선택성을 나타낸다. 본원에 기재된 항체의 생성 및 특징에 관하여 추가의 세부사항은 실시예에 제공된다.
- [0315] 본 발명은 BMP9 (예를 들어, 인간 BMP9 단백질)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 표 1에 열거된 VH 도메인을 포함한다. 본 발명은 또한 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 표 1에 열거된 VH CDR 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR을 포함한다. 특히, 본 발명은 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 표 1에 열거된 임의의 VH CDR의 아미노산 서열을 갖는 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과인 VH CDR을 포함한다 (또는 대안적으로, 이로 이루어진다).
- [0316] 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VH 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 약 10개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임). 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VH 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 10개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임).
- [0317] 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VH 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 약 20개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임). 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VH 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 20개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임).
- [0318] 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VL 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레

임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 약 10개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임). 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VL 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 10개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임).

[0319] 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VL 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 약 20개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임). 본 발명은 또한 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VL 아미노산 서열을 포함하고 (또는 대안적으로, 이로 이루어지고), 여기서 프레임워크 서열 (예를 들어, CDR이 아닌 서열)에서 20개 이하의 아미노산이 돌연변이된다 (여기서 돌연변이는, 다양한 비제한적 예로서, 부가, 치환 또는 결실임).

[0320] 본 발명은 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VL 도메인을 포함한다. 본 발명은 또한 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 VL CDR 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR을 포함한다. 특히, 본 발명은 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 임의의 VL CDR의 아미노산 서열을 갖는 1, 2, 3개 또는 그 초과인 VL CDR을 포함한다 (또는 대안적으로, 이로 이루어진다).

[0321] 본 발명의 다른 항체 및 그의 항원-결합 단편은 돌연변이되었지만, CDR 영역에서 표 1에 기재된 서열에 도식된 CDR 영역과 적어도 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산을 포함한다. 한 측면에서, 본 발명의 다른 항체 및 그의 항원-결합 단편은 표 1에 기재된 서열에 도식된 CDR 영역과 비교할 때 CDR 영역에서 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 아미노산이 돌연변이된 돌연변이체 아미노산 서열을 포함한다.

[0322] 본 발명은 또한 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 및 그의 항원-결합 단편의 VH, VL, 전장 중쇄, 및 전장 경쇄를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다. 이러한 핵산 서열은 포유동물 세포에서의 발현에 대해 최적화될 수 있다 (예를 들어, 표 1은 항체 BMP9-1, BMP9-2, BMP9-3, BMP9-5, BMP9-6, BMP9-7, BMP9-8 및 BMP9-9의 중쇄 및 경쇄에 대한 핵산 서열 예를 나타냄).

[0323] 표 1. 본 발명의 BMP9 항체의 예

구정	서열 명칭	서열	SEQ ID NO:
<b>항체 BMP9-4: AM4405</b>			
(카바트)	HCDR1	SYNMH	61
(카바트)	HCDR2	LIYPGNAVTSYSQKFKD	62
(카바트)	HCDR3	DDYFRGGSYAMDY	63
(코티아)	HCDR1	GYTFRSY	64
(코티아)	HCDR2	YPGNAV	65
(코티아)	HCDR3	DDYFRGGSYAMDY	66
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF RSYNMHWVRQAPGQGLEWMGLIYPGNAV TSYSQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAKDDYFRGGSYAMDYWGQG TTVTVSS	67
	DNA VH	CAAGTCCAGCTCGTCCAGTCCGGGGCCG AAGTCAAGAAGCCCGGAGCCAGCGTGAA AGTGTCTGCAAGGCGTCAGGCTATACCT TCCGGTCGTACAACATGCACTGGGTCAGA CAGGCCCCAGGACAGGGGCTGGAATGGA TGGGCCTGATCTACCCGGGAAACGCTGTG ACTAGCTACTCCAAAAGTTCAAGGATCG CGTGACGATGACCGTGGATAAGTCCACCT CAACCGCGTACATGGAGCTGTCTCGCTG AGGTCGGAGGACACCGCAGTGTACTACT GCGCCAAGGACGACTACTTCCGGGGCGG TTCCTACGCCATGGACTACTGGGGACAGG GCACCACTGTGACTGTGTCCAGC	68
	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF RSYNMHWVRQAPGQGLEWMGLIYPGNAV TSYSQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAKDDYFRGGSYAMDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	69
	DNA 중쇄	CAAGTCCAGCTCGTCCAGTCCGGGGCCG AAGTCAAGAAGCCCGGAGCCAGCGTGAA AGTGTCTGCAAGGCGTCAGGCTATACCT	70

[0324]

		TCCGGTCGTACAACATGCACTGGGTCAGA CAGGCCCCAGGACAGGGGCTGGAATGGA TGGGCTGATCTACCCGGGAAACGCTGTG ACTAGCTACTCCCAAAAGTTCAAGGATCG CGTGACGATGACCGTGGATAAGTCCACCT CAACCGCGTACATGGAGCTGTCCTCGCTG AGGTCCGAGGACACCGCAGTGTACTACT GCGCCAAGGACGACTACTTCCGGGGCGG TTCTACGCCATGGACTACTGGGGACAGG GCACCACTGTGACTGTGTCCAGCGCTAGC ACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCTGGC CCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGA ACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGA CTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTT GGAATCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTG CACACCTTCCCCGCGGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTG ACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCA GACCTATATCTGCAACGTGAACCAACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAG TGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCA CACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAC TGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTC CCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGA TCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGT GGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCA GAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACC TACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAA TACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAG CAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCC CAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCT GACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCA GCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA CGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACC ACCCCCCAGTGTGGACAGCGACGGCA GCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTG GACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACG TGTTCACTGTCAGCGTATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCT GAGCCTGAGCCCCGGCAAG	
(카바트)	LCDR1	RASQSIRNNLH	71
(카바트)	LCDR2	YASQSIR	72
(카바트)	LCDR3	QQSHSWPYT	73
(코티아)	LCDR1	SQSIRNN	74

[0325]

(코티아)	LCDR2	YAS	75
(코티아)	LCDR3	SHSWPY	76
	VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIRNN LHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSIRGVPSRF SGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQSH SWPYTFGGGKVEIK	77
	DNA VL	GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGACTT CCAATCCGTGACTCCCAAGGAGAAGGTC ACAATCACGTGCAGAGCATCGCAGTCCA TCCGGAACAACCTGCACTGGTATCAACAG AAGCCCGACCAGTCCCCTAAGCTGCTGAT TAAGTACGCCAGCCAGTCGATCAGGGGG GTGCCATCACGGTTTAGCGGATCCGGATC AGGCACCGACTTCACTCTGACCATCAACT CCCTGGAGGCTGAAGATGCGGCCACCTA CTACTGCCAGCAGTCCCATTCTGTGGCCGT ACACTTTCGGCGGCGGTACCAAAGTGGA AATCAAG	78
	경쇄	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIRNN LHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSIRGVPSRF SGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQSH SWPYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	79
	DNA 경쇄	GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGACTT CCAATCCGTGACTCCCAAGGAGAAGGTC ACAATCACGTGCAGAGCATCGCAGTCCA TCCGGAACAACCTGCACTGGTATCAACAG AAGCCCGACCAGTCCCCTAAGCTGCTGAT TAAGTACGCCAGCCAGTCGATCAGGGGG GTGCCATCACGGTTTAGCGGATCCGGATC AGGCACCGACTTCACTCTGACCATCAACT CCCTGGAGGCTGAAGATGCGGCCACCTA CTACTGCCAGCAGTCCCATTCTGTGGCCGT ACACTTTCGGCGGCGGTACCAAAGTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGC GTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTG TGCTGTCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGA GGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGA GCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTC CACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG GGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACAGGGGCGAGTGC	80
항체 BMP9-1: AM0100			

[0326]

(카바트)	HCDR1	RYWMH	1
(카바트)	HCDR2	EINPSQGGTNYNEKFKS	2
(카바트)	HCDR3	GSNYGGLVY	3
(코티아)	HCDR1	GYTFTRY	4
(코티아)	HCDR2	NPSQGG	5
(코티아)	HCDR3	GSNYGGLVY	6
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPSQGG TNYNEKFKSRVTMTVDKSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCAIGSNYGGLVYWGQGTLLTV SS	7
	DNA VH	CAAGTCCAGTTGGTCCAATCGGGCGCAG AAGTGAAAAAGCCGGGAGCCTCAGTGAA GGTGTCTCTGCAAAGCGTCCGGCTATACTT TCACGCGCTACTGGATGCACTGGGTGAGA CAGGCCCCGGGACAGGGTCTGGAATGGA TGGGAGAGATTAATCCAGCCAGGGAGG CACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGTCC CGGGTACCATGACCGTGGATAAGAGCA TCAGCACTGCCTACATGGAGCTGTCCAGG CTGCGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTA CTGCGCCATCGGGTCAAACACGGCGGA CTGGTGTACTGGGGCCAGGGGACCCTCGT GACTGTGTCCTCG	8
	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPSQGG TNYNEKFKSRVTMTVDKSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCAIGSNYGGLVYWGQGTLLTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSL SPGK	9

[0327]



	DNA 중쇄	CAAGTCCAGTTGGTCCAATCGGGCGCAG AAGTGAAAAAGCCGGGAGCCTCAGTGAA GGTGTCCTGCAAAGCGTCCGGCTATACTT TCACGCGCTACTGGATGCACTGGGTCAGA CAGGCCCCGGGACAGGGTCTGGAATGGA TGGGAGAGATTAAATCCCAGCCAGGGAGG CACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGTCC CGGGTCACCATGACCGTGGATAAGAGCA TCAGCACTGCCTACATGGAGCTGTCCAGG CTGCGGTCCGGACGACACCGCCGTGTA CTGCGCCATCGGGTCAAACCTACGGCGGA CTGGTGTACTGGGGCCAGGGGACCCTCGT GACTGTGTCCTCGGCTAGCACCAAGGGCC CAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGC AAGTCTACTTCCGGCGGAAGTGTGCCCT GGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCG AGCCCGTGACAGTGTCTTGAACTCTGGG GCTCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCC CGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCT CCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACA CCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAA GAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCC CCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAG GGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGA CCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGA CGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGA GGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTG GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGC AAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCC CAATCGAAAAAGACAATCAGCAAGGCCAA GGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTAC ACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTG GTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC GAGAACAATAACAAGACACCCCCCAG TGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTG TACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC CACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGA GCCCCGGCAAG	10
(카바트)	LCDR1	RASES LDNYGISFMN	11
(카바트)	LCDR2	AASNQGS	12

[0328]

(카바트)	LCDR3	QQSKEVPRT	13
(코티아)	LCDR1	SESLDNYGISF	14
(코티아)	LCDR2	AAS	15
(코티아)	LCDR3	SKEVPR	16
	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESLDN YGISFMNWFQKPGQAPRFLIYAASNQGS IPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDTAVYFCQ QSKEVPRTFGGGTKVEIK	17
	DNA VL	GAAATTGTGCTGACCCAGTCCCCGCGAC GCTGTCACTGTCCCCTGGGGAGCGGGCTA CCTTGTCTGCGCGCCTCCGAATCGCTC GACAACTACGGCATCAGCTTCATGAACTG GTTCCAGCAAAAGCCGGGACAGGCCCA CGGTTCTGATCTACGCCGCATCGAACCA GGGTTCAAGGATTCCCGCGAGGTTCTCGG GATCTGGATCCGGCACCGACTTCACTCTG ACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATA CCGCCGTGTACTTCTGCCAACAGTCCAAG GAGGTCCCGCGGACTTTTGGCGGAGGCA CCAAAGTGGAGATCAAG	18
	경쇄	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESLDN YGISFMNWFQKPGQAPRFLIYAASNQGS IPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDTAVYFCQ QSKEVPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSF NRGEC	19
	DNA 경쇄	GAAATTGTGCTGACCCAGTCCCCGCGAC GCTGTCACTGTCCCCTGGGGAGCGGGCTA CCTTGTCTGCGCGCCTCCGAATCGCTC GACAACTACGGCATCAGCTTCATGAACTG GTTCCAGCAAAAGCCGGGACAGGCCCA CGGTTCTGATCTACGCCGCATCGAACCA GGGTTCAAGGATTCCCGCGAGGTTCTCGG GATCTGGATCCGGCACCGACTTCACTCTG ACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATA CCGCCGTGTACTTCTGCCAACAGTCCAAG GAGGTCCCGCGGACTTTTGGCGGAGGCA CCAAAGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGC CGCTCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGC CAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCT ACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGA GGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAAC AGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACA GCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAG CACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGG	20

[0329]

		TGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTG ACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC	
항체 BMP9-2 :MOR022962			
(카바트)	HCDR1	SYAMS	21
(카바트)	HCDR2	ITLGTGHTHYADSVKG	22
(카바트)	HCDR3	GSYIIWSALDY	23
(코티아)	HCDR1	GFTFSSY	24
(코티아)	HCDR2	LGTGH	25
(코티아)	HCDR3	GSYIIWSALDY	26
	VH	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSITLGTGHTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGSYIIWSALDYWGQGLTVTS S	27
	DNA VH	CAAGTCCAGCTGCTCGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCCGGAGGCAGCCTGCG GCTGTCGTGTGCCGCTCCGGATTACCT TCTCATCCTACGCCATGCTCTGGGTCCGC CAGGCACCGGGAAGGGACTGGAATGGG TGTCGATCACCTGGGAACCGGGCACACT CATTATGCGGACTCCGTGAAAGGGCGCTT CACCATTTCGCGGACAACAGCAAGAAC ACTCTGTACTTGCAAATGAACTCCCTGAG AGCCGAGGATACCGCTGTGTACTACTGCG CGAGGGGCTCCTACATCATCTGGAGCGCC CTGGACTACTGGGGACAGGGTACTCTCGT GACCGTGTGCGAGC	28
	중쇄	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSITLGTGHTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGSYIIWSALDYWGQGLTVTS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	29
	DNA 중쇄	CAAGTCCAGCTGCTCGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCCGGAGGCAGCCTGCG GCTGTCGTGTGCCGCTCCGGATTACCT TCTCATCCTACGCCATGCTCTGGGTCCGC CAGGCACCGGGAAGGGACTGGAATGGG	30

[0330]

		TGTCGATCACCTGGGAACCGGGCACACT CATTATGCGGACTCCGTGAAAGGGCGCTT CACCATTTCCCGGACAACAGCAAGAAC ACTCTGTACTTGCAAATGAACTCCCTGAG AGCCGAGGATACCGCTGTGTACTACTGCG CGAGGGGCTCCTACATCATCTGGAGCGCC CTGGACTACTGGGGACAGGGTACTCTCGT GACCGTGTGAGCGCTAGCACCAAGGGC CCAAGTGTGTTTCCCTGGCCCCCAGCAG CAAGTCTACTTCCGGCGGAAGTGTGCCC TGGGTTCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCCGTGACAGTGTCTTGGAACTCTGG GGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTA CAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCC TCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGACAAGAGAGTGGAGCCCCA AGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCC CCCCTGCCAGCTCCAGAACTGTGGGAG GGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCACAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGA CCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGA CGTGTCCACGAGGACCCAGAGGTGAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCAACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGA GGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTG GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGC AAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCC CAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAA GGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTAC ACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTG GTGAAGGGCTTCTACCCAGCGATATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC GAGAACAATAACAAGACACCCCCCAG TGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTG TACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTG CAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC CACTACCCCAGAAGTCCCTGAGCCTGA GCCCCGGCAAG	
(카바트)	LCDR1	RASQDIRSYLN	31
(카바트)	LCDR2	DASNLQS	32
(카바트)	LCDR3	QQSDTSPLT	33
(코티아)	LCDR1	SQDIRSY	34
(코티아)	LCDR2	DAS	35

[0331]

(코티아)	LCDR3	SDTSPL	36
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDIRS YLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLSQGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS DTSPLTFGQGTKVEIK	37
	DNA VL	GACATCCAGATGACTCAGTCACCGTCATC GCTGTCCGCCTCCGTGGGAGATCGGGTCA CCATTACCTGTCGGGCATCCCAAGACATC AGAAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGA AGCCTGGGAAGGCCCCCAAGCTGCTCAT CTACGACGCGAGCAACCTCCAGTCTGGA GTGCCAGCCGCTTCTCCGGTTCGGGGTC CGGCACTGACTTTACCCTGACCATTTCGT CCCTGCAACCGGAGGATTTGCTACCTAC TACTGCCAGCAGTCCGACACAAGCCCACT GACGTTCGGCCAGGGCACCAAAGTGGAA ATCAAG	38
	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDIRS YLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLSQGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS DTSPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	39
	DNA 경쇄	GACATCCAGATGACTCAGTCACCGTCATC GCTGTCCGCCTCCGTGGGAGATCGGGTCA CCATTACCTGTCGGGCATCCCAAGACATC AGAAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGA AGCCTGGGAAGGCCCCCAAGCTGCTCAT CTACGACGCGAGCAACCTCCAGTCTGGA GTGCCAGCCGCTTCTCCGGTTCGGGGTC CGGCACTGACTTTACCCTGACCATTTCGT CCCTGCAACCGGAGGATTTGCTACCTAC TACTGCCAGCAGTCCGACACAAGCCCACT GACGTTCGGCCAGGGCACCAAAGTGGAA ATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGT GTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGG CCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC CCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGC GTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCA CCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGG CCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC	40
항체 BMP9-3: MOR023795			
(카바트)	HCDRI	TYWIG	41

[0332]

(카바트)	HCDR2	IIYPEGSYTTYSPSFQG	42
(카바트)	HCDR3	GKRVDASSFDY	43
(코티아)	HCDR1	GYSFTTY	44
(코티아)	HCDR2	YPEGSY	45
(코티아)	HCDR3	GKRVDASSFDY	46
	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT TYWIGWVRQMPGKLEWMGIHYPEGSYTT YSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASD TAMYYCARGKRVDASSFDYWGQGLVTV SS	47
	DNA VH	GAAGTGCAGCTCGTGCAGTCCGGAGCGG AAGTGAAAAAGCCGGGAGAATCCCTGAA GATTAGCTGCAAGGGGTCGGGGTACTCA TTCACGACTTACTGGATCGGCTGGGTCCG GCAGATGCCCGAAAGGGACTGGAGTGG ATGGGCATCATCTACCCGGAGGGCAGCT ACACCACCTACTCCCCATCGTTTCAAGGA CAGGTCACCATTTCCGCCGATAAGTCAAT CAGCACCGCCTACCTCCAATGGTCGAGCC TGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTAT TGCGCGAGAGGGAAGCGCGTGGACGCCT CCTCCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACT CTGGTCACCGTGTCTCTCG	48
	중쇄	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT TYWIGWVRQMPGKLEWMGIHYPEGSYTT YSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASD TAMYYCARGKRVDASSFDYWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	49

[0333]

	DNA 중쇄	GAAGTGCAGCTCGTGCAGTCCGGAGCGG AAGTGAAAAAGCCGGGAGAATCCCTGAA GATTAGCTGCAAGGGGTCTGGGGTACTCA TTCACGACTTACTGGATCGGCTGGGTCCG GCAGATGCCCCGAAAGGGACTGGAGTGG ATGGGCATCATCTACCCGGAGGGCAGCT ACACCACCTACTCCCCATCGTTTCAAGGA CAGGTCACCATTTCCGCCGATAAGTCAAT CAGCACCGCTACCTCCAATGGTCGAGCC TGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTAT TGCGCGAGAGGGGAAGCGCGTGGACGCCT CCTCCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACT CTGGTCACCGTGTCTCGGCTAGCACCAA GGGCCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCA GCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAAGTGT GCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTT CCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACT CTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCT GTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTG CCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTA TATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGC CCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGG GAGGGCCTTCCGTGTTCTGTCCCCCCC AAGCCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCA GGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGT GGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTG AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAG AGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGG GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCA GGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAG TGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAG CCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGC CAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTG TACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGT CTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG CCCGAGAACAATAACAAGACACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTC CTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGT CCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAG CTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC AACCCTACACCCAGAAAGTCCCTGAGCCT GAGCCCCGGCAAG	50
(카바트)	LCDR1	SGSSSNIGDNYVS	51
(카바트)	LCDR2	RNNKRPS	52

[0334]



(카바트)	LCDR3	SSTDKEHLV	53
(코티아)	LCDR1	SSSNIGDNY	54
(코티아)	LCDR2	RNN	55
(코티아)	LCDR3	TDKEHL	56
	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGD NYVSWYQQLPGTAPKLLIYRNNKRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCS STDKEHLVFGGGTKLTVL	57
	DNA VL	CAATCAGTGCTGACCCAGCCCCGAGCGT GTCCGGTGCCCCCTGGACAGCGGGTCACC ATCTCCTGTTCCGGCTCCTCAAGCAATAT TGGCGACAACTATGTGTCGTGGTACCAGC AGCTGCCGGGGACGGCCCCCTAAGCTGCT GATCTACCGGAACAACAAAAGGCCATCC GGCGTGCCGGATAGATTCTCGGGCTCGA AGTCCGGAAGTAGCGCCAGCCTGGCAAT CACCGGGCTGCAGGCTGAAGATGAGGCG GACTACTACTGCTCCTCTACCGACAAGGA ACACCTGGTGTTCCGAGGAGGAACCAAG CTGACTGTGCTG	58
	경쇄	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGD NYVSWYQQLPGTAPKLLIYRNNKRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCS STDKEHLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYSQVTHEGSTVEKTVAP TECS	59
	DNA 경쇄	CAATCAGTGCTGACCCAGCCCCGAGCGT GTCCGGTGCCCCCTGGACAGCGGGTCACC ATCTCCTGTTCCGGCTCCTCAAGCAATAT TGGCGACAACTATGTGTCGTGGTACCAGC AGCTGCCGGGGACGGCCCCCTAAGCTGCT GATCTACCGGAACAACAAAAGGCCATCC GGCGTGCCGGATAGATTCTCGGGCTCGA AGTCCGGAAGTAGCGCCAGCCTGGCAAT CACCGGGCTGCAGGCTGAAGATGAGGCG GACTACTACTGCTCCTCTACCGACAAGGA ACACCTGGTGTTCCGAGGAGGAACCAAG CTGACTGTGCTGGGACAGCCTAAGGCTGC CCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGCA GCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAAGGCCAC CCTGGTGTGCTGATCAGCGACTTCTACC CAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGC CGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTG GAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCA ACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGC CACAGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACCC	60

[0335]

		ACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAAGACCGT GGCCCCAACCGAGTGCAGC	
<b>항체 BMP9-5: AM1900</b>			
(카바트)	HCDR1	RYWMH	81
(카바트)	HCDR2	EINPSQGGTNYNEKFKS	82
(카바트)	HCDR3	GANYGGLVY	83
(코티아)	HCDR1	GYTFTRY	84
(코티아)	HCDR2	NPSQGG	85
(코티아)	HCDR3	GANYGGLVY	86
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYWMHWVRQAPQGGLWGMGEINPSQGG TNYNEKFKSRVTMTVDKSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCAIGANYGGLVYWGQGLVT VSS	87
	DNA VH	CAAGTCCAGCTCGTCCAATCGGGCGCCG AAGTGAAAAAGCCGGGAGCCTCCGTGAA GGTGTCTCTGCAAGGCGTCCGGTTATACTT TCACGCGCTACTGGATGCACTGGGTCAGA CAGGCTCCGGGACAGGGACTGGAATGGA TGGGAGAGATTAACCCCTCCCAGGGAGG CACCAACTACAACGAGAAAGTTCAAGTCC CGGGTCACCATGACCGTGGATAAGTCCAT CAGCACTGCCTACATGGAGCTGTCCCGCC TGCGGTCGGACGACACCGCGTGTACTAC TGCGCCATCGGGGCGAACTACGGCGGAC TGGTGTACTGGGGCCAGGGGACTCTCGTG ACTGTGTCCTCG	88
	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYWMHWVRQAPQGGLWGMGEINPSQGG TNYNEKFKSRVTMTVDKSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCAIGANYGGLVYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVPEPKCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	89
	DNA 중쇄	CAAGTCCAGCTCGTCCAATCGGGCGCCG AAGTGAAAAAGCCGGGAGCCTCCGTGAA GGTGTCTCTGCAAGGCGTCCGGTTATACTT TCACGCGCTACTGGATGCACTGGGTCAGA CAGGCTCCGGGACAGGGACTGGAATGGA TGGGAGAGATTAACCCCTCCCAGGGAGG	90

[0336]

		CACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGTCC CGGGTCACCATGACCGTGGATAAGTCCAT CAGCACTGCCTACATGGAGCTGTCCCGCC TGCGGTTCGGACGACACCGCGTGTACTAC TGCGCCATCGGGGCGAACTACGGCGGAC TGGTGTACTGGGGCCAGGGGACTCTCGTG ACTGTGTCCTCGGCTAGCACCAAGGGCCC AAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCA AGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTG GGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGA GCCCCGTGACAGTGTCTTGAACTCTGGGG CTCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCCC GCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACA GCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTG CAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGA GCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCC TGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGC CTCCGTGTTCTGTTCCTCCCCCAAGCCC AAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCCACAGAGGACCCAGAGGTGAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGA GCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTG TCCGTGCTGACCGTGTGACCAAGGACTG GCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAA GTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAAT CGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGC CAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCC TGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTCTACCCAGCGATATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA ACAACTACAAGACCAACCCCCCAGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACA GCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTG GCAGCAGGGCAACGTGTTTCACTGCAGC GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCC CGGCAAG	
(카바트)	LCDR1	RASESLDNYGISFMN	91
(카바트)	LCDR2	AASNQGS	92
(카바트)	LCDR3	QQSKEVPRT	93
(코티아)	LCDR1	SESLDNYGISF	94
(코티아)	LCDR2	AAS	95
(코티아)	LCDR3	SKEVPR	96

[0337]

	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASES LDN YGISFMNWFQKPGQAPRFLIYAASNQGS IPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDTAVYFCQ QSKEVPRTFGGGTKVEIK	97
	DNA VL	GAAATTGTGCTGACCCAGTCCCCGCGAC GCTGTCACTGTCCCCTGGGGAGCGGGCTA CCTTGTCTGCGCGCCTCCGAATCGCTC GACAACTACGGCATCAGCTTCATGAACTG GTTCCAGCAAAAAGCCGGGACAGGCCCA CGGTTCTGATCTACGCCGCATCGAACCA GGGTTCAAGGATTCCCGCGAGGTTCTCGG GATCTGGATCCGGCACCGACTTCACTCTG ACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATA CCGCCGTGTACTTCTGCCAACAGTCCAAG GAGGTCCCGCGGACTTTTGGCGGAGGCA CCAAAGTGGAGATCAAG	98
	경쇄	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASES LDN YGISFMNWFQKPGQAPRFLIYAASNQGS IPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDTAVYFCQ QSKEVPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSF NRGEC	99
	DNA 경쇄	GAAATTGTGCTGACCCAGTCCCCGCGAC GCTGTCACTGTCCCCTGGGGAGCGGGCTA CCTTGTCTGCGCGCCTCCGAATCGCTC GACAACTACGGCATCAGCTTCATGAACTG GTTCCAGCAAAAAGCCGGGACAGGCCCA CGGTTCTGATCTACGCCGCATCGAACCA GGGTTCAAGGATTCCCGCGAGGTTCTCGG GATCTGGATCCGGCACCGACTTCACTCTG ACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATA CCGCCGTGTACTTCTGCCAACAGTCCAAG GAGGTCCCGCGGACTTTTGGCGGAGGCA CCAAAGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGC CGTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGC CAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAATTCT ACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGA GGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGAAC AGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACA GCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAG CACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCATAAGGTGTACGCTGCGAGG TGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTG ACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC	100
항체 BMP9-6: MOR022965			
(카바트)	HCDR1	SYAIS	101
(카바트)	HCDR2	HIIPHWGHARYAQKFQG	102

[0338]

(카바트)	HCDR3	SASSLPHFHWFY	103
(코티아)	HCDR1	GGTFSSY	104
(코티아)	HCDR2	IPHWGH	105
(코티아)	HCDR3	SASSLPHFHWFY	106
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTF SSYAISWVRQAPGQGLEWMGHIIPHWGHA RYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARSASSLPHFHWFYWGQGT LTVSS	107
	DNA VH	CAAGTCCAACCTCGTGCAGTCTGGAGCAG AAGTCAAGAAGCCGGGCTCAAGCGTGAA GGTGTCTCTGCAAAGCCAGCGGAGGGACC TTCTCCTCTATGCCATCTCATGGGTCTAG ACAGGCCCCGGGCCAGGGCCTGGAATGG ATGGGTACATCATCCCCATTGGGGACA CGCGCGCTACGCCAGAAGTTTCAGGGC CGCGTGACTATTACGCGGACGAAAGCA CTTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCTCC CTGCGGTCTGGAGGACACCGCAGTGTACT ACTGCGCCCGGTCTGGCTTCGTCCCTGCCA CACTTCCACTGGTTCGATTACTGGGGACA GGGAACCCTGGTCACTGTGTCCAGC	108
	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTF SSYAISWVRQAPGQGLEWMGHIIPHWGHA RYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARSASSLPHFHWFYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	109

[0339]

	DNA 중쇄	CAAGTCCAAC TCGTGCAGTCTGGAGCAG AAGTCAAGAAGCCGGGCTCAAGCGTGAA GGTGTCTTGCAAAGCCAGCGGAGGGACC TTCTCCTCCTATGCCATCTCATGGGTGAG ACAGGCCCCGGGCCAGGGCCTGGAATGG ATGGGTACATCATCCCCCATGGGGACA CGCGCGCTACGCCCAGAAGTTTCAGGGC CGCGTGACTATTACCGCGGACGAAAGCA CTTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCTCC CTGCGGTGCGGAGGACACCGCAGTGTACT ACTGCGCCCGGTGCGGCTTCGTCCCTGCCA CACTTCCACTGGTTCGATTACTGGGGACA GGGAACCCCTGGTCACTGTGTCCAGCGCTA GCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTG GCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGG AACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGG ACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCC TGGAACCTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCA GCGGCCGTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCC AGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAA GCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCC ACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAA CTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTT CCCCCAGGCCAAGGACACCCTGATG ATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCG TGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCC AGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCAC CTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGC TGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA ATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCC CTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCC CCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCT GACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCA GCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA CGGCCAGCCCCGAGAACAACTACAAGACC ACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCA GCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTG GACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACG TGTTCACTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCT GAGCCTGAGCCCCGGCAAG	110
(카바트)	LCDR1	RASQDINNYLN	111
(카바트)	LCDR2	AASRLQS	112

[0340]

(카바트)	LCDR3	QQRDTTPWT	113
(코티아)	LCDR1	SQDINNY	114
(코티아)	LCDR2	AAS	115
(코티아)	LCDR3	RDTPPW	116
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDINN YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQR DTTPWTFGQGTKVEIK	117
	DNA VL	GATATCCAGATGACTCAGTCCCCATCCTC CCTGTCGGCCTCCGTGGGCGATCGGGTCA CTATTACGTGCCGCGCCAGCCAGGACATT AACAACTACCTGAACTGGTATCAACAGA AGCCGGGGAAGGCCCTAAGCTGCTGAT CTACGCTGCAAGCCGGTTGCAGTCAGGA GTGCCCTCAAGGTTCTCCGTTCCGGATC GGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTCCAGCCGGAGGACTTTGCGACCTAC TACTGTCAGCAAAGAGACACCACCCCT GGACATTTCGGACAGGGCACCAAAGTGGA AATCAAG	118
	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDINN YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQR DTTPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNR GEC	119
	DNA 경쇄	GATATCCAGATGACTCAGTCCCCATCCTC CCTGTCGGCCTCCGTGGGCGATCGGGTCA CTATTACGTGCCGCGCCAGCCAGGACATT AACAACTACCTGAACTGGTATCAACAGA AGCCGGGGAAGGCCCTAAGCTGCTGAT CTACGCTGCAAGCCGGTTGCAGTCAGGA GTGCCCTCAAGGTTCTCCGTTCCGGATC GGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTCCAGCCGGAGGACTTTGCGACCTAC TACTGTCAGCAAAGAGACACCACCCCT GGACATTTCGGACAGGGCACCAAAGTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGC GTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTG TGCCTGCTGAACAATTCTACCCCGGGA GGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGA GCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTC CACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAG	120

[0341]



		GGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTT CAACAGGGGCGAGTGC	
<b>항체 BMP9-7: MOR023787</b>			
(카바트)	HCDR1	SAWMS	121
(카바트)	HCDR2	HIKSKTYGGTIDYAAPVKG	122
(카바트)	HCDR3	VGGYYGYGYAFAY	123
(코티아)	HCDR1	GFTFSSA	124
(코티아)	HCDR2	KSKTYGGT	125
(코티아)	HCDR3	VGGYYGYGYAFAY	126
	VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS SAWMSWVRQAPGKGLEWVGHISKTYGG TIDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCARVGGYYGYGYAFAYWGQ GTLVTVSS	127
	DNA VH	CAAGTCCAGCTCGTCAATCCGGTGGCG GACTCGTGAAGCCGGGAGGATCCCTGCG GCTGTCTGCGCCGCCTCCGGGTCACTT TTTCCTCCGCATGGATGTCATGGGTCCGC CAGGCCCCCGGAAGGGTCTGGAATGGG TCGGGCACATCAAGTCAAAGACCTACGG CGGCACCATGACTACGCCGCCCCAGTGA AAGGAAGGTTCACTATCTCGCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTCAAGACCGAGGATACTGCGG TGTAATACTGCGCAAGAGTGGGCGGATA CTACGGTTACGGCTACGCTTTCGCGTACT GGGGACAGGGCACCCCTCGTGACCGTGT GAGC	128
	중쇄	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS SAWMSWVRQAPGKGLEWVGHISKTYGG TIDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCARVGGYYGYGYAFAYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKLSLSLSPGK	129

[0342]

SEQ ID NO:	DNA 중쇄	CAAGTCCAGCTCGTCAATCCGGTGGCG GACTCGTGAAGCCGGGAGGATCCCTGCG GCTGTCCTGCGCCGCCTCCGGGTTCACCT TTTCCTCCGCATGGATGTCATGGGTCCGC CAGGCCCCCGGGAAGGGTCTGGAATGGG TCGGGCACATCAAGTCAAAGACCTACGG CGGCACCATTTGACTACGCCGCCCCAGTGA AAGGAAGGTTCACCTATCTCGCGGGACGA CAGCAAGAACACCCCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTCAAGACCGAGGATACTGCGG TGTAATACTGCGCAAGAGTGGGCGGATA CTACGGTTACGGCTACGCTTTCGCGTACT GGGGACAGGGCACCTCGTGACCGTGTG GAGCGCTAGCACCAAGGGCCCCAAGTGTG TTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTAC TTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTGCC TGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACAGTGTCTTGGAATCTGGGGCTCTGAC TTCCGGCGTGACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAG CAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTC TGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTGGAGGCCAAGAGCTGCGA CAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAG CTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTG TTCCTGTTCCCCCCTAAGCCCAAGGACAC CCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGA GGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCA AGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAA CAGCACTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGG CAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAAC AAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGA CAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACG GGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCA GCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCT ACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTAC AAGACCACCCCCCAGTGTGGACAGCG ACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTG ACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGG GCAACGTGTTACGCTGCAGCGTGTGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG	130
(카바트)	LCDR1	SGDNIGDKYVS	131
(카바트)	LCDR2	DDNKRPS	132

[0343]

(카바트)	LCDR3	SSTASKSFNV	133
(코티아)	LCDR1	DNIGDKY	134
(코티아)	LCDR2	DDN	135
(코티아)	LCDR3	TASKSFN	136
	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNIGDK YVSWYQQKPGQAPVLVIYDDNKRPSGIPER FSGSNSGNTATLTISRAGQAGDEADYYCSST ASKSFNVFGGGTKLTVL	137
	DNA VL	AGCTACGAACTCACCCAGCCTCTGTCCGT GTCCGTGCGCTGGGACAGACTGCTCGCA TCACTTGCTCCGGCGACAACATCGGGGAC AAATACGTGTCGTGGTACCAGCAGAAGC CGGGCCAAGCCCCGTGCTGGTCATCTAT GACGATAACAAGCGGCCATCGGGCATT CGGAGAGATTCAAGCGGTTCCAACAGCGG AAACACTGCCACCCTGACCATCAGCAGG GCACAGGCCGGGATGAGGCCGACTACT ACTGCTCATCCACCGCTCCAAGTCATT AATGTGTTCCGAGGCGGCACCAAGCTGA CCGTGCTC	138
	경쇄	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNIGDK YVSWYQQKPGQAPVLVIYDDNKRPSGIPER FSGSNSGNTATLTISRAGQAGDEADYYCSST ASKSFNVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLS LTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS	139
	DNA 경쇄	AGCTACGAACTCACCCAGCCTCTGTCCGT GTCCGTGCGCTGGGACAGACTGCTCGCA TCACTTGCTCCGGCGACAACATCGGGGAC AAATACGTGTCGTGGTACCAGCAGAAGC CGGGCCAAGCCCCGTGCTGGTCATCTAT GACGATAACAAGCGGCCATCGGGCATT CGGAGAGATTCAAGCGGTTCCAACAGCGG AAACACTGCCACCCTGACCATCAGCAGG GCACAGGCCGGGATGAGGCCGACTACT ACTGCTCATCCACCGCTCCAAGTCATT AATGTGTTCCGAGGCGGCACCAAGCTGA CCGTGCTCGGTCAACCTAAGGCTGCCCCC AGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGCAGCGA GGAGCTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTG GTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGG CGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGAC AGCAGCCCCGTGAAGGCCGCGTGGAGA CCACCACCCCAGCAAGCAGAGCAACAA CAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGC CTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACA GGTCCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGA	140

[0344]

		GGGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCC CCAACCGAGTGCAGC	
<b>항체 BMP9-8: MOR023793</b>			
(카바트)	HCDR1	SYVMN	141
(카바트)	HCDR2	WINPVQGNNTNYAQKFQG	142
(카바트)	HCDR3	NYFDV	143
(코티아)	HCDR1	GYTFTSY	144
(코티아)	HCDR2	NPVQGN	145
(코티아)	HCDR3	NYFDV	146
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYYMNWVRQAPGQGLEWMGWINPVQG NTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR LRSEDTAVYYCARNYFDVWGQGLTVTVSS	147
	DNA VH	CAAGTCCAGCTCGTCCAATCCGGTGCTGA AGTCAAGAAGCCGGGAGCCAGCGTGAAA GTGTCCTGCAAGGCCTCCGGGTACACCTT CACCTCCTACTACATGAACTGGGTCAGAC AGGCCCGGGCCAGGGCCTGGAGTGGAT GGGATGGATCAATCCAGTGCAGGGAAAC ACTAACTACGCGCAGAAGTTCCAGGGTC GCGTGACCATGACTCGGGACACTAGCATT TCCACGGCCTACATGGAGCTGTCAAGGCT GCGGTCGGAAGATACCGCGGTGTATTACT GCGCCCGCAACTACTTCGACGTGTGGGG ACAGGGAACCTTGTGACCGTGTCCAGC	148
	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYYMNWVRQAPGQGLEWMGWINPVQG NTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR LRSEDTAVYYCARNYFDVWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	149

[0345]

	DNA 중쇄	CAAGTCCAGCTCGTCCAATCCGGTGCTGA AGTCAAGAAGCCGGGAGCCAGCGTGAAA GTGTCTTGCAAGGCCTCCGGGTACACCTT CACCTCCTACTACATGAAGTGGGTGAGAC AGGCCCCGGGCCAGGGCCTGGAGTGGAT GGGATGGATCAATCCAGTGCAGGGAAAC ACTAACTACGCGCAGAAGTTCAGGGTC GCGTGACCATGACTCGGGACACTAGCATT TCCACGGCCTACATGGAGCTGTCAAGGCT GCGGTCGGAAGATACCGCGGTGTATTACT GCGCCCGCAACTACTTCGACGTGTGGGG ACAGGGAACCCCTTGAGCCGTGTCCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCG GCGGAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTG AAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGT GTCCTGGAAGTCTGGGGCTCTGACTTCCG GCGTGACACCTTCCCCGCGGTGTGCAG AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCG TGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGA ACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCA CAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGA CCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCA GAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCT GTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGA TGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGAC CCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGAC CAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGT GCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAA GAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGG CCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAAT CAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAG CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCG GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCC CTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCC CAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGA CCACCCCCCAGTGTGACAGCGACGG CAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCG TGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAA CGTGTTCAAGTGCAGCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG	150
(카바트)	LCDR1	RASQTISNFLA	151
(카바트)	LCDR2	AASNLSQ	152
(카바트)	LCDR3	QQLYAESIT	153

[0346]

(코티아)	LCDR1	SQTISNF	154
(코티아)	LCDR2	AAS	155
(코티아)	LCDR3	LYAESI	156
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQTISN FLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQLY AESITFGQGTKVEIK	157
	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCATCATC CCTGTCGGCCTCCGTGGGCGACAGAGTG ACCATTACTTGCCGGGCATCACAGACGAT CTCCAACCTTCTGGCCTGGTATCAGCAGA AGCCGGGGAAGGCGCCCAAGCTGCTCAT CTACGCTGCCTCCAACCTCCAATCCGGAG TGCCTAGCCGGTTCAGCGGCTCGGGATCC GGGACTGACTTCACCCTGACTATCTCGAG CCTGCAGCCGAGGACTTCGCGGTGTACT ACTGTCAGCAACTGTACGCCGAATCCATC ACATTCGGACAGGGCACCAAGTGGAGA TTAAG	158
	경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQTISN FLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQLY AESITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	159
	DNA 경쇄	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCATCATC CCTGTCGGCCTCCGTGGGCGACAGAGTG ACCATTACTTGCCGGGCATCACAGACGAT CTCCAACCTTCTGGCCTGGTATCAGCAGA AGCCGGGGAAGGCGCCCAAGCTGCTCAT CTACGCTGCCTCCAACCTCCAATCCGGAG TGCCTAGCCGGTTCAGCGGCTCGGGATCC GGGACTGACTTCACCCTGACTATCTCGAG CCTGCAGCCGAGGACTTCGCGGTGTACT ACTGTCAGCAACTGTACGCCGAATCCATC ACATTCGGACAGGGCACCAAGTGGAGA TTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTG TTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCT GAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGC CTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGC CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCC CTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG TCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCAC CTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGA GCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGC CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAA CAGGGGCGAGTGC	160

[0347]



항체 BMP9-9: MOR023796			
(카바트)	HCDR1	DYAIH	161
(카바트)	HCDR2	GIIPFFGTAYYAQKFQG	162
(카바트)	HCDR3	RIVSDSVAVQYRHAFDP	163
(코티아)	HCDR1	GGTFSDY	164
(코티아)	HCDR2	IPFFGT	165
(코티아)	HCDR3	RIVSDSVAVQYRHAFDP	166
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF SDYAIHWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTA YYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARRIVSDSVAVQYRHAFDPWG QGTLVTVSS	167
	DNA VH	CAAGTGCAACTCGTCCAGTCTGGTGCCGA AGTCAAGAAAGCCAGGATCCTCGGTGAAA GTGTCCTGCAAGGCCTCCGGGGGAACCTT TCCGACTACGCCATCCACTGGGTCCGCC AAGCACCGGGACAGGGCCTGGAATGGAT GGGTGGCATTATCCCCTTCTTCGGGACTG CTTACTATGCGCAGAAGTTCAGGGAAG AGTGACGATTACCGCCGACGAGAGCACC TCCACCGCTACATGGAAGTGAAGTCACT GAGGTCCGAGGATACTGCGGTGTACTAC TGCGCCCGCCGGATCGTGTGCGATTCCGT GGCCGTGCAGTACCGGCATGCCTTCGACC CGTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACTGT GTCATCC	168
	중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF SDYAIHWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTA YYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARRIVSDSVAVQYRHAFDPWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	169

[0348]

	DNA 중쇄	CAAGTGCAACTCGTCCAGTCTGGTGCCGA AGTCAAGAAGCCAGGATCCTCGGTGAAA GTGTCTTGCAAGGCCTCCGGGGGAACCTT TTCCGACTACGCCATCCACTGGGTCCGCC AAGCACCGGGACAGGGCCTGGAATGGAT GGGTGGCATTATCCCCCTCTTCGGGACTG CTTACTATGCGCAGAAGTTCCAGGGAAG AGTGACGATTACCGCCGACGAGAGCACC TCCACCGCCTACATGGAAGTGAAGTCACT GAGGTCCGAGGATACTGCGGTGTACTAC TGCGCCCCGCCGGATCGTGTCCGATTCCGT GGCCGTGCAGTACCGGCATGCCTTCGACC CGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACTGT GTCATCCGCTAGCACCAAGGGCCCAAGT GTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTC TACTTCCGGCGGAAGTGTGCCCTGGGTT GCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACAGTGTCTTGGAAGTCTGGGGCTCT GACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCT GAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGC TCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAA CGTGAAACCAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAGAGTGGAGCCCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGTGGGAGGGCCTTC CGTGTTCTGTTCCCCCCAAGCCAAGG ACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGA GGTGACCTGCGTGGTGGTGACGTGTCCC ACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGT ACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAAGAATAACAAGTGCAAAGTCT CCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGA AAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG CCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGC CCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGAA CCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGG GCTTCTACCCAGCGATATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAAACA ACTACAAGACCAACCCCCCAGTGCTGGA CAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCA AGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCA GCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA CCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCG CAAG	170
[0349]	(카바트)	LCDRI SGSSSNIGSNYVY	171

(카바트)	LCDR2	GNNNRPS	172
(카바트)	LCDR3	NAWDTKAYVWV	173
(코티아)	LCDR1	SSSNIGSNY	174
(코티아)	LCDR2	GNN	175
(코티아)	LCDR3	WDTKAYVW	176
	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGS NYVYWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCN AWDTKAYVWVFGGGTKLTVL	177
	DNA VL	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCTCCGAGCGT GTCAGGAGCACCGGGACAGAGAGTGACC ATCTCCTGTTTCGGGGTCCAGCTCGAACAT TGGCTCCAACACTACGTGTACTGGTATCAGC AGCTCCCCGGTACCGCGCCCAAGCTGTTG ATCTACGGCAACAACAACCGGCCTAGCG GCGTGCCGGATAGGTTCTCGGGTTCAAAA TCCGGGACGTCCGCTTCCCTGGCCATCAC TGGCTGCAAGCGGAGGACGAAGCCGAC TACTACTGCAATGCCTGGGACACCAAGG CCTACGTCTGGGTGTTTCGGAGGAGGCACT AAGCTGACCGTGCTG	178
	경쇄	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGS NYVYWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCN AWDTKAYVWVFGGGTKLTVLGQPKAAPS VTLFPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAA SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEK TVAPTECS	179
	DNA 경쇄	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCTCCGAGCGT GTCAGGAGCACCGGGACAGAGAGTGACC ATCTCCTGTTTCGGGGTCCAGCTCGAACAT TGGCTCCAACACTACGTGTACTGGTATCAGC AGCTCCCCGGTACCGCGCCCAAGCTGTTG ATCTACGGCAACAACAACCGGCCTAGCG GCGTGCCGGATAGGTTCTCGGGTTCAAAA TCCGGGACGTCCGCTTCCCTGGCCATCAC TGGCTGCAAGCGGAGGACGAAGCCGAC TACTACTGCAATGCCTGGGACACCAAGG CCTACGTCTGGGTGTTTCGGAGGAGGCACT AAGCTGACCGTGCTGGGACAGCCTAAGG CTGCCCCCAGCGTGACCCTGTCCCCCCC AGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGG CCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTC TACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGA AGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGG CGTGAGACCACCAACCCAGCAAGCAG AGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCT ACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGA	180

[0350]

		GAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAGGTG ACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGA CCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC	
--	--	--	--

[0351]

[0352] 본 발명의 다른 항체 및 그의 항원-결합 단편은 아미노산 또는 아미노산을 코딩하는 핵산이 돌연변이되었지만, 표 1에 기재된 서열에 대해 적어도 60, 70, 80, 90 또는 95 퍼센트 동일성을 갖는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 실질적으로 동일한 치료 활성을 보유하면서, 표 1에 기재된 서열에 도식된 가변 영역과 비교할 때 가변 영역에서 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 아미노산이 돌연변이된 돌연변이체 아미노산 서열을 포함한다.

[0353] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 1, 2, 및 3의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 11, 12, 및 13의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0354] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 4, 5, 및 6의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 14, 15, 및 16의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

- [0355] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 21, 22, 및 23의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 31, 32, 및 33의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0356] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 24, 25, 및 26의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 34, 35, 및 36의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0357] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 41, 42, 및 43의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 51, 52, 및 53의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0358] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 44, 45, 및 46의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 54, 55, 및 56의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0359] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 61, 62, 및 63의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 71, 72, 및 73의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0360] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 64, 65, 및 66의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 74, 75, 및 76의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0361] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 81, 82, 및 83의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 91, 92, 및 93의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0362] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 84, 85, 및 86의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 94, 95, 및 96의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0363] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 101, 102, 및 103의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 111, 112, 및 113의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0364] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 104, 105, 및 106의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 114, 115, 및 116의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0365] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 121, 122, 및 123의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 131, 132, 및 133의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0366] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 124, 125, 및 126의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 134, 135, 및 136의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0367] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 141, 142, 및 143의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 151, 152, 및 153의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0368] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 144, 145, 및 146의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 154, 155, 및 156의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0369] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 161, 162, 및 163의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 171, 172, 및 173의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는

단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0370] 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 인간 BMP9에 결합하고 각각 서열식별번호: 164, 165, 및 166의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3 서열, 및 각각 서열식별번호: 174, 175, 및 176의 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3 서열을 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0371] 각각의 이들 항체가 BMP9에 결합할 수 있기 때문에, VH, VL, 전장 경쇄, 및 전장 중쇄 서열 (아미노산 서열 및 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열)은 "혼합 및 매칭"되어 본 발명의 다른 BMP9-결합 항체 및 그의 항원-결합 단편을 생성할 수 있다. 이러한 "혼합 및 매칭"된 BMP9-결합 항체는 관련 기술분야에 공지된 결합 검정 (예를 들어, ELISA, 및 실시예 섹션에 기재된 다른 검정)을 사용하여 시험될 수 있다. 이들 쇄가 혼합 및 매칭되는 경우에, 특정한 VH/VL 쌍형성으로부터의 VH 서열은 구조적으로 유사한 VH 서열로 대체되어야 한다. 마찬가지로 특정한 전장 중쇄/전장 경쇄 쌍형성으로부터의 전장 중쇄 서열은 구조적으로 유사한 전장 중쇄 서열로 대체되어야 한다. 마찬가지로 특정한 VH/VL 쌍형성으로부터의 VL 서열은 구조적으로 유사한 VL 서열로 대체되어야 한다. 마찬가지로 특정한 전장 중쇄/전장 경쇄 쌍형성으로부터의 전장 경쇄 서열은 구조적으로 유사한 전장 경쇄 서열로 대체되어야 한다.

[0372] 또 다른 측면에서, 본 발명은 표 1에 기재된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 또는 그의 조합을 포함하는 BMP9-결합 항체를 제공한다. CDR 영역은 카바트 시스템(Kabat system) (Kabat et al. 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)을 사용하거나, 또는 코티아 시스템(Chothia system) (Chothia et al. 1987 J. Mol. Biol. 196: 901-917; 및 Al-Lazikani et al. 1997 J. Mol. Biol. 273: 927-948)을 사용하여 서술된다. CDR 영역을 서술하는 다른 방법이 대안적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 카바트 및 코티아 둘 다의 CDR 정의는 CDR이 인간 VH에서의 아미노산 잔기 26-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2), 및 95-102 (HCDR3) 및 인간 VL에서의 아미노산 잔기 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2), 및 89-97 (LCDR3)로 이루어지도록 조합될 수 있다.

[0373] 각각의 이들 항체가 BMP9에 결합할 수 있고 항원-결합 특이성이 주로 CDR1, 2 및 3 영역에 의해 제공된다는 것을 고려하면, VH CDR1, 2 및 3 서열 및 VL CDR1, 2 및 3 서열은 "혼합 및 매칭"될 수 있다 (즉, 상이한 항체로부터의 CDR이 혼합 및 매칭될 수 있지만, 각각의 항체는 본 발명의 다른 BMP9-결합 결합 분자를 생성하기 위해 VH CDR1, 2 및 3 및 VL CDR1, 2 및 3을 함유해야만 한다). 이러한 "혼합 및 매칭"된 BMP9-결합 항체는 관련 기술분야에 공지된 결합 검정 및 실시예에 기재된 것 (예를 들어, ELISA)을 사용하여 시험될 수 있다. VH CDR 서열이 혼합 및 매칭되는 경우에, 특정한 VH 서열로부터의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 대체되어야 한다. 마찬가지로, VL CDR 서열이 혼합 및 매칭되는 경우에, 특정한 VL 서열로부터의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 대체되어야 한다. 1개 이상의 VH 및/또는 VL CDR 영역 서열을 본 발명의 모노클로날 항체에 대해 본원에 제시된 CDR 서열로부터의 구조적으로 유사한 서열로 돌연변이시킴으로써 신규 VH 및 VL 서열이 생성될 수 있다는 것은 통상의 기술자에게 용이하게 명백할 것이다.

[0374] 따라서, 본 발명은 서열식별번호: 1, 21, 41, 61, 81, 101, 121, 141, 161, 4, 24, 44, 64, 84, 104, 124, 144, 및 164 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; 서열식별번호: 2, 22, 42, 62, 82, 102, 122, 142, 162, 5, 25, 45, 65, 85, 105, 125, 145, 및 165 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; 서열식별번호: 3, 23, 43, 63, 83, 103, 123, 143, 163, 6, 26, 46, 66, 86, 106, 126, 146, 및 166 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; 서열식별번호: 11, 31, 51, 71, 91, 111, 131, 151, 171, 14, 34, 54, 74, 94, 114, 134, 154, 및 174 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; 서열식별번호: 12, 32, 52, 72, 92, 112, 132, 152, 172, 15, 35, 55, 75, 95, 115, 135, 155, 및 175 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 서열식별번호: 13, 33, 53, 73, 93, 113, 133, 153, 173, 16, 36, 56, 76, 96, 116, 136, 156, 및 176 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 영역을 제공하며, 여기서 항체는 BMP9에 특이적으로 결합한다.

[0375] 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 표 1에 기재된 항체이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-1이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-2이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-3이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-4이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-5이다. 한 실시양태에서,



BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-6이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-7이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-8이다. 한 실시양태에서, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체는 BMP9-9이다.

[0376] 본원에 사용된 인간 항체는 항체의 가변 영역 또는 전장쇄가 인간 배선 이뮤노글로불린 유전자를 사용한 시스템으로부터 수득된 경우에 특정한 배선 서열의 생성물"이거나 또는 "그로부터 유래된" 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 또는 전장 중쇄 또는 경쇄를 포함한다. 이러한 시스템은 인간 이뮤노글로불린 유전자를 보유하는 트랜스제닉 마우스를 관심 항원으로 면역화하거나 또는 파지 상에 디스플레이된 인간 이뮤노글로불린 유전자 라이브러리를 관심 항원으로 스크리닝하는 것을 포함한다. 인간 배선 이뮤노글로불린 서열의 생성물"이거나 또는 "그로부터 유래된" 인간 항체는 인간 항체의 아미노산 서열을 인간 배선 이뮤노글로불린의 아미노산 서열과 비교하고 인간 항체의 서열에 가장 근접한 (즉, 최대 % 동일성) 서열인 인간 배선 이뮤노글로불린 서열을 선택함으로써 확인될 수 있다. 특정한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열의 생성물"이거나 또는 "그로부터 유래된" 인간 항체는 배선 서열과 비교하여, 예를 들어, 자연 발생 체세포 돌연변이 또는 부위-지정 돌연변이의 의도적 도입으로 인한 아미노산 차이를 함유할 수 있다. 그러나, VH 또는 VL 프레임워크 영역에서, 선택된 인간 항체는 전형적으로 아미노산 서열에서 인간 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩되는 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일하고 다른 종의 배선 이뮤노글로불린 아미노산 서열 (예를 들어, 무린 배선 서열)과 비교할 때 인간 항체를 인간의 것으로서 확인시켜 주는 아미노산 잔기를 함유한다. 특정 경우에, 인간 항체는 아미노산 서열에서 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩되는 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 적어도 95%, 또는 심지어 적어도 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일할 수 있다. 전형적으로, 재조합 인간 항체는 VH 또는 VL 프레임워크 영역에서 인간 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩되는 아미노산 서열과 10개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 것이다. 특정 경우에, 인간 항체는 배선 이뮤노글로불린 유전자에 의해 코딩되는 아미노산 서열과 5개 이하, 또는 심지어 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 수 있다.

[0377] BMP 패밀리 구성원 및 간 섬유증

[0378] 한 실시양태에서, 본 발명은 BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 결합 단편을 제공한다. 한 실시양태에서, 항체 또는 그의 결합 단편은 표 1에 기재되어 있다.

[0379] 한 실시양태에서, 항체 또는 그의 결합 단편은 BMP9에 특이적으로 결합하지만 다른 BMP 단백질 (예컨대 BMP2, BMP10 또는 BMP7)에는 그렇지 않다.

[0380] 인간 및 마우스에서, BMP9는 간에서 발현되고, BMP9 신호전달이 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압의 발병기전에서 역할을 하는 것으로 여겨진다. 어떠한 이론에 얽매이지는 않지만, BMP9 신호전달이 Smad1/5/8 인산화를 유도하며, 다시 Id1의 활성화를 유도하는 것으로 여겨진다. Id1의 활성화는 간세포 아포토시스, HSC 활성화 및 HSC-EC 크로스-토크를 유도하고, 이는 간 섬유증을 유도한다. 간에서의 BMP9 발현의 활성화가 간세포 세포 사멸 및 간 정상 세포의 활성화, 간 섬유증 및 섬유증 마커 유전자 (예를 들어, αSMA, 비멘틴 및 Col1a1)의 유도, 및 중증 간 손상을 유발하는 것으로 밝혀졌다. 실시예를 포함한 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 BMP9 항체가 BMP9에 대해 (BMP2, BMP10 및/또는 BMP7에 비해) 고도로 특이적이고 시험관내 및 생체내에서 BMP9를 억제하며, BMP9-유도 간 섬유증을 포함하는 BMP9-유도된 간 질환을 억제하는 것을 포함한다는 것이 놀랍게도 예상외로 밝혀졌다.

[0381] BMP9에 대한 다양한 유형의 항체 및 그의 항원-결합 단편이 아래 기재되어 있다.

[0382] 상동 항체

[0383] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 표 1에 기재된 서열에 상동인 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 항체는 BMP9에 결합하고, 표 1에 기재된 항체의 목적하는 기능적 특성을 보유한다.

[0384] 예를 들어, 본 발명은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 모노클로날 항체 (또는 그의 기능적 항원-결합 단편)를 제공하며, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열식별번호: 7, 27, 47, 67, 87, 107, 127, 147 및 167로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 경쇄 가변 영역은 서열식별번호: 17, 37, 57, 77, 97, 107, 117, 137, 157 및 177로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 항체는 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하고, 항체는 BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화, BMP9-유도된 Id1 유도, 섬유증 마커의 BMP9 유도, 및/또는 BMP9-유도된 간 손상을 억제하고, 여기서 임의의 검정은



관련 기술분야에 공지되어 있다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 (본원에 기재된 바와 같은) BRE-Luc 리포터 유전자 검정에서 500 pM 미만의 IC<sub>50</sub> 값을 갖는다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 CC1<sub>4</sub> 마우스 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CC1<sub>4</sub> 마우스 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Smad1/5/8 인산화를 유의하게 억제한다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 마우스 HDI 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 마우스 HDI 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Id1의 BMP9 유도를 유의하게 억제한다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 간 조직을 BMP9-유도된 손상, 예를 들어, 섬유증으로부터 유의하게 보호한다.

[0385] 한 실시양태에서, VH 및/또는 VL 아미노산 서열은 표 1에 제시된 서열에 대해 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 한 실시양태에서, VH 및/또는 VL 아미노산 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 아미노산 위치에서의 아미노산 치환을 제외하고 동일할 수 있다. 표 1에 기재된 것의 VH 및 VL 영역에 대해 높은 (즉, 80% 이상) 동일성을 갖는 VH 및 VL 영역을 갖는 항체는 각각 서열식별번호: 7, 27, 47, 67, 87, 107, 127, 147 또는 167; 및 17, 37, 57, 77, 97, 107, 117, 137, 157 또는 177을 코딩하는 핵산 분자의 돌연변이유발 (예를 들어, 부위-지정 또는 PCR-매개 돌연변이유발)에 이어, 본원에 기재된 기능적 검정을 사용하여 코딩된 변경된 항체를 보유 기능에 대해 시험함으로써 획득될 수 있다.

[0386] 한 실시양태에서, 전장 중쇄 및/또는 전장 경쇄 아미노산 서열은 표 1에 제시된 서열에 대해 50% 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 각각 서열식별번호: 9, 29, 49, 69, 89, 109, 129, 149 또는 169 중 임의의 것의 전장 중쇄 및 서열식별번호: 19, 39, 59, 79, 99, 119, 139, 159, 또는 179 중 임의의 것의 전장 경쇄에 대해 높은 (즉, 80% 이상) 동일성을 갖는 전장 중쇄 및 전장 경쇄를 갖는 항체는 각각 이러한 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자의 돌연변이유발 (예를 들어, 부위-지정 또는 PCR-매개 돌연변이유발)에 이어, 본원에 기재된 기능적 검정을 사용하여 코딩된 변경된 항체를 보유 기능에 대해 시험함으로써 획득될 수 있다.

[0387] 한 실시양태에서, 전장 중쇄 및/또는 전장 경쇄 뉴클레오티드 서열은 표 1에 제시된 서열에 대해 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다.

[0388] 한 실시양태에서, 중쇄 및/또는 경쇄 뉴클레오티드 서열의 가변 영역은 표 1에 제시된 서열에 대해 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다.

[0389] 본원에 사용된, 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수, 및 각각의 갭의 길이를 고려한, 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다 (즉, % 동일성은 동일한 위치의 수/위치의 총수 X 100과 같음). 2개의 서열 사이의 서열 비교 및 퍼센트 동일성의 결정은 아래 비제한적 예에서 기재된 바와 같은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다.

[0390] 추가적으로 또는 대안적으로, 본 발명의 단백질 서열은, 예를 들어, 관련 서열을 확인하기 위해 공중 데이터베이스에 대한 검색을 수행하기 위한 "질의 서열"로서 추가로 사용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 검색은 문헌 [Altschul, et al., 1990 J. Mol. Biol. 215:403-10]의 BLAST 프로그램 (버전 2.0)을 사용하여 수행될 수 있다.

[0391] 보존적 변형을 갖는 항체

[0392] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 가지며, 여기서 이들 CDR 서열 중 1개 이상은 본원에 기재된 항체에 기초하여 명시된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변형을 갖고, 여기서 항체는 본 발명의 BMP9-결합 항체 및 그의 항원-결합 단편의 목적하는 기능적 특성을 보유한다. 따라서, 본 발명은 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역으로 이루어진 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 기능적 항원-결합 단편을 제공하며, 여기서 중쇄 가변 영역 CDR1은 서열식별번호: 1, 4, 21, 24, 41, 44, 61, 64, 81, 84, 101, 104, 121, 124, 141, 144, 161 및 164 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변이체를 포함하고; 중쇄 가변 영역 CDR2는 서열식별번호: 2, 5, 22, 25, 42, 45, 62, 65, 82, 85, 102, 105, 122, 125, 142, 145, 162 및 165 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변이체를 포함하고; 중쇄 가변 영역 CDR3은 서열식별번호: 3, 6, 23, 26, 43, 46, 63, 66, 83, 86, 103, 106, 123, 126, 143, 146, 163 및 166 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변이체를 포함하고; 경쇄 가변 영역 CDR1은 서열식별번호: 11, 14, 31, 34, 51, 54, 71, 74, 91, 94, 111, 114, 131, 134, 151, 154, 171 및 174 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변이체를 포함하고; 경쇄 가변 영역 CDR2는 서열식별번호: 12, 15, 32, 35, 52, 55, 72, 75, 92, 95, 112, 115, 132, 135, 152,

155, 172 및 175 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변이체를 포함하고; 경쇄 가변 영역 CDR3은 서열식별번호: 13, 16, 33, 36, 53, 56, 73, 76, 93, 96, 113, 116, 133, 136, 153, 156, 173 및 176 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변이체를 포함하고; 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 BMP9에 특이적으로 결합하고, 항체는 BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화, BMP9-유도된 Id1 유도, 섬유증 마커의 BMP9 유도, 및/또는 BMP9-유도된 간 손상을 억제하고, 여기서 임의의 검정은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 구체적 예에서, 항체는 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하고, 항체는 BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화, BMP9-유도된 Id1 유도, 섬유증 마커의 BMP9 유도, 및/또는 BMP9-유도된 간 손상을 억제하고, 여기서 임의의 검정은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 (본원에 기재된 바와 같은) BRE-Luc 리포터 유전자 검정에서 500 pM 미만의 IC<sub>50</sub> 값을 갖는다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 CC1<sub>4</sub> 마우스 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CC1<sub>4</sub> 마우스 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Smad1/5/8 인산화를 유의하게 억제한다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 마우스 HDI 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 마우스 HDI 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Id1의 BMP9 유도를 유의하게 억제한다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 간 조직을 BMP9-유도된 손상, 예를 들어, 섬유증으로부터 유의하게 보호한다.

[0393] 한 실시양태에서, 포유동물 세포에서의 발현에 대해 최적화된 본 발명의 항체는 전장 중쇄 서열 및 전장 경쇄 서열을 가지며, 여기서 이들 서열 중 1개 이상은 본원에 기재된 항체에 기초하여 명시된 아미노산 서열 또는 그의 보존적 변형을 갖고, 여기서 항체는 본 발명의 BMP9-결합 항체 및 그의 항원-결합 단편의 목적하는 기능적 특성을 보유한다. 따라서, 본 발명은 전장 중쇄 및 전장 경쇄로 이루어진, 포유동물 세포에서의 발현에 대해 최적화된 단리된 모노클로날 항체를 제공하며, 여기서 전장 중쇄는 서열식별번호: 9, 29, 49, 69, 89, 109, 129, 149, 169의 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 및 그의 보존적 변형을 갖고; 전장 경쇄는 서열식별번호: 19, 39, 59, 79, 99, 119, 139, 159, 179의 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 및 그의 보존적 변형을 갖고; 항체는 BMP9에 특이적으로 결합하고; 항체는 BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화, BMP9-유도된 Id1 유도, 섬유화 마커의 BMP9 유도, 및/또는 BMP9-유도된 간 손상을 억제하고, 여기서 임의의 검정은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 구체적 예에서, 항체는 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하고, 항체는 BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화, BMP9-유도된 Id1 유도, 섬유화 마커의 BMP9 유도, 및/또는 BMP9-유도된 간 손상을 억제하고, 여기서 임의의 검정은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 (본원에 기재된 바와 같은) BRE-Luc 리포터 유전자 검정에서 500 pM 미만의 IC<sub>50</sub>을 갖는다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 CC1<sub>4</sub> 마우스 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CC1<sub>4</sub> 마우스 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Smad1/5/8 인산화를 유의하게 억제한다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 마우스 HDI 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 마우스 HDI 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Id1의 BMP9 유도를 유의하게 억제한다. 구체적 예에서, 이러한 항체는 간 조직을 BMP9-유도된 손상, 예를 들어, 섬유증으로부터 유의하게 보호한다.

[0394] 동일한 에피토프에 결합하는 항체

[0395] 본 발명은 표 1에 열거된 BMP9-결합 항체가 결합하는 것과 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 추가의 항체는 따라서 BMP9 결합 검정에서 본 발명의 다른 항체 및 그의 항원-결합 단편과 교차 경쟁하는 (예를 들어, 통계학적으로 유의한 방식으로 그의 결합을 경쟁적으로 억제하는) 그의 능력에 기초하여 확인될 수 있다. 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 BMP9 단백질에 대한 결합을 억제하는 시험 항체의 능력은 시험 항체가 BMP9에 대한 결합에 대해 그러한 항체와 경쟁할 수 있다는 것을 입증하고; 이러한 항체는, 비제한적 이론에 따라, BMP9 상의 그가 경쟁하는 항체와 동일한 또는 관련된 (예를 들어, 구조적으로 유사한 또는 공간적으로 근접한) 에피토프에 결합할 수 있다. 특정 실시양태에서, BMP9 상의 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편과 동일한 에피토프에 결합하는 항체는 인간 모노클로날 항체이다. 이러한 인간 모노클로날 항체는 본원에 기재된 바와 같이 제조되고 단리될 수 있다. 특정 실시양태에서, BMP9 상의 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편과 동일한 에피토프에 결합하는 항체는 마우스 모노클로날 항체이다. 이러한 마우스 모노클로날 항체는 표 3에 열거된다. 특정 실시양태에서 BMP9 상의 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편과 동일한 에피토프에 결합하는 항체는 표 3에 열거된 마우스 모노클로날 항체로부터 유래된 인간화 모노클로날 항체이다. 특정 실시양태에서, BMP9 상의 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편과 동일한 에피토프에 결합하는 항체는 인간화 모노클로날 항체이다. 이러한 인간화 모노클로날 항체는 본원에 기재된 바와 같이 제조되고 단리될 수 있다.

[0396] 항원 상의 목적하는 에피토프가 결정되면, 예를 들어, 본 발명에 기재된 기술을 사용하여 그러한 에피토프에 대한 항체를 생성하는 것이 가능하다. 대안적으로, 발견 과정 동안, 항체의 생성 및 특징화는 목적하는 에피토프에 대한 정보를 규명할 수 있다. 이 정보로부터, 이어서 동일한 에피토프에 대한 결합에 대해 항체를 경쟁적으

로 스크리닝하는 것이 가능하다. 이를 달성하기 위한 접근법은 서로 경쟁적으로 결합하는 항체, 예를 들어, 항원에 대한 결합에 대해 경쟁하는 항체를 찾기 위한 교차-경쟁 연구를 수행하는 것이다. 그의 교차-경쟁에 기초한 "비닝" 항체에 대한 고처리량 과정이 국제 특허 출원 번호 WO 2003/48731에 기재되어 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 인지될 바와 같이, 실제로 항체가 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 것은 에피토프일 수 있다. 에피토프는 항체가 결합하는 잔기를 포함할 수 있다.

[0397] 일반적으로, 특정한 표적 항원에 대해 특이적인 항체는 단백질 및/또는 거대분자의 복합체 혼합물에서 표적 항원 상의 에피토프를 우선적으로 인식할 것이다.

[0398] 에피토프를 포함하는 주어진 폴리펩티드의 영역은 관련 기술분야에 널리 공지된 임의의 수의 에피토프 매핑 기술을 사용하여 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey]을 참조한다. 예를 들어, 선형 에피토프는 예를 들어, 고체 지지체 상에서 단백질 분자의 부분에 상응하는 펩티드인 다수의 펩티드를 동시에 합성하고, 펩티드가 여전히 지지체에 부착되어 있는 동안 펩티드를 항체와 반응시킴으로써 결정될 수 있다. 이러한 기술은 관련 기술분야에 공지되고, 예를 들어, 미국 특허 번호 4,708,871; 문헌 [Geysen et al., (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002; Geysen et al., (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen et al., (1986) Mol. Immunol. 23:709-715]에 기재되어 있다. 유사하게, 입체형태적 에피토프는, 예를 들어, 수소/중수소 교환, X선 결정학 및 2차원 핵 자기 공명에서와 같이 아미노산 BMP9의 공간 입체형태를 결정함으로써 용이하게 확인된다. 예를 들어, 문헌 [Epitope Mapping Protocols, 상기 문헌]을 참조한다. 단백질의 항원 영역은 또한 표준 항원성 및 소수친수성 플롯, 예컨대, 예를 들어, 옥스포드 몰레큘라 그룹(Oxford Molecular Group)으로부터 입수가능한 오미가(Omiga) 버전 1.0 소프트웨어 프로그램을 사용하여 계산된 것을 사용하여 확인될 수 있다. 이 컴퓨터 프로그램은 항원성 프로파일을 결정하기 위해 호프/우즈(Hopp/Woods) 방법, 문헌 [Hopp et al., (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3824-3828]; 및 소수친수성 플롯을 위해 카이트-둘리틀(Kyte-Doolittle) 기술, 문헌 [Kyte et al., (1982) J. Mol. Biol. 157:105-132]을 사용한다.

[0399] 조작 및 변형된 항체

[0400] 본 발명의 항체는 출발 항체로부터 변경된 특성을 가질 수 있는 변형된 항체를 조작하기 위해 출발 물질로서 본원에 제시된 VH 및/또는 VL 서열 중 1개 이상을 갖는 항체를 사용하여 추가로 제조될 수 있다. 항체는 하나 또는 둘 다의 가변 영역 (즉, VH 및/또는 VL) 내, 예를 들어 1개 이상의 CDR 영역 내 및/또는 1개 이상의 프레임워크 영역 내의 1개 이상의 잔기를 변형시킴으로써 조작될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 항체는, 예를 들어 항체의 이펙터 기능(들)을 변경시키기 위해 불변 영역(들) 내의 잔기를 변형시킴으로써 조작될 수 있다.

[0401] 수행될 수 있는 가변 영역 조작의 하나의 유형은 CDR 그래프팅이다. 항체는 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR)에 위치한 아미노산 잔기를 통해 표적 항원과 우세하게 상호작용한다. 이러한 이유로, CDR 내의 아미노산 서열은 CDR 외부의 서열보다 개별 항체 사이에서 더 다양하다. CDR 서열이 대부분의 항체-항원 상호작용을 담당하기 때문에, 상이한 특성을 갖는 상이한 항체로부터의 프레임워크 서열 상에 그래프팅된 특정한 자연 발생 항체로부터의 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 구축함으로써 특정한 자연 발생 항체의 특성을 모방하는 재조합 항체를 발현하는 것이 가능하다 (예를 들어, 문헌 [Riechmann, L. et al., 1998 Nature 332:323-327; Jones, P. et al., 1986 Nature 321:522-525; Queen, C. et al., 1989 Proc. Natl. Acad., U.S.A. 86:10029-10033]; 미국 특허 번호 5,225,539 (Winter), 및 미국 특허 번호 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 (Queen et al.) 참조).

[0402] 이러한 프레임워크 서열은 배선 항체 유전자 서열 또는 재배열된 항체 서열을 포함하는 공중 DNA 데이터베이스 또는 공개된 참고문헌으로부터 수득될 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 배선 DNA 서열은 "VBase" 인간 배선 서열 데이터베이스 (인터넷 상의 [www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase](http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase)에서 입수가능함)뿐만 아니라, 각각의 내용이 본원에 참조로 명백하게 포함된 문헌 [Kabat, E. A., et al., 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. M., et al., 1992 J. Mol. Biol. 227:776-798; 및 Cox, J. P. L. et al., 1994 Eur. J Immunol. 24:827-836]에서 찾아볼 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 배선 DNA 서열 및 재배열된 항체 서열은 "IMGT" 데이터베이스 (인터넷 상의 [www.imgt.org](http://www.imgt.org)에서 입수가능함; 각각의 내용이 본원에 참조로 명백하게 포함된 문헌 [Lefranc, M.P. et al., 1999 Nucleic Acids Res. 27:209-212] 참조)에서 찾아볼 수 있다.

- [0403] 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편에 사용하기 위한 프레임워크 서열의 예는 선택된 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편에 의해 사용되는 프레임워크 서열, 예를 들어, 본 발명의 모노클로날 항체에 의해 사용되는 컨센서스 서열 및/또는 프레임워크 서열과 구조적으로 유사한 것이다. VH CDR1, 2 및 3 서열, 및 VL CDR1, 2 및 3 서열은 프레임워크 서열이 유래된 배선 이뮤노글로불린 유전자에서 발견되는 것과 동일한 서열을 갖는 프레임워크 영역 상에 그래프팅될 수 있거나, 또는 CDR 서열은 배선 서열과 비교하여 1개 이상의 돌연변이를 함유하는 프레임워크 영역 상에 그래프팅될 수 있다. 예를 들어, 특정 경우에 프레임워크 영역 내의 잔기를 돌연변이시켜 항체의 항원 결합 능력을 유지하거나 또는 증진시키는 것이 유익한 것으로 밝혀졌다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6,180,370 (Queen et al.) 참조).
- [0404] 가변 영역 변형의 또 다른 유형은, "친화도 성숙"으로 공지된, VH 및/또는 VL CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 영역 내의 아미노산 잔기를 돌연변이시켜 관심 항체의 하나 이상의 결합 특성 (예를 들어, 친화도)을 개선시키는 것이다. 부위-지정 돌연변이유발 또는 PCR-매개 돌연변이유발은 돌연변이(들)를 도입하도록 수행될 수 있고 항체 결합에 대한 효과, 또는 다른 관심 기능적 특성은 본원에 기재되고 실시예에 제공된 바와 같은 시험관내 또는 생체내 검정에서 평가될 수 있다. 보존적 변형 (상기 논의된 바와 같음)이 도입될 수 있다. 돌연변이는 아미노산 치환, 부가 또는 결실일 수 있다. 더욱이, 전형적으로 CDR 영역 내의 1, 2, 3, 4 또는 5개 이하의 잔기가 변경된다.
- [0405] 대안적 프레임워크 또는 스캐폴드로의 항원-결합 도메인 그래프팅
- [0406] 매우 다양한 항체/이뮤노글로불린 프레임워크 또는 스캐폴드가 생성된 폴리펩티드가 BMP9에 특이적으로 결합하는 적어도 1개의 결합 영역을 포함하는 한 사용될 수 있다. 이러한 프레임워크 또는 스캐폴드는 5종의 주요 이디오타입의 인간 이뮤노글로불린, 그의 항원-결합 단편을 포함하고, 바람직하게는 인간화 측면을 갖는 다른 동물 종의 이뮤노글로불린을 포함한다. 이와 관련하여 낙타류에서 확인된 것과 같은 단일 중쇄 항체가 특히 관심 대상이다. 신규 프레임워크, 스캐폴드 및 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 계속하여 발견되고 개발되고 있다.
- [0407] 한 측면에서, 본 발명은 본 발명의 CDR이 그래프팅될 수 있는 비-이뮤노글로불린 스캐폴드를 사용하여 비-이뮤노글로불린 기반 항체를 생성하는 방법에 관한 것이다. 표적 BMP9 단백질에 대해 특이적인 결합 영역을 포함하는 한, 공지된 또는 향후 비-이뮤노글로불린 프레임워크 및 스캐폴드가 사용될 수 있다. 공지된 비-이뮤노글로불린 프레임워크 또는 스캐폴드는 피브로넥틴 (컴파운드 테라퓨틱스, 인크.(Compound Therapeutics, Inc.), 매사추세츠주 월섬), 안키린 (몰레큘라 파트너스 아게(Molecular Partners AG), 스위스 취리히), 도메인 항체 (도만티스, 리미티드(Domantis, Ltd.), 매사추세츠주 캠브리지, 및 아블링스 엔브이(Ablynx nv), 벨기에 즈브나아르트), 리포칼린 (피에리스 프로테오랩 아게(Pieris Proteolab AG), 독일 프라이징), 소형 모듈 면역제약 (트루비온 파마슈티칼스 인크.(Trubion Pharmaceuticals Inc.), 워싱턴주 시애틀), 맥시바디 (아비디아, 인크.(Avidia, Inc.), 캘리포니아주 마운틴 뷰), 단백질 A (아피바디 아게(Affibody AG), 스웨덴), 및 아필린 (감마-결정질 또는 유비퀴틴) (실 프로테인스 게엠베하(Sci Proteins GmbH), 독일 할레)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0408] 피브로넥틴 스캐폴드는 피브로넥틴 유형 III 도메인 (예를 들어, 피브로넥틴 유형 III의 제10 모듈 (10 Fn3 도메인))을 기반으로 한다. 피브로넥틴 유형 III 도메인은 단백질의 코어를 형성하도록 그 자체가 서로에 대해 패킹된 2개의 베타 시트 사이에 분포되는 7 또는 8개의 베타 가닥을 갖고, 베타 가닥을 서로 연결하고 용매 노출된 루프 (CDR과 유사)를 추가로 함유한다. 베타 시트 샌드위치의 각각의 가장자리에 적어도 3개의 이러한 루프가 존재하며, 여기서 가장자리는 베타 가닥의 방향에 수직인 단백질의 경계이다 (미국 특허 번호 6,818,418 참조). 이들 피브로넥틴-기반 스캐폴드는 이뮤노글로불린이 아니지만, 전체 폴드는 낙타 및 라마 IgG 내의 전체 항원 인식 단위를 포함하는 중쇄의 가변 영역인 최소의 기능적 항체 단편의 것과 밀접하게 관련된다. 이 구조로 인해, 비-이뮤노글로불린 항체는 숙성 및 친화도가 항체의 것과 유사한 항원 결합 특성을 모방한다. 이들 스캐폴드는 생체내 항체의 친화도 성숙의 과정과 유사한 시험관내 루프 무작위화 및 서플링 전략에 사용될 수 있다. 이들 피브로넥틴-기반 분자는 분자의 루프 영역이 표준 클로닝 기술을 사용하여 본 발명의 CDR로 대체될 수 있는 스캐폴드로서 사용될 수 있다.
- [0409] 안키린 기술은 상이한 표적에 대한 결합에 사용될 수 있는 가변 영역을 보유하기 위해 안키린 유래 반복 모듈을 갖는 단백질을 스캐폴드로서 사용하는 것을 기반으로 한다. 안키린 반복 모듈은 2개의 역평행 알파-헬릭스 및 베타-턴으로 이루어진 33개의 아미노산 폴리펩티드이다. 가변 영역의 결합은 리보솜 디스플레이를 사용함으로써 대부분 최적화된다.



- [0410] 아비머는 단백질 예컨대 LRP-1을 함유하는 천연 A-도메인로부터 유래된다. 이들 도메인은 본래 단백질-단백질 상호작용을 위해 사용되고 인간에서 250종 초과의 단백질은 구조적으로 A-도메인을 기반으로 한다. 아비머는 아미노산 링커를 통해 연결된 다수의 상이한 "A-도메인" 단량체 (2-10개)로 이루어진다. 표적 항원에 결합할 수 있는 아비머는, 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 번호 20040175756; 20050053973; 20050048512; 및 20060008844에 기재된 방법론을 사용하여 생성될 수 있다.
- [0411] 아피바디 친화성 리간드는 단백질 A의 IgG-결합 도메인 중 1개의 스캐폴드에 기초한 3-헬릭스 다발로 구성된 소형의 단순 단백질이다. 단백질 A는 박테리아 스탕필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)로부터의 표면 단백질이다. 이 스캐폴드 도메인은 58개의 아미노산으로 이루어지며, 이 중 13개는 무작위화되어 다수의 리간드 변이체를 갖는 아피바디 라이브러리를 생성한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,831,012 참조). 아피바디 분자는 항체를 모방하고, 이들은 150 kDa인 항체의 분자량에 비해 6 kDa의 분자량을 갖는다. 그의 작은 크기에도 불구하고, 아피바디의 분자의 결합 부위는 항체의 것과 유사하다.
- [0412] 안티칼린은 피에리스 프로테오랩 아게에 의해 개발된 제품이다. 이들은 화학적으로 감수성 또는 불용성 화합물의 생리학적 수송 또는 보관에 통상적으로 수반되는 소형의 강건한 단백질의 광범위한 군인 리포칼린으로부터 유래된다. 여러 천연 리포칼린은 인간 조직 또는 체액에서 발생한다. 단백질 구조는 초가변 루프가 경질 프레임워크의 상부에 존재하는 이뮤노글로불린을 연상시킨다. 그러나, 항체 또는 그의 재조합 단편과 대조적으로, 리포칼린은 160 내지 180개의 아미노산 잔기를 갖는 단일 폴리펩티드 쇄로 구성되며, 단일 이뮤노글로불린 도메인보다 단지 약간 더 크다. 결합 포켓을 구성하는 4개의 루프의 세트는 현저한 구조적 가소성을 제시하고 다양한 측쇄를 허용한다. 따라서 결합 부위는 상이한 형상의 규정된 표적 분자를 고 친화도 및 특이성으로 인식하기 위해 독점적 방법으로 재성형될 수 있다. 리포칼린 패밀리에 속하는 하나의 단백질인 피에리스 브라시카에(*Pieris Brassicae*)의 빌린-결합 단백질 (BBP)은 4개의 루프의 세트를 돌연변이유발시킴으로써 안티칼린을 개발하는 데 사용된 바 있다. 안티칼린을 기재하는 특허 출원 중 하나의 예는 PCT 공개 번호 WO 199916873이다.
- [0413] 아필린 분자는 단백질 및 소분자에 대한 특이적 친화도를 위해 설계된 소형의 비-이뮤노글로불린 단백질이다. 새로운 아필린 분자는 각각 상이한 인간 유래 스캐폴드 단백질을 기반으로 하는 2개의 라이브러리로부터 매우 신속하게 선택될 수 있다. 아필린 분자는 이뮤노글로불린 단백질에 대해 어떠한 구조적 상동성도 나타내지 않는다. 현재, 2개의 아필린 스캐폴드가 사용되며, 이 중 하나는 감마 결정질인 인간 구조적 안구 수정체 단백질이고 다른 것은 "유비퀴틴" 슈퍼패밀리 단백질이다. 인간 스캐폴드 둘 다는 매우 소형이고, 고온 안정성을 나타내고 pH 변화 및 변성제에 거의 저항적이다. 이 높은 안정성은 주로 단백질의 확장된 베타 시트 구조로 인한 것이다. 감마 결정질 유래 단백질의 예는 WO200104144에 기재되어 있고 "유비퀴틴-유사" 단백질의 예는 WO2004106368에 기재되어 있다.
- [0414] 단백질 에피토프 모방체 (PEM) 단백질-단백질 상호작용에 수반되는 주요 2차 구조인 단백질의 베타-헤어핀 2차 구조를 모방하는 중간-크기의 시클릭 펩티드-유사 분자 (MW 1-2 kDa)이다.
- [0415] 인간 BMP9-결합 항체는 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 인간공학 기술이 비-인간 항체를 조작된 인간 항체로 전환시키는 데 사용된다. 미국 특허 공개 번호 20050008625는 비인간 항체의 것과 비교하여 동일한 결합 특징을 유지하거나 또는 보다 우수한 결합 특징을 제공하면서 항체에서 비인간 항체 가변 영역을 인간 가변 영역으로 대체하는 생체내 방법을 기재한다. 방법은 비-인간 참조 항체의 가변 영역의 완전 인간 항체로의 에피토프 유도된 대체에 의존한다. 생성된 인간 항체는 일반적으로 참조 비인간 항체와 구조적으로 관련되지 않지만, 참조 항체와 동일한 항원 상의 동일한 에피토프에 결합한다. 간략하게, 일련의 에피토프-유도된 상보성 대체 접근법은 시험 항체의 항원에 대한 결합에 반응하는 리포터 시스템의 존재 하에 제한된 양의 항원에 대한 결합에 대해 "경쟁자"와 참조 항체의 다양한 하이브리드의 라이브러리 ("시험 항체") 사이의 세포내 경쟁을 설정함으로써 가능하게 된다. 경쟁자는 참조 항체 또는 그의 유도체 예컨대 단일-쇄 Fv 단편일 수 있다. 경쟁자는 또한 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는, 항원의 천연 또는 인공 리간드일 수 있다. 경쟁자의 유일한 요건은 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 것, 및 항원 결합에 대해 참조 항체와 경쟁하는 것이다. 시험 항체는 비인간 참조 항체로부터의 공통적인 1개의 항원-결합 V-영역, 및 다양한 공급원 예컨대 인간 항체의 레퍼토리 라이브러리로부터 무작위로 선택된 다른 V-영역을 갖는다. 참조 항체로부터의 공통 V-영역은 가이드로서 역할을 하고, 시험 항체를 항원 상의 동일한 에피토프 상에 동일한 배향으로 위치시켜, 선택이 참조 항체에 대해 가장 높은 항원-결합 충실도를 향해 편향되도록 한다.
- [0416] 많은 유형의 리포터 시스템이 시험 항체와 항원 사이의 목적하는 상호작용을 검출하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 상보적 리포터 단편은 단편 상보성에 의한 리포터 활성화가 단지 시험 항체가 항원에 결합하는 경우에

만 발생하도록 각각 항원 및 시험 항체에 연결될 수 있다. 시험 항체- 및 항원-리포터 단편 융합체가 경쟁자와 공동-발현되는 경우에, 리포터 활성화는 경쟁자와 경쟁하는 시험 항체의 능력에 의존하게 되고, 이는 시험 항체의 항원에 대한 친화도에 비례한다. 사용될 수 있는 다른 리포터 시스템은 미국 출원 일련 번호 10/208,730 (공개 번호 20030198971)에 개시된 바와 같은 자가-억제 리포터 재활성화 시스템 (RAIR)의 재활성화제, 또는 미국 특허 출원 일련 번호 10/076,845 (공개 번호 20030157579)에 개시된 경쟁적 활성화 시스템을 포함한다.

[0417] 일련의 에피토프-유도된 상보성 대체 시스템에 의해, 경쟁자, 항원, 및 리포터 성분과 함께 단일 시험 항체를 발현하는 세포를 확인하는 선택이 이루어진다. 이들 세포에서, 각각의 시험 항체는 제한된 양의 항원에 대한 결합에 대해 경쟁자와 일-대-일로 경쟁한다. 리포터의 활성화는 시험 항체에 결합된 항원의 양에 비례하며, 이는 다시 시험 항체의 항원에 대한 친화도 및 시험 항체의 안정성에 비례한다. 시험 항체는 처음에 시험 항체로서 발현되는 경우에 참조 항체의 것에 비한 그의 활성화에 기초하여 선택된다. 선택의 제1 라운드의 결과는 "하이브리드" 항체의 세트이고, 이들 각각은 참조 항체로부터의 동일한 비-인간 V-영역 및 라이브러리로부터의 인간 V-영역으로 구성되고, 이들 각각은 항원 상의 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 제1 라운드에서 선택된 하이브리드 하나 이상이 참조 항체의 것과 대등하거나 또는 그보다 더 높은 항원에 대한 친화도를 가질 것이다.

[0418] 제2 V-영역 대체 단계에서, 제1 단계에서 선택된 인간 V-영역은 나머지 비-인간 참조 항체 V-영역의 동족 인간 V-영역의 다양한 라이브러리의 인간 대체의 선택을 위한 가이드로서 사용된다. 제1 라운드에서 선택된 하이브리드 항체는 또한 제2 라운드의 선택을 위한 경쟁자로서 사용될 수 있다. 제2 라운드의 선택의 결과는 참조 항체와 구조적으로 상이하지만 동일한 항원에 대한 결합에 대해 참조 항체와 경쟁하는 완전 인간 항체의 세트이다. 선택된 인간 항체 중 일부는 참조 항체와 동일한 항원 상의 동일한 에피토프에 결합한다. 이들 선택된 인간 항체 중에서, 하나 이상은 참조 항체의 것과 대등하거나 또는 그보다 더 높은 친화도로 동일한 에피토프에 결합한다.

[0419] 상기 기재된 마우스 또는 키메라 BMP9-결합 항체 중 하나를 참조 항체로서 사용하여, 이 방법은 동일한 결합 특이성 및 동일한 또는 보다 우수한 결합 친화도로 인간 BMP9에 결합하는 인간 항체를 생성하는 데 용이하게 사용될 수 있다. 또한, 이러한 인간 BMP9-결합 항체는 또한 인간 항체를 통상적으로 생산하는 회사, 예를 들어, 칼로바이오스, 인크.(KaloBios, Inc.) (캘리포니아주 마운틴 뷰)로부터 상업적으로 입수될 수 있다.

[0420] 낙타류 항체

[0421] 신세계 구성원 예컨대 라마 종 (라마 파코스(Lama paccos), 라마 글라마(Lama glama) 및 라마 비쿠그나(Lama vicugna))을 포함하는 낙타 및 단봉낙타 (카멜루스 박트리아누스(Camelus bactrianus) 및 카멜루스 드로메다리우스(Camelus dromedarius)) 패밀리의 구성원으로부터 수득된 항체 단백질은 크기, 구조적 복잡성 및 인간 대상체에 대한 항원성과 관련하여 특징화되었다. 자연에서 발견된 바와 같은 이 패밀리의 포유동물로부터의 특정 IgG 항체는 경쇄가 결여되고, 따라서 다른 동물로부터의 항체의 경우에 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 갖는 전형적인 4개의 쇠 4차 구조와 구조적으로 구별된다. PCT/EP93/02214 (1994년 3월 3일에 공개된 WO 94/04678)를 참조한다.

[0422] VH로 확인된 소형의 단일 가변 도메인인 낙타류 항체의 영역은 "낙타류 나노바디"로 공지된 저분자량 항체-유래 단백질을 생산하는, 표적에 대해 고친화도를 갖는 소형의 단백질을 생산하도록 유전자 조작함으로써 수득될 수 있다. 1998년 6월 2일에 허여된 미국 특허 번호 5,759,808을 참조하고; 또한 문헌 [Stijlemans, B. et al., 2004 J Biol Chem 279: 1256-1261; Dumoulin, M. et al., 2003 Nature 424: 783-788; Pleschberger, M. et al. 2003 Bioconjugate Chem 14: 440-448; Cortez-Retamozo, V. et al. 2002 Int J Cancer 89: 456-62; 및 Lauwereys, M. et al. 1998 EMBO J 17: 3512-3520]을 참조한다. 낙타류 항체 및 항체 단편의 조작된 라이브러리는, 예를 들어, 아블링스 벨기에 겐트로부터 상업적으로 입수가 가능하다. 비-인간 기원의 다른 항체 및 그의 항원-결합 단편에서와 같이, 낙타류 항체의 아미노산 서열은 재조합적으로 변경되어 인간 서열과 보다 밀접하게 유사한 서열을 수득할 수 있으며, 즉, 나노바디는 "인간화"될 수 있다. 따라서 인간에 대한 낙타류 항체의 자연적으로 낮은 항원성은 추가로 감소될 수 있다.

[0423] 낙타류 나노바디는 인간 IgG 분자량의 대략 1/10의 분자량을 갖고, 단백질은 단지 수 나노미터의 물리적 직경을 갖는다. 소형 크기의 하나의 결과는 보다 큰 항체 단백질의 경우에는 기능적으로 보이지 않는 항원 부위에 결합하는 낙타류 나노바디의 능력이며, 즉, 낙타류 나노바디는 전형적인 면역학적 기술을 사용하여 달리 알 수 없는 항원을 검출하는 시약으로서 및 가능한 치료제로서 유용하다. 따라서 소형 크기의 또 다른 결과는 낙타류 나노바디가 표적 단백질의 홈 또는 좁은 틈새에서의 특이적 부위에 대한 결합의 결과로서 억제할 수 있고, 따라서 전형적인 항체의 기능보다 전형적인 저분자량 약물의 기능과 더 근접하게 유사한 능력을 제공할 수 있다는

것이다.

- [0424] 저분자량 및 조밀한 크기는 추가로 낙타류 나노바디가 극도로 열안정성이고, 극도의 pH 및 단백질분해적 소화에 대해 안정하고, 낮은 항원성이도록 한다. 또 다른 결과는 낙타류 나노바디가 순환계로부터 조직 내로 용이하게 이동하고, 심지어 혈액-뇌 장벽을 가로지르고 신경 조직에 영향을 미치는 장애를 치료할 수 있다는 것이다. 나노바디는 추가로 혈액 뇌 장벽을 가로지르는 약물 수송을 용이하게 할 수 있다. 2004년 8월 19일에 공개된 미국 특허 출원 20040161738을 참조한다. 인간에 대한 낮은 항원성과 조합된 이들 특색은 큰 치료 잠재력을 나타낸다. 추가로, 이들 분자는 원핵 세포 예컨대 이.콜라이(E.coli)에서 완전히 발현될 수 있고 박테리오파지와 융합 단백질로서 발현되고 기능적이다.
- [0425] 따라서, 본 발명의 특색은 BMP9에 대해 고친화도를 갖는 낙타류 항체 또는 나노바디이다. 본원의 한 실시양태에서, 낙타류 항체 또는 나노바디는 자연적으로 낙타류 동물에서 생산되며, 즉, 다른 항체에 대해 본원에 기재된 기술을 사용하여 BMP9 또는 그의 펩티드 단편으로의 면역화 후의 낙타류에 의해 생산된다. 대안적으로, BMP9-결합 낙타류 나노바디는 조작되며, 즉, 본원의 실시예에 기재된 바와 같이 표적으로서 BMP9를 사용하는 패닝 절차를 사용하여 적절하게 돌연변이유발된 낙타류 나노바디 단백질을 디스플레이하는 파지의 라이브러리로부터의 선택에 의해 생산된다. 조작된 나노바디는 수용자 대상체 내에서의 반감기가 45분 내지 2주가 되도록 유전자 조작함으로써 추가로 맞춤화될 수 있다. 구체적 실시양태에서, 낙타류 항체 또는 나노바디는 예를 들어 PCT/EP93/02214에 기재된 바와 같이, 본 발명의 인간 항체의 중쇄 또는 경쇄의 CDR 서열을 나노바디 또는 단일 도메인 항체 프레임워크 서열 내로 그래프팅함으로써 취득된다.
- [0426] 이중특이적 분자 및 다가 항체
- [0427] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 BMP9-결합 항체 또는 그의 단편을 포함하는 이중특이적 또는 다중특이적 분자를 특색으로 한다. 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 영역은 유도체화되거나 또는 또 다른 기능적 분자, 예를 들어, 또 다른 펩티드 또는 단백질 (예를 들어, 또 다른 항체 또는 수용체에 대한 리간드)에 연결되어 적어도 2개의 상이한 결합 부위 또는 표적 분자에 결합하는 이중특이적 분자를 생성할 수 있다. 본 발명의 항체는 실제로 유도체화되거나 또는 1개 초과와 다른 기능적 분자에 연결되어 2개 초과와 상이한 결합 부위 및/또는 표적 분자에 결합하는 다중특이적 분자를 생성할 수 있고; 이러한 다중특이적 분자는 또한 본원에 사용된 용어 "이중특이적 분자"에 의해 포괄되는 것으로 의도된다. 본 발명의 이중특이적 분자를 생성하기 위해, 본 발명의 항체는 이중특이적 분자를 생성하도록 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전자 융합, 비공유 회합 또는 다른 것에 의함) 1종 이상의 다른 결합 분자, 예컨대 또 다른 항체, 항체 단편, 펩티드 또는 결합 모방체에 기능적으로 연결될 수 있다.
- [0428] 따라서, 본 발명은 BMP9에 대한 적어도 1개의 제1 결합 특이체 및 제2 표적 에피토프에 대한 제2 결합 특이체를 포함하는 이중특이적 분자를 포함한다. 예를 들어, 제2 표적 에피토프는 제1 표적 에피토프와 상이한 BMP9의 또 다른 에피토프이다.
- [0429] 추가적으로, 이중특이적 분자가 다중특이적인 본 발명의 경우에, 분자는 제1 및 제2 표적 에피토프 이외에도 제3 결합 특이체를 추가로 포함할 수 있다.
- [0430] 한 실시양태에서, 본 발명의 이중특이적 분자는 결합 특이체로서 적어도 1종의 항체 또는, 예를 들어, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 또는 단일 쇠 Fv를 포함하는 그의 항체 단편을 포함한다. 항체는 또한 미국 특허 번호 4,946,778 (Ladner et al.)에 기재된 바와 같은 경쇄 또는 중쇄 이량체, 또는 임의의 그의 최소 단편 예컨대 Fv 또는 단일 쇠 구축물일 수 있다.
- [0431] 디아바디는 동일한 쇠 상에서 2개의 도메인 사이에 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커에 의해 연결된 VH 및 VL 도메인이 단일 폴리펩티드 상에서 발현되는 2개의, 이중특이적 분자이다. VH 및 VL 도메인은 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍형성하고, 이에 의해 2개의 항원 결합 부위를 생성한다 (예를 들어, 문헌 [Holliger et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poijak et al., 1994 Structure 2:1121-1123] 참조). 디아바디는 동일한 세포 내에 구조 VHA-VLB 및 VHB-VLA (VH-VL 배위), 또는 VLA-VHB 및 VLB-VHA (VL-VH 배위)를 갖는 2개의 폴리펩티드 쇠를 발현함으로써 생산될 수 있다. 이들 중 대부분은 박테리아에서 가용성 형태로 발현될 수 있다. 단일 쇠 디아바디 (scDb)는 2개의 디아바디-형성 폴리펩티드 쇠를 대략 15개의 아미노산 잔기의 링커에 연결시킴으로써 생산된다 (문헌 [Holliger and Winter, 1997 Cancer Immunol. Immunother., 45 (3-4):128-30; Wu et al., 1996 Immunotechnology, 2 (1):21-36] 참조). scDb는 박테리아에서 가용성, 활성 단량체 형태로 발현될 수 있다 (문헌 [Holliger and Winter, 1997 Cancer Immunol. Immunother., 45 (34): 128-30;



Wu et al., 1996 Immunotechnology, 2 (1):21-36; Pluckthun and Pack, 1997 Immunotechnology, 3 (2): 83-105; Ridgway et al., 1996 Protein Eng., 9 (7):617-21] 참조). 디아바디는 Fc에 융합되어 "디-디아바디"를 생성할 수 있다 (문헌 [Lu et al., 2004 J. Biol. Chem., 279 (4):2856-65] 참조).

[0432] 본 발명의 이중특이적 분자에 사용될 수 있는 다른 항체는 뮤린, 키메라 및 인간화 모노클로날 항체이다.

[0433] 본 발명의 이중특이적 분자는 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 구성성분 결합 특이체를 접합시킴으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 이중특이적 분자의 각각의 결합 특이체는 개별적으로 생성되고 이어서 서로 접합될 수 있다. 결합 특이체가 단백질 또는 펩티드인 경우에, 다양한 커플링제 또는 가교제는 공유 접합에 사용될 수 있다. 가교제의 예는 단백질 A, 카르보다이미드, N-숙신이미딜-5-아세틸-티오아세테이트 (SATA), 5,5'-디티오비스 (2-니트로벤조산) (DTNB), o-페닐렌디말레이미드 (oPDM), N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (SPDP), 및 술포숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트 (술포-SMCC)를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Karpovsky et al., 1984 J. Exp. Med. 160:1686; Liu, M A et al., 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648] 참조). 다른 방법은 문헌 [Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al., 1985 Science 229:81-83, 및 Glennie et al., 1987 J. Immunol. 139: 2367-2375]에 기재된 것을 포함한다. 접합체는 둘 다 피어스 케미칼 캠퍼니(Pierce Chemical Co.) (일리노이주 록포드)로부터 입수가 가능한 SATA 및 술포-SMCC이다.

[0434] 결합 특이체가 항체인 경우에, 이들은 2개의 중쇄의 C-말단 힌지 영역의 술포히드릴 결합에 의해 접합될 수 있다. 특정한 실시양태에서, 힌지 영역은 접합 전에 홀수, 예를 들어 1개의 술포히드릴 잔기를 함유하도록 변형된다.

[0435] 대안적으로, 둘 다의 결합 특이체는 동일한 벡터 내에 코딩되고 동일한 숙주 세포에서 발현되고 조립될 수 있다. 이 방법은 이중특이적 분자가 mAb X mAb, mAb X Fab, Fab X F(ab')<sub>2</sub> 또는 리간드 X Fab 융합 단백질인 경우에 특히 유용하다. 본 발명의 이중특이적 분자는 1개의 단일쇄 항체 및 결합 결정기를 포함하는 단일쇄 분자, 또는 2개의 결합 결정기를 포함하는 단일쇄 이중특이적 분자일 수 있다. 이중특이적 분자는 적어도 2개의 단일쇄 분자를 포함할 수 있다. 이중특이적 분자를 제조하는 방법은 예를 들어 미국 특허 번호 5,260,203; 미국 특허 번호 5,455,030; 미국 특허 번호 4,881,175; 미국 특허 번호 5,132,405; 미국 특허 번호 5,091,513; 미국 특허 번호 5,476,786; 미국 특허 번호 5,013,653; 미국 특허 번호 5,258,498; 및 미국 특허 번호 5,482,858에 기재되어 있다.

[0436] 이중특이적 분자의 그의 특이적 표적에 대한 결합은, 예를 들어, 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA), 방사선면역 검정 (REA), FACS 분석, 생물검정 (예를 들어, 성장 억제), 또는 웨스턴 블롯 검정에 의해 확인될 수 있다. 각각의 이들 검정은 일반적으로 관심 복합체에 대해 특이적인 표지된 시약 (예를 들어, 항체)을 사용함으로써 특정한 관심 단백질-항체 복합체의 존재를 검출한다.

[0437] 또 다른 측면에서, 본 발명은 BMP9에 결합하는 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 적어도 2개의 동일한 또는 상이한 항원-결합 부분을 포함하는 다가 화합물을 제공한다. 항원-결합 부분은 단백질 융합 또는 공유 또는 비 공유 연결을 통해 함께 연결될 수 있다. 대안적으로, 연결 방법은 이중특이적 분자에 대해 기재된 바 있다. 4가 화합물은 예를 들어 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편을 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 불변 영역, 예를 들어 Fc 또는 힌지 영역에 결합하는 항체 또는 항원-결합 단편과 가교시킴으로써 수득될 수 있다.

[0438] 삼량체화 도메인은 예를 들어 특허 EP 1 012 280B1 (Boreau)에 기재되어 있다. 오량체화 모듈은 예를 들어 PCT/EP97/05897에 기재되어 있다.

[0439] 연장된 반감기를 갖는 항체

[0440] 본 발명은 생체내에서 연장된 반감기를 갖는, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다.

[0441] 많은 인자가 단백질의 생체내 반감기에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 신장 여과, 간에서의 대사, 단백질분해 효소 (프로테아제)에 의한 분해, 및 면역원성 반응 (예를 들어, 항체에 의한 단백질 중화 및 대식세포 및 수지상 세포에 의한 흡수). 다양한 전략이 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 반감기를 연장하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌글리콜 (PEG), reCODE PEG, 항체 스캐폴드, 폴리스알산 (PSA), 히드록시에틸 전분 (HES), 알부민-결합 리간드, 및 탄수화물 실드에 대한 화학적 연결; 혈청 단백질, 예컨대 알부민, IgG, FcRn, 및 트랜스페린에 결합하는 단백질에의 유전자 융합; 혈청 단백질, 예컨대 나노바디, Fab, DARPIn, 아비머, 아피바디, 및 안티칼린에 결합하는 다른 결합 모이어티에 대한 (유전학적 또는 화학적) 커플링; rPEG,

알부민, 알부민의 도메인, 알부민-결합 단백질, 및 Fc에의 유전자 융합; 또는 나노담체, 느린 방출 제제, 또는 의료 기기 내로의 혼입에 의한다.

[0442] 항체의 생체내 혈청 순환을 연장하기 위해, 불활성 중합체 분자 예컨대 고분자량 PEG는 다중기능적 링커를 사용하거나 또는 사용하지 않고 항체 또는 그의 단편에, 항체의 N- 또는 C-말단에서의 PEG의 부위-특이적 접합을 통해 또는 리신 잔기에 존재하는 앰실론-아미노기를 통해 부착될 수 있다. 항체를 PEG화하기 위해, 항체, 그의 항원-결합 단편은 전형적으로 1개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 기가 항체 또는 항체 단편에 부착되는 조건 하에 PEG, 예컨대 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체와 반응한다. PEG화는 반응성 PEG 분자 (또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와의 아실화 반응 알킬화 반응에 의해 수행될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "폴리에틸렌 글리콜"은 다른 단백질을 유도체화하는 데 사용된 임의의 형태의 PEG, 예컨대 모노 (C1-C10)알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜-말레이미드를 포괄하도록 의도된다. 한 실시양태에서, PEG화되는 항체는 비-글리코실화 항체이다. 최소한의 생물학적 활성의 손실을 일으키는 선형 또는 분지형 중합체 유도체화가 사용될 것이다. 접합의 정도가 SDS-PAGE 및 질량 분광측정법에 의해 면밀히 모니터링되어 PEG 분자의 항체에 대한 적절한 접합을 보장할 수 있다. 미반응 PEG는 크기-배제 또는 이온-교환 크로마토그래피에 의해 항체-PEG 접합체로부터 분리될 수 있다. PEG-유도체화된 항체는 관련 기술분야의 통상에 기술자에게 널리 공지된 방법을 사용하여, 예를 들어, 본원에 기재된 면역검정에 의해 결합 활성뿐만 아니라 생체내 효능에 대해 시험될 수 있다. 단백질을 PEG화하는 방법은 관련 기술분야에 공지되고 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편에 적용될 수 있다. 예를 들어, EP 0 154 316 (Nishimura et al.) 및 EP 0 401 384 (Ishikawa et al.)를 참조한다.

[0443] 다른 변형된 PEG화 기술은 tRNA 신테타제 및 tRNA를 포함하는 재구성된 시스템을 통해 화학적으로 명시된 측쇄를 생합성 단백질 내로 혼입시키는 화학적으로 직교 지시된 조작 기술의 재구성 (ReCODE PEG)을 포함한다. 이 기술은 이.콜라이, 효모, 및 포유동물 세포에서 30개 초과로 새로운 아미노산이 생합성 단백질 내로 혼입될 수 있게 한다. tRNA는 앰버 코돈이 위치한 임의의 위치에 규범적 아미노산을 혼입시켜, 앰버를 정지 코돈으로부터 화학적으로 명시된 아미노산의 혼입을 신호전달하는 것으로 전환시킨다.

[0444] 재조합 PEG화 기술 (rPEG)은 또한 혈청 반감기 연장에 사용될 수 있다. 이 기술은 300-600개의 아미노산 비구조화 단백질 꼬리를 기존 제약 단백질에 유전적으로 융합시키는 것을 수반한다. 이러한 비구조화 단백질 쇄의 겔보리 분자량은 그의 실제 분자량보다 약 15-배 더 크기 때문에, 단백질의 혈청 반감기는 크게 증가된다. 화학적 접합 및 재정제를 필요로 하는 전통적인 PEG화와 대조적으로, 제조 방법은 크게 단순화되고 생성물은 균질하다.

[0445] 폴리시알화는 천연 중합체 폴리시알산 (PSA)을 활성 수명을 연장하고 치료 펩티드 및 단백질의 안정성을 개선시키는 데 사용하는 또 다른 기술이다. PSA는 시알산 (당)의 중합체이다. 단백질 및 치료 펩티드 약물 전달에 사용되는 경우에, 폴리시알산은 접합에 대한 보호성 미세환경을 제공한다. 이는 순환 중인 치료 단백질의 활성 수명을 증가시키고 면역계에 의해 인식되는 것을 방지한다. PSA 중합체는 인간 신체에서 자연적으로 발견된다. 이는 특정 박테리아에 의해 채택되어 수백만년에 걸쳐 그의 벽을 이것으로 코팅하도록 진화되었다. 이들 천연 폴리시알릴화 박테리아는 이어서 분자 모방에 의해 신체의 방어 시스템을 이겨낼 수 있었다. 자연의 궁극적인 은폐 기술인 PSA는 이러한 박테리아로부터 대량으로 미리 결정된 물리적 특징을 갖는 것으로 용이하게 생산될 수 있다. 박테리아 PSA는 인간 신체에서 PSA와 화학적으로 동일하기 때문에 단백질에 커플링된 경우에도 완전히 비-면역원성이다.

[0446] 또 다른 기술은 항체에 연결된 히드록시에틸 전분 ("HES") 유도체의 사용을 포함한다. HES는 찰옥수수 전분으로부터 유래된 변형된 천연 중합체이고 신체의 효소에 의해 대사될 수 있다. HES 용액은 통상적으로 투여되어 결핍된 혈액량을 대체하고 혈액의 레올로지 특성을 개선시킨다. 항체의 HES화는 분자의 안정성을 증가시킬 뿐만 아니라 신장 클리어런스를 감소시킴으로써 순환 반감기의 연장을 가능하게 하여, 증가된 생물학적 활성을 일으킨다. 상이한 파라미터, 예컨대 HES의 분자량을 변경시킴으로써, 광범위한 HES 항체 접합체는 맞춤화될 수 있다.

[0447] 증가된 생체내 반감기를 갖는 항체는 또한 1개 이상의 아미노산 변형 (즉, 치환, 삽입 또는 결실)을 IgG 불변 도메인, 또는 그의 FcRn 결합 단편 (바람직하게는 Fc 또는 힌지 Fc 도메인 단편)에 도입하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 국제 공개 번호 WO 98/23289; 국제 공개 번호 WO 97/34631; 및 미국 특허 번호 6,277,375를 참조한다.

[0448] 추가로, 항체는 항체 또는 항체 단편을 생체내에서 보다 안정적이게 하거나 또는 보다 긴 생체내 반감기를 갖도

록 하기 위해 알부민에 접합될 수 있다. 이 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되며, 예를 들어, 국제 공개 번호 WO 93/15199, WO 93/15200, 및 WO 01/77137; 및 유럽 특허 번호 EP 413,622를 참조한다.

[0449] 반감기를 증가시키는 전략은 증가된 생체내 반감기가 목적되는 나노바디, 피브로넥틴-기반 결합체, 및 다른 항체 또는 단백질에 특히 유용하다.

[0450] 항체 접합체

[0451] 본 발명은 이중 단백질 또는 폴리펩티드 (또는 그의 항원-결합 단편, 바람직하게는 적어도 10, 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 아미노산의 폴리펩티드)에 재조합적으로 융합되거나 또는 화학적으로 접합되어 (공유 및 비-공유 결합 둘 다 포함) 융합 단백질을 생성하는, BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다. 특히, 본 발명은 본원에 기재된 항체의 항원-결합 단편 (예를 들어, Fab 단편, Fd 단편, Fv 단편, F(ab)<sub>2</sub> 단편, VH 도메인, VH CDR, VL 도메인 또는 VL CDR) 및 이중 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드를 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드를 항체 또는 항체 단편에 융합시키거나 또는 접합시키는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,336,603, 5,622,929, 5,359,046, 5,349,053, 5,447,851, 및 5,112,946; 유럽 특허 번호 EP 307,434 및 EP 367,166; 국제 공개 번호 WO 96/04388 및 WO 91/06570; 문헌 [Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10535-10539; Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154:5590-5600; 및 Vil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341]을 참조한다.

[0452] 추가의 융합 단백질은 유전자-서플링, 모티프-서플링, 엑손-서플링, 및/또는 코돈-서플링 (집합적으로 "DNA 서플링"으로 지칭됨)의 기술을 통해 생성될 수 있다. DNA 서플링은 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 활성을 변경시키는 데 (예를 들어, 보다 높은 친화도 및 보다 낮은 해리율을 갖는 항체 및 그의 항원-결합 단편) 사용될 수 있다. 일반적으로, 미국 특허 번호 5,605,793, 5,811,238, 5,830,721, 5,834,252, 및 5,837,458; 문헌 [Patten et al., 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16 (2):76-82; Hansson, et al., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; 및 Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24 (2):308-313] (각각의 이들 특허 및 공개는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다. 항체 및 그의 항원-결합 단편, 또는 코딩된 항체 및 그의 항원-결합 단편은, 재조합 전의 오류-유발 PCR, 무작위 뉴클레오타이드 삽입 또는 다른 방법에 의한 무작위 돌연변이유발에 적용됨으로써 변경될 수 있다. BMP9에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 1종 이상의 이중 분자의 1종 이상의 성분, 모티프, 절편, 부분, 도메인, 단편 등과 재조합될 수 있다.

[0453] 더욱이, 항체 및 그의 항원-결합 단편은 마커 서열, 예컨대 정제를 용이하게 하는 펩티드에 융합될 수 있다. 한 실시양태에서, 마커 아미노산 서열은 핵사-히스티딘 펩티드 (서열식별번호: 218), 예컨대 특허 pQE 벡터 (퀴아젠, 인크.(QIAGEN, Inc.), 91311 캘리포니아주 채츠워스 에튼 애비뉴 9259)에서 제공되는 태그이며, 이들 중 다수가 상업적으로 입수가능하다. 문헌 [Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824]에 기재된 바와 같이, 예를 들어, 핵사-히스티딘 (서열식별번호: 218)은 융합 단백질의 편리한 정제를 제공한다. 정제에 유용한 다른 펩티드 태그는 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유래된 에피토프에 상응하는 헤마글루티닌 ("HA") 태그 (Wilson et al., 1984, Cell 37:767), 및 "플래그" 태그를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0454] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 진단제 또는 검출가능한 작용제에 접합된다. 이러한 항체는 특정한 요법의 효능을 결정하는 것과 같은 임상 시험 절차의 일부로서 질환 또는 장애의 개시, 발생, 진행 및/또는 중증도를 모니터링하거나 또는 예후하는 데 유용할 수 있다. 이러한 진단 및 검출은 항체를, 다양한 효소, 예컨대, 비제한적으로, 양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제, 또는 아세틸콜린에스테라제; 보결분자단, 예컨대, 비제한적으로, 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴; 형광 물질, 예컨대, 비제한적으로, 옴벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단일 클로라이드 또는 피코에리트린; 발광 물질, 예컨대, 비제한적으로, 루미놀; 생물 발광 물질, 예컨대 비제한적으로, 루시페라제, 루시페린, 및 에퀴린; 방사성 물질, 예컨대, 비제한적으로, 아이오딘 (131I, 125I, 123I, 및 121I), 탄소 (14C), 황 (35S), 삼중수소 (3H), 인듐 (115In, 113In, 112In, 및 111In), 테크네튬 (99Tc), 탈륨 (201Tl), 갈륨 (68Ga, 67Ga), 팔라듐 (103Pd), 몰리브데넘 (99Mo), 크세논 (133Xe), 플루오린 (18F), 153Sm, 177Lu, 159Gd, 149 Pm, 140La, 175Yb, 166Ho, 90Y, 47Sc, 186Re, 188Re, 142Pr, 105Rh, 97Ru, 68Ge, 57Co, 65Zn, 85Sr, 32P, 153Gd, 169Yb, 51Cr, 54Mn, 75Se, 113Sn, 및 117Tl; 및 다양한 양전자 방출 단층촬영을 사용하는 양전자 방출 금속, 및 비방사성 상자성 금속 이온을 포함하나, 이에

제한되지는 않는 검출가능한 물질에 커플링시킴으로써 달성될 수 있다.

- [0455] 본 발명은 치료 모이어티에 접합된 항체 및 그의 항원-결합 단편의 용도를 추가로 포괄한다. 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 치료 모이어티 예컨대 세포독소, 예를 들어, 세포증식억제제 또는 세포파괴제, 치료제 또는 방사성 금속 이온, 예를 들어, 알파-방출체에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 작용제를 포함한다.
- [0456] 추가로, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 주어진 생물학적 반응을 변형시키는 치료 모이어티 또는 약물 모이어티에 접합될 수 있다. 치료 모이어티 또는 약물 모이어티는 전형적인 화학적 치료제로 제한되는 것으로 해석되지 않는다. 예를 들어, 약물 모이어티는 목적하는 생물학적 활성을 보유하는 단백질, 펩티드, 또는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질은, 예를 들어, 독소 예컨대 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 콜레라 독소, 또는 디프테리아 독소; 단백질 예컨대 종양 괴사 인자, 알파-인터페론, 베타-인터페론, 신경 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 조직 플라스미노겐 활성화제, 아포토시스제, 항혈관신생제; 또는, 생물학적 반응 조절제 예컨대, 예를 들어, 림포카인을 포함할 수 있다.
- [0457] 더욱이, 항체는 치료 모이어티 예컨대 방사성 금속 이온, 예컨대 알파-방출체 예컨대  $^{213}\text{Bi}$  또는  $^{131}\text{In}$ ,  $^{131}\text{Lu}$ ,  $^{131}\text{Y}$ ,  $^{131}\text{Ho}$ ,  $^{131}\text{Sm}$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 방사성금속 이온을 폴리펩티드에 접합시키는 데 유용한 마크로시클릭 킬레이트화제에 접합될 수 있다. 한 실시양태에서, 마크로시클릭 킬레이트화제는 링커 분자를 통해 항체에 부착될 수 있는 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산 (DOTA)이다. 이러한 링커 분자는 통상적으로 관련 기술분야에 공지되고 각각 그 전문이 참조로 포함된 문헌 [Denardo et al., 1998, Clin Cancer Res. 4 (10):2483-90; Peterson et al., 1999, Bioconjug. Chem. 10 (4):553-7; 및 Zimmerman et al., 1999, Nucl. Med. Biol. 26 (8):943-50]에 기재되어 있다.
- [0458] 치료 모이어티를 항체에 접합시키는 기술은 널리 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌 [Amon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), 및 Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58]을 참조한다.
- [0459] 항체는 또한 면역 검정 또는 표적 항원의 정제에 특히 유용한 고체 지지체에 부착될 수 있다. 이러한 고체 지지체는 유리, 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드 또는 폴리프로필렌을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0460] 본 발명의 항체를 생산하는 방법
- [0461] 항체를 코딩하는 핵산
- [0462] 본 발명은 상기 기재된 BMP9-결합 항체쇄의 절편 또는 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는, 실질적으로 정제된 핵산 분자를 제공한다. 본 발명의 핵산 중 일부는 서열식별번호: 7, 27, 47, 67, 87, 107, 127, 147, 또는 167 중 임의의 것에 제시된 중쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열, 및/또는 서열식별번호: 17, 37, 57, 77, 97, 117, 137, 157, 또는 177 중 임의의 것에 제시된 경쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 구체적 실시양태에서, 핵산 분자는 표 1에서 확인된 것이다. 본 발명의 일부 다른 핵산 분자는 표 1에서 확인된 것의 뉴클레오티드 서열에 대해 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 65, 80%, 95%, 또는 99%) 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 적절한 발현 벡터로부터 발현된 경우에, 이들 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 폴리펩티드는 BMP9 항원 결합 능력을 나타낼 수 있다.
- [0463] 표 1에 제시된 BMP9-결합 항체의 중쇄 또는 경쇄로부터의 적어도 1개의 CDR 영역 및 통상적으로 모든 3개의 CDR 영역을 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 또한 본 발명에 제공된다. 일부 다른 폴리뉴클레오티드는 표 1에 제시된 BMP9-결합 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 영역 서열을 모두 또는 실질적으로 모두 코딩한다. 코드의 축중성으로 인해, 다양한 핵산 서열은 각각의 이뮤노글로불린 아미노산 서열을 코딩할 것이다.
- [0464] 본 발명의 핵산 분자는 항체의 가변 영역 및 불변 영역 둘 다를 코딩할 수 있다. 본 발명의 핵산 서열 중 일부는 서열식별번호: 7, 27, 47, 67, 87, 107, 127, 147, 또는 167 중 임의의 것에 제시된 중쇄 가변 영역



서열에 대해 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 90%, 또는 99%) 성숙 중쇄 가변 영역 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드를 포함한다. 본 발명의 핵산 서열 중 일부는 서열식별번호: 17, 37, 57, 77, 97, 117, 137, 157, 및 177 중 임의의 것에 제시된 경쇄 성숙 가변 영역 서열에 대해 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 90%, 또는 99%) 성숙 경쇄 가변 영역 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0465] 폴리뉴클레오타이드 서열은 신생 고체-상 DNA 합성 또는 BMP9-결합 항체 또는 그의 결합 단편을 코딩하는 기존 서열 (예를 들어, 아래 실시예에 기재된 바와 같은 서열)의 PCR 돌연변이유발에 의해 생산될 수 있다. 핵산의 직접적인 화학적 합성은 관련 기술분야에 공지된 방법, 예컨대 문헌 [Narang et al., 1979, Meth. Enzymol. 68:90]의 포스포트리에스테르 방법; 문헌 [Brown et al., Meth. Enzymol. 68:109, 1979]의 포스포디에스테르 방법; 문헌 [Beaucage et al., Tetra. Lett., 22:1859, 1981]의 디에틸포스포르아미다이트 방법; 및 미국 특허 번호 4,458,066의 고체 지지체 방법에 의해 달성될 수 있다. PCR에 의해 돌연변이를 폴리뉴클레오타이드 서열에 도입하는 것은, 예를 들어, 문헌 [PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H. A. Erlich (Ed.), Freeman Press, NY, N.Y., 1992; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis et al. (Ed.), Academic Press, San Diego, Calif., 1990; Mattila et al., Nucleic Acids Res. 19:967, 1991; 및 Eckert et al., PCR Methods and Applications 1:17, 1991]에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다.

[0466] 상기 기재된 BMP9-결합 항체를 생산하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포가 또한 본 발명에 제공된다. 다양한 발현 벡터가 BMP9-결합 항체쇄 또는 결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 발현하는 데 사용될 수 있다. 바이러스-기반 및 비바이러스 발현 벡터 둘 다가 포유동물 숙주 세포에서 항체를 생산하는 데 사용될 수 있다. 비바이러스 벡터 및 시스템은 플라스미드, 전형적으로 단백질 또는 RNA를 발현하기 위한 발현 카세트에 갖는 예피솜 벡터, 및 인간 인공 염색체를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Harrington et al., Nat Genet. 15:345, 1997]을 참조한다). 예를 들어, 포유동물 (예를 들어, 인간) 세포에서 BMP9-결합 폴리뉴클레오타이드 및 폴리펩티드의 발현에 유용한 비바이러스 벡터는 pThioHis A, B & C, pcDNA3.1/His, pEBVHis A, B & C, (인비트로젠 (Invitrogen), 캘리포니아주 샌디에고), MPSV 벡터, 및 다른 단백질을 발현하기 위한 관련 기술분야에 공지된 수많은 다른 벡터를 포함한다. 유용한 바이러스 벡터는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노연관 바이러스, 포진 바이러스를 기반으로 하는 벡터, SV40, 유두종 바이러스, HBP 엠스타인 바르 바이러스를 기반으로 하는 벡터, 백시니아 바이러스 벡터 및 쉼리키 포레스트 바이러스 (SFV)를 포함한다. 문헌 [Brent et al., 상기 문헌; Smith, Annu. Rev. Microbiol. 49:807, 1995; and Rosenfeld et al., Cell 68:143, 1992]을 참조한다.

[0467] 발현 벡터의 선택은 벡터가 발현되도록 의도되는 숙주 세포에 의존한다. 전형적으로, 발현 벡터는 BMP9-결합 항체쇄 항원-결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드에 작동가능하게 연결된 프로모터 및 다른 조절 서열 (예를 들어, 인핸서)을 함유한다. 한 실시양태에서, 유도성 프로모터는 유도 조건 하인 경우를 제외하고 삽입된 서열의 발현을 방지하는 데 사용된다. 유도성 프로모터는, 예를 들어, 아라비노스, lacZ, 메탈로티오네인 프로모터 또는 열 쇼크 프로모터를 포함한다. 형질전환된 유기체의 배양물은 발현 생성물이 숙주 세포에 의해 보다 우수하게 허용되는 코딩 서열에 대한 집단으로 편향되지 않으면서 비유도 조건 하에서 확장될 수 있다. 프로모터 이외에도, 다른 조절 요소가 또한 BMP9-결합 항체쇄 항원-결합 단편의 효율적인 발현을 위해 요구되거나 바람직할 수 있다. 이들 요소는 전형적으로 ATG 개시 코돈 및 인접한 리보솜 결합 부위 또는 다른 서열을 포함한다. 또한, 발현의 효율은 사용상 세포계에 적절한 인핸서의 포함에 의해 증진될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Scharf et al., Results Probl. Cell Differ. 20:125, 1994; 및 Bittner et al., Meth. Enzymol., 153:516, 1987] 참조). 예를 들어, SV40 인핸서 또는 CMV 인핸서가 포유동물 숙주 세포에서 발현을 증가시키는 데 사용될 수 있다.

[0468] 발현 벡터는 또한 분비 신호 서열 위치를 제공하여 삽입된 BMP9-결합 항체 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드를 갖는 융합 단백질을 형성할 수 있다. 보다 종종, 삽입된 BMP9-결합 항체 서열은 벡터에 포함되기 전에 신호 서열에 연결된다. BMP9-결합 항체 경쇄 및 중쇄 가변 도메인을 코딩하는 서열을 수용하는 데 사용되는 벡터는 때때로 또한 불변 영역 또는 그의 일부를 코딩한다. 이러한 벡터는 불변 영역과의 융합 단백질로서 가변 영역의 발현을 허용함으로써 무손상 항체 및 그의 항원-결합 단편의 생산을 유도한다. 전형적으로, 이러한 불변 영역은 인간의 것이다.

[0469] BMP9-결합 항체쇄를 보유하고 발현하는 숙주 세포는 원핵 또는 진핵일 수 있다. 이.콜라이는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 클로닝하고 발현하는 데 유용한 하나의 원핵 숙주이다. 사용하기에 적합한 다른 미생물 숙주는 바실루스(bacilli), 예컨대 바실루스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 및 다른 엔테로박테리아세아에

(enterobacteriaceae), 예컨대 살모넬라(Salmonella), 세라티아(Serratia), 및 다양한 슈도모나스(Pseudomonas) 종을 포함한다. 이들 원핵 숙주에서, 전형적으로 숙주 세포와 상용성인 발현 제어 서열 (예를 들어, 복제 기점)을 함유하는 발현 벡터를 또한 제조할 수 있다. 또한, 임의의 수의 다양한 널리 공지된 프로모터, 예컨대 락토스 프로모터 시스템, 트립토판(trp) 프로모터 시스템, 베타-락타마제 프로모터 시스템, 또는 파지 람다로부터의 프로모터 시스템이 존재할 것이다. 프로모터는 임의로 오퍼레이터 서열과 함께 전형적으로 발현을 제어하고, 전사 및 번역을 개시하고 완료하기 위한 리보솜 결합 부위 서열 등을 갖는다. 다른 미생물, 예컨대 효모가 또한 본 발명의 BMP9-결합 폴리펩티드를 발현하는 데 사용될 수 있다. 바클로바이러스 벡터와 조합된 곤충 세포가 또한 사용될 수 있다.

[0470] 한 실시양태에서, 포유동물 숙주 세포가 본 발명의 BMP9-결합 폴리펩티드를 발현하고 생산하는 데 사용된다. 예를 들어, 이는 내인성 이뮤노글로불린 유전자를 발현하는 하이브리도마 세포주 (예를 들어, 실시예에 기재된 바와 같은 1D6.C9 골수종 하이브리도마 클론) 또는 외인성 발현 벡터를 보유하는 포유동물 세포주 (예를 들어, 아래 예시된 SP2/0 골수종 세포)일 수 있다. 이들은 임의의 정상적인 사멸 또는 정상적인 또는 비정상적인 불멸 동물 또는 인간 세포를 포함한다. 예를 들어, CHO 세포주, 다양한 Cos 세포주, HeLa 세포, 골수종 세포주, 형질전환된 B-세포 및 하이브리도마를 포함하는, 무순상 이뮤노글로불린을 분비할 수 있는 다수의 적합한 숙주 세포주가 개발되었다. 폴리펩티드를 발현하기 위한 포유동물 조직 세포 배양물의 사용은, 예를 들어, 문헌 [Winnacker, FROM GENES TO CLONES, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987]에서 전체적으로 논의된다. 포유동물 숙주 세포를 위한 발현 벡터는 발현 제어 서열, 예컨대 복제 기점, 프로모터, 및 인핸서 (예를 들어, 문헌 [Queen, et al., Immunol. Rev. 89:49-68, 1986] 참조), 및 필요한 프로세싱 정보 부위, 예컨대 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이스 부위, 폴리아데닐화 부위, 및 전사 종결인자 서열을 포함할 수 있다. 이들 발현 벡터는 통상적으로 포유동물 유전자 또는 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터를 함유한다. 적합한 프로모터는 구성적, 세포 유형-특이적, 단계-특이적, 및/또는 조정가능하거나 조절가능한 것일 수 있다. 유용한 프로모터는 메탈로티오네인 프로모터, 구성적 아데노바이러스 주요 후기 프로모터, 텍사메타손-유도성 MMTV 프로모터, SV40 프로모터, MRP poIII 프로모터, 구성적 MPSV 프로모터, 테트라시클린-유도성 CMV 프로모터 (예컨대, 인간 극초기 CMV 프로모터), 구성적 CMV 프로모터, 및 관련 기술분야에 공지된 프로모터-인핸서 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0471] 관심 폴리뉴클레오티드 서열을 함유하는 발현 벡터를 도입하는 방법은 세포 숙주의 유형에 따라 달라진다. 예를 들어 염화칼슘 형질감염은 통상적으로 원핵 세포에 대해 사용되는 반면에, 인산칼슘 처리 또는 전기천공은 다른 세포 숙주에 대해 사용될 수 있다. (일반적으로, [Sambrook, et al., 상기 문헌] 참조). 다른 방법은, 예를 들어, 전기천공, 인산칼슘 처리, 리포솜-매개 형질전환, 주사 및 미세주사, 탄도적 방법, 비로솜, 이뮤노 리포솜, 다가양이온:핵산 접합체, 네이키드 DNA, 인공 비리온, 포진 바이러스 구조 단백질 VP22에 대한 융합 (Elliot and O'Hare, Cell 88:223, 1997), 작용제-증진된 DNA 흡수, 및 생체의 형질도입을 포함한다. 재조합 단백질의 장기간, 고수율 생산을 위해, 안정한 발현이 종종 바람직할 것이다. 예를 들어, BMP9-결합 항체쇄 또는 결합 단편을 안정적으로 발현하는 세포주는 바이러스 복제 기점 또는 내인성 발현 요소 및 선택 마커 유전자를 함유하는 본 발명의 발현 벡터를 사용하여 제조될 수 있다. 벡터의 도입에 이어, 세포는 1-2일 동안 풍부화 배지에서 성장되도록 한 후에 선택 배지로 전환될 수 있다. 선택 마커의 목적은 선택에 대한 내성을 부여하는 것이고, 그의 존재는 도입된 서열을 성공적으로 발현하는 세포가 선택 배지에서 성장하게 한다. 안정적으로 형질감염된 내성 세포는 세포 유형에 적절한 조직 배양 기술을 사용하여 증식될 수 있다.

[0472] 본 발명의 모노클로날 항체의 생성

[0473] 모노클로날 항체 (mAb)는 통상적인 모노클로날 항체 방법론, 예를 들어 문헌 [Kohler and Milstein, 1975 Nature 256: 495]의 표준 체세포 혼성화 기술을 포함하는 다양한 기술에 의해 생산될 수 있다. 모노클로날 항체를 생산하기 위한 많은 기술 예를 들어 B 림프구의 바이러스성 또는 종양원성 형질전환이 사용될 수 있다.

[0474] 하이브리도마를 제조하기 위한 동물 시스템은 무린 시스템이다. 마우스에서의 하이브리도마를 생산은 널리 확립된 절차이다. 면역화 프로토콜 및 융합을 위해 면역화된 비장세포의 단리를 위한 기술은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 융합 파트너 (예를 들어, 무린 골수종 세포) 및 융합 절차가 또한 공지되어 있다.

[0475] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 인간화 모노클로날 항체이다. 본 발명의 키메라 또는 인간화 항체 및 그의 항원-결합 단편은 상기 기재된 바와 같이 제조된 무린 모노클로날 항체의 서열에 기초하여 제조될 수 있다. 중쇄 및 경쇄 이뮤노글로불린을 코딩하는 DNA는 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 관심 무린 하이브리도마로부터 획득되고 비-무린 (예를 들어, 인간) 이뮤노글로불린 서열을 함유하도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 키메

라 항체를 생성하기 위해, 뮤린 가변 영역은 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 인간 불변 영역에 연결될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 (Cabilly et al.) 참조). 인간화 항체를 생성하기 위해, 뮤린 CDR 영역은 관련 기술 분야에 공지된 방법을 사용하여 인간 프레임워크 내로 삽입될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,225,539 (Winter), 및 미국 특허 번호 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 및 6180370 (Queen et al.)을 참조한다.

[0476] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 인간 모노클로날 항체이다. BMP9에 대해 지시된 이러한 인간 모노클로날 항체는 마우스 면역계보다는 인간 면역계의 일부를 보유하는 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소믹 마우스를 사용하여 생성될 수 있다. 이들 트랜스제닉 및 트랜스크로모소믹 마우스는 본원에서 각각 HuMAb 마우스 및 KM 마우스로 지칭되는 마우스를 포함하고, 본원에서 집합적으로 "인간 Ig 마우스"로 지칭된다.

[0477] HuMAb 마우스® (메다렉스, 인크.(Medarex, Inc.))는 내인성 뮤 및 카파 쇠 유전자좌를 불활성화시키는 표적화된 돌연변이와 함께, 재배열되지 않은 인간 중쇄 (뮤 및 감마) 및 카파 경쇄 이뮤노글로불린 서열을 코딩하는 인간 이뮤노글로불린 유전자 미니유전자좌를 함유한다 (예를 들어, 문헌 [Lonberg, et al., 1994 Nature 368 (6474): 856-859] 참조). 따라서, 마우스는 마우스 IgM 또는 K의 감소된 발현을 나타내고, 면역화에 반응하여 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스진은 부류 전환 및 체세포 돌연변이를 겪어 고친화도의 인간 IgG-카파 모노클로날을 생성한다 ([Lonberg, N. et al., 1994 상기 문헌]; 문헌 [Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg, N. and Huszar, D., 1995 Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93, 및 Harding, F. and Lonberg, N., 1995 Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546]에서 검토됨). HuMAb 마우스의 제조 및 사용, 및 이러한 마우스에 의해 보유된 게놈 변형은 문헌 [Taylor, L. et al., 1992 Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen, J. et al., 1993 International Immunology 5: 647-656; Tuailon et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724; Choi et al., 1993 Nature Genetics 4:117-123; Chen, J. et al., 1993 EMBO J. 12: 821-830; Tuailon et al., 1994 J. Immunol. 152:2912-2920; Taylor, L. et al., 1994 International Immunology 579-591; 및 Fishwild, D. et al., 1996 Nature Biotechnology 14: 845-851]에 추가로 기재되어 있고, 이들 모두의 내용은 그 전문이 본원에 구체적으로 참조로 포함된다. 추가로, 미국 특허 번호 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,789,650; 5,877,397; 5,661,016; 5,814,318; 5,874,299; 및 5,770,429 (Lonberg and Kay (상기 특허 모두)); 미국 특허 번호 5,545,807 (Surani et al.); PCT 공개 번호 WO 92103918, WO 93/12227, WO 94/25585, WO 97113852, WO 98/24884 및 WO 99/45962, (Lonberg and Kay (상기 특허 모두)); 및 PCT 공개 번호 WO 01/14424 (Korman et al.)를 참조한다.

[0478] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 인간 항체는 트랜스진 및 트랜스크로모솜 상에 인간 이뮤노글로불린 서열을 보유하는 마우스 예컨대 인간 중쇄 트랜스진 및 인간 경쇄 트랜스크로모솜을 보유하는 마우스를 사용하여 생성될 수 있다. 본원에서 "KM 마우스"로 지칭되는 이러한 마우스는 PCT 공개 WO 02/43478 (Ishida et al.)에 상세하게 기재되어 있다.

[0479] 추가로, 인간 이뮤노글로불린 유전자를 발현하는 대안적 트랜스제닉 동물 시스템이 관련 기술분야에서 이용가능하고 본 발명의 BMP9-결합 항체 및 그의 항원-결합 단편을 생성하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 제노마우스(Xenomouse) (아브게닉스, 인크.(Abgenix, Inc.))로 지칭되는 대안적 트랜스제닉 시스템이 사용될 수 있다. 이러한 마우스는, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,939,598; 6,075,181; 6,114,598; 6,150,584 및 6,162,963 (Kucheralapati et al.)에 기재되어 있다.

[0480] 더욱이, 인간 이뮤노글로불린 유전자를 발현하는 대안적 트랜스크로모소믹 동물 시스템이 관련 기술분야에서 이용가능하고 본 발명의 BMP9-결합 항체를 생성하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, "TC 마우스"로 지칭되는 인간 중쇄 트랜스크로모솜 및 인간 경쇄 트랜스크로모솜 둘 다를 보유하는 마우스가 사용될 수 있고; 이러한 마우스는 문헌 [Tomizuka et al., 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727]에 기재되어 있다. 또한, 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스크로모솜을 보유하는 소가 관련 기술분야에 기재된 바 있고 (Kuroiwa et al., 2002 Nature Biotechnology 20:889-894), 이는 본 발명의 BMP9-결합 항체를 생성하는 데 사용될 수 있다.

[0481] 본 발명의 인간 모노클로날 항체는 또한 인간 이뮤노글로불린 유전자의 라이브러리를 스크리닝하는 파지 디스플레이 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 인간 항체를 단리하는 이러한 파지 디스플레이 방법은 관련 기술분야에 확립되거나 또는 아래 실시예에 기재되어 있다. 예를 들어: 미국 특허 번호 5,223,409; 5,403,484; 및 5,571,698 (Ladner et al.); 미국 특허 번호 5,427,908 및 5,580,717 (Dower et al.); 미국 특허 번호 5,969,108 및 6,172,197 (McCafferty et al.); 및 미국 특허 번호 5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915 및 6,593,081 (Griffiths et al.)을 참조한다.



- [0482] 본 발명의 인간 모노클로날 항체는 또한 면역화 시 인간 항체 반응이 생성될 수 있도록 인간 면역 세포가 재구성된 SCID 마우스를 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 마우스는, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,476,996 및 5,698,767 (Wilson et al.)에 기재되어 있다.
- [0483] 프레임워크 또는 Fc 조작
- [0484] 본 발명의 조작된 항체 및 그의 항원-결합 단편은, 예를 들어 항체의 특성을 개선시키기 위해 VH 및/또는 VL 내의 프레임워크 잔기에 변형이 이루어진 것을 포함한다. 전형적으로 이러한 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 이루어진다. 예를 들어, 하나의 접근법은 1개 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 배선 서열로 "복귀돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로, 체세포 돌연변이를 겪은 항체는 항체가 유래된 배선 서열과 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 이러한 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래된 배선 서열과 비교함으로써 확인될 수 있다. 프레임워크 영역 서열을 그의 배선 배위로 되돌리기 위해, 체세포 돌연변이는, 예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발에 의해 배선 서열로 "복귀돌연변이"될 수 있다. 이러한 "복귀돌연변이"된 항체는 또한 본 발명에 의해 포괄되는 것으로 의도된다.
- [0485] 또 다른 유형의 프레임워크 변형은 T 세포-에피토프를 제거하여 그에 의해 항체의 잠재적인 면역원성을 감소시키도록 프레임워크 영역 내, 또는 심지어 1개 이상의 CDR 영역 내의 1개 이상의 잔기를 돌연변이시키는 것을 수반한다. 이러한 접근법은 또한 "탈면역화"로 지칭되고, 미국 특허 공개 번호 20030153043 (Carr et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.
- [0486] 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어진 변형에 더하여 또는 대안적으로, 본 발명의 항체는, 전형적으로 항체의 1개 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합, 및/또는 항원-의존성 세포성 세포독성을 변경시키기 위해 Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 항체의 1개 이상의 기능적 특성을 다시 변경시키기 위해 화학적으로 변형되거나 (예를 들어, 1개 이상의 화학적 모이어티가 항체에 부착될 수 있음), 또는 그의 글리코실화가 변경되도록 변형될 수 있다. 각각의 이들 실시양태가 아래에 추가로 상세하게 기재되어 있다. Fc 영역 내의 잔기의 넘버링은 카바트의 EU 인덱스의 것이다.
- [0487] 한 실시양태에서, CH1의 힌지 영역이 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경되도록, 예를 들어 증가되거나 또는 감소되도록 변형된다. 이 접근법은 미국 특허 번호 5,677,425 (Bodmer et al.)에 추가로 기재되어 있다. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는, 예를 들어, 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 증가시키거나 또는 감소시키도록 변경된다.
- [0488] 또 다른 실시양태에서, 항체의 Fc 힌지 영역은 항체의 생물학적 반감기를 감소시키도록 돌연변이된다. 보다 구체적으로, 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 항체가 천연 Fc-힌지 도메인 스타필로코실 단백질 A (SpA) 결합에 비해 손상된 SpA 결합을 갖도록 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 계면 영역에 도입된다. 이 접근법은 미국 특허 번호 6,165,745 (Ward et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.
- [0489] 또 다른 실시양태에서, 항체는 그의 생물학적 반감기를 증가시키도록 변형된다. 다양한 접근법이 가능하다. 예를 들어, 하기 돌연변이 중 하나 이상이 도입될 수 있다: 미국 특허 번호 6,277,375 (Ward)에 기재된 바와 같은 T252L, T254S, T256F. 대안적으로, 생물학적 반감기를 증가시키기 위해, 항체는 미국 특허 번호 5,869,046 및 6,121,022 (Presta et al.)에 기재된 바와 같이 IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 루프로부터 취해진 셀비지 수용체 결합 에피토프를 함유하도록 CH1 또는 CL 영역 내에서 변경될 수 있다.
- [0490] 한 실시양태에서, Fc 영역은 항체의 이펙터 기능을 변경시키기 위해 적어도 1개의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체함으로써 변경된다. 예를 들어, 항체가 이펙터 리간드에 대해 변경된 친화도를 갖지만 모 항체의 항원-결합 능력은 보유하도록 1개 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어, Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260 (둘 다 Winter et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.
- [0491] 또 다른 실시양태에서, 아미노산 잔기로부터 선택된 1개 이상의 아미노산이 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 감소된 또는 폐지된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 이 접근법은 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.
- [0492] 또 다른 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 잔기가 변경되어 보체를 고정하는 항체의 능력을 변경시킨다. 이 접근법은 PCT 공개 WO 94/29351 (Bodmer et al.)에 추가로 기재되어 있다.
- [0493] 또 다른 실시양태에서, Fc 영역은 1개 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)

을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 항체의 Fc-감마 수용체에 대한 친화도를 증가시키도록 변형된다. 이 접근법은 PCT 공개 WO 00/42072 (Presta)에 추가로 기재되어 있다. 더욱이, 인간 IgG1 상의 Fc-감마 RI, Fc-감마 RII, Fc-감마 RIII 및 FcRn에 대한 결합 부위가 맵핑되었고, 개선된 결합을 갖는 변이체가 기재된 바 있다 (문헌 [Shields, R. L. et al., 2001 J. Biol. Chem. 276:6591-6604] 참조).

[0494] 또 다른 실시양태에서, 항체의 글리코실화는 변형된다. 예를 들어, 비-글리코실화 항체가 제조될 수 있다 (즉, 항체는 글리코실화가 결여됨). 글리코실화는, 예를 들어, 항체의 "항원"에 대한 친화도를 증가시키도록 변경될 수 있다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어, 항체 서열 내의 1개 이상의 글리코실화 부위를 변경시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 1개 이상의 가변 영역 프레임워크 글리코실화 부위의 제거를 일으키는 1개 이상의 아미노산 치환이 이루어져 그 부위에서 글리코실화를 제거할 수 있다. 이러한 비-글리코실화는 항체의 항원에 대한 친화도를 증가시킬 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,714,350 및 6,350,861 (Co et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0495] 추가적으로 또는 대안적으로, 변경된 글리코실화 유형을 갖는 항체, 예컨대 감소된 양의 푸코실 잔기를 갖는 저 푸코실화 항체 또는 증가된 양분성 GlcNac 구조를 갖는 항체가 제조될 수 있다. 이러한 변경된 글리코실화 패턴은 항체의 ADCC 능력을 증가시키는 것으로 입증된 바 있다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어, 변경된 글리코실화 기구를 갖는 숙주 세포 내에서 항체를 발현함으로써 달성될 수 있다. 변경된 글리코실화 기구를 갖는 세포는 관련 기술분야에 기재된 바 있고 본 발명의 제조항 항체를 발현하여 변경된 글리코실화를 갖는 항체를 생산하는 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 예를 들어, EP 1,176,195 (Hang et al.)는 푸코실 트랜스퍼라제를 코딩하는 기능적으로 파괴된 FUT8 유전자를 갖는 세포주를 기재하며, 이러한 세포주에서 발현되는 항체는 저푸코실화를 나타낸다. PCT 공개 WO 03/035835 (Presta)는 Asn(297)-연결된 탄수화물에 푸코스를 부착시키는 감소된 능력을 갖는 변이체 CHO 세포주, LecI3 세포를 기재하며, 그러한 숙주 세포에서 발현되는 항체의 저푸코실화를 또한 일으킨다 (또한, 문헌 [Shields, R. L. et al., 2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740] 참조). PCT 공개 WO 99/54342 (Umana et al.)는 당단백질-변형 글리코실 트랜스퍼라제 (예를 들어, 베타 (1,4)-N 아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III (GnTIII))를 발현하도록 조작된 세포주를 기재하며, 이러한 조작된 세포주에서 발현된 항체는 증가된 양분성 GlcNac 구조를 나타내고, 이는 항체의 증가된 ADCC 활성을 일으킨다 (또한 문헌 [Umana et al., Nat. Biotech. 17:176-180, 1999] 참조).

[0496] 변경된 항체를 조작하는 방법

[0497] 상기 논의된 바와 같이, 본원에 제시된 VH 및 VL 서열 또는 전장 중쇄 및 경쇄 서열을 갖는 BMP9-결합 항체는 전장 중쇄 및/또는 경쇄 서열, VH 및/또는 VL 서열, 또는 그에 부착된 불변 영역(들)을 변형시킴으로써 새로운 BMP9-결합 항체를 생성하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 또 다른 측면에서, 본 발명의 BMP9-결합 항체의 구조적 특색은 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 적어도 1개의 기능적 특성, 예컨대 인간 BMP9에 대한 결합 및 또한 BMP9의 1개 이상의 기능적 특성의 억제 (예를 들어, BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화, BMP9-유도된 Id1 유도, 섬유증 마커의 BMP9 유도, 및/또는 BMP9-유도된 간 손상을 억제하며, 여기서 임의의 검정은 관련 기술분야에 공지되고, 예를 들어, (본원에 기재된 바와 같은) HUVEC 검정에 이어 웨스턴-블롯팅, 또는 (본원에 기재된 바와 같은) CFSC 검정에 이어 셀로믹스 스캔에 의해 측정 시 Smad1/5/8 인산화를 억제함; 예를 들어, 마우스 HDI 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 마우스 HDI 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Id1의 BMP9 유도를 억제함)를 보유하는 구조적으로 관련된 BMP9-결합 항체를 생성하는 데 사용된다.

[0498] 예를 들어, 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 1개 이상의 CDR 영역, 또는 그의 돌연변이는 공지된 프레임워크 영역 및/또는 다른 CDR과 재조합적으로 조합되어 상기 논의된 바와 같은 본 발명의 추가의 재조합적으로-조작된 BMP9-결합 항체 및 그의 항원-결합 단편을 생성할 수 있다. 다른 유형의 변형은 이전 섹션에 기재된 것을 포함한다. 조작 방법을 위한 출발 물질은 본원에 제공된 VH 및/또는 VL 서열 중 1개 이상, 또는 그의 1개 이상의 CDR 영역이다. 조작된 항체를 생성하기 위해, 본원에 제공된 VH 및/또는 VL 서열 중 1개 이상, 또는 그의 1개 이상의 CDR 영역을 갖는 항체를 실제로 제조 (즉, 단백질로서 발현)할 필요는 없다. 오히려, 서열(들) 내에 함유된 정보는 출발 물질로서 원래의 서열(들)로부터 유래된 "제2 세대" 서열(들)을 생성하는 데 사용되고 이어서 "제2 세대" 서열(들)은 단백질로서 제조되고 발현된다.

[0499] 변경된 항체 서열은 또한 US20050255552에 기재된 바와 같은 고정된 CDR3 서열 또는 최소 필수 결합 결정기 및 CDR1 및 CDR2 서열에 대한 다양성을 갖는 항체 라이브러리를 스크리닝함으로써 제조될 수 있다. 스크리닝은 항체 라이브러리로부터 항체를 스크리닝하는 데 적절한 임의의 스크리닝 기술, 예컨대 파지 디스플레이 기술에 따라 수행될 수 있다.

- [0500] 표준 분자 생물학 기술은 변경된 항체 서열을 제조하고 발현하는 데 사용될 수 있다. 변경된 항체 서열(들)에 의해 코딩되는 항체는 인간 BMP9 단백질에 특이적으로 결합하는 것 및/또는 BMP9의 1개 이상의 기능적 특성을 억제하는 것 (예를 들어, BMP9-유도된 Smad1/5/8 인산화, BMP9-유도된 Id1 유도, 섬유증 마커의 BMP9 유도, 및/또는 BMP9-유도된 간 손상을 억제하며, 여기서 임의의 검정은 관련 기술분야에 공지되고, 예를 들어, (본원에 기재된 바와 같은) HUVEC 검정에 이어 웨스턴-블롯팅, 또는 (본원에 기재된 바와 같은) CFSC 검정에 이어 세포믹스 스캔에 의해 측정 시 Smad1/5/8 인산화를 억제함; 예를 들어, 마우스 HDI 모델, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 마우스 HDI 모델에서 10 mg/kg 용량의 단일 주사 시 Id1의 BMP9 유도를 억제함)을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는, 본원에 기재된 BMP9-결합 항체의 기능적 특성 중 1개, 일부 또는 모두를 보유하는 것이다.
- [0501] 변경된 항체의 기능적 특성은 관련 기술분야에서 이용가능하고/거나 본원에 기재된 표준 검정, 예컨대 실시예에 제시된 것 (예를 들어, ELISA)을 사용하여 평가될 수 있다.
- [0502] 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편을 조작하는 방법의 한 실시양태에서, 돌연변이는 BMP9-결합 항체 코딩 서열의 모두 또는 일부를 따라 무작위로 또는 선택적으로 도입될 수 있고 생성된 변형된 BMP9-결합 항체는 결합 활성 및/또는 다른 기능적 특성에 대해 본원에 기재된 바와 같이 스크리닝될 수 있다. 돌연변이 방법은 관련 기술분야에 기재된 바 있다. 예를 들어, PCT 공개 WO 02/092780 (Short)은 포화 돌연변이유발, 합성 라이게이션 조립, 또는 그의 조합을 사용하여 항체 돌연변이를 생성하고 스크리닝하는 방법을 기재한다. 대안적으로, PCT 공개 WO 03/074679 (Lazar et al.)는 항체의 생리화학적 특성을 최적화하기 위해 컴퓨터 스크리닝 방법을 사용하는 방법을 기재한다.
- [0503] 본 발명의 항체의 특징화
- [0504] 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편은 다양한 기능적 검정에 의해 특징화될 수 있다. 예를 들어, 이는 BMP9를 억제하는 그의 능력에 의해 특징화될 수 있다.
- [0505] BMP9에 결합하는 항체의 능력은 관심 항체를 직접 표지함으로써 검출될 수 있거나, 또는 항체는 표지되지 않고 관련 기술분야에 공지된 다양한 샌드위치 검정 포맷을 사용하여 결합이 간접적으로 검출될 수 있다.
- [0506] 한 실시양태에서, 본 발명의 BMP9-결합 항체 및 그의 항원-결합 단편은 참조 BMP9-결합 항체의 BMP9 폴리펩티드에 대한 결합을 차단하거나 그와 경쟁한다. 이들은 상기 기재된 완전 인간 또는 인간화 BMP9-결합 항체일 수 있다. 이들은 또한 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 다른 인간, 마우스, 키메라 또는 인간화 BMP9-결합 항체일 수 있다. 참조 항체 결합을 차단하거나 또는 그와 경쟁하는 능력은 시험 하의 BMP9-결합 항체가 참조 항체에 의해 정의되는 것과 동일한 또는 유사한 에피토프, 또는 참조 BMP9-결합 항체에 의해 결합되는 에피토프와 충분히 근접한 에피토프에 결합한다는 것을 나타낸다. 이러한 항체는 특히 참조 항체에 대해 확인된 유리한 특성을 공유할 가능성이 있다. 참조 항체를 차단하거나 또는 그와 경쟁하는 능력은, 예를 들어, 경쟁 결합 검정에 의해 결정될 수 있다. 경쟁 결합 검정에 의해, 시험 하의 항체는 참조 항체의 공통 항원, 예컨대 BMP9 폴리펩티드에 대한 특이적 결합을 억제하는 능력에 대해 검사된다. 시험 항체는 과량의 시험 항체가 참조 항체의 결합을 실질적으로 억제하는 경우에 항원에 대한 특이적 결합에 대해 참조 항체와 경쟁한다. 실질적인 억제는 시험 항체가 참조 항체의 특이적 결합을 통상적으로 적어도 10%, 25%, 50%, 75%, 또는 90%만큼 감소시킨다는 것을 의미한다.
- [0507] 특정한 단백질, 본 경우에, BMP9에 대한 결합에 대한 항체와 참조 항체의 경쟁을 평가하는 데 사용될 수 있는 다수의 공지된 경쟁 결합 검정이 있다. 이들은, 예를 들어, 고체 상 직접 또는 간접 방사선면역검정 (RIA), 고체 상 직접 또는 간접 효소 면역검정 (EIA), 샌드위치 경쟁 검정 (문헌 [Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242-253, 1983] 참조); 고체 상 직접 비오틴-아비딘 EIA (문헌 [Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614-3619, 1986] 참조); 고체 상 직접 표지된 검정, 고체 상 직접 표지된 샌드위치 검정 (문헌 [Harlow & Lane, 상기 문헌] 참조); I-125 표지를 사용하는 고체 상 직접 표지 RIA (문헌 [Morel et al., Molec. Immunol. 25:7-15, 1988] 참조); 고체 상 직접 비오틴-아비딘 EIA (Cheung et al., Virology 176:546-552, 1990); 및 직접 표지된 RIA (Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol. 32:77-82, 1990)를 포함한다. 전형적으로, 이러한 검정은 고체 표면에 결합된 정제된 항원 또는 비표지된 시험 BMP9-결합 항체 및 표지된 참조 항체 중 어느 하나를 지니는 세포의 사용을 수반한다. 경쟁적 억제는 시험 항체의 존재 하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정함으로써 측정된다. 통상적으로, 시험 항체는 과량으로 존재한다. 경쟁 검정 (경쟁 항체)에 의해 확인된 항체는 참조 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및 참조 항체에 의해 결합된 에피토프에 입체 장애를 일으키기에 충분히 근접한 인접한 에피토프에 결합하는 항체를 포함한다.



- [0508] 선택된 BMP9-결합 모노클로날 항체가 고유한 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하기 위해, 각각의 항체는 상업적으로 입수가능한 시약 (예를 들어, 피어스, 일리노이주 록포드로부터의 시약)을 사용하여 비오틴화될 수 있다. 비표지된 모노클로날 항체 및 비오틴화된 모노클로날 항체를 사용하는 경쟁 연구는 BMP9 폴리펩티드 코팅된-ELISA 플레이트를 사용하여 수행될 수 있다. 비오틴화된 MAb 결합은 스트렙타비딘-알칼리성 포스파타제 프로브로 검출될 수 있다. 정제된 BMP9-결합 항체의 이소형을 결정하기 위해, 이소형 ELISA가 수행될 수 있다. 예를 들어, 마이크로타이터 플레이트의 웰은 1  $\mu\text{g/ml}$ 의 항-인간 IgG로 밤새 4°C에서 코팅될 수 있다. 1% BSA로 차단한 후, 플레이트는 1  $\mu\text{g/ml}$  이하의 모노클로날 BMP9-결합 항체 또는 정제된 이소형 대조군과 주위 온도에서 1 내지 2시간 동안 반응한다. 이어서 웰은 인간 IgG1 또는 인간 IgM-특이적 알칼리성 포스파타제-접합된 프로브와 반응할 수 있다. 이어서 플레이트는 발색되고 분석되어 정제된 항체의 이소형이 결정될 수 있다.
- [0509] 모노클로날 BMP9-결합 항체의 BMP9 폴리펩티드를 발현하는 살아있는 세포에 대한 결합을 입증하기 위해, 유동 세포측정법이 사용될 수 있다. 간략하게, BMP9를 발현하는 세포주 (표준 성장 조건 하에 성장됨)는 0.1% BSA 및 10% 소 태아 혈청을 함유하는 PBS 중 다양한 농도의 BMP9-결합 항체와 혼합되고, 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션될 수 있다. 세척한 후, 세포는 1차 항체 염색과 동일한 조건 하에 플루오레세인-표지된 항-인간 IgG 항체와 반응한다. 샘플은 단세포를 게이팅하기 위해, 광 및 측방 산란 특성을 사용하는 FACS캐(FACScan) 기기에 의해 분석될 수 있다. 형광 현미경검사를 사용하는 대안적 검정이 유동 세포측정법 검정(에 더하여 또는 그 대신에) 사용될 수 있다. 세포는 상기 기재된 바와 같이 정확하게 염색되고 형광 현미경검사에 의해 검사될 수 있다. 이 방법은 개별 세포의 가시화를 허용하지만, 항원의 밀도에 따라 감소된 감수성을 가질 수 있다.
- [0510] 본 발명의 BMP9-결합 항체 및 그의 항원-결합 단편은 웨스턴 블롯팅에 의해 BMP9 폴리펩티드 또는 항원 단편과의 반응성에 대해 추가로 시험될 수 있다. 간략하게, 정제된 BMP9 폴리펩티드 또는 융합 단백질, 또는 BMP9를 발현하는 세포로부터의 세포 추출물은 제조되고 소듐 도데실 황페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 적용될 수 있다. 전기영동 후, 분리된 항원은 니트로셀룰로스 막으로 옮겨지고, 10% 소 태아 혈청으로 차단되고, 시험될 모노클로날 항체로 프로빙된다. 인간 IgG 결합은 항-인간 IgG 알칼리성 포스파타제를 사용하여 검출되고 BCIP/NBT 기질 태블릿 (시그마 켐. 캄파니, 미주리주 세인트 루이스)으로 발색될 수 있다.
- [0511] 기능적 검정의 예는 또한 아래 실시예 섹션에 기재된다.
- [0512] 예방 및 치료 용도
- [0513] 본 발명은 증가된 BMP9 활성과 연관된 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 임의의 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 투여함으로써 증가된 BMP9 활성과 연관된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 간 섬유증의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 투여함으로써 간 섬유증을 치료하는 방법을 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 간경변증의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 투여함으로써 간경변증을 치료하는 방법을 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 문맥 고혈압의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 투여함으로써 문맥 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0514] 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은, 특히, 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증을 치료하는 데, 예를 들어, 그의 진행을 방지하거나, 지연시키거나 또는 역전시키는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은, 특히, 간경변증을 치료하는 데, 예를 들어, 그의 진행을 방지하거나, 지연시키거나 또는 역전시키는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은, 특히, 문맥 고혈압을 치료하는 데, 예를 들어, 그의 진행을 방지하거나, 지연시키거나 또는 역전시키는 데 사용될 수 있다. 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 또한 환자에서 간 섬유증, 간경변증 및/또는 문맥 고혈압의 치료를 위한 다른 요법과 조합되어 사용될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은, 특히, 말기 간 질환, 예를 들어, 정맥류, 황달, 복수, 간성 뇌병증, 간신증후군, 자발적 박테리아 복막염, 및 간-폐 증후군을 치료하는 데, 예를 들어, 그의 진행을 방지하거나, 지연시키거나 또는 역전시키는 데 사용될 수 있다.
- [0515] 한 실시양태에서, 본 발명은 BMP9 관련된 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편을 투여함으로써 BMP9 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 유용할 수 있는, 공지된 BMP9 관련된 질환 또는 장애의 예는 중앙 혈관신생의 억제, 포함하는 혈관신생; 신성 빈혈 및 암-유도된 빈혈을 포함하는 빈혈; 이소성 골화 질환; 아테롬성동맥경화증, 고혈압 및 심장 질환을 포함하는 혈관 질환을 포함한다. 또한, 항체 또는 그의 항원-결합 단편이 유용할 수 있는, 공지된 BMP9 관련된 질환 또는 장애의 예는 간경변증 및/또는 문맥 고혈압을 일으키는 것을 포함하는 섬유

화 간 질환 (예를 들어, C형 간염 바이러스 ("HCV") 감염; B형 간염 바이러스 ("HBV") 감염; 자가면역 간염; 알콜, 독소 또는 약물 노출; 간 외상; 담도 폐쇄; 원발성 담즙성 간경변증; 알라질 증후군; 심장 질환 또는 간 유출 폐색을 포함하는 만성 간 울혈; 비알콜성 지방간염 (NASH); 원발성 경화성 담관염; 혈색소증; 알파 1-항트립신 결핍; 및 윌슨병에 의해 유발된 섬유화 간 질환 포함)을 포함한다.

[0516] 구체적 실시양태에서, 본 발명은 BMP9 관련된 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편을 투여함으로써 BMP9 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 상기 질환 또는 장애는 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압이다.

[0517] 구체적 실시양태에서, 본 발명은 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체를 포함하는 조성물을 투여함으로써 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증 또는 간경변증의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 항체를 포함하는 조성물을 투여함으로써 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증 또는 간경변증을 치료하는 방법을 제공한다.

[0518] 구체적 실시양태에서, 본 발명은 문맥 고혈압을 치료하는 방법을 제공한다.

[0519] 한 실시양태에서, 표 1에 기재된 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 본원에 기재되거나 또는 관련 기술분야에 공지된 것과 같은 치료 방법 또는 절차와 함께 그를 필요로 하는 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 방법 또는 절차는, 비제한적 예로서: B형 또는 C형 간염에 대한 항바이러스 요법, 항염증제, 항지방증제, 항아포토시스제 또는 간보호제 또는 다른 항섬유화제와의 공-투여를 포함한다.

[0520] 예를 들어, 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 "표준" 항섬유화제와 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 세포독소, 면역억제제, 방사성동위원소, 및/또는 치료 항체와 조합되어 (즉, (즉, 면역접합체)와 함께 또는 이에 연결되어) 투여될 수 있다. 본 발명에 의해 고려되는 특정한 공동-치료제는 스테로이드 (예를 들어, 코르티코스테로이드, 에컨대 프레드니손), 면역억제제 및/또는 항염증제 (예를 들어, 감마-인터페론, 시클로포스파미드, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 페니실라민, 시클로스포린, 콜키신, 항홍선세포 글로불린, 미코페놀레이트 모페틸, 및 히드록시클로로퀸), 세포독성 약물, 칼슘 채널 차단제 (예를 들어, 니페디핀), 안지오텐신 전환 효소 억제제 (ACE) 억제제, 파라-아미노벤조산 (PABA), 디메틸 술폰, 형질전환 성장 인자-베타 (TGF- $\beta$ ) 억제제, 인터류킨-5 (IL-5) 억제제, 및 범 카스파제 억제제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0521] 표 1의 것을 포함하는 본 발명의 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 조합되어 사용될 수 있는 추가의 항섬유화제는 렉틴 (그 전체 내용이 본원에 참조로 포함된 예를 들어, 미국 특허 번호 7,026,283에 기재된 바와 같음)뿐만 아니라 문헌 [Wynn et al. (Journal Clin. Invest. Vol 117 Number 3, March 2007, p 524, 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨)]에 의해 기재된 항섬유화제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 추가의 항섬유화제 및 요법은 다양한 항염증/면역억제/세포독성 약물 (콜키신, 아자티오프린, 시클로포스파미드, 프레드니손, 탈리도미드, 펜톡시필린, 및 테오필린을 포함함), TGF- $\beta$  신호전달 개질제 (렐락신, SMAD7, HGF, 및 BMP7뿐만 아니라 TGF- $\beta$ 1, TGF $\beta$ RI, TGF $\beta$ RII, EGR-1, 및 CTGF 억제제를 포함함) (예를 들어, 피르페니돈, F-351, F-200 및 F-573), 시토카인 및 시토카인 수용체 길항제 (IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6, IL-13, IL-21, IL-4R, IL-13R $\beta$ 1, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , 온코스타틴 M, WISP-1, 및 PDGF의 억제제), 시토카인 및 케모카인 (IFN- $\gamma$ , IFN- $\alpha/\beta$ , IL-12, IL-10, HGF, CXCL10, 및 CXCL11), 케모카인 길항제 (CXCL1, CXCL2, CXCL12, CCL2, CCL3, CCL6, CCL17, 및 CCL18의 억제제), 케모카인 수용체 길항제 (CCR2, CCR3, CCR5, CCR7, CXCR2, 및 CXCR4의 억제제), TLR 길항제 (TLR3, TLR4, 및 TLR9의 억제제), 혈관신생 길항제 (VEGF-특이적 항체 및 아데노신 탈아미노효소 대체 요법), 항고혈압 약물 (베타 차단제 및 ANG II, ACE, 및 알도스테론의 억제제), 혈관활성 물질 (ET-1 수용체 길항제 및 보센탄), 콜라겐을 합성하고 프로세싱하는 효소의 억제제 (프롤릴 히드록실라제의 억제제), B 세포 길항제 (리툽시맙), 인테그린/부착 분자 길항제 ( $\alpha$ 1 $\beta$ 1 및  $\alpha$ v $\beta$ 6 인테그린을 차단하는 분자뿐만 아니라 인테그린 연결된 키나제의 억제제, 및 ICAM-1 및 VCAM-1에 대해 특이적인 항체), 근섬유모세포를 표적화하는 아포토시스촉진 약물, MMP 억제제 (MMP2, MMP9, 및 MMP12의 억제제), 및 TIMP 억제제 (TIMP-1에 대해 특이적인 항체)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0522] 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 "표준" 항당뇨병제, 예를 들어, 메트포르민과 조합되어 당뇨병-연관 NASH 섬유증을 치료하는 데 사용될 수 있다. 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 조합되어 사용될 수 있는 다른 항당뇨병제는 관련 기술분야에 공지되고, 술폰닐우레아 (예를 들어, 글리부리드, 글리피지드 및 글리메피리드), 메글리티니드 (예를 들어, 레파글리

니드 및 나테글리니드), 티아졸리딘디온 (예를 들어, 로시글리타존 및 피오글리타존), DPP-4 억제제 (예를 들어, 시타글립틴, 삭사글립틴, 및 리나글립틴), GLP-1 수용체 효능제 (예를 들어, 엑세나티드 및 리라글루티드), SGLT2 억제제 (예를 들어, 카나글리플로진 및 다파글리플로진), 및 인슐린을 포함한다.

[0523] 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 "표준" 항바이러스 작용제, 예를 들어, HBV- 및 HCV-항바이러스제와 조합되어 HBV- 및/또는 HCV-연관 섬유증을 치료하는 데 사용될 수 있다. 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 조합되어 사용될 수 있는 다른 항바이러스 작용제는 관련 기술분야에 공지되고, 인터페론 (예를 들어, IFN 알파-2b, IFN 알파-2a, PEG-인트론 및 IFN 알파콘-1), 리바비린과 조합된 인터페론, 프로테아제 억제제 (예를 들어, 레디파스비르, 소포스부비르, 보세프레비 또는 텔라프레비르, 테노포비르, 다클라타스비르, 시메프레비르, 레다스프레비르), 및 다른 항바이러스제 (예를 들어, 라미부딘, 아데포비르, 텔비부딘, 및 엔테카비르)를 포함한다.

[0524] 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 "표준" 항염증제, 예를 들어, 코르티코스테로이드, GFT-505, 및 세니크리비록, 및 그의 조합과 조합되어 사용될 수 있다.

[0525] 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 "표준" 항지방증제, 예를 들어, 비타민 E, 피오글리타존, 메트포르민, 오베티콜산, 및 그의 조합과 조합되어 사용될 수 있다.

[0526] 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 "표준" 항아포토시스제 또는 간보호제, 예를 들어, 오베티콜산, GFT-505, GR-MD-02, 및 그의 조합과 조합되어 사용될 수 있다.

[0527] 통상의 기술자에 의해 인지될 바와 같이, 표 1에 기재된 것을 포함하는 본 발명의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 수반하는 조합 요법은 상기 기재된 작용제의 다수의 부류를 수반하는 조합 요법을 포함할 수 있고, 예를 들어, 1종 이상의 항바이러스제 및 1종 이상의 추가의 항섬유화제를 수반할 수 있다.

[0528] 본 발명의 치료제가 또 다른 작용제(들)와 함께 투여되는 경우에, 2가지 (또는 그 초과)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 일부 측면에서, 본 발명의 항체는 또한 제2 작용제 또는 방법을 사용하여 요법을 받는 대상체에게 투여된다. 다른 측면에서, 결합 분자는 외과적 치료와 함께 투여된다.

[0529] BMP9-결합 항체와의 조합 치료를 위한 적합한 작용제는 BMP9의 발현, 수준, 안정성 및/또는 활성을 억제하거나 또는 감소시키는 공지된 작용제를 포함한다. 이러한 작용제는 BMP9에 대한 항체, siRNA, 가용성 BMP9 수용체, 단백질, 및 소분자를 포함한다.

[0530] BMP9에 대한 다양한 항체는, 특히, 문헌에 기재된 것을 포함하는 관련 기술분야에 공지되거나 또는, 예를 들어, 모노클로날 마우스 IgG2b 클론 360107 (알앤디 시스템즈(R&D systems) MAB3209), 및, 예를 들어, US2014/0056902에 기재된 것으로 상업적으로 입수가능하다.

[0531] BMP9에 대한 다양한 siRNA가 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0532] 예를 들어, 가용성 BMP 수용체 예컨대 ALKI, 및 ActRIIb의 가용성 단편을 포함하는 BMP9의 추가의 억제제가 공지되어 있다. 이들 중 임의의 것은 본원에 개시된 임의의 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 조합되어 사용될 수 있다.

[0533] 조합 요법은 부가적일 수 있거나, 또는 이는 상승작용적 결과 (예를 들어, 2종의 작용제의 조합 사용에 대해 예상되는 것을 초과하는 BMP9 활성에서의 감소)를 생성할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 간 질환, 예를 들어, 섬유증, 문맥 고혈압 또는 간경변증, 또는 상기 기재된 바와 같은 또 다른 BMP9 관련된 질환을 방지하고/거나 치료하는, BMP9-결합 항체 및 상기 기재된 바와 같은 항섬유화제 또는 방법과의 조합 요법을 제공한다.

[0534] 진단 용도

[0535] 한 측면에서, 본 발명은 생물학적 샘플 (예를 들어, 혈액, 혈청, 세포, 조직)과 관련하여 또는 질환 또는 장애를 앓거나, 또는 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압과 연관된 장애가 발생할 위험이 있는 개체로부터, BMP9 및/또는 핵산 발현뿐만 아니라 BMP9 기능을 결정하는 진단 검정을 포괄한다.

[0536] 진단 검정, 예컨대 경쟁적 검정은 시험 샘플 분석물과 공통 결합 파트너 상의 제한된 수의 결합 부위에 대해 경쟁하는 표지된 유사체 ("트레이서")의 능력에 의존한다. 일반적으로 경쟁 전 또는 후에 결합 파트너는 불용화되고 이어서 결합 파트너에 결합된 트레이서 및 분석물은 미결합 트레이서 및 분석물로부터 분리된다. 이 분리는 경사분리 (결합 파트너가 사전불용화된 경우) 또는 원심분리 (결합 파트너가 경쟁적 반응 후에 침전된 경



우)에 의해 달성된다. 시험 샘플 분석물의 양은 마커 물질의 양에 의해 측정 시 결합된 트레이서의 양에 반비례한다. 기지의 양의 분석물을 사용한 용량-반응 곡선은 시험 샘플에 존재하는 분석물의 양을 정량적으로 결정하기 위해, 시험 결과에 의해 생성 및 비교된다. 이들 검정은 검출가능한 마커로서 효소가 사용되는 경우에 ELISA 시스템으로 불린다. 이 형태의 검정에서, 항체와 BMP9-결합 항체 사이의 경쟁적 결합은 결합된 BMP9, 바람직하게는 본 발명의 BMP9 에피토프를 생성하고, 이는 혈청 샘플 중 항체, 가장 특히 혈청 샘플 중 중화 항체의 척도이다.

[0537] 검정의 유의한 이점은 중화 항체 (즉, BMP9, 특히 에피토프의 결합을 방해하는 것)의 직접 측정이 이루어진다는 것이다. 특히 ELISA 시험 형태의 이러한 검정은 임상 환경 및 상용 혈액 스크리닝에 상당한 용도를 갖는다.

[0538] 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압과 연관된 장애를 갖는 환자의 임상 진단 또는 모니터링에서, 정상 대상체로부터의 상응하는 생물학적 샘플에서의 수준과 비교하여, 예를 들어, 간에서의 상승된 수준의 BMP9 단백질 또는 mRNA의 검출은 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압과 연관된 장애를 갖는 환자를 나타낸다.

[0539] 생체내 진단 또는 영상화가 US2006/0067935에 기재되어 있다. 간략하게, 이들 방법은 일반적으로 환자에게 비침습 방법에 의해 검출가능한 마커 또는 표지에 작동가능하게 부착된 BMP9 결합 분자의 진단 유효량을 투여하거나 또는 도입하는 것을 포함한다. 항체-마커 접합체는 BMP9에 국재화하고 이에 결합하기에 충분한 시간이 허용된다. 이어서 환자는 검출 장치에 노출되어 검출가능한 마커를 확인하고, 따라서 환자의 조직 내에서 BMP9 결합 분자의 위치의 영상을 형성한다. BMP9 결합 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 존재는 항체-마커가 조직의 성분에 결합하는지 여부를 결정함으로써 검출된다. 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압이 없는 정상 개체와 비교하여 BMP9 단백질 또는 단백질의 조합에서의 증가된 수준의 검출은 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압과 연관된 장애에 대한 소인 및/또는 그의 발병을 나타낸다. 본 발명의 이들 측면은 또한 조직 영상화 방법 및 조합 진단 및 치료 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0540] 본 발명은 또한 진단 검정, 예후 검정, 약리유전체학, 및 임상 시험 모니터링이 예후 (예측) 목적으로 사용되어 개체를 예방적으로 치료하는 예측 의학의 분야에 관한 것이다.

[0541] 본 발명은 또한 개체가 BMP9 경로 활성의 조절이상과 연관된 장애가 발생할 위험에 있는지 여부를 결정하기 위한 예후 (또는 예측) 검정을 제공한다. 예를 들어, BMP9 유전자 내에서의 돌연변이는 생물학적 샘플에서 검정될 수 있다. 이러한 검정은 예후 또는 예측 목적에 사용되어, BMP9, 핵산 발현 또는 활성을 특징으로 하거나 또는 이와 연관된 장애의 발병 전에 개체를 예방적으로 치료할 수 있다.

[0542] 본 발명의 또 다른 측면은 개체에서 BMP9 핵산 발현 또는 BMP9 활성을 결정하여 그러한 개체에게 적절한 치료제 또는 예방제를 선택하는 방법을 제공한다 (본원에서 "약리유전체학"으로 지칭됨). 약리유전체학은 개체의 유전자형 (예를 들어, 특정한 작용제에 반응하는 개체의 능력을 결정하기 위해 검사된 개체의 유전자형)에 기초하여 개체의 치료적 또는 예방적 치료를 위한 작용제 (예를 들어, 약물)의 선택을 허용한다.

[0543] 본 발명의 또 다른 측면은 임상 시험에서 BMP9의 발현 또는 활성에 대한 작용제 (예를 들어, 약물)의 영향을 모니터링하는 방법을 제공한다.

[0544] 제약 조성물

[0545] 본 발명은 제약상 허용되는 담체와 함께 제제화된, BMP9-결합 항체 또는 그의 결합 단편을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 조성물은 추가적으로 BMP9-연관 질환 (예를 들어, 간 질환, 예를 들어, 간 섬유증, 간경변증 또는 문맥 고혈압)을 치료하거나 또는 예방하는 데 적합한 1종 이상의 다른 치료제를 함유할 수 있다. 제약 담체는 조성물을 증진시키거나 또는 안정화시키거나, 또는 조성물의 제조를 용이하게 한다. 제약상 허용되는 담체는 생리학상 상용성인 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다.

[0546] 본 발명의 제약 조성물은 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법에 의해 투여될 수 있다. 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 달라진다. 투여는 정맥내, 근육내, 복강내, 또는 피하일 수 있거나, 또는 표적의 부위에 근접하여 투여될 수 있다. 제약상 허용되는 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척수 또는 표피 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의함)에 적합해야 한다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물, 즉 항체, 이중특이적 및 다중특이적 분자는 산의 작용 및 화합물을 불활성화시킬 수 있는 다른 천연 조건으로부터 화합물을 보호하는 물질로 코팅될 수 있다.



- [0547] 조성물은 멸균되고 유동성이어야 한다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 코팅 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 많은 경우에서, 등장화제, 예를 들어, 당, 폴리알콜 예컨대 만니톨 또는 소르비톨, 및 염화나트륨을 조성물에 포함하는 것은 바람직하다. 주사가 가능한 조성물의 장기간 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 또는 젤라틴을 조성물에 포함함으로써 일어날 수 있다.
- [0548] 본 발명의 제약 조성물은 관련 기술분야에 널리 공지되고 상용적으로 실시되는 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Co., 20th ed., 2000; 및 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다. 제약 조성물은 바람직하게는 GMP 조건 하에 제조된다. 전형적으로, BMP9-결합 항체의 치료 유효 용량 또는 효과적인 용량이 본 발명의 제약 조성물에 사용된다. BMP9-결합 항체는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 방법에 의해 제약상 허용되는 투여 형태로 제제화된다. 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 여러 분할 용량이 시간의 경과에 따라 투여될 수 있거나 또는 용량이 치료 상황의 위급성에 의해 지시된 바에 따라 비례하여 감소되거나 또는 증가될 수 있다. 비경구 조성물을 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단위 투여량으로서 적합화된 물리적 이산 단위를 지칭하고; 각각의 단위는 요구되는 제약 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 함유한다.
- [0549] 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분의 실제 투여량 수준은, 특정한 환자에게 독성이 아니면서 특정한 환자, 조성물, 및 투여 방식에 대해 목적하는 치료 반응을 달성하는 데 유효한 활성 성분의 양을 수득하도록 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용된 본 발명의 특정한 조성물, 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용된 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용된 특정한 조성물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료될 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 과거 병력을 포함하는 다양한 약동학적 인자, 및 유사 인자에 의존한다.
- [0550] 의사 또는 수의사는 제약 조성물에 사용되는 본 발명의 항체 및 그의 항원-결합 단편의 용량을 목적하는 치료 효과를 달성하는 데 요구되는 것보다 더 낮은 수준에서 시작하고, 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 본원에 기재된 알레르기성 염증성 장애의 치료를 위한 본 발명의 조성물의 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태, 환자가 인간인지 동물인지의 여부, 투여되는 다른 의약, 및 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부를 포함하는 많은 상이한 인자에 따라 달라진다. 치료 투여량은 안전성 및 효능을 최적화하도록 적정될 필요가 있다. 항체를 전신 투여하는 경우에, 투여량은 숙주 체중의 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 및 보다 통상적으로 0.01 내지 15 mg/kg의 범위이다. 예시적인 치료 요법은 2주마다 1회 또는 1개월에 1회 또는 3 내지 6개월마다 1회의 전신 투여를 수반한다. 항체를 유리체내 투여하는 경우에, 투여량은 약 0.0001 내지 약 10 mg의 범위이다. 예시적인 치료 요법은 2주마다 1회 또는 1개월에 1회 또는 3 내지 6개월마다 1회의 전신 투여를 수반한다.
- [0551] 항체는 통상적으로 다수회 투여된다. 단일 투여량 사이의 간격은 매주, 매월 또는 매년일 수 있다. 간격은 또한 환자에서 BMP9-결합 항체의 혈액 수준을 측정함으로써 나타나는 바에 따라 불규칙적일 수 있다. 전신 투여의 일부 방법에서, 투여량은 1-1000  $\mu\text{g/ml}$  및 일부 방법에서 25-500  $\mu\text{g/ml}$ 의 혈장 항체 농도를 달성하도록 조정된다. 대안적으로, 항체는 지속 방출 제제로서 투여될 수 있고, 이 경우에 덜 빈번한 투여가 요구된다. 투여량 및 빈도는 환자에서의 항체의 반감기에 따라 달라진다. 일반적으로, 인간화 항체는 키메라 항체 및 비인간 항체의 것보다 더 긴 반감기를 제시한다. 투여량 및 투여 빈도는 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부에 따라 달라질 수 있다. 예방적 적용에서, 상대적으로 낮은 투여량이 상대적으로 덜 빈번한 간격으로 장기간에 걸쳐 투여된다. 일부 환자는 그의 여생 동안 계속하여 치료를 받는다. 치료적 적용에서, 질환의 진행이 감소되거나 또는 종결될 때까지, 바람직하게는 환자가 질환 증상의 부분적 또는 완전한 호전을 나타낼 때까지 상대적으로 짧은 간격의 상대적으로 높은 투여량이 때때로 요구된다. 그 후, 환자에게 예방 요법이 투여될 수 있다.
- [0552] 실시예
- [0553] 하기 실시예는 본 발명을 추가로 예시하기 위해 제공되지만, 그의 범주를 제한하지는 않는다. 본 발명의 다른 변형은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백할 것이고 첨부된 청구범위에 의해 포괄된다.

[0554] 실시예 1: 재조합 BMP9의 생성

[0555] 전장 hBMP9 단백질을 코딩하는 DNA 서열을 발현 벡터로 클로닝하고 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. hBMP9 구축물을 일시적으로 293F 세포주 내로 형질감염시키고 세포를 hBMP9 단백질 생산에 대해 추가로 최적화하였다. 최종 생산은 10L 규모 및 다중 실행에서 수행되었다. 세포 생존율이 >80%인 경우에 최종 수거물을 수집하였다. 최종 수거물에서의 세포 파편을 원심분리 및 여과 공정에 의해 제거하였다. 표적 hBMP9 단백질을 양이온 교환 크로마토그래피 및 음이온 교환 크로마토그래피를 사용함으로써 정제하였다. 한외여과를 사용하여 hBMP9 단백질을 농축시키고 완충제를 교환하였다. 단백질의 정량화를 로우리 방법에 의해 결정하였다. 정제된 hBMP9 단백질을 SDS-PAGE, 웨스턴 블롯 및 HPLC에 의해 분석하였다.

[0556] 실시예 2: 하이브리도마 기술에 의한 항-BMP9 항체의 생성

[0557] 마우스 면역화 및 융합

[0558] 10마리의 BALB/c 마우스를 재조합 단백질 인간 BMP9 (huBMP9)로 25-50 ug huBMP9의 피하로 또는 복막내로의 4회 주사를 수반하는 반복 절차에 의해 면역화하였다. 면역화된 마우스의 비장을 수거하고, 단리된 비장세포를 골수종 세포 (P3Ag8.653 세포주)에 융합시켜 하이브리도마 클론을 생성하였다. 하이브리도마 클론으로부터의 상청액을 1차 스크리닝 검정으로서 결합 ELISA로 시험하여 BMP9에 결합하는 양성 클론을 확인하였다. 이어서 1차 스크리닝 결합 검정으로부터 확인된 양성 클론의 상청액을 차단 ELISA에서 시험하여 BMP9와 그의 수용체 사이의 상호작용을 억제할 수 있는 양성 클론을 확인하였다. 4개의 상이한 재조합 BMP9 수용체를 사용하였다: 인간 A1k1-Fc (알앤디 시스템즈, 370-AL-100); 인간 BMPRII-Fc (알앤디 시스템즈, 811-BR-100); 인간 ActRIIA-Fc (알앤디 시스템즈, 340-R2-100); 인간 ActRIIB-Fc (알앤디 시스템즈).

[0559] 비아코어에 의해 확인된 바와 같은 고친화도로 huBMP9에 결합하는 그의 능력에 기초한 인간화, 및 특이적 BMP9 수용체 상호작용을 차단하는 그의 능력에 대해 2개의 클론을 선택하였다. 2B11G2는 인간 BMP9 및 인간 A1k1의 결합을 억제하는 반면에, 4E10D7 항체는 인간 BMP9 및 인간 BMPRII의 결합을 억제할 수 있다. 따라서, 2B11G2는 제I형 수용체 상호작용의 억제제로 분류되는 한편, 4E10D7은 제II형 수용체 상호작용의 억제제로 분류된다.

[0560] 마우스 하이브리도마 항체 2B11G2 및 4E10D7의 결합 특성 및 서열이 각각 표 2 및 3에 제시된다.

[0561] 표 2. 비아코어에 의해 결정된 마우스 하이브리도마 항-BMP9 모노클로날 항체의 동역학적 파라미터. 동역학적 데이터를 2가 모델로 피팅하고 파라미터  $K_{a1}$  및  $K_{d1}$ 을 사용하여 KD를 결정하였다.

항체	억제제 하위유형	$ka_1$ (1/Ms)	$kd_1$ (1/s)	$K_D$ (M)
2B11G2	제I형	2508	1.66E-04	6.62E-08
4E10D7	제II형	2.81E+05	6.17E-04	2.20E-09

[0562]

[0563]

표 3. 인간 BMP9에 결합하는 무린 항체의 예.

규정	서열 명칭	서열	SEQ ID NO:
<b>마우스 항체 2B11G2</b>			
(카바트)	HCDR1	SYNMH	181
(카바트)	HCDR2	VIYPGNGVTSYSQKFKD	182
(카바트)	HCDR3	DDYFYGGSYAMDY	183
(코티아)	HCDR1	GYTFPSY	184
(코티아)	HCDR2	YPGNGV	185
(코티아)	HCDR3	DDYFYGGSYAMDY	186
	VH	QAYLQQSGAELVRPGASVKMSCKASGYTF PSYNMHWVKQTPRQGLEWIGVIYPGNGVT SYSQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYFCAKDDYFYGGSYAMDYWGQGT SVTVSS	187
	DNA VH	caggcttatctacagcagctctggggctgagctggtgaggcctgggg cctcagtggaagatgtcctgcaaggcttctggctacacattcccagtt acaatatgcactgggtaagcagacacctagacaggcctggaat ggattggagttattatccaggaaatggtgttacttctacagtcagaa gtcaaggacaaggccacactgactgtagacaaatcttcagcaca gcctacatgcagctcagcagcctgacatctgaggactctgcggtcta tttctgtgcaaaagacgattatttctacggtgtagctatgctatggact actgggtcaaggaaacctcagtcaccgtctcctca	188
(카바트)	LCDR1	RASQISISNNLH	189
(카바트)	LCDR2	YASQSIS	190
(카바트)	LCDR3	QQSHSWPYT	191
(코티아)	LCDR1	SQISISNN	192
(코티아)	LCDR2	YAS	193
(코티아)	LCDR3	SHSWPY	194
	VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQISISN NLHWYQQISHESPRLLIKYASQISGIPSRFS GSGSGTDFTLSINSMETEDFGMFFCQQSHS WPYTFGGGGTKLEIK	195
	DNA VL	gataattgtgctaactcagtcctcagccaccctgtctgtgactccagga gatagcgtcagtccttctcagggccagccaaagtattagcaacaa cctacactggatcagcaaatatcacatgagtcctcaaggcttctcat caagtatgcctcccagtcctctctggcatcccctccaggttcagtg cagtgatcaggacagatttctctcagtcacacagtcagtgaga ctgaagattttggaatgttttctgtcaacagagtcacagctggcctta cacgttcggaggggggaccaagctggaataaaa	196
<b>마우스 항체 4E10D7</b>			
(카바트)	HCDR1	RYWMH	197
(카바트)	HCDR2	EINPSNGGTNYNEKFKS	198
(카바트)	HCDR3	GSNYGGFVY	199

[0564]

(코티아)	HCDR1	GYTFTRY	200
(코티아)	HCDR2	NPSNGG	201
(코티아)	HCDR3	GSNYGGFVY	202
	VH	QVQLQQPGAEAVKPGASVKLSCKASGYTF TRYWMHWVKQRPGGLEWIGEINPSNGGT NYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTS EDFAVYYCTMGSNYGGFVYWGQGLTVTV SA	203
	DNA VH	cagggtccaactgcagcagcctggggctgaggctgtgaagcctggg gcttcagtggaagttgtcctgcaaggctctggctacacctcaccagg tattggatgcactgggtgaagcagaggcctggacaaggccttgagt ggattggagagattaatcctagcaatggtgtactaactacaatgag aagttcaagagcaaggccactgactgttagacaaatcctccagca cagcctacatgcaactcagcagcctgacatctgaggattttgcggtc tattactgtacaatggggagtaactacgggggtttgttactggggc caagggactctgtcactgtctctgca	204
(카바트)	LCDR1	RASESLDNYGISFMN	205
(카바트)	LCDR2	AASNQGS	206
(카바트)	LCDR3	QQSKEVPRT	207
(코티아)	LCDR1	SESLDNYGISF	208
(코티아)	LCDR2	AAS	209
(코티아)	LCDR3	SKEVPR	210
	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESLDN YGISFMNWFQKPGQPPKFLIYAASNQSG VPAFSGSGSGTDFSLNIHPLEEDDTAMYF CQQSKEVPRTFGGGTKLEIK	211
	DNA VL	gacattgtgctgacccaatctccagcttcttggctgtgtcttagggc agagggccaccatctctcgcagagccagcgaagcttgataattat ggcattagttttatgaattggttccaacagaaccaggacagccacc caaattcctcatctatgctgcatccaacgaaggaagcggtccctg ccagggttagtgagcagtggtctgggacagactcagcctcaacatc catccttgaggaggatgatactgcaatgtatttctgtcagcaagt aaggaggttctcggacgttcggtggaggcaccaaactggaatc aaa	212

[0565]

[0566]

2B11G2 인간화 항체의 설계

[0567]

2B11G2 마우스 항체로부터 유래된 인간화 항체를 CDR 그래프팅에 의해 설계하였다. 간략하게, 비-인간 동물 항체 ("공여자"로 지칭됨)의 VH CDR 또는 VL CDR의 아미노산 서열을 인간 항체 ("수용자"로 지칭됨)의 VH 또는 VL의 프레임워크 영역으로 그래프팅함으로써 인간화를 생성하였다.

[0568]

인간 배선 서열 1-46 (VBASE VH1 1-46; IMGT IGHV1-46\*01)을 2B11G2 VH를 인간화하기 위한 수용자 프레임워크로서 선택하고; 2B11G2 VH의 CDR을 수용자 프레임워크 내로 그래프팅하여 2B11G2\_VH1\_Hz0으로 명명된 2B11G2 VH의 제1 인간화 서열을 생성하였다. 중쇄 프레임워크에서의 위치 71, 73, 78, 94 (코티아 넘버링 규정)를 상응하는 마우스 공여자 잔기로 돌연변이시켜 서열 2B11G2\_VH1\_Hz1을 생성하였다. 2B11G2\_VH1\_Hz0 및 2B11G2\_VH1\_Hz1의 CDR2에서의 잠재적인 번역후 변형 (PTM) NG 부위를 각각 서열 2B11G2\_VH1\_Hz0\_N55Q 및 서열 2B11G2\_VH1\_Hz1\_N55Q에서 NG를 QG로 치환함으로써 제거하였다.

[0569]

인간 배선 서열 A10 (VBASE VKVI A10; IMGT IGVK6-21\*01)을 2B11G2 VL을 인간화하기 위한 수용자 프레임워크로서 선택하고; 2B11G2 VL의 CDR을 수용자 프레임워크 내로 그래프팅하여 2B11G2\_VK6\_Hz0으로 명명된 2B11G2 VL의 제1 인간화 서열을 생성하였다. 공여자와 수용자 서열 사이에 고도로 보존된 프레임워크로 인해 추가의 프레임워크 돌연변이는 도입되지 않았다.

[0570]

각각의 인간화 서열의 뉴클레오타이드 서열을 코돈 최적화에 의해 생성하였다.

[0571]

다중 인간화 VH 서열 및 다중 인간화 VL 서열을 설계하였고; IgG1 또는 Fab에서의 인간화 항체의 패널은 각각의 인간화 VH 서열 및 각각의 인간화 VL 서열을 조합함으로써 생성될 수 있다. VH 서열 및 VL 서열은 상이한 플라스미드에서 운반되었고, 이에 따라 중쇄 플라스미드 및 경쇄 플라스미드 둘 다를 발현 숙주 세포 (즉 HEK293-6E 세포) 내로 공동-형질감염시켜 특이적 항체를 생성하였다. 이 인간화 연구에서, 키메라 또는 인간화 항체를

IgG1 형태로 생산하였다.

- [0572] 4E10D7 인간화 항체의 설계
- [0573] 4E10D7 마우스 항체로부터 유래된 인간화 항체를 상기 기재된 바와 같은 CDR 그래프팅에 의해 설계하였다.
- [0574] 인간 배선 서열 1-02 (VBASE VH1 1-02; IMGT IGHV1-2\*02)를 4E10D7 VH를 인간화하기 위한 수용자 프레임워크로서 선택하고; 4E10D7 VH의 CDR을 수용자 프레임워크 내로 그래프팅하여 4E10D7\_VH1\_Hz0으로 명명된 4E10D7 VH의 제1 인간화 서열을 생성하였다. 중쇄 프레임워크의 위치 71, 73, 94 (코티아 넘버링 규정)를 상응하는 마우스 공여자 잔기로 돌연변이시켜 서열 4E10D7\_VH1\_Hz1을 생성하였다. 4E10D7\_VH1\_Hz1의 CDR2에서의 잠재적인 번역후 변형 (PTM) NG 부위를 서열 4E10D7\_VH1\_Hz1\_N55Q에서 NG를 QG로 치환함으로써 제거하였다.
- [0575] 인간 배선 서열 L25 (VBASE VKIII L25; IMGT IGHV3/OR2-268\*01)를 4E10D7 VL을 인간화하기 위한 수용자 프레임워크로서 선택하고; 4E10D7 VL의 CDR을 수용자 프레임워크 내로 그래프팅하여 4E10D7\_VK3\_Hz0으로 명명된 4E10D7 VL의 제1 인간화 서열을 생성하였다. 경쇄 프레임워크에서의 위치 4, 36, 46, 83 및 87 (코티아 넘버링 규정)를 상응하는 마우스 잔기로 돌연변이시켜 4E10D7\_VK3\_Hz3으로 명명된 인간화 서열을 생성하였다.
- [0576] 인간화 VH 및 VL 서열은 상이한 플라스미드에서 운반되었고, 숙주 세포 (즉 HEK293-6E 세포)는 1개의 중쇄 플라스미드 및 1개의 경쇄 플라스미드로 공동-형질감염되어 특이적 IgG1 항체를 생성하였다.
- [0577] 인간화 항체의 생산 및 정제
- [0578] HEK293-6E 세포를 0.1% 플루로닉(Pluronic) F68 (인비트로젠, 24040-032) 및 4 mM L-글루타맥스(L-GlutaMAX) (인비트로젠, 35050-061)로 보충된 F17 배지 (인비트로젠, 0050092DK)에서 배양하였다. 세포를  $1 \times 10^6$  개/ml의 밀도에서 형질감염 전날에 처리하고 항생제를 배지로부터 제거하였다. 형질감염 당일에, 세포 밀도 및 생존율을 먼저 측정하여 밀도가  $1.5\text{--}2.0 \times 10^6$  개 세포/ml 내에 있고 생존율이 95% 초과하도록 보장하였다. 플라스미드 DNA의 사용량을 세포의 부피에 의해 계산하고, 총 플라스미드 DNA 양은 전형적으로 항체 발현에 대해 1 ug당  $1 \times 10^6$  개의 세포였다. 중쇄 (HC) 플라스미드 및 경쇄 (LC) 플라스미드 (권장된 HC:LC 비는 IgG 발현에 대해 1:1.5이고 Fab 발현에 대해 1.5:1임)를 멸균수 (인비트로젠, 10977-015)에 첨가하고, 인헨서:DNA=1~4 ul : 10 ug의 비로 형질감염 인헨서 293 발현 MAX-1 (아크로 바이오시스템즈(ACRO Biosystems), Exp-711)로 보충하고, 이어서 결과적으로 PEI:DNA=4:1의 비로 1 mg/ml의 형질감염 시약 PEI (폴리에틸렌이민, 선형, 25 Da, 폴리사이언시스(Polysciences), 24885)를 첨가하였다. 이어서 혼합물을 서서히 세포에 첨가하였다. 트립톤 (트립톤 N1, 오르가노테크니(Organotechnie), 테크니사이언스 인크.(TekniScience Inc.), 19553)을 0.5%의 최종 농도로 형질감염 후 24시간에 세포에 첨가하였다. 형질감염된 세포를 60%~80%의 생존율에서 일반적으로 형질감염 후 5 내지 7일에 수거하였다.
- [0579] 정제 공정을 AKTExpress 시스템 (지이 헬스케어(GE Healthcare))에 의해 수행하였다. 간략하게, 수거된 세포를 10000G에서 10분 동안 원심분리하고 상청액을 0.22 um 막을 통해 여과시켜 작은 세포 파편을 제거하였다. 동등 부피의 DPBS (깁코(GIBCO), A12586-01)를 상청액에 첨가하여 포획 효율을 개선시키는 것이 권장되었다. IgG 정제의 경우 맵셀렉트(MabSelect) 칼럼 (지이 헬스케어)을 AKTExpress 기기에 연결하고, Fab 정제의 경우 카파셀렉트(KappaSelect) 칼럼 (지이 헬스케어)을 사용하였다. 칼럼을 10 CV (칼럼 부피)의 구동 완충제 (DPBS)로 평형화한 후 샘플을 로딩하였다. 샘플을 로딩한 후, 칼럼을 8 CV DPBS로 세척하였다. 항체 샘플을 칼럼으로부터 시트르산 용리 완충제 구배 (50 mM 시트르산 나트륨, 140 mM NaCl, pH2.5)에 의해 용리하고, 이어서 중화 완충제 (1 M Tris-HCl, pH9.0)를 포함한 딥 웰 플레이트 (써모 사이언티픽 눈크(Thermo Scientific Nunc) 플레이트, 카탈로그 THM#278743) 내로 수집하였다. 항체 샘플을 웰로부터 풀링하고 이어서 PBS 중에서 투석하거나 또는 아미콘(Amicon) 원심분리 튜브를 통해 여과시킴으로써 처리하였다.
- [0580] 인간화 변이체의 친화도 성숙
- [0581] 4E10D7에 기초한 및 2B11G2에 기초한 인간화 항체를 결합 친화도에 대해 검정하고, 각각의 무린 항체로부터 유래된 단일 인간화 변이체를 추가의 정밀화를 위해 효모 디스플레이 라이브러리를 사용하여 결합 "핫 스팟" 및 CDR 영역에 걸친 합리적 설계 및 돌연변이유발 둘 다에 의한 친화도 성숙에 의해 선택하였다. 변이체 항체를 결합 친화도에 대해 검정하였다.
- [0582] 모 4E10D7-유래 인간화 항체 hz45에 기초한 총 21개의 중쇄 변이체 (4E10D7\_AM\_H\_01 내지 4E10D7\_AM\_H\_21로 명명됨)를 설계하는 한편, 4E10D7-hz45로부터의 경쇄 (4E10D7\_AM\_L\_00으로 명명됨)를 모든 추가의 변이체에서 사



용하였다.

- [0583] 모 2B11G2-유래 인간화 항체 hz42 또는 hz52 VH에 기초한 총 50개의 중쇄 변이체 (2B11G2\_AM\_H\_01 내지 2B11G2\_AM\_H\_50으로 명명됨), 및 모 2B11G2-유래 인간화 항체 hz52 VL에 기초한 5개의 경쇄 변이체 (2B11G2\_AM\_L\_01 내지 2B11G2\_AM\_L\_05로 명명됨)를 설계하였다.
- [0584] 개선된 친화도를 나타내는 돌연변이를 갖는쇄를 IgG 또는 Fab 포맷으로 구축하였다. 유래된 항체를 후속적으로 중쇄 및 경쇄 식별자로부터의 접미어를 사용하여 재명명하였다. 예를 들어, 4E10D7\_AM\_H\_01 중쇄 및 4E10D7\_AM\_L\_00 경쇄를 포함하는 IgG를 AM0100으로 재명명하고; 4E10D7\_AM\_H\_19 중쇄 및 4E10D7\_AM\_L\_00 경쇄를 포함하는 IgG를 AM1900으로 재명명하고; 2B11G2\_AM\_H\_44 중쇄 및 2B11G2\_AM\_L\_05 경쇄를 포함하는 IgG를 AM4405로 재명명하였다.
- [0585] 구축된 항체를 본원에 기재된 BRE-Luc 검정을 사용하여 huBMP9에 대한 결합, 및 BMP9 신호전달의 억제에 대해 검정하였다.
- [0586] 실시예 3: 파지 디스플레이 기술에 의한 항-BMP9 항체의 생성
- [0587] 상기 기재된 마우스 하이브리도마 및 인간화 절차에 의해 항-BMP9 항체를 확인하는 노력과 병행하여, 파지 디스플레이를 완전 인간 항-BMP9 항체를 확인하는 데 사용하였다. 간략하게, 인간 BMP9를 인식하는 항체의 선택을 위해, 다중 패닝 전략을 사용하였다. 인간 BMP9 단백질에 대한 치료 항체를 항체 변이체 단백질의 공급원으로서 상업적으로 입수가능한 파지 디스플레이 라이브러리인 모르포시스(MorphoSys) HuCAL 플라티늄® 라이브러리를 사용하여 높은 결합 친화도를 갖는 클론의 선택에 의해 생성하였다. 파지미드 라이브러리는 HuCAL® 개념 (Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57-86)을 기반으로 하고 Fab를 파지 표면 상에 디스플레이하기 위한 시스디스플레이(CysDisplay)® 기술 (W001/05950, Lohning)을 사용한다. 라이브러리 다양성을 유지하면서 항체 결합 친화도를 증가시키기 위해 전세포 및 차별적 전세포 패닝 전략의 제3 라운드 결과를 입력하면서 용액 및 고체 상 패닝 둘 다의 제2 라운드 결과를 RapMAT™ 프로세스에 입력하였다 (Prassler et al., (2009) Immunotherapy; 1: 571-583).
- [0588] 전장 IgG를 발현하기 위해, 중쇄 (VH) 및 경쇄 (VL)의 가변 도메인 단편을 Fab 발현 벡터로부터 인간 불변 도메인을 포함하는 적절한 발현 벡터 내로 서브클로닝하였다. 진행 HKB11 세포를 IgG의 중쇄 및 경쇄 둘 다를 코딩하는 발현 벡터 DNA로 형질감염시켰다.
- [0589] 항체를 그의 수용체에 대한 BMP9 결합의 결합 친화도, 특이성 및 억제에 대해 검정하였다. 항-BMP9 항체를 3개의 군으로 분류하였다: 제I형 억제제 (ALKI의 BMP9에 대한 결합을 억제할 수 있음), 제II형 억제제 (ActRIIB 및/또는 BMPRII의 결합을 억제할 수 있음), 또는 제I형 + 제II형 억제제 (ALKI 및 ActRIIB 및/또는 BMPRII의 결합을 억제할 수 있음).
- [0590] huBMP9에 대해 가장 높은 친화도를 나타내는 항체를 추가의 조작에 적용하였다. 조작 공정을 PCR-기반 전략을 사용하여 수행하였다. 중복 연장 PCR에 의한 합성 및 조립 후 재조작된 VH 및 VL 단편을 후속 Fab 또는 IgG 발현에 적절한 벡터 백본 내로 서브클로닝하였다. 조작 공정은 하기 측면을 수반하였다: 배선화, PTM 부위의 제거, 및/또는 코돈 최적화.
- [0591] 실시예 4: BMP 수용체 억제 검정
- [0592] 차단 ELISA를 BMP9와 그의 수용체 사이의 상호작용을 억제할 수 있는 양성 클론을 확인하는 데 사용하였다. 4개의 상이한 재조합 BMP9 수용체를 사용할 수 있다: 인간 Alk1-Fc (알앤디 시스템즈, 370-AL-100); 인간 BMPRII-Fc (알앤디 시스템즈, 811-BR-100); 인간 ActRIIA-Fc (알앤디 시스템즈, 340-R2-100); 인간 ActRIIB-Fc (알앤디 시스템즈).
- [0593] 특이적 리간드/수용체 조합에 대한 항체 샘플의 차단 활성을 ELISA에 의해 측정하였다. 간략하게, 코팅 완충제 (PBS) 중 1 ug/ml의 농도에서 50 ul의 수용체를 96 웰 ELISA 플레이트 내로 4℃에서 밤새 첨가하고, 이어서 PBST로 1회 세척하였다. ELISA 플레이트를 각각의 웰에서 200 ul 차단 완충제 (1% BSA를 함유하는 PBST)로 차단하고 이어서 실온 (RT)에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 이어서 PBST로 3회 세척하였다. 희석된 항체 샘플을 비오틴화 인간 BMP9 (1 ug/ml의 bio-hBMP9)와 혼합하고 실온에서 45분 동안 인큐베이션하였다. 항체 및 bio-hBMP9의 혼합물을 50 ul/웰로 플레이트에 첨가하고 이어서 실온에서 30분 동안 인큐베이션하고, 이어서 PBST로 3회 세척하였다. 50 ul 폴리-HRP 스트렙타비딘 (썬코퍼셔(ThermoFisher), 21140)을 플레이트의 각각의 웰에 첨가하고 실온에서 30분 동안 인큐베이션하고, 이어서 PBST로 5회 세척하였다. 최종적으로, 50 ul의 TMB

시약 (인비트로젠 002023) 및 50  $\mu$ l의 1N HCl (인비트로젠 SS01100)을 각각의 웰에 첨가하여 반응을 정지시켰다. 각각의 웰의 흡광도를 450 nm에서 판독하여 판독치 OD<sub>450</sub>을 얻었다. 항체는 IC<sub>50</sub> < 1 nM로 Alk1의 BMP9에 대한 결합을 억제하는 경우에 "제I형" 억제제로서 특징화되었다. 항체는 IC<sub>50</sub> < 1 nM로 ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 BMPRII의 BMP9에 대한 결합을 억제하는 경우에 "제II형" 억제제로서 특징화되었다. 항체는 IC<sub>50</sub> < 1 nM로 Alk1의 BMP9에 대한 결합 및 IC<sub>50</sub> < 1 nM로 ActRIIA, ActRIIB, 및/또는 BMPRII의 결합을 억제하는 경우에 "제I형 + 제II형"으로 특징화되었다. 각각의 BMP 수용체의 인간 BMP9에 대한 결합의 억제를 개별 검정에서 측정하였다.

[0594] 실시예 5: 항-BMP9 항체의 BMP9에 대한 결합 친화도

[0595] 용액 평형 적정 (SET) 검정은 단단한 결합체에 대한 Fab-항원 상호작용 친화도 (KD)의 결정을 허용한다 (문헌 [Friquet, B., Chaffotte, A.F., Djavadi-Ohanian, L., and Goldberg, M.E. (1985). Measurements of the true affinity constant in solution of antigen-antibody complexes by enzyme-linked immunosorbent assay. J Immunol Meth 77, 305-319] 참조; 본원에 참조로 포함됨). 이 기술은 각각의 상호작용 파트너의 고정화 또는 표지를 필요로 하지 않고 강한 상호작용 (pM 내지 낮은 nM 범위)에 적합하다. 간략하게, 일정한 농도 (예상 K<sub>i</sub> 이하의 농도)의 Fab의 혼합물을 평형에 도달할 때까지 적합한 농도 범위 내에서 항원과 공동-인큐베이션하였다. 유리 Fab 결합 부위의 양을 혼합물을 항원-코팅된 플레이트 상에 옮기고 잠시 동안 인큐베이션함으로써 결정하였다. 유리 Fab를 결과적으로 플레이트에 결합시키고 Fab-항원 복합체를 제거하기 위한 세척 단계 후 검출 항체로 검출하였다. 생성된 신호를 항원 농도에 대해 플롯팅하고; K<sub>D</sub>를 비-선형 곡선 피팅에 의해 정확하게 결정하였다.

[0596] 항원 (인간 BMP9 (GD-43-KS00); 시노 BMP9, 래트 BMP9 (알앤디 시스템즈 5566-BP) 또는 마우스 BMP9 (iPROT101715))의 22개의 연속 제2 희석물을 인큐베이션 완충제 (0.5% BSA (시그마 Cat#A7906-500G) 및 0.02% 트윈-20 (VWR Cat#437082Q)을 함유하는 PBS (테크노바(Teknova) Cat#P0195)) 중에서 제조하였다. 일정한 농도의 Fab를 첨가하였다. 60  $\mu$ l의 부피의 각각의 항원:Fab 혼합물을 384-웰 폴리프로필렌 마이크로타이터 플레이트 (PP MTP, 그라이너(Greiner) Cat#781280)에 이중으로 분배하였다. 인큐베이션 완충제는 음성 대조군으로서 역할을 하고 항원을 함유하지 않는 샘플은 양성 대조군 (B<sub>max</sub>)으로서 역할을 하였다. 플레이트를 밀봉하고 밤새 (O/N) 실온 (RT)에서 인큐베이션하였다.

[0597] 384-웰 표준 MSD 어레이 플레이트 (메소 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery) Cat#L21XA)를 포획제로서 PBS에 희석된 30  $\mu$ l/웰 인간 BMP9로 코팅하고 밤새 4°C에서 인큐베이션하였다. 70  $\mu$ l/웰 세척 완충제 (TBS (테크노바 Cat#T1680) + 0.05% 트윈-20)로 3회 세척 후, 플레이트를 50  $\mu$ l/웰 차단 완충제 (PBS + 5% BSA)로 1시간 동안 실온에서 차단하였다. 세척 후, 30  $\mu$ l/웰의 부피의 항원:Fab 혼합물을 PP MTP로부터 코팅된 MSD 플레이트로 옮기고 20분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 추가의 세척 단계 후, 인큐베이션 완충제 중에서 1:1000 희석된 30  $\mu$ l의 검출 항체 (MSD 솔포-태그 NHS 에스테르 (메소 스케일 디스커버리 Cat#R91AN-1)와 접합된 염소 항-인간 Fab 특이적 (잭슨 이뮤노 리서치(Jackson Immuno Research) Cat#109-005-097))를 각각의 웰에 첨가하고 30분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. MSD 플레이트를 세척하고 35  $\mu$ l/웰의 판독 완충제 (MSD 판독 완충제 T 4x, 메소 스케일 디스커버리 Cat#R92TC-1)를 첨가하고 이어서 5분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. ECL 신호를 MSD 섹터 이미저(SECTOR Imager) 6000으로 측정하였다. 데이터를 Fab에 대한 1:1 피트 모델에 따라 XLfit (IDBS) 소프트웨어로 평가하였다 (문헌 [Piehler et al., 1997]에 따름).

[0598] 실시예 6: 항-BMP9 항체의 결합 특이성

[0599] 항-BMP9 항체의 BMP9에 대한 결합 친화도를 확인하고, 다른 항원에 대한 친화도 (및 특이성)를 비아코어 T200 기기 (비아코어, 지이 헬스케어)에 의한 SPR을 통해 결정하였다. 항원 (재조합 인간 (rh) BMP9, 또는 rhBMP2 (알앤디 Cat#355-BM-010), rhBMP7 (알앤디 Cat#354-BP-010), 또는 rhBMP10 (알앤디 Cat#2926-BP-025))을 표준 EDC-NHS 아민 커플링 화학을 사용하여 특정 표면 밀도 (rhBMP9에 대해 50 RU, rhBMP2에 대해 800 RU, rhBMP7에 대해 580 RU, rhBMP10에 대해 390 RU)에 도달하도록 CM5 센서 칩 (비아코어, 지이 헬스케어) 상에 고정화시켰다. 구동 완충제는 30  $\mu$ l/분의 HBS-EP+이다. 동역학적 측정을 6개의 상이한 Fab 농도의 2배 연속 희석물 (31.25 nM, 62.5 nM, 125 nM, 250 nM, 500 nM, 1000 nM)을 사용하여 수행하였다. 샘플을 180초의 주사 시간 및 1500초의 해리 시간 동안 킨젝트(KINJECT)를 사용하여 30  $\mu$ l/분의 유량에서 측정하였다. 각각의 사이클 후 센서 칩을 재생성하여 결합된 분석물을 10 mM 글리신 pH 1.5 (rhBMP9의 경우) 또는 50 mM NaOH (rhBMP2, rhBMP7 또는 rhBMP10의 경우)로 제거하였다. 미가공 데이터를 비아코어 T200 평가 소프트웨어 (비아코어, 지이



헬스케어)를 사용하여 1:1 결합 모델에 피팅하여  $k_{on}$  및  $k_{off}$  속도 상수를 결정하고 이어서 그 후에 KD를 계산하였다.

[0600] 관련 기술분야의 통상의 기술자는, 예를 들어, ELISA 또는 옥테트 (포르테-바이오(Forte-Bio) 옥테트)를 포함하는 다른 방법이 항체의 BMP9에 대한 친화도를 측정하는 데 사용될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 각각의 기술이 실질적으로 유사한 결과를 생산할 것으로 예상되는 한편, MSD-SET에 의해 측정된 바와 같은 결합 친화도 및 KD가 약 10 nM 미만의 KD를 갖는 항체에 대해 확정적인 것으로 간주된다.

[0601] 실시예 7: 항-BMP9 항체의 시험관내 활성

[0602] BMP9-유도된 신호전달을 억제하는 항체의 능력을 BRE (BMP9 반응성 요소)-구동 반딧불이 루시페라제를 안정하게 발현하는 HEK293T ID-BRE2-luc 세포를 사용하여 검정하였다.

[0603] 안정하게 형질감염된 HEK293T ID-BRE2-luc 세포를 둘베코 변형 이글 배지 (DMEM, 고 글루코스; 글루타맥스™-II, 4.5 g/l 글루코스를 함유하지만 피루브산나트륨을 함유하지 않는 DMEM; 기코, # 31965) 및 10% 열 불활성화된 태아 소 혈청 (FBS, PAN # P30-1502, 56°C에서 30분 동안의 인큐베이션에 의해 열 불활성화됨) (항생제 무함유) 중에서 성장시켰다. 세포를 37°C에서 5% CO<sub>2</sub> 대기에서 인큐베이션하였다. 하위-배양을 위해, 세포를 1x DPBS (CaCl<sub>2</sub> 및 MgCl<sub>2</sub> 없음; 기코, # 14190) 중에서 1회 세척한 후 아큐타제(Accutase) 용액 (PAA, # L11-007)으로 분리시켰다. 세포를 1주 2회 하위-배양하였다. 선택 항생제로서, 블라스티시딘 S HCL (인비트로젠, # R210-01)을 10 µg/ml의 최종 농도로 하위-배양된 세포에 새로이 첨가하였다.

[0604] 리포터 유전자 검정을 위해, 세포를 아큐타제를 사용하여 분리하고 384 웰 편평 바닥 백색 검정 플레이트 (벡톤 디킨슨(Becton Dickinson) 랩웨어, #35-3988)에서 측정 배지 (선택 항생제가 없는 배양 배지)에 웰당 1x10<sup>4</sup> 개의 세포의 밀도로 시딩하고 밤새 37°C 및 5% CO<sub>2</sub>에서 인큐베이션하였다. 그 다음날, 정제된 IgG를 항원 (최종 농도: 300 pM)과 함께 30분 동안 37°C에서 미리 인큐베이션하였다. 인간 BMP9 유도된 활성의 경우, 본 발명자들은 재조합 인간 BMP9 복합체 (200 ng/ml, 아우텍바이오 FTZ 인크.(AutekBio FTZ Inc.)에 의해 정제됨)를 사용하고; 인간 BMP2 유도된 활성의 경우, 본 발명자들은 재조합 인간 BMP2 (100 ng/ml, 알앤디 #355-BM-010/CF)를 사용하고; 인간 BMP7 유도된 활성의 경우, 본 발명자들은 재조합 인간 BMP7 (400 ng/ml, 알앤디 #354-BP-010/CF)를 사용하고; 래트 BMP9 유도된 활성의 경우, 본 발명자들은 90mm 디쉬에 시딩된 293T 세포 내에서 6µg pcDNA3.1-래트 BMP9 플라스미드를 과다발현하고, 48시간 후, 배양 배지를 래트 BMP9 조건 배지로서 수집하고, 본 발명자들은 1/16 희석된 래트 BMP9 조건 배지를 사용하였다. 미리 인큐베이션된 항체-항원 혼합물을 세포에 첨가하고 자극 후 18시간에, 세포를 용해시키고 루시페라제 활성을 제조업체의 프로토콜에 따라 브라이트-글로 (Bright-Glo)™ (브라이트-글로™ 루시페라제 검정 시스템; 프로메가(Promega), # E2620)를 세포에 첨가함으로써 검출하였다. 발광을 테칸(Tecan) 판독기 (통합 시간: 250 ms; 감쇠: 없음; 이동과 통합 사이의 시간: 3 ms)에서 측정하였다.

[0605] 실시예 8: Smad1/5/8 인산화 검정

[0606] HUVEC 세포 검정의 경우, HUVEC 세포를 올셀즈(Allcells)로부터 구입하고 HUVEC 배지 (올셀즈, H-004)에서 배양하였다. 6-웰 플레이트를 3x10<sup>5</sup> 개 세포/웰로 시딩하고 배지에서 배양하였다. 이어서 세포를 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>와 함께 밤새 인큐베이션하였다. 세포에, BMP9 항체를, BMP9 (상기 기재된 바와 같은 재조합 인간 BMP9 복합체)와 함께 또는 없이, DMEM 플러스 0.5%FBS 중에서 첨가하였다. 1시간 후, 세포를 수거하고 SDS 샘플 완충제 중에서 10분 동안 95°C에서 변성시켰다. 단백질을 SDS-PAGE에 의해 분리하고 니트로셀룰로스 막 (아이블롯 진 트랜스퍼 스택(iBlot Gene Transfer Stack), 라이프 테크(Life Tech) #34095) 상에 블롯팅하였다. 막을 5% 탈지 분유로 1시간 동안 차단하고 이어서 1차 항체, 항-인-Smad 1/5 Ab (CST #9516, 1:1000), 항-ID1 Ab (산타 크루즈(Santa Cruz) #SC-488, 1:200) 또는 항-GAPDH Ab (CST #2118, 1:2000)와 함께 밤새 4°C에서 인큐베이션하였다. 세척한 후, 막을 1시간 동안 실온에서 적절한 양고추냉이 퍼옥시다제-접합된 2차 항체를 사용하여, 1시간 동안 실온에서 항-마우스 IgG-HRP (CST #7076, 1:2500) 또는 항-토끼 IgG-HRP (CST #7074, 1:2500)를 사용하여 인큐베이션하였다. 결과를 바이오레드 캠독(BioRed ChemDoc) 영상 기계에 의해 가시화하였다.

[0607] CFSC 세포 검정의 경우, CFSC 세포를 DMEM 플러스 10%FBS와 함께 배양하였다. 제0일에, 배양 배지의 1.0x10<sup>5</sup> 개 세포/ml 현탁액의 50 µl / 웰 (5x10<sup>3</sup> 개 세포/웰)을 흑색-96-웰 PE 플레이트에서 시딩하고, 밤새 37°C, 5% CO<sub>2</sub>

에서 인큐베이션하였다. 제1일에, 항체 희석물 및 인간 BMP9 용액: 제조한 인간 BMP9 복합체 (200 ng/ml) 및 Ab (12ug/ml로부터 1:3 비로 6회 희석)를 제조하였다. 항체 및 BMP9 (1:1)를 혼합하고, 30분 동안 37℃에서 인큐베이션하고, 이어서, 50  $\mu$ l /웰의 BMP/Ab 혼합물을 이전날로부터의 50  $\mu$ l의 배지를 함유하는 세포 플레이트에 첨가하고, 37℃에서 5%CO<sub>2</sub>와 함께 인큐베이션하였다. 1.5시간 후, 플레이트를 4% 파라포름알데히드에서 15분 동안 실온에서 고정시키고, PBS로 세척한 후, 세포를 PBS 중 0.1% 트리톤X-100으로 또 다른 15분 동안 실온에서 투과시켰다. 다시 세척하고, 세포를 PBS 중 3%BSA로 1시간 동안 실온에서 차단하였다. 이어서 p-Smad1/5/8 항체 (밀리포어(Millipore) #AB3848)와 함께 밤새 4℃에서 인큐베이션하고, 세척한 후, 2차 항체 (알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 488 당나귀 항-토끼 항체, 라이프 테크 #A21206) 플러스 DAPI 염료와 함께 또 다른 2시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 완전히 세척하고, 이어서 100ul PBS를 공급하고, 써모피셔 셀로믹스 어레이스캔 HCS 시스템에 의해 판독하였다.

[0608] 실시예 9: 항-BMP9 항체의 생체내 활성

[0609] 항-BMP9 항체의 생체내 효능을 간 섬유증의 유체역학 주사 (HDI) 마우스 모델을 사용하여 측정하였다.

[0610] 특이적 병원체 무함유 (SPF) 및 7-8주령인 수컷 BALB/c 마우스는 상하이 Slac 래보러토리 애니멀 캄파니, 리미티드(Shanghai Slac Laboratory Animal Co., Ltd.)에 의해 공급되었다. 시설에 도착 시, 마우스를 적어도 7일 동안 순응시켰다. 무작위로 그룹화 후, 마우스를 정맥내로 BMP9 Ab 또는 인간 대조군 IgG에 이어 BMP9 플라스미드 또는 블랭크 벡터의 유체역학 주사 (HDI)로 1회 처리하였다. 4일 후, 칭량한 후, 마우스를 모두 희생시켜 혈액 및 간 조직 샘플을 수집하였다. 100mg/kg 케타민으로 마취 하에서, 심장 천자를 수행하여 가능한 많은 혈액을 얻었다. 전체 간을 신속하게 염수로 플러싱하고, 종이 수건 상에서 잠시 동안 블롯팅하고, 이어서 칭량하여 간 중량/체중 비를 측정하였다. 간 형태 관찰 후, 간을 슬라이싱하고, 이어서 간 조각을 극저온 바이알 내로 옮기고 분자 생물학 분석을 위해 액체 질소 중에서 순간-동결시켰다. 모든 샘플을 분석 전에 -80℃에서 보관하였다.

[0611] 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 및 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) 수준을 포함하는 간 기능을 퀵 오토 네오(Quick Auto Neo) ALT 및 퀵 오토 네오 AST 키트 (시노-테스트 코퍼레이션(SHINO-TEST CORPORATION), 일본)를 사용하는 히타치(HITACHI) 7020 자동 생화학 분석기에 의해 측정하였다. 간 조직을 유전자 발현 프로파일링 및 조직학 분석에 적용하였다. 유전자 발현 프로파일링의 경우, 총 RNA를 RN이지(RNeasy) 미니 키트 (키아젠(Qiagen))를 사용하여 조직으로부터 추출하고, 정제된 RNA의 역전사를 제조업체의 지침에 따라 슈퍼스크립트 III(Superscript III) 역전사 키트 (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))를 사용하여 수행하고, 이어서 유전자 전사체의 정량화를 파워 SYBR 그린 PCR 마스터 믹스(Power SYBR Green PCR Master Mix) (ABI) 및 ABI 7500 신속 실시간 PCR 시스템을 사용하는 정량적 실시간 PCR에 의해 측정하였다. 마우스 ID1에 사용된 프라이머 쌍은 5'- CGAGCGGCATGTGTTC -3' (서열식별번호: 219) 및 5'- TCTGGGAACCGAGAGCAC -3' (서열식별번호: 220)이고; 마우스 GAPDH의 경우, 5'-CGTGCCGCTGGAGAAACC -3' (서열식별번호: 221) 및 5'- TGGAAGAGTGGGAGTGTCTGTG -3' (서열식별번호: 222)이었다. 간 조직을 T-per 완충제 (써모, #78510) 중에 용해시켜 항-인-Smad 1/5 Ab (CST #9516, 1:1000), 항-ID1 Ab (산타 크루즈 #SC-488, 1:200), 항-GAPDH Ab (CST #2118, 1:2000), 항-마우스 IgG-HRP (CST #7076, 1:2500) 및 항-토끼 IgG-HRP (CST #7074, 1:2500)를 사용한 ID1 및 p-smad1/5 웨스턴-블롯을 수행하였고, 웨스턴 과정은 smad 1/5 인산화 검정 실험에 의한 시험관내 활성 시험과 동일하다.

[0612] 실시예 10: 간 손상의 생체내 CCl<sub>4</sub> 마우스 모델

[0613] 특이적 병원체 무함유 (SPF) 및 7-8주령인 수컷 BALB/c 및 C57BL/6 마우스는 상하이 Slac 래보러토리 애니멀 캄파니, 리미티드에 의해 공급되었다.

[0614] 시설에 도착 시, 마우스를 적어도 7일 동안 순응시켰다. 무작위로 그룹화 후, 마우스를 올리브 오일 중에 용해된 4  $\mu$ l/g 25% CCl<sub>4</sub>로 2주 동안 1주 2회 복강내로 처리하여 간 섬유증을 유도하였다. 제1 CCl<sub>4</sub> 주사와 동시에, BMP9 Ab를 또한 정맥내로 (10 mg/kg, 1주 2회) 주사하여 간 섬유증 동안 그의 기능을 시험하였다. 마우스를 1주 후 희생시키고, 간 조직을 단백질 발현 프로파일링 및 조직학 분석에 적용하였다.

[0615] 조직학의 경우, 간 시편을 10% 완충 포르말린으로 16-18시간 동안 고정하고, 파라핀으로 포매하였다. 면역조직화학을 벤타나 디스커버리(Ventana Discovery)® 자동화 슬라이드 염색기 (벤타나 메디칼 시스템즈(Ventana Medical Systems), 미국 애리조나주 투산)를 사용함으로써 수행하였다. 토끼 폴리클로날 항 포스포-Smad1/5/8 (밀리포어, 매사추세츠주 빌리리카) 항체를 적절한 농도에서 1차 항체로서 적용하였다. 단백질 발현의 경우,

웨스턴 블롯을 수행하였다. 물질 및 방법은 상기 기재된 Smad 1/5 인산화 검정에 의한 시험관내 활성 시험과 동일하다.

[0616] 실시예 11: 결합 친화도, 특이성 및 시험관내 억제 검정의 결과

[0617] 인간화 하이브리도마-생성된 IgG의 (BRE-Luc RGA에서 측정된 바와 같은) 결합 친화도, 특이성 및 IC50 값이 표 4 및 표 5에 요약되어 있다.

[0618] 표 4.

항체	억제제 하위유형	ALKI/ BMP9의 억제*	ActRIIB/B MP9의 억제*	BMPRII/ BMP9의 억제*
AM0100	제II형	-	+	+
AM1900	제II형	-	+	+
AM4405	제I형	+	-	-

[0619] \* = 모 묶린 항체에 의한 수용체 하위유형의 억제에 기초함.

[0620] + = 약 1 nM 미만의 Ab 농도에서의 상호작용의 억제.

[0621] - = 약 1 nM 미만의 Ab 농도에서의 상호작용의 억제 없음.

[0622] 표 5. 항-BMP9 항체의 동역학적 파라미터 (적어도 3개의 독립적인 검정의 평균). MSD-SET에 의해 측정된 바와 같은 KD 값.

항체	RGA IC50 [pM]	huBMP9 KD [pM]	시노 BMP9 KD [pM]	랫트 BMP9 KD [pM]	마우스 BMP9 KD [pM]	huBMP1 0 KD [pM]	huBMP2 KD [pM]	huBMP7 KD [pM]
AM0100	83	182	128	94	73	nb	nb	nb
AM1900	100	54	n/a	46	n/a	nb	999000	108000
AM4405	90	18	48	13	8	nb	177000	9170000

[0623] n/a = 검정되지 않음

[0624] nb = 결합 없음

[0625] nsp = 매우 약한 결합, 가능한 평가 없음

[0626] 파지 디스플레이-생성된 완전 인간 항체의 (BRE-Luc RGA에서 측정된 바와 같은) 결합 친화도, 특이성 및 IC50 값이 표 6 및 표 7에 요약되어 있다.

[0629] 표 6

항체	억제제 하위유형	VH- 유형	VL- 유형	ALKI/ BMP9의 억제	ActRIIB/ BMP9의 억제	BMPRII/ BMP9의 억제
MOR022928	제I형	VH3_15	람다-3	+	-	-
MOR023787	제I형	VH3_15	람다-3j	+	-	-
MOR022962	제I형 + 제II형	VH3_23	카파-1	+	+	+
MOR022965	제I형 + 제II형	VH1A	카파-1	+	+	+
MOR023073	제II형	VH1B	카파-1	-	+	+
MOR023793	제II형	VH1B	카파-1	-	+	+
MOR023090	제II형	VH5	람다-1	-	+	+
MOR023795	제II형	VH5	람다-1e	-	+	+
MOR023093	제II형	VH1A	람다-1	-	+	+
MOR023796	제II형	VH1A	람다-1e	-	+	+

[0630]

[0631] + = 약 1 nM 미만의 Ab 농도에서의 상호작용의 억제.

[0632] - = 약 1 nM 미만의 Ab 농도에서의 상호작용의 억제 없음.

[0633] 표 7. 파지 디스플레이-생성된 항-BMP9 항체의 동역학적 특성 (적어도 3개의 독립적인 검정의 평균). MSD-SET에 의해 측정된 바와 같은 KD 값.

항체	RGA IC50 [pM]	huBM P9 KD [pM]	시노 BMP9 KD [pM]	랫 BMP 9 KD [pM]	마우스 BMP9 KD [pM]	huBM P10 KD [pM]	huBMP 2 KD [pM]	huBMP 7 KD [pM]
MOR023787	118	200	350	n/a	740	nb	2020000	nsp
MOR022962	138	12	18	6	5	nb	nsp	nsp
MOR022965	180	32	23	n/a	69	nb	3110000	nsp
MOR023793	113	120	240	n/a	440	nb	1810000	686000
MOR023795	167	288	262	69	59	nb	nsp	nsp
MOR023796	130	440	130	n/a	420	nb	nsp	nsp

[0634]

[0635] n/a = 검정되지 않음

[0636] nb = 결합 없음

[0637] nsp = 매우 약한 결합, 가능한 평가 없음

[0638] 함께 취해진 이들 데이터는 인간 BMP9의 적어도 3개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있는 항-BMP9 항체를 확인시켜 준다. AM4405, MOR022928 및 MOR023787은 huBMP9의 에피토프에 결합하며 여기서 결합은 제I형 BMP 수용체 (예를 들어, AlkI)와 BMP9의 상호작용을 억제할 수 있다. 대조적으로, AM0100, AM1900, MOR023073, MOR023793, MOR023795, MOR023796, MOR023090, 및 MOR023093은 huBMP9의 에피토프에 결합하며 여기서 결합은 제II형 BMP 수용체 (예를 들어, ActIIR, BMPRII)와 BMP9의 상호작용을 억제할 수 있다. MOR022962 및 MOR022965는 별개의 에피토프에 결합하며 여기서 결합은 제I형 및 제II형 BMP 수용체 둘 다와 BMP9의 상호작용을 억제할 수 있다. 본원에 개시된 항체에 의한 제I형 BMP 수용체 또는 제II형 BMP 수용체, 또는 제I형 및 제II형 BMP 수용체 둘 다의 억제는 약 1 nM 이하의 IC50에서 달성되었다.

[0639] 이들 데이터는 또한 인간 및 인간화 항체를 포함하는 항체가 고 친화도 및 특이성으로 huBMP9에 결합할 수 있는 2개의 상이한 패닝 공급원으로부터 확인된 바 있다는 것을 나타낸다. 예를 들어, 확인된 모든 항체는 1 nM 미만, 예를 들어, 500 pM 미만의 KD로 huBMP9에 결합한다. 확인된 많은 항체는 200 pM 미만의 KD로 huBMP9에 결합한다. 이에 따라, 본 발명의 항체는 이들 항체가 질환의 동물 모델에 사용될 수 있다는 점에서 유익한 시노-, 래트- 및/또는 무린-BMP9와 교차-반응할 수 있다. 최종적으로, 모든 항체는 BMP9에 대해 고도로 특이적이며, 인간 BMP10, 인간 BMP7 및 인간 BMP2에 비해 BMP9에 대해 적어도 1000-배의 특이성을 갖고, 많은 경우에 인간

BMP10, 인간 BMP7 또는 인간 BMP2에 대한 결합을 나타내지 않는다. 이에 따라, 이들 항체는 리포터 유전자 검정 ("RGA")에서 1 nM 미만, 많은 경우에, 200 pM 미만의 IC50으로 BMP9 신호전달 유도를 억제할 수 있다. 함께 취해진, 이들 결과는 본 발명의 항체가 고도로 특이적이고 잠재적인 항-BMP9 항체라는 것을 입증한다.

[0640]

실시예 12: huBMP9를 포함한 2B11G2 Fab의 결정 구조

[0641]

2B11G2 키메라 Fab 항체와 복합체화된 인간 BMP9의 결정 구조를 2.8 Å에서 해석하였으며, 이는 각각의 비대칭 단위에서 2개의 hBMP9 성숙 도메인 및 2개의 Fab 분자의 1개의 호모-이량체를 함유한다. 구조를 내부 데이터베이스 프로아시스(Proasis) 내에 수탁번호 1dpbd (이후에 1dpbd는 2B11G2 키메라 Fab를 포함한 hBMP9의 구조로서 지칭됨)로 기탁하였다.

[0642]

1dpbd의 구조를 BMP9-Alk1-ActRIIb (PDB: 4FA0)의 구조 상에 오버레이함으로써, 2B11G2 및 Alk1이 BMP9 (성숙 도메인)의 동일한 결합 표면을 공유하며, 이는 2B11G2가 BMP9 결합에 대해 Alk1과 경쟁할 수 있다는 실험적 관찰과 일치한다는 것을 보여주었다. 구조는 또한 ActRIIb와 BMP9의 상호작용이 BMP9에 대한 2B11G2 Fab 결합에 영향을 받지 않는다는 것을 제안하였다.

[0643]

2B11G2의 6개의 모든 CDR은 BMP9와의 상호작용에 기여하고; 주요 결합 계면은 BMP9와 HCDR2, HCDR3과 LCDR3 사이에 확립된다. HCDR1은 소수성 상호작용을 통해 BMP9에 결합하고; 구체적으로, HCDR1의 Thr28 및 Pro30은 BMP9의 (BMP9 성숙 도메인에 대한 넘버링에서) Gly21, Ser24 및 Trp25와 상호작용한다. HCDR2는 주로 소수성 상호작용을 통해 BMP9에 결합하고; 구체적으로, Val50은 BMP9로부터의 페닐 기에 의해 둘러싸여지고, Tyr52는 하나의 BMP9 단량체의 Trp22와의 H-결합 및 또 다른 BMP9 단량체의 Leu60 및 Phe43와의 소수성 상호작용을 갖고, Val57 및 Ser59는 BMP9의 Phe43 및 Pro44와의 소수성 상호작용을 갖는다. HCDR3은 주로 소수성 상호작용을 통해 BMP9에 결합하고; 구체적으로, Phe102는 하나의 BMP9 단량체의 Phe43, Ile56 및 Leu60 및 또 다른 BMP9 단량체의 Trp22 및 Trp25와 패키징되고, Tyr103은 BMP9의 Tyr86 및 Trp25와 적층된다. LCDR1에서의 Asn32는 LCDR1에서 BMP9와의 상호작용을 갖는 유일한 잔기이다. LCDR2에서의 Tyr50은 BMP9의 Asp47과의 H-결합을 형성한다. LCDR3은 혼합된 소수성 및 극성 상호작용을 통해 BMP9에 결합하고; 구체적으로, H-결합으로부터의 Ser91 및 Ser93은 각각 BMP9의 Asp47 및 Asp48과의 결합을 형성하고, His92 주쇄는 BMP9에서의 Asp47 및 Asp48 주쇄와의 H-결합을 형성하고, Trp94 및 Tyr96은 BMP9의 Pro44 및 Ala46과의 소수성 상호작용을 만든다.

[0644]

수용체 경쟁 억제 검정으로부터의 결과는 2B11G2가 BMP9 제I형 수용체 억제제라는 것을 나타냈다. 결정 구조는 2B11G2가 Alk1 (BMP 제I형 수용체) 결합 부위와 중첩되는 에피토프에 결합한다는 것을 보여줌으로써 이를 확인시켜 준다.

[0645]

2B11G2 Fab와 huBMP9의 성숙 단편 (서열식별번호: 215) 사이의 상호작용이 표 8에 예시되어 있다.

[0646]

표 8: 2B11G2 Fab와 인간 BMP9 성숙 도메인 (서열식별번호: 215) 사이의 잔기 접촉.

영역	잔기	huBMP9 상의 접촉	영역	잔기	huBMP9 상의 접촉
HCDR1	T28	S24, W25	HCDR3	Y101	L45, I56
	P30	G21		F102	W22, W25, F43, I56, L60
HCDR2	Y52	W22, F43, L60		Y103	W25, Y86, K96
	N55	F43, L60, L63		G104	K53
	V57	F43, P44		G105	K53
	S59	P44		Y107	L45
	LCDR1	N32	D47	LCDR3	S91
LCDR2		Y50	D47		H92
	S93				D48
	W94				P44, A46
	Y96				A46

[0647]

실시예 13: 항-BMP9 항체의 시험관 활성 평가의 결과

[0648]

도 1a, 및 상기 표 5에 제시된 바와 같이, 하이브리도마-유래 항체 2B11G2-AM4405, 4E10D7-AM0100은 인간 BMP2 또는 인간 BMP7 유도된 리포터 유전자 활성화에 대한 효과를 거의 갖지 않으면서, 비교적 낮은 IC50으로 인간



BMP9 유도된 리포터 유전자 활성을 억제할 수 있다. 이에 따라, 도 1b에 제시된 바와 같이, 모 항체는 래트 BMP9-유도된 리포터 유전자 활성을 억제하고, 명확한 감소 곡선을 피팅할 수 있으며, 이는 이들 항체가 인간 및 래트 BMP9 신호전달에 대해 유사한 억제 활성을 갖는다는 것을 의미한다. 이들 결과는 함께 항-BMP9 항체가 BMP9 신호전달을 특이적으로 억제할 수 있고, 상이한 종으로부터의 BMP9 단백질과 교차 반응 (예를 들어, 인간 및 래트 BMP9와 교차-반응)할 수 있다는 것을 입증한다

[0650] 이에 따라, 파지 디스플레이-생성된 항체는 또한 BMP9에 대해 특이적이고, 상이한 종으로부터의 BMP9에 대해 교차-반응성인 것으로 밝혀졌다. 도 2a 및 상기 표 7에 제시된 바와 같이, 완전 인간 항-BMP9 항체는 1nM 미만의 농도에서 BMP9 신호전달을 억제할 수 있지만, 1 uM 이하의 농도에서 BMP2 또는 BMP7의 신호전달에 영향을 미치지 않았다. 특히, Mor022962는 인간 BMP2- 또는 인간 BMP7-유도된 리포터 유전자 활성에 대한 효과를 거의 갖지 않으면서, 비교적 낮은 IC50으로 인간 BMP9 유도된 리포터 유전자 활성을 억제할 수 있다. 도 1b에 제시된 바와 같이, Mor022962 항체는 래트 BMP9 유도된 리포터 유전자 활성을 억제하고, 명확한 감소 곡선을 피팅할 수 있다. 이들 결과는 함께 파지 디스플레이 생성된-BMP9 항체가 BMP9 신호전달을 특이적으로 억제할 수 있고, 상이한 종으로부터의 BMP9 단백질과 교차 반응 (예를 들어, 인간 및 래트 BMP9와 교차-반응)할 수 있다는 것을 입증한다.

[0651] 실시예 14: 시험관내 Smad 1/5/8 인산화 검정의 결과

[0652] BMP9-유도된 Smad 1/5 인산화 및/또는 Id1 발현을 억제하는 항-BMP9 항체의 능력을 아래 기재된 바와 같은 2종의 세포주: HUVEC 및 CFSC에서 측정하였다.

[0653] 이론에 얽매이지는 않지만, BMP9 신호전달 동안에, BMP9 리간드는 먼저 그의 수용체에 결합하고 이어서 Co-Smad의 도움으로 Smad1/5/8을 인산화시키는 것으로 여겨진다. 그 다음에, 인산화된 Smad1/5/8은 핵으로 진입하여 BMP9 표적 유전자, 예를 들어, ID1의 발현을 촉진시킨다. 따라서, 본 발명자들은 BMP9 신호전달에 대한 관독치로서 인산화된 Smad1/5/8 ("p-Smad 1/5/8") 및 ID1 발현의 수준을 시험하였다. 도 3a에 제시된 바와 같이, 본 발명자들이 CFSC 세포를 BMP9 및 하이브리도마-생성된 항체로 처리한 경우에, 모 4E10D7 항체는 BMP9에 의해 유도된 p-Smad1/5/8 염색의 수준을 억제할 수 있다. 도 3b에 제시된 바와 같이, 파지 디스플레이-생성된 항체 MOR022962 항체는 CFSC 세포에서 BMP9에 의해 유도된 p-Smad1/5/8 염색의 수준을 억제할 수 있다. 더욱이 도 3c에 제시된 바와 같이, HUVEC 세포에서, 파지 디스플레이-생성된 및 하이브리도마-생성된 항-BMP9 항체는 BMP9에 의해 유도된 인산화된 smad1/5 및 ID1 발현의 수준을 감소시킬 수 있다. 상기 모든 데이터는 항-BMP9 항체가 BMP9 신호전달을 억제한다는 것을 나타낸다.

[0654] 실시예 15: 항-BMP9 항체의 생체내 활성의 결과

[0655] 간 손상에 대한 관독치로서 간 형태, 간 중량 및 체중, 간 기능을 사용하여, 본 발명자들은 BMP9 발현 플라스미드의 유체역학 주사가 마우스에서 중증 간 손상을 유도할 수 있다는 것을 발견하였다. 도 4 및 5에 제시된 바와 같이, BMP9 플라스미드의 HDI는 감소된 간 중량 및 체중 (도 4b/5b), 및 증가된 ALT, AST 수준 (도 4c/5c)과 함께 중증 간 괴사 (도 4a/5a)를 유발할 수 있다. 마우스가 동시에 항-BMP9 항체로 치료된 경우에, BMP9 플라스미드 단독의 HDI와 비교하여 간 중량 및 체중이 개선된 한편, 간 괴사, ALT 및 AST 수준이 감소되었다 (도 4/도 5). 함께 취해진 이들 결과는 항-BMP9 항체가 생체내 BMP9-유도된 간 손상을 효과적으로 차단할 수 있다는 것을 나타낸다. 더욱이, 항-BMP9 항체는 또한 BMP9 신호전달의 표적 유전자인 ID1의 BMP9 유도된 발현을 억제할 수 있다 (도 4d/5d). 상기 모든 데이터는 항-BMP9 항체가 BMP9의 생체내 신호전달 및 기능 둘 다를 차단할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0656] 실시예 16: 간 손상의 생체내 CC14 마우스 모델의 결과

[0657] smad1/5/8의 인산화는 오일 대조군과 비교하여 CC14-처리된 마우스에서 웨스턴 블롯 및 조직학 둘 다에 의해 상향조절되었으며 (도 6a, b 및 c/ 도 7a, b 및 c), 이는 BMP9 및 간 손상의 상향조절을 나타낸다. 마우스가 항-BMP9 항체로 치료된 경우에, smad1/5/8의 CC14-유도된 인산화는 억제되었으며, 이는 BMP9 항체가 생체내 BMP9 신호전달을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0658] 실시예 17: 간 섬유증의 장기간 생체내 CC14 마우스 모델

[0659] 특이적 병원체 무함유 (SPF) 및 7-8주령인 암컷 BALB/c 마우스는 상하이 Slac 래보라토리 애니멀 캠퍼니, 리미티드에 의해 공급되었다. 무작위 그룹화 후, 마우스에게 정맥내로 주사하여 (10mg/kg 항-BMP9 항체 또는 마우스 대조군 IgG) 간 섬유증 동안 그의 기능을 시험하였다. 항체 주사 후 2시간에, 마우스를 올리브 오일 중에



용해된 4  $\mu$ l/g 25%  $CCl_4$ 로 복강내로 처리하고, 그 후에 동일한  $CCl_4$  용량으로 2주 동안 1주 2회 처리하여 간 섬유증을 유도하였다.

[0660] 2주 후에 마우스를 희생시켜 혈액 및 간 조직 샘플을 수집하였다. 이소플루란으로 마취 하에, 혈액 샘플을 수집하였다. 전체 간을 신속하게 염수로 플러싱하고, 종이 수건 상에서 잠시 동안 블롯팅하고, 이어서 칭량하였다. 간 형태 관찰 후, 간을 슬라이싱하고, 극저온 바이알 내로 옮기고 분자 생물학적 분석을 위해 액체 질소 중에서 순간-동결시켰다. 모든 샘플을 분석 전에  $-80^{\circ}C$ 에서 보관하였다.

[0661] 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 수준을 퀵 오토 네오 ALT 및 퀵 오토 네오 AST 키트 (시노-테스트 코포레이션, 일본)를 사용하는 히타치 7020 자동 생화학 분석기에 의해 측정하였다. 간 조직을 유전자 발현 및 조직학 분석에 적용하였다. 유전자 발현 분석의 경우, 총 RNA를 RN이지 미니 키트 (퀴아젠)를 사용하여 조직으로부터 추출하고, 정제된 RNA의 역전사를 제조업체의 지침에 따라 슈퍼스크립트 III 역전사 키트 (라이프 테크놀로지스)를 사용하여 수행하고, 이어서 유전자 전사체의 정량화를 파워 SYBR 그린 PCR 마스터 믹스 (ABI) 및 ABI 7500 신속 실-시간 PCR 시스템을 사용하는 정량적 실시간 PCR에 의해 측정하였다. 마우스 ID1에 사용된 프라이머 쌍은 5'-CGAGCGGCATGTGTTC -3' (서열식별번호: 219) 및 5'-TCTGGGAACCGAGAGCAC -3' (서열식별번호: 220); 마우스 GAPDH의 경우, 5'-CGTGCCGCTGGAGAAACC -3' (서열식별번호: 221) 및 5'-TGGAAGAGTGGGAGTTGCTGTTG -3' (서열식별번호: 222)이었다. 간 히드록시프로린 함량을 변형된 히드록시프로린 검정 키트 (시그마)로 검정하였다. 조직학의 경우, 간 시편을 10% 완충 포르말린으로 16-18시간 동안 고정하고, 파라핀으로 포매하고, 이어서 시리우스 레드 염색 및 섬유화 구역의 정량화에 적용하였다.

[0662] 간 섬유증의 생체내  $CCl_4$  마우스 모델의 결과.

[0663] 간 섬유증에 대한 판독치로서 시리우스 레드 염색 및 간 히드록시프로린 함량을 사용하여, 본 발명자들은  $CCl_4$ 의 주사가 마우스에서 간 섬유증을 유도할 수 있다는 것을 발견하였다. 도 8에 제시된 바와 같이,  $CCl_4$  플러스 대조군 IgG의 주사는 양성 시리우스 레드 염색 및 증가된 간 히드록시프로린 함량 (도 8a & b)에 의해 결정된 바와 같이 간 섬유증을 유도할 수 있었다. 이들은 증가된 ALT 수준 (도 8c), 및 증가된 간 중량 (도 8d)을 동반하였다.  $CCl_4$  처리는 또한 BMP9 신호전달을 그의 표적 유전자, Id1을 상향조절함으로써 (도 8e) 활성화시켰다. 마우스가 항-BMP9 항체로 치료된 경우에, Id1 유전자 유도는 극적으로 감소되며, BMP9 항체에 의한 BMP9 신호전달의 충분한 차단을 나타낸다. 한편, 대조군 IgG 군과 비교하여 간 중량이 개선된 한편  $CCl_4$ -유도된 간 섬유증 및 ALT 수준이 유의하게 감소되었다 (도 8). 장기간의 생체내 모델로부터 함께 취해진 이들 결과는 항-BMP9 항체가 BMP9 신호전달을 효과적으로 차단하고 생체내에서  $CCl_4$ -유도된 간 섬유증을 개선시킨다는 것을 나타낸다.

[0664] 실시예 18: 약동학적 (PK) 검정

[0665] 마우스 PK - 항체 4E10D7

[0666] 특이적 병원체 무함유 (SPF) 및 7-8주령인 수컷 C57BL/6 마우스는 상하이 래보러토리 애니멀 캄파니, 리미티드 (SLAC)에 의해 공급되었다. 시설에 도착 시, 마우스를 적어도 7일 동안 순응시켰다. 전체적으로, 15마리의 수컷 마우스를 연구에 사용하고, 상이한 처리 및 다양한 시간 경과에 기초하여 5개의 군으로 무작위화하였다. 제 0일에, 1-4군에게 (정맥내로) 10mg/Kg 항-BMP9 항체 4E10D7를 주사하고; 5군에게 10mg/Kg 대조군 IgG를 주사하였고, 용량 부피는 5ml/kg이다. 혈액을 제-1일 및 투여 후 2시간, 6시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 168시간, 336시간에 특정 군으로부터 수집하였다 (표 9). 상이한 군을 특정한 시점에서 희생시켰다. 비-말단 채혈의 경우, 혈액을 안와 채혈/마취 하의 꼬리 절단을 통해 수집하였다. 말단 채혈 (T)의 경우, 혈액을 심장 천자를 통해 수집하였다.

[0667] 표 9

군	동물	채혈											샘플
		제-1일	0시간	2시간	6시간	24시간	48시간	72시간	96시간	168시간	336시간	희 생	
1군 4E10D7	1	*				*(T)						24 시간	
	2	*				*(T)						24 시간	
	3	*				*(T)						24 시간	
2군 4E10D7	4	*		*				*(T)				72 시간	
	5	*		*				*(T)				72 시간	
	6	*		*				*(T)				72 시간	
3군 4E10D7	7	*			*				*	*(T)		168 시간	
	8	*			*				*	*(T)		168 시간	
	9	*			*				*	*(T)		168 시간	
4군 4E10D7	10	*					*				*(T)	336 시간	
	11	*					*				*(T)	336 시간	
	12	*					*				*(T)	336 시간	
5군 대조군- IgG	13	*			*			*		*(T)		168 시간	
	14	*			*			*		*(T)		168 시간	
	15	*			*			*		*(T)		168 시간	

[0668]

[0669]

다양한 시점에서의 IgG 농도를 경쟁 Elisa 검정에 의해 검출하였다. 0.25 µg/mL, 100 µl/웰의 인간 BMP9 복합체를 96-웰 플레이트 상에 코팅하고, 밤새 4℃에서 인큐베이션하였다. 세척 완충제 (1\*PBS+0.1%트윈20)로 3회 세척 후, 300ul/웰의 차단 완충제 (1\*PBS+0.1%트윈20+1%BSA)를 첨가하고, 450rpm에서 1시간 동안 실온에서 진탕하였다. 이어서 샘플을 제조하여 시험하고: 표준 곡선을 위해, 120 µl의 Ab (8% 나이브 마우스 혈청을 함유하는 검정 완충제에서 100 ug/ml로부터 1:3 비로 7회 희석)를 120 µl 비오틴화 Ab (검정 완충제에서 0.067 ug/ml로 희석)와 혼합하고; 혈청 샘플의 경우, 9.6 µl 혈청 샘플을 120 µl 검정 완충제 내에 첨가하고 (12.5 배 희석), 120 µl 비오틴화 Ab (검정 완충제에서 0.067ug/ml로 희석)와 혼합하였다. 검정 완충제는 1\*PBS+0.05%트윈20+1%BSA였다. 플레이트를 세척 완충제로 3회 세척하고, 이어서 100 µl/웰로 제조된 샘플을 각각의 시점 동안 이중으로 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 후속적으로, 또 다른 3회 세척 후, 100 µl/웰 HRP-스트렙타비딘 (1:5000, 피어스 #21140)을 각각의 웰에 첨가하고, 450rpm에서 진탕하면서 암실에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 세척하고 TMB 기질 (라이프 테크 #002023)을 검정 플레이트의 각각의 웰에 첨가하고, 밀봉하고 450rpm에서 진탕하면서 실온에서 약 5분 동안 인큐베이션하였다. 100 µl/웰 1M HCl을 첨가함으로써 반응을 정지시키고, 이어서 450nm에서 OD를 판독하였다.

[0670]

ANIT 래트 모델에서의 PK 검정 - 4E10D7

[0671]

7-8주령인 수컷 SD 래트는 상하이 Slac 래보러토리 애니멀 캄파니, 리미티드에 의해 공급되었다. 시설에 도착 시, 래트를 적어도 7일 동안 순응시켰다. 6마리의 수컷 래트를 이 연구에 사용하고, 상이한 처리에 기초하여 2개의 군으로 무작위화하였다. 제0일에, 1군에게 10mg/Kg 항-BMP9 IgG를 (정맥내로) 주사하고; 2군에게 10mg/Kg 대조군 IgG를 주사하고, 1군 및 2군에게 ANIT 사료 (SLAC에 의해 공급됨)를 제공하였다. 혈액을 제-1일 및 투여 후 2시간, 6시간, 8시간, 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 192시간, 336시간, 504시간에 각각의 래트로부터 수집하였다. 모든 군을 3주 후에 희생시켰다. 비-말단 채혈의 경우, 혈액을 안와 채혈/마취 하의 꼬리 절단을 통해 수집하였다. 말단 채혈의 경우, 혈액을 심장 천자를 통해 수집하였다. 다양한 시점에서의 IgG 농도를 정상 마우스에서의 PK 검정과 유사한 경쟁 Elisa 검정에 의해 검출하였다.

[0672]

결과

[0673]

결과가 도 9에 제시된다. 정상 마우스 및 ANIT 래트 모델 둘 다에서의 모 Ab 4E10D7은 유사한 PK 프로파일을 나타내었다. Ab는 2시간 내에 피크 농도에 도달하고, 감소하기 시작하여 24시간 전에 절반으로 감소하고, 이어서 1주 내에 50 ug/ml에서 비교적 안정화된다.

[0674]

시노몰구스 원숭이에서의 약동학적 (PK) 검정 - MOR022962

[0675]

단일 투여 연구:

[0676] 3 내지 4세이고 2.5 내지 4 kg인 3마리의 수컷 시노몰구스 원숭이 (마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*))에게 10 mg/kg 항-BMP9 항체 MOR022962 (Ab BMP9-2)를 정맥내로 투여하였다. 혈액을 투여 전 및 투여 후 0.25시간, 6시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 120시간, 168시간, 240시간, 336시간, 408시간, 504시간, 576시간, 672시간, 744시간, 840시간, 912시간 및 1008시간에 수집하였다. 다양한 시점에서의 총 MOR022962 Ab 농도를 항체의 Fc 도메인을 인식하는 샌드위치 ELISA에 의해 검출하였다. 시간의 함수로서 총 MOR022962 농도가 각각의 개체에 대해 도 10에 제시된다. 최대 농도는 모든 개체에서 투여 후 제1 샘플링 시간인 0.25시간에서 관찰되었다. 말단 제거 반감기 ( $t_{1/2}$ )는 132 내지 145시간 (5.5 내지 6.0일)이었다. 연구 제32일에 시작하는 하나의 동물에서 MOR022962의 명백한 가속된 제거는 (도 10) 동시에 항-약물 항체의 검출과 일치한다.

[0677] 반복 투여 연구:

[0678] 2 내지 5세이고 2.3 내지 3.8 kg인 수컷 시노몰구스 원숭이 (마카카 파시쿨라리스)에게 10, 30 또는 100 mg/kg/주 ( $n=2/\text{군}$ ) 항-BMP9 항체 (MOR022962)를 정맥내로 4주 동안 (5회 투여) 투여하였다. 대조군 동물 ( $n=2$ )은 비히클의 등가 용량 부피 (1 mL/kg)를 4주 동안 (5회 투여) 받았다. 혈액을 각각의 용량 투여 전에, 각각의 투여 후 0.25시간, 및 제1 및 끝에서 두 번째 투여 후 6시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 120시간에 수집하였다. 다양한 시점에서의 총 MOR022962 Ab 농도를 항체의 Fc 도메인을 인식하는 샌드위치 ELISA에 의해 검출하였다. 시간의 함수로서 총 MOR022962 Ab 농도가 도 11에 제시된다. 최대 농도 ( $C_{\max}$ )가 처리된 모든 동물에서 투여 후 제1 샘플링 시간인 0.25시간에서 관찰되었다. MOR022962 노출 ( $C_{\max}$  또는  $AUC_{0-7d}$ )은 10-100 mg/kg의 용량 범위에 걸쳐 용량-비례하여 증가하였다. 제1 및 끝에서 두 번째 투여 후  $AUC_{0-7d}$ 의 비인 약물 축적은 3회 용량 군에 걸쳐 1.3-2.3의 범위였다.

[0679] 실시예 19: 개발가능성

[0680] (huBMP7, huBMP2 및 huBMP10에 대한 결합에 비해) huBMP9에 대해 우수한 친화도 및 특이성을 갖는 IgG 항체를 관련 기술분야에 공지된 검정을 사용하여 개발가능성에 대해 평가하였다. 간략하게, 항체의 응집을 크기 배제 크로마토그래피에 의해 측정하고; 용융 온도를 pH=7.5에서 평가하고; 소수성을 황산암모늄 ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 히스티딘, pH=6에서 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC)에 의해 평가하고; 생산 역가를 HEK-293T 발현 시스템에서 측정하였다. 결과가 표 11에 요약되어 있다. 이들 결과는 본 발명의 항-BMP9 항체가 예상외로 우수한 개발가능성 특성을 나타내고, 따라서 제약 작용제로서 개발에 적합하다는 것을 입증한다.

[0681] 표 11. 항-BMP-9 항체의 개발가능성 특성

항체	분석 SEC (% 단량체)	생산 역가(mg/L)	Tm (°C, pH = 7.4)	소수성 (M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ )
MOR023787	96.6	78.7	71.5	0.94
MOR022962	99.1	67.0	74.8	0.92
MOR022965	96.7	74.9	74.3	0.96
MOR023793	98.3	29.1	68.5	0.76
MOR023795	97.9	56.7	69.0	0.96
MOR023796	96.5	95.8	72.5	0.51
AM0100	98.6	19.1	75.8	0.80
AM1900	98.4	7.2	69.0	0.80
AM4405	99.1	28.0	73.5	1.09

[0682] 실시예 20: hBMP9 이량체를 포함한 MOR022962 Fv의 결정 구조

[0684] MOR022962 Fv 도메인과 복합체화된 인간 BMP9의 결정 구조를 2.2 Å에서 해석하였다. 각각의 비대칭 단위는 1개의 hBMP9 호모이량체 및 2개의 Fv 분자를 함유한다. 구조를 내부 데이터베이스 프로야시스 내에 수탁번호 1ssod (이후에 1ssod는 MOR022962 Fv를 포함한 hBMP9의 구조로서 지칭됨)로 기탁하였다.

[0685] 1ssod의 구조를 BMP9-A1k1-ActRIIb (PDB: 4FA0)의 구조 상에 중첩함으로써, MOR022962 및 ActRIIb가 BMP9 (성숙 도메인) 상에서 중첩되는 접촉 표면을 공유하는 것으로 밝혀졌으며, 이는 MOR022962가 BMP9에 결합하는 ActRIIb와 경쟁할 수 있다는 실험적 관찰과 잘 일치한다. 구조는 또한 MOR022962의 BMP9에 대한 결합 표면이

Alk1의 BMP9에 대한 결합 표면과 직접적으로 중첩되지 않는다는 것을 나타낸다.

[0686] 결정 구조는 MOR022962가 소수성 상호작용에 수반되는 L85, L95, Y97, H98, 및 수소 결합 네트워크에 수반되는 S83, H98, E100을 포함하는 BMP9에서의 에피토프에 결합한다는 것을 나타낸다. MOR022962 Fv와 huBMP9의 성숙 단편 (서열식별번호: 215) 사이의 상세한 상호작용이 아래 표 12에 예시되어 있다.

[0687] 생화학적 실험이 MOR022962가 예상외로 생화학적 실험에서 특정 정도로 ActRIIb (제II형 BMP 수용체) 및 AlkI (제I형 BMP 수용체) 둘 다의 BMP9에 대한 결합을 차단할 수 있다는 것을 보여주므로, 이는 메카니즘이 여전히 명백하지 않지만, MOR022962에 의해 결합된 에피토프가 제I형 및 제II형 BMP9 수용체 유형 둘 다의 차단을 일으키는 새로운 결합 에피토프를 나타낸다는 것을 나타낸다.

[0688] 표 12: MOR022962 Fv와 인간 BMP9 성숙 도메인 (서열식별번호: 215) 사이의 잔기 접촉.

[0689] 수소 결합 네트워크 상호작용:

huBMP9에서의 잔기	MOR022962에서의 잔기
E100	LC에서의 Y32
H98	LC에서의 D50, D92
S83	HC에서의 W103

[0690]

[0691] 소수성 상호작용:

huBMP9에서의 잔기	MOR022962에서의 잔기
L85	HC에서의 L52, H56, H58
L95	HC에서의 I50, L52, H58, W103
Y97	HC에서의 W47, I50, W103, S104 및 LC에서의 D92, T93, S94, L96
H98	LC에서의 Y32, D50, S91, D92 및 HC에서의 S104, I102

[0692]

[0693] HC: 중쇄, LC: 경쇄

[0694] 따라서, 실시양태에서, 본 발명은 BMP9에 결합하고, a) 경쇄 가변 영역의 하기 아미노산 잔기: Y32, D50, S91, D92, T93, S94, 및 L96; 및 b) 중쇄 가변 영역의 하기 아미노산 잔기: W47, I50, L52, H56, H58, I102, W103, 및 S104를 포함하는 단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0695] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 기술 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 분야에 친숙한 전문가에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0696] 달리 나타내지 않는 한, 상세하게 구체적으로 기재되지 않은 모든 방법, 단계, 기술 및 조작용은 통상의 기술자에게 명백할 바와 같이 그 자체로 공지된 방식으로 수행될 수 있고 수행되어 왔다. 참조는 예를 들어 표준 핸드북 및 본원에 언급된 일반적인 배경기술에 대해 및 그에 인용된 추가의 참고문헌에 대해 다시 이루어진다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 인용된 참고문헌은 각각 그 전문이 참조로 포함된다.

[0697] 본 출원의 텍스트 전반에 걸쳐, 본 명세서의 텍스트 (예를 들어, 표 1) 및 서열 목록 사이에 불일치가 있을 수 있으며, 본 명세서의 텍스트가 우선될 것이다.

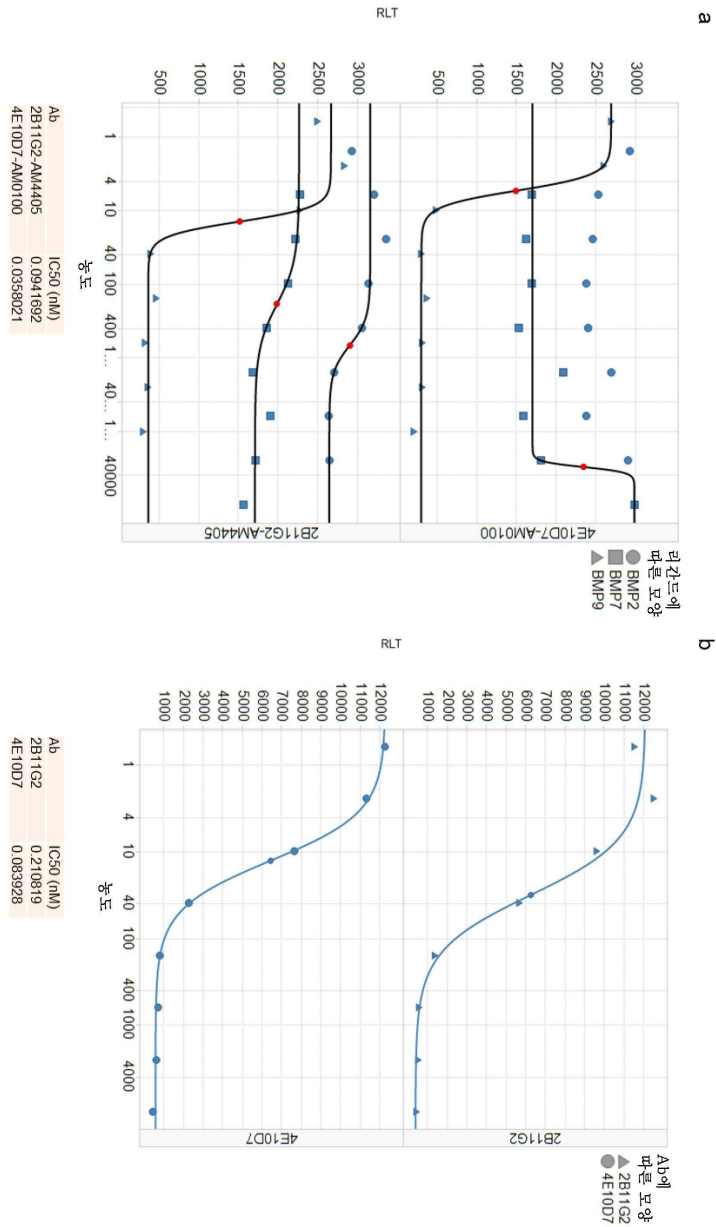
[0698] 본 발명에 대한 청구범위는 비-제한적이며, 아래 제공된다.

[0699] 특정한 측면 및 청구범위가 본원에 상세하게 개시되어 있지만, 이는 단지 예시의 목적으로 예로서 행해진 것이며, 첨부된 청구범위의 범주, 또는 임의의 상응하는 추후 출원의 청구범위의 주제의 범주와 관련하여 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 특히, 본 발명자들은 청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 개시내용의 취지 및 범주를 벗어나지 않으면서, 본 개시내용에 다양한 치환, 변경, 및 변형이 이루어질 수 있다는 것을 고려한다. 핵산 출발 물질, 관심 클론, 또는 라이브러리 유형의 선택은 본원에 기재된 측면의 지식을 갖는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 일상적인 문제인 것으로 여겨진다. 다른 측면, 이점, 및 변형이 하기 청구범위의 범주 내에 있는 것으로 간주된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상용 실험을 넘어서지 않고 이를 사용하여 본원에 기재된 본 발명의 구체적 측면의 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 청구범위에 의해 포괄되는 것으로 의도된다. 다양한 국가의 특허법에 의한 제한으로 인해 이후 출원되는 상응하는

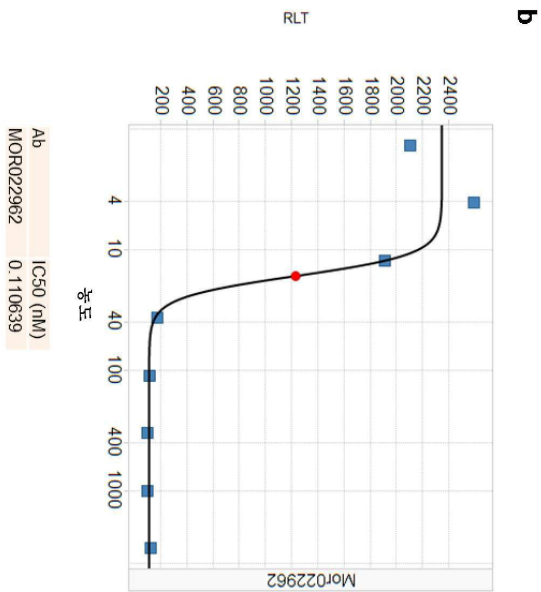
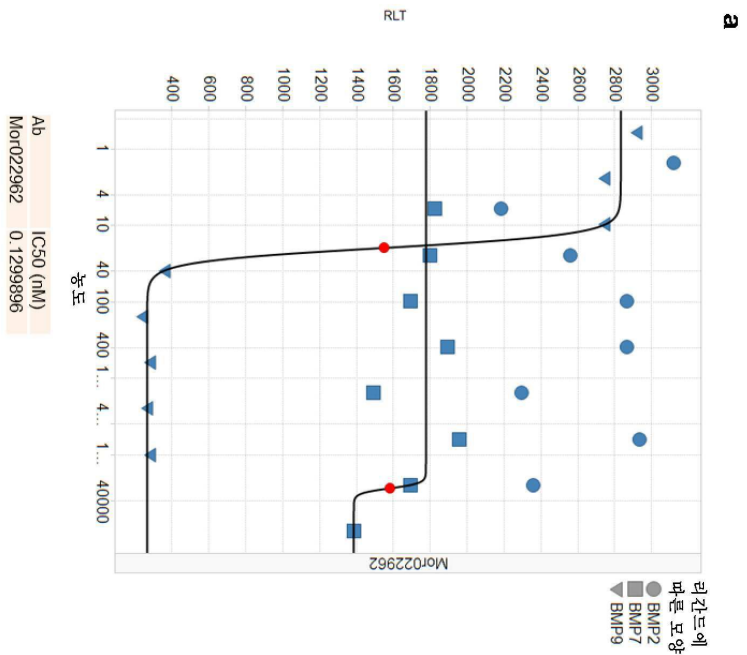
출원의 청구 범위가 고쳐질 수 있으며, 이를 청구 대상을 포기하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

## 도면

### 도면1

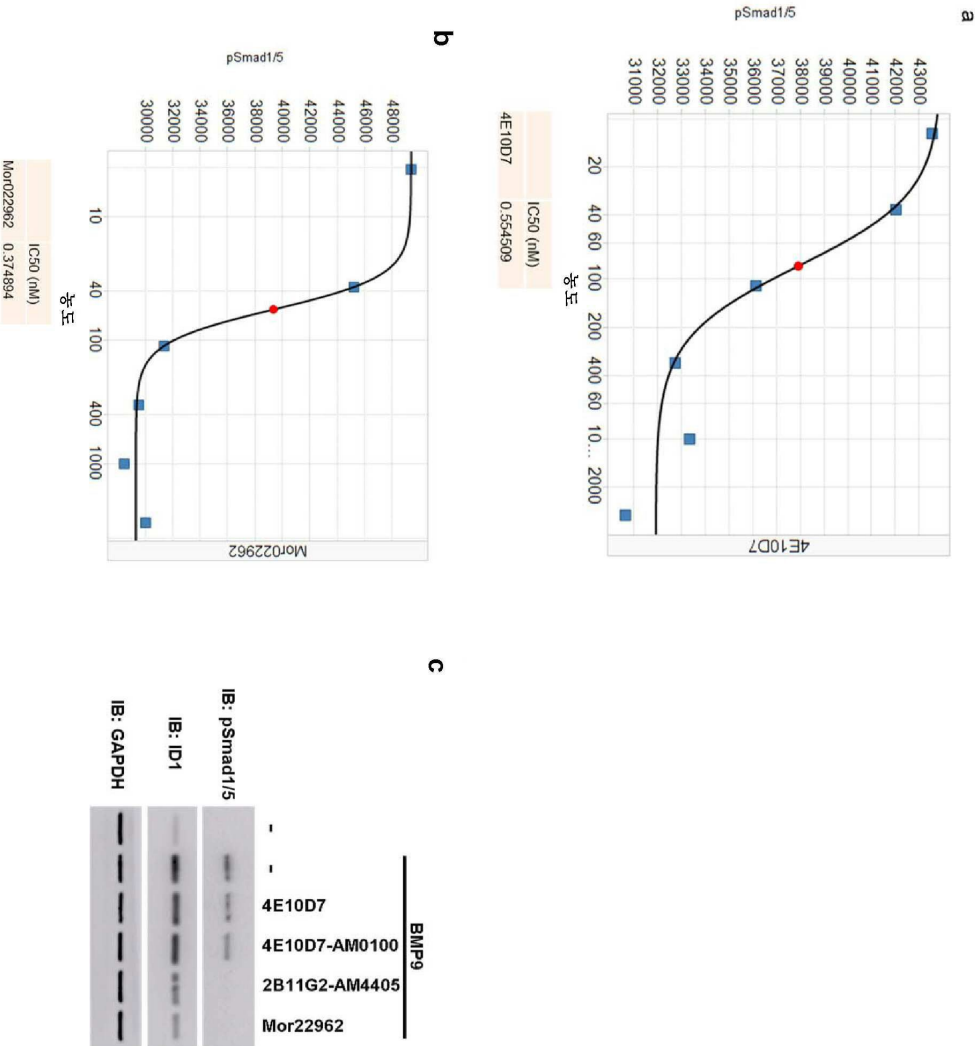


도면2

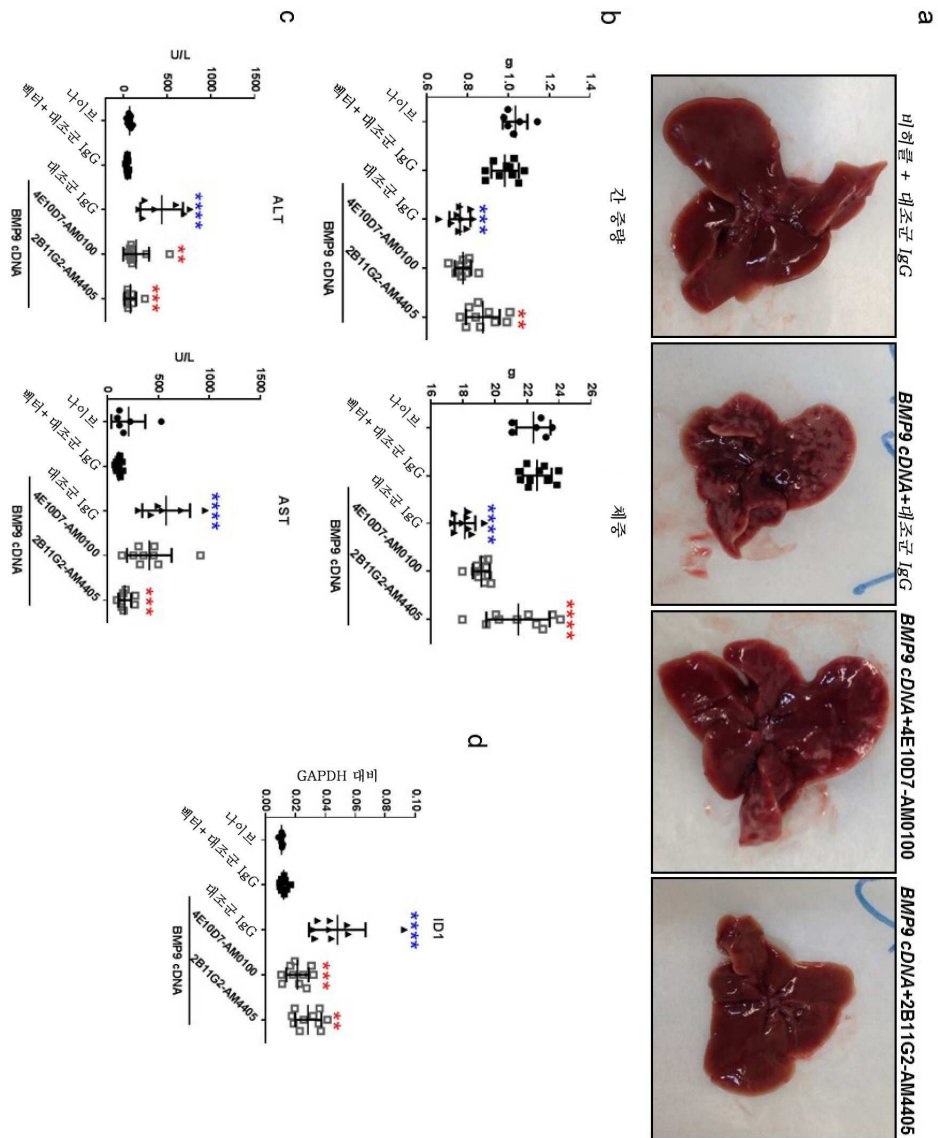




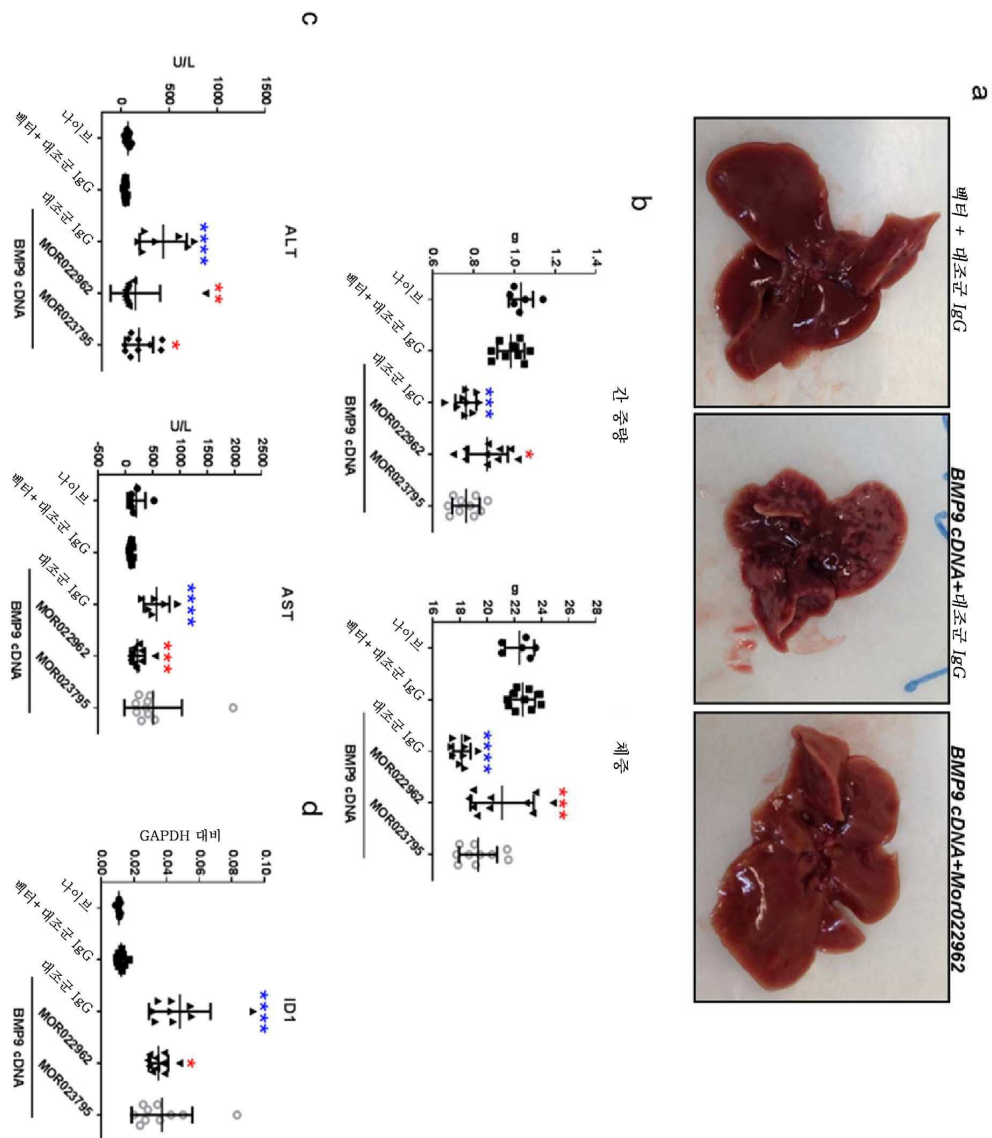
도면3



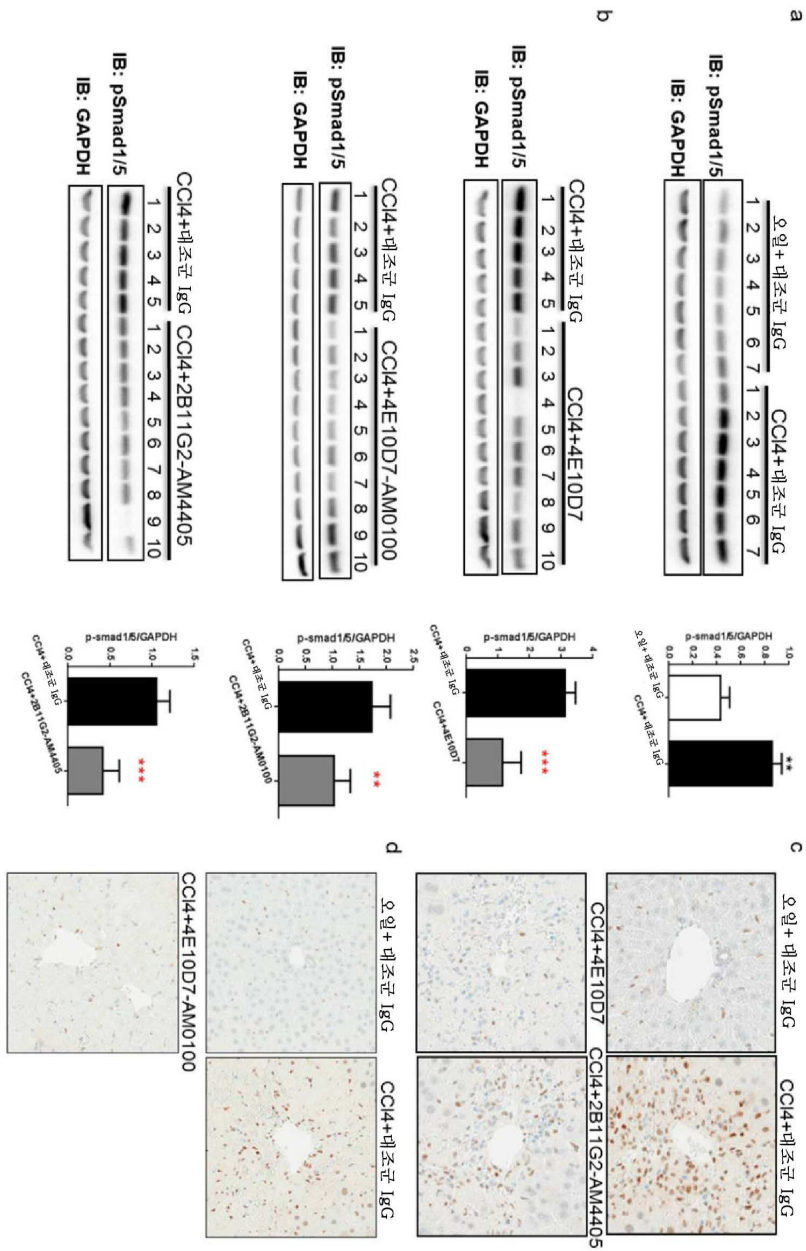
도면4



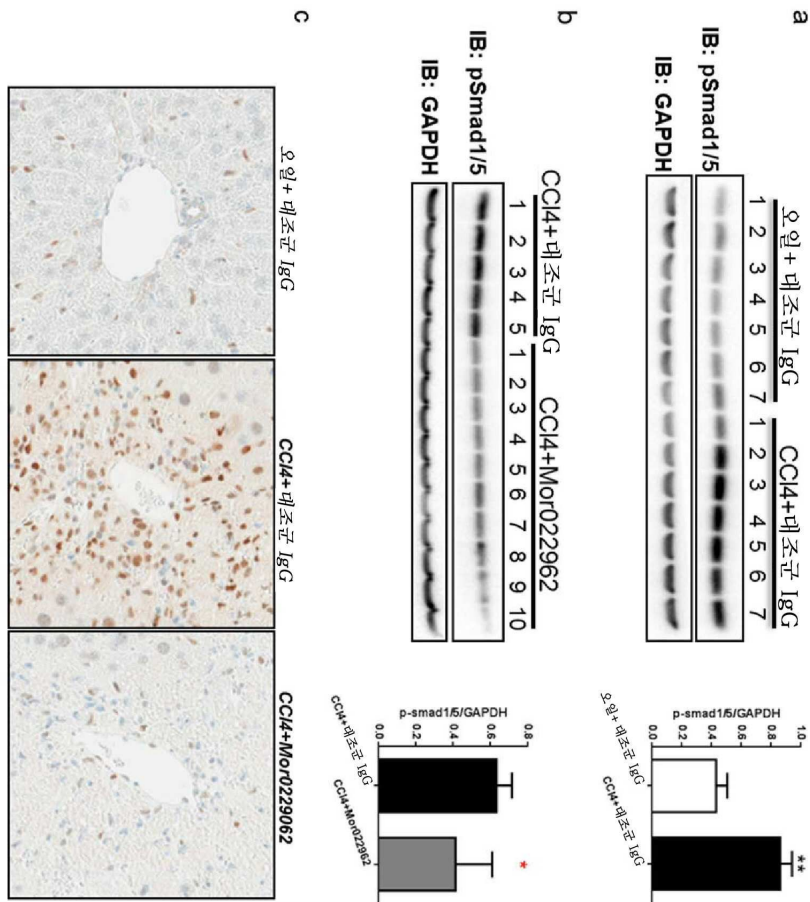
도면5



도면6

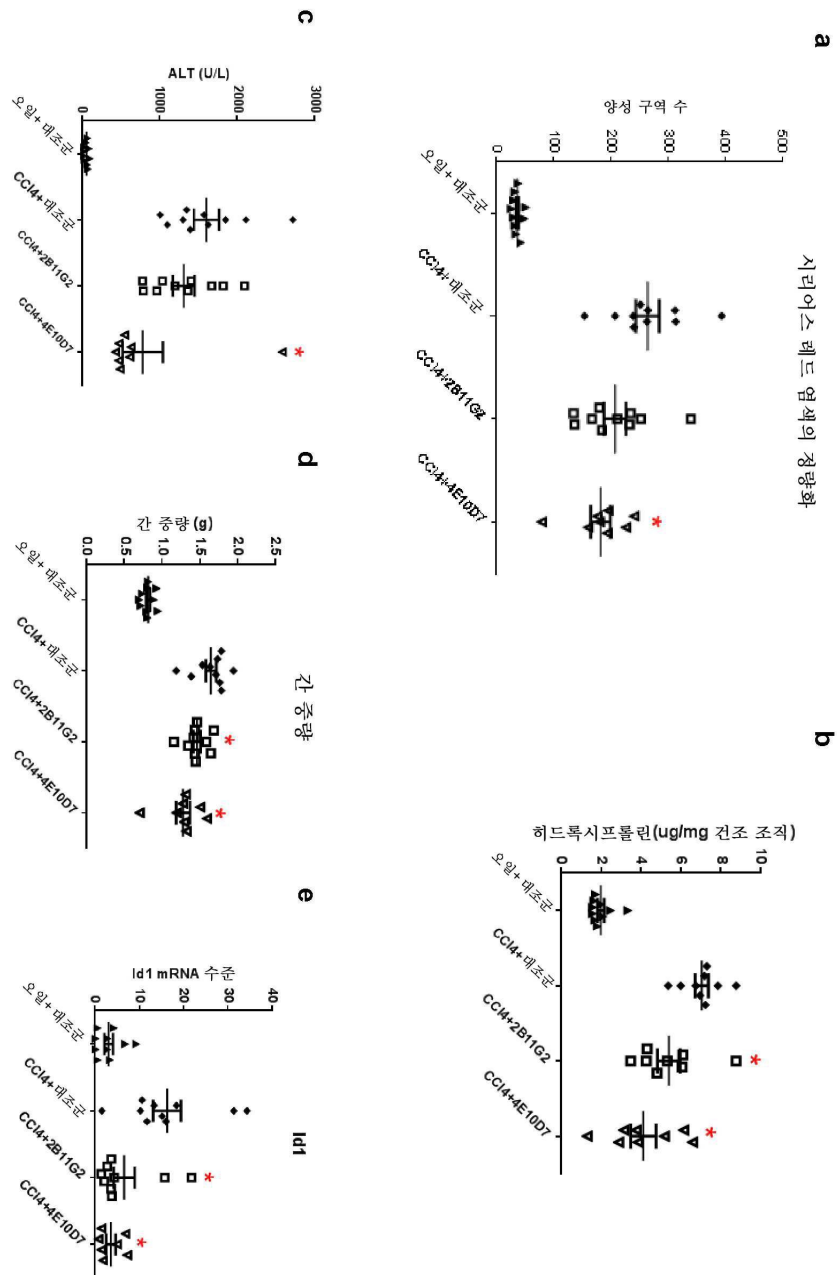


도면7

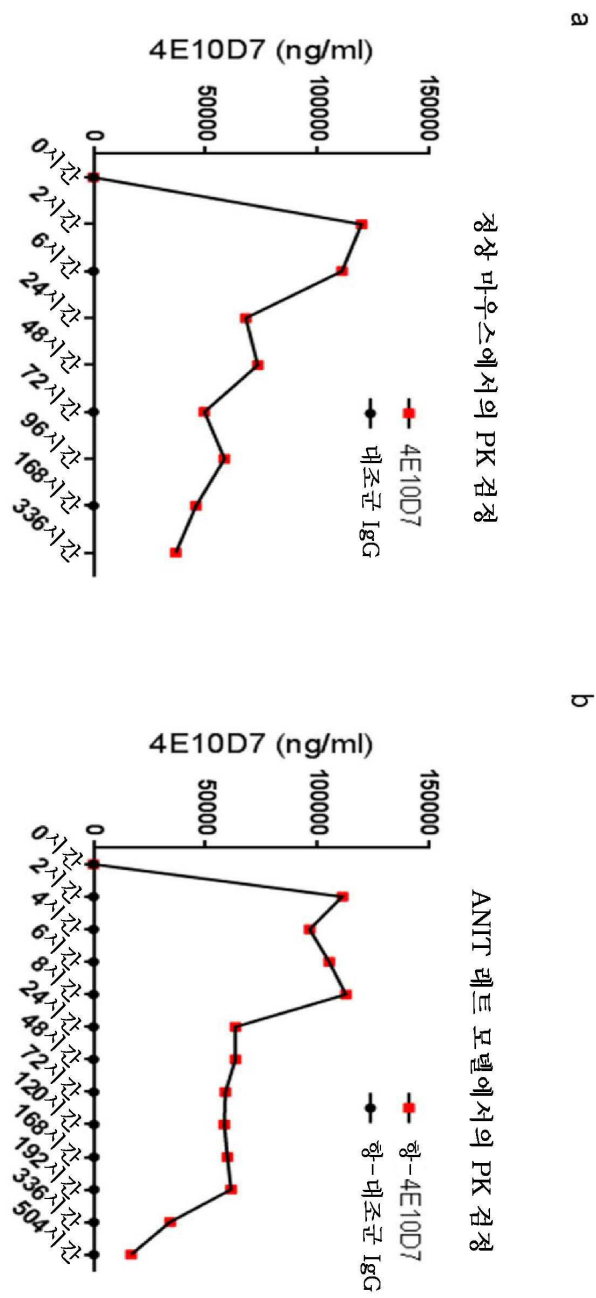




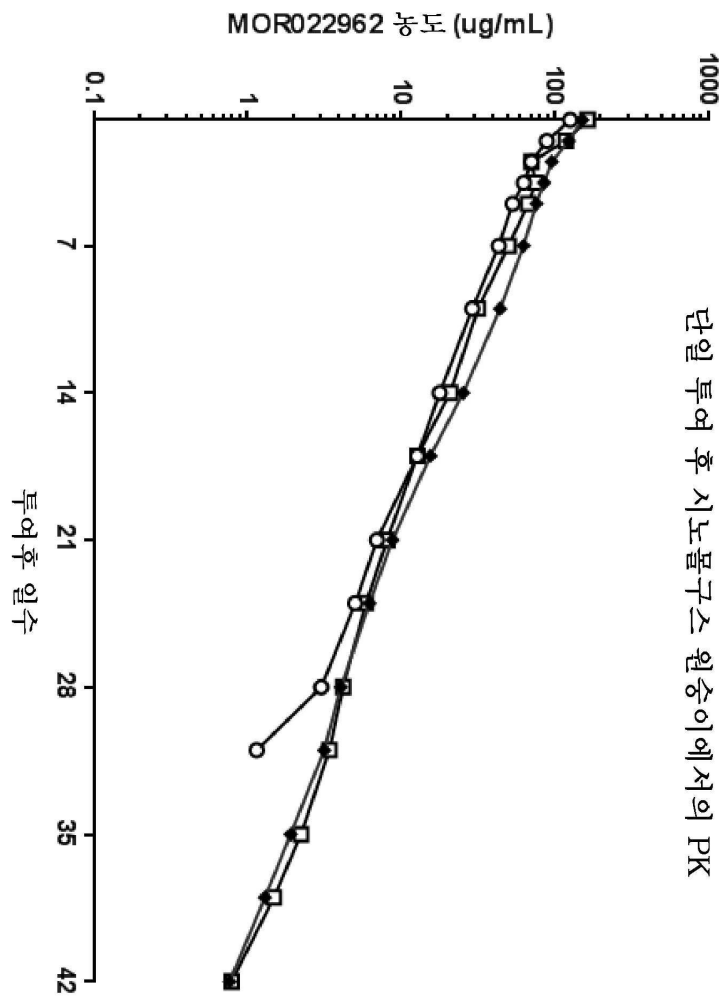
도면8



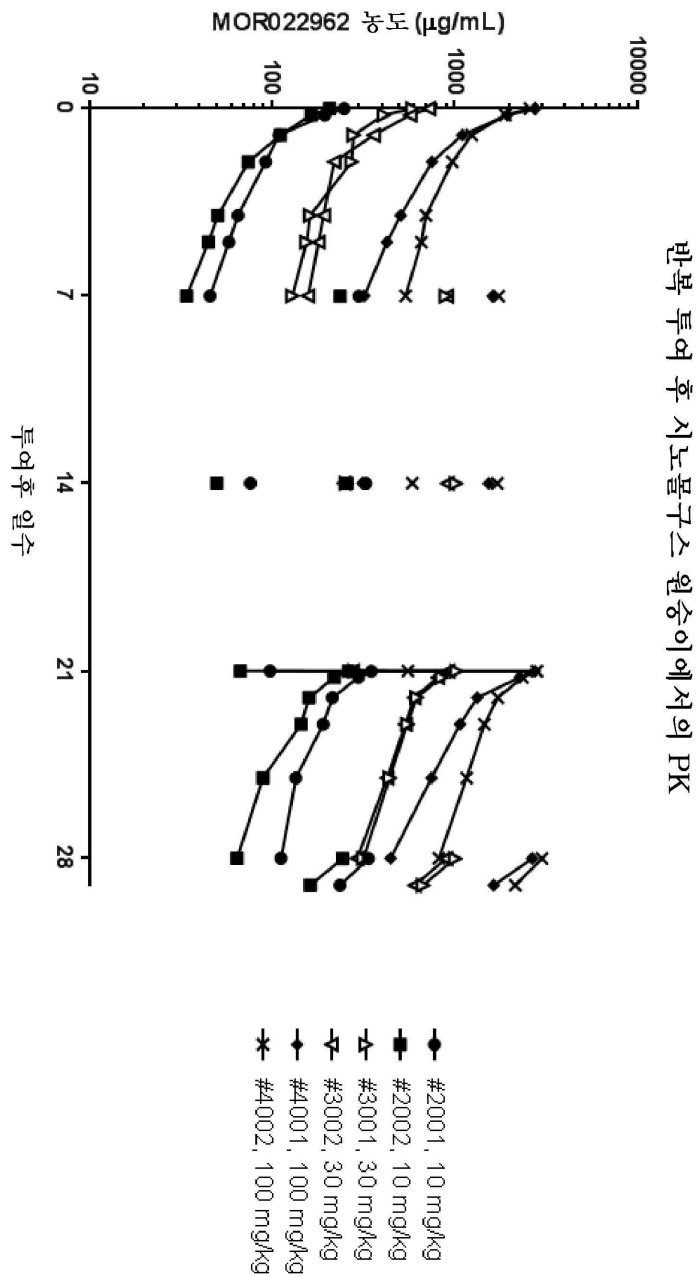
도면9



도면10



도면11



## 서열 목록

### SEQUENCE LISTING

<110> NOVARTIS AG

<120> ANTIBODIES TARGETING BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 9 (BMP9) AND  
METHODS THEREFOR

<130> PAT056928-WO-PCT02

<140><141><150> PCT/CN2015/080887

<151> 2015-06-05

<160> 222

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Arg Tyr Trp Met His

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Glu Ile Asn Pro Ser Gln Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

Gly Ser Asn Tyr Gly Gly Leu Val Tyr



1 5

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr

1 5

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Asn Pro Ser Gln Gly Gly

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<400> 6

Gly Ser Asn Tyr Gly Gly Leu Val Tyr

1 5

<210> 7

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Gln Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ile Gly Ser Asn Tyr Gly Gly Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 8

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 8

caagtccagt tgggtccaatc gggcgagaa gtgaaaaagc cgggagcctc agtgaaggtg 60

tcctgcaaag cgtccggcta tactttcacg cgctactgga tgcactgggt cagacaggcc 120

ccgggacagg gtctggaatg gatgggagag attaatccca gccagggagg caccaactac 180  
aacgagaagt tcaagtcccg ggtcaccatg accgtggata agagcatcag cactgcctac 240  
atggagctgt ccaggctcgc gtcggacgac accgccgtgt actactgcgc catcgggtca 300  
aactacggcg gactgggtga ctggggccag gggaccctcg tgactgtgtc ctgc 354

<210> 9

<211> 448

&lt;212&gt; PRT

### <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 9

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

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

65					70				75				80			
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85				90				95				
Ala	Ile	Gly	Ser	Asn	Tyr	Gly	Gly	Leu	Val	Tyr	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 Arg 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 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 Lys 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 Glu Glu Met 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> 10  
 <211> 1344  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polynucleotide"  
 <400> 10  
 caagtccagt tggccaatc gggcgagaa gtgaaaaagc cgggagcctc agtgaaggtg 60  
 tcctgcaaag cgtccggcta tactttcacg cgctactgga tgcactgggt cagacaggcc 120  
 ccgggacagg gtctggaatg gatgggagag attaatccca gccaggaggagg caccaactac 180  
 aacgagaagt tcaagtcccg gggtcccatg accgtggata agagcatcag cactgcctac 240  
 atggagctgt ccaggctcgc gtcggacgac accgccgtgt actactgcgc catcgggtca 300  
 aactacggcg gactggtgta ctggggccag gggaccctcg tgactgtgtc ctcggctagc 360  
 accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaaact 420  
 gctgccttgg gttgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcctggaac 480  
 tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg 540  
 tacagcctga gcagcgtggt gacagtgtcc tccagctctc tgggaaccca gacatatatc 600  
 tgcaactga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtgga gccaagagc 660  
 tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttcc 720  
 gtgttctctg tccccccaa gcccaaggac accctgatga tcagcaggac ccccagggtg 780  
 acctgcgtgg tgggtggact gtcccacgag gaccagagg tgaagttcaa ctggtacgtg 840  
 gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc 900  
 tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac 960  
 aagtgcgaag tctccaacaa ggccctgcca gccccaatcg aaaagacaat cagcaaggcc 1020  
 aagggccagc cacgggagcc ccaggtgtac accctgcccc ccagccggga ggagatgacc 1080  
 aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggttct accccagcga tatcgccgtg 1140

gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccccc agtgctggac 1200

agcgacggca gcttcttcct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtcag gtggcagcag 1260

ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggcctgc acaaccacta cacccagaag 1320

tccctgagcc tgagccccgg caag 1344

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 11

Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met Asn

1 5 10 15

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Arg Thr



```

1             5
<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<
213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 14
Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe
1             5             10
<210> 15
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 15
Ala Ala Ser
1
<210> 16
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223>
> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 16
Ser Lys Glu Val Pro Arg
1             5
<210> 17
<211> 111

```

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

35 40 45

Arg Phe Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Ile Pro Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys

85 90 95

Glu Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 18

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

gaaattgtgc tgaccagtc ccccgcgacg ctgtcactgt cccctgggga gcgggctacc 60

ttgtcctgcc gcgcctccga atcgtcgcac aactacggca tcagcttcat gaactggttc 120

cagcaaaagc cgggacaggc cccacgggtc ctgatctacg ccgcatcgaa ccagggttca 180

gggattcccg cgaggttctc gggatctgga tccggcaccg acttcactct gacaatcagc 240

agcctgcagc ctgaagatac cgccgtgtac ttctgccaac agtccaagga ggtcccgcg 300  
acttttggcg gaggcaccaa agtggagatc aag 333

<210> 19

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

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

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

65	70	75	80
Ser	Leu	Gln	Pro
Glu	Asp	Thr	Ala
Val	Tyr	Phe	Cys
Gln	Gln	Ser	Lys
85	90	95	
Glu	Val	Pro	Arg
Thr	Phe	Gly	Gly
Gly	Thr	Lys	Val
Glu	Ile	Lys	Arg
100	105	110	
Thr	Val	Ala	Ala
Pro	Ser	Val	Phe
Ile	Phe	Pro	Pro
Ser	Asp	Glu	Gln
115	120	125	
Leu	Lys	Ser	Gly
Thr	Ala	Ser	Val
Val	Val	Cys	Leu
Leu	Asn	Asn	Phe
Tyr			

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

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 20

<211> 654

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

gaaattgtgc tgaccagtc ccccgcgacg ctgtcactgt cccctgggga gcgggctacc 60

ttgtcctgcc gcgcctccga atcgctcgac aactacggca tcagcttcat gaactggttc 120

cagcaaaagc cgggacaggc cccacggttc ctgatctacg ccgcatcgaa ccagggttca 180

gggattcccg cgaggttctc gggatctgga tccggcaccg acttcactct gacaatcagc 240

agcctgcagc ctgaagatac cgccgtgtac ttctgccaac agtccaagga ggtcccgcgg 300

acttttggcg gaggcaccaa agtggagatc aagcgtacgg tggccgctcc cagcgtgttc 360

atcttcccc ccagcgacga gcagctgaag agcggcaccg ccagcgtggt gtgcctgctg 420

aacaacttct acccccggga ggccaaggtg cagtggaagg tggacaacgc cctgcagagc 480

ggcaacagcc aggagagcgt caccgagcag gacagcaagg actccaccta cagcctgagc 540

agcacctga cctgagcaa ggccgactac gagaagcata aggtgtacgc ctgcgaggtg 600

accaccagg gcctgtccag ccccgtagc aagagcttca acaggggcga gtgc 654

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

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

1 5 10 15

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

Gly Ser Tyr Ile Ile Trp Ser Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

Leu Gly Thr Gly His

1 5

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

Gly Ser Tyr Ile Ile Trp Ser Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210>

> 27

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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



35                                      40                                      45  
 Ser Ile Thr Leu Gly Thr Gly His Thr His Tyr Ala Asp Ser Val 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 Ser Tyr Ile Ile Trp Ser Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100                                      105                                      110  
  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 28  
 <211> 357  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
    polynucleotide"  
 <400> 28  
 caagtccagc tgctcgaatc tggcggcgga ctggtgcagc ccggaggcag cctgcggctg                      60  
 tcgtgtgccg cctccggatt caccttctca tcctacgcca tgtcctgggt cggccaggca                      120  
 ccggggaagg gactggaatg ggtgtcgatc accctgggaa ccgggcacac tcattatgcg                      180  
 gactccgtga aagggcgctt caccatttcc cgggacaaca gcaagaacac tctgtacttg                      240  
  
 caaatgaact ccctgagagc cgaggatacc gctgtgtact actgcgcgag gggctcctac                      300  
 atcatctgga gcgccctgga ctactgggga cagggtactc tcgtgaccgt gtcgagc                      357  
 <210> 29  
 <211> 449  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
    polypeptide"

<400> 29

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ile Thr Leu Gly Thr Gly His Thr His Tyr Ala Asp Ser Val 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 Ser Tyr Ile Ile Trp Ser Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

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

<210> 30

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 30

caagtccagc tgctcgaatc tggcggcgga ctggtgcagc ccggaggcag cctgcggctg	60
tcgtgtgccg cctccggatt caccttctca tctacgcca tgtcctgggt ccgccaggca	120
ccggggaagg gactggaatg ggtgtcgatc accctgggaa ccgggcacac tcattatgcg	180
gactccgtga aagggcgctt caccatttcc cgggacaaca gcaagaacac tctgtacttg	240
caaatgaact ccctgagagc cgaggatacc gctgtgtact actgcgcgag gggctcctac	300
atcatctgga gcgccctgga ctactgggga cagggtactc tcgtgaccgt gtcgagcgt	360
agcaccaagg gcccaagtgt gtttccctg gcccccagca gcaagtctac ttccggcgga	420

actgtgccc tgggttgctt ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac agtgtcctgg	480
aactctgggg ctctgacttc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc	540
ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgacagtg cctccagct ctctgggaac ccagacctat	600
atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag	660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagctc cagaactgct gggagggcct	720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagcag gacccccgag	780
gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgtccac gaggaccag aggtgaagtt caactggtac	840

gtggacggcg tggaggtgca caacccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc	900
acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaagaa	960
tacaagtgca aagtctccaa caagccctg ccagcccaaa tcgaaaagac aatcagcaag	1020
gccaagggcc agccacggga gcccagggtg tacacctgc ccccagcgg ggaggagatg	1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctacccag cgatatcgcc	1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cccagtgtg	1200
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag	1260

cagggaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag	1320
aagtcctga gcctgagccc cggcaag	1347

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Ser Tyr Leu Asn

1                    5                    10

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

Asp Ala Ser Asn Leu Gln Ser

1                    5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 33

Gln Gln Ser Asp Thr Ser Pro Leu Thr

1                    5

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 34

Ser Gln Asp Ile Arg Ser Tyr

1 5

<210> 35

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Asp Ala Ser

1

<210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

Ser Asp Thr Ser Pro Leu

1 5

<210> 37

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

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 Ile Arg Ser Tyr



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

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

<210> 38

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

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

<400> 38

gacatccaga tgactcagtc accgtcatcg ctgtccgcct ccgtgggaga tcgggtcacc	60
attacctgtc gggcatccca agacatcaga agctacctga actggtatca gcagaagcct	120
gggaaggccc ccaagctgct catctacgac gcgagcaacc tccagtctgg agtgcccagc	180
cgctttctccg gttcggggtc cggcactgac ttaccctga ccatttcgtc cctgcaaccg	240
gaggatttgc ctacctacta ctgccagcag tccgacacaa gccactgac gttcggccag	300
ggcaccaaag tggaaatcaa g	321

<210> 39

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

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 Ile Arg Ser Tyr  
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asp Thr Ser Pro Leu  
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> 40

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

gacatccaga tgactcagtc accgtcatcg ctgtccgcct ccgtgggaga tcgggtcacc 60

attacctgtc gggcatccca agacatcaga agctacctga actggtatca gcagaagcct 120

gggaaggccc ccaagctgct catctacgac gcgagcaacc tccagtctgg agtgcccagc 180

cgcttctccg gticgggggtc cggcactgac ttaccctga ccatttcgtc cctgcaaccg 240

gaggatttcg ctacctacta ctgccagcag tccgacacaa gccactgac gttcggccag 300

ggcaccaaag tggaaatcaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc 360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

Thr Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

peptide"

<400> 42

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

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 43

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

Gly Lys Arg Val Asp Ala Ser Ser Phe Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 44

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

Gly Tyr Ser Phe Thr Thr Tyr

1                    5

<210> 45

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

Tyr Pro Glu Gly Ser Tyr

1 5

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

Gly Lys Arg Val Asp Ala Ser Ser Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 47

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Glu Gly Ser Tyr Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Arg Val Asp Ala Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 48

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

gaagtgcagc tcgtgcagtc cggagcggaa gtgaaaaagc cgggagaatc cctgaagatt 60

agctgcaagg ggtcggggta ctatttcacg acttactgga tcggtctgggt ccggcagatg 120

cccggaaagg gactggagtg gatgggcac atctaccgg agggcagcta caccacctac 180

tccccatcgt ttcaaggaca ggtcaccatt tccgccgata agtcaatcag caccgcctac 240

ctccaatggt cgagcctgaa ggccctcgac actgctatgt actattgcgc gagaggaag 300

cgcgtggacg cctcctcctt cgactactgg ggccagggca ctctggtcac cgtgtcctcg 360

<210> 49

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 49

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Tyr Pro Glu Gly Ser Tyr Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe



50                                      55                                      60  
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65                                      70                                      75                                      80  
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85                                      90                                      95  
 Ala Arg Gly Lys Arg Val Asp Ala Ser Ser Phe 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 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 210                                      215                                      220  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
 225                                      230                                      235                                      240  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 245                                      250                                      255  
  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 260                                      265                                      270  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275                                      280                                      285  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290                                      295                                      300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
355 360 365

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

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

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

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

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
435 440 445

Gly Lys

450

<210> 50

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

gaagtcagc tcgtgcagtc cggagcggaa gtgaaaaagc cgggagaatc cctgaagatt 60

agctgcaagg ggtcggggta ctatttcacg acttactgga tcggctgggt ccggcagatg 120

cccggaaagg gactggagtg gatgggcac atctaccgg agggcagcta caccacctac 180

tccccatcgt ttcaaggaca ggtcaccatt tccgcgata agtcaatcag caccgcctac 240

ctccaatggt cgagcctgaa ggcctccgac actgctatgt actattgcgc gagagggaag 300

cgcggtggacg cctcctcctt cgactactgg ggccaggga cttctggtcac cgtgtcctcg 360

gctagcacca agggcccaag tgtgtttccc ctggcccca gcagcaagtc tacttccggc 420

ggaactgctg ccctgggttg cctggtgaag gactacttcc ccgagcccg gacagtgtcc 480

tggaaactctg gggtctctgac ttccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc 540

ggcctgtaca gctgagcag cgtggtgaca gtgccctcca gctctctggg aaccagacc 600

tatatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agtggagccc 660

aagagctgcg acaagaccca cacctgcccc ccctgcccag ctccagaact gctgggaggg 720

ccttccgtgt tctgttccc cccaagccc aaggacccc tgatgatcag caggaccccc 780

gaggtgacct gcgtggtgtt ggacgtgtcc cagcaggacc cagaggtgaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ccagagagga gcagtacaac 900

agcacctaca ggggtggtgtc cgtgtgtgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaaa 960

gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgccagccc caatcgaaaa gacaatcagc 1020

aaggccaagg gccagccacg ggagccccag gtgtacaccc tgccccccag ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc cagcgatc 1140

gccgtggagt ggagagcaa cggccagccc gagaacaact acaagaccac cccccagtg 1200

ctggacagcg acggcagctt cttcctgtac agcaagctga ccgtggacaa gtccaggtgg 1260

cagcaggga acgtgttcag ctgcagcgtg atgcacgagg ccctgcacaa cactacacc 1320

cagaagtccc tgagcctgag ccccggaag 1350

<210> 51

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

Arg Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

Ser Ser Thr Asp Lys Glu His Leu Val

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn Tyr

1 5

<210> 55

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

```

        peptide"
<400> 55
Arg Asn Asn
1
<210> 56
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><
221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 56
Thr Asp Lys Glu His Leu
1          5
<210> 57
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<400> 57
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1          5          10          15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn

          20          25          30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
          35          40          45
Ile Tyr Arg Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
          50          55          60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65          70          75          80

```

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

85 90 95

Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 58

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

caatcagtgc tgaccagcc cccgagcgtg tccggtgccc ctggacagcg ggtcaccatc 60  
tctgttccg gtcctcaag caatatggc gacaactatg tgtcgtggta ccagcagctg 120  
ccggggacgg ccctaagct gctgatctac cggaacaaca aaaggccatc cggcgtgccg 180

gatagattct cgggctcgaa gtccggaact agcggcagcc tggcaatcac cgggctgcag 240  
gtgaagatg aggcggacta ctactgctcc tctaccgaca aggaacacct ggtgttcgga 300  
ggaggaacca agctgactgt gctg 324

<210> 59

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln  
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Thr Asp Lys Glu His  
85 90 95

Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys  
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln  
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly  
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly  
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala  
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser  
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val  
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
210

<210> 60

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

caatcagtgc tgaccagccc cccgagcgtg tccggtgccc ctggacagcg ggaccatc 60

tcctgttcgg gtcctcaag caatatggc gacaactatg tgtcgtggta ccagcagctg 120



ccggggacgg ccctaagct gctgatctac cggaacaaca aaaggccatc cggcgtgccg 180  
gatagattct cgggctcgaa gtccggaact agcgcagcc tggcaatcac cgggctgcag 240

gctgaagatg aggcggacta ctactgctcc tctaccgaca aggaacacct ggtgttcgga 300  
ggaggaacca agctgactgt gctgggacag cctaaggctg cccccagcgt gacctgttc 360  
ccccccagca gcgaggagct gcaggccaac aaggccaccc tgggtgcct gatcagcgac 420  
ttctaccag gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgaca gcagccccgt gaaggccggc 480  
gtggagacca ccacccccag caagcagagc aacaacaagt acgccgccag cagctacctg 540  
agcctgaccc ccgagcagtg gaagagccac aggtcctaca gctgccaggt gaccacagag 600  
ggcagcaccg tggaaaagac cgtggcccca accgagtga gc 642

<210> 61

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

Ser Tyr Asn Met His

1 5

<210> 62

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 62

Leu Ile Tyr Pro Gly Asn Ala Val Thr Ser Tyr Ser Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 63

<211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide"

<400> 63  
 Asp Asp Tyr Phe Arg Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 64  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide"

<400> 64  
 Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 1 5

<210> 65  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide"

<400> 65  
 Tyr Pro Gly Asn Ala Val  
 1 5

<210> 66  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source

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

<400> 66

Asp Asp Tyr Phe Arg Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 67

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asn Ala Val Thr Ser Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Asp Tyr Phe Arg Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 68

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

caagtccagc tcgtccagtc cggggccgaa gtcaagaagc cgggagccag cgtgaaagtg	60
tcctgcaagg cgtcaggcta taccttcgg tcgtacaaca tgactgggt cagacaggcc	120
ccaggacagg ggctggaatg gatgggcctg atctaccgg gaaacgtgt gactagctac	180
tcccaaaagt tcaaggatcg cgtgacgatg accgtggata agtccacctc aaccgcgtac	240
atggagctgt cctcgctgag gtcggaggac accgcagtgt actactgcgc caaggacgac	300
tacttcggg gcggttccta cgccatggac tactggggac agggcaccac tgtgactgtg	360
tccagc	366

<210> 69

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
1                      5                      10                      15	
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr	
20                      25                      30	
Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
35                      40                      45	
Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asn Ala Val Thr Ser Tyr Ser Gln Lys Phe	
50                      55                      60	
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
65                      70                      75                      80	
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85                      90                      95	

Ala Lys Asp Asp Tyr Phe Arg Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Thr 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 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 Arg 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  
 305 310 315 320  
 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 Glu Glu Met 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  
385 390 395 400

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> 70

<211> 1356

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

caagtccagc tcgtccagtc cggggccgaa gtcaagaagc ccggagccag cgtgaaagtg 60  
tcttgcgaagg cgtcaggcta taccttccgg tcgtacaaca tgcaactgggt cagacaggcc 120  
ccaggacagg ggctggaatg gatgggcctg atctaccgg gaaacgctgt gactagctac 180  
tcccaaaagt tcaaggatcg cgtgacgatg accgtggata agtccacctc aaccgcgtac 240  
atggagctgt cctcgctgag gtcggaggac accgcagtgt actactgcgc caaggacgac 300  
tacttccggg gcggttccta cgccatggac tactggggac agggcaccac tgtgactgtg 360

tccagcgcta gcaccaaggg cccaagtgtg ttcccttg cccccagcag caagtctact 420  
tccggcggaa ctgctgcctt gggttgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtgaca 480  
gtgtcctgga actctggggc tctgacttcc ggcgtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag 540

agcagcggcc tgiacagcct gagcagcgtg gtgacagtgc cctccagctc tctgggaacc 600  
cagacctata tctgcaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtg 660  
gagcccaaga gctgcgacaa gaccacacc tgcctccctt gccagctcc agaactgctg 720  
ggagggcctt ccgtgttctt gttcccccc aagcccaagg acacctgat gatcagcagg 780

acccccgagg tgacctgcgt ggtggtggac gtgtccacg aggaccaga ggtgaagttc 840  
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aacgccaaga ccaagcccag agaggagcag 900  
tacaacagca cctacagggt ggtgtccgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac 960  
ggcaaagaat acaagtgcaa agtctccaac aaggccctgc cagccccaat cgaagagaca 1020  
atcagcaagg ccaagggcca gccacgggag cccaggtgt acacctgcc cccagccgg 1080  
gaggagatga ccaagaacca ggtgtccctg acctgtctgg tgaaggcctt ctacccagc 1140  
gatatcgccg tggagtggga gagcaacggc cagcccagaga acaactacaa gaccaccccc 1200

ccagtgtctg acagcgacgg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc 1260  
aggtggcagc agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1320  
tacaccaga agtccctgag cctgagcccc ggcaag 1356

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Asn Leu His

1 5 10

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72



Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Arg

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 73

Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 74

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

Ser Gln Ser Ile Arg Asn Asn

1 5

<210> 75

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

Tyr Ala Ser

1

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

Ser His Ser Trp Pro Tyr

1 5

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 78

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

```
gaaattgtgc tgaccagag cccggacttc caatccgtga ctccaagga gaagtcaca      60
atcacgtgca gagcatcgca gtccatccgg aacaacttgc actggtatca acagaagccc    120
gaccagtccc ctaagctgct gattaagtac gccagccagt cgatcagggg ggtgccatca    180
cggtttagcg gatccggatc aggcaccgac ttactctga ccatcaactc cctggaggct    240
gaagatgcgg ccacctacta ctgccagcag tccattcgt ggccgtacac ttccggcggc    300
```

```
ggtaccaaag tggaaatcaa g                                             321
```

<210> 79

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1           5           10           15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Asn
          20           25           30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
          35           40           45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65           70           75           80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Tyr
          85           90           95
```

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 80

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

gaaattgtgc tgaccagag cccgacttc caatccgtga ctccaagga gaaggtcaca	60
atcacgtgca gagcatcgca gtccatccgg aacaacttgc actggtatca acagaagccc	120
gaccagtccc ctaagctgct gattaagtac gccagccagt cgatcagggg ggtgccatca	180
cggtttagcg gatccggatc aggcaccgac ttactctga ccatcaactc cctggagget	240
gaagatgcgg ccacctacta ctgccagcag tccattcgt ggccgtacac tttcggcggc	300
ggtaccaaag tggaaatcaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc	360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac	420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag	480

gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600  
 ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 81

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 81

Arg Tyr Trp Met His

1 5

<210> 82

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 82

Glu Ile Asn Pro Ser Gln Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 83

Gly Ala Asn Tyr Gly Gly Leu Val Tyr

1 5

<210> 84

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr

1 5

<210> 85

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

Asn Pro Ser Gln Gly Gly

1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 86

Gly Ala Asn Tyr Gly Gly Leu Val Tyr

1 5

<210> 87

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 87

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

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr			
	20	25	30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Glu Ile Asn Pro Ser Gln Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe			
	50	55	60
Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Ile Gly Ala Asn Tyr Gly Gly Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
	100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115		

<210> 88

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 88

caagtccagc tcgtccaatc gggcgccgaa gtgaaaaagc cgggagcctc cgtgaaggtg	60
tcctgcaagg cgtccgggta tactttcacg cgctactgga tgcactgggt cagacaggct	120



ccgggacagg gactggaatg gatgggagag attaaccctt cccagggagg caccaactac 180  
aacgagaagt tcaagtcccg ggtcaccatg accgtggata agtccatcag cactgcctac 240  
atggagctgt cccgcctcgc gtcggacgac accgccgtgt actactgcgc catcggggcg 300  
aactacggcg gactggtgta ctggggccag gggactctcg tgactgtgtc ctcg 354

<210> 89

<211>

448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Gln Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ile Gly Ala Asn Tyr Gly Gly Leu Val Tyr 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 Arg 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 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 Lys 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 Glu Glu Met 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> 90			
<211> 1344			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><221> source			
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"			
<400> 90			
caagtccagc tcgtccaatc gggcgccgaa gtgaaaaagc cgggagcctc cgtgaaggtg	60		
tcctgcaagg cgtccggtta tactttcacg cgctactgga tgcactgggt cagacaggct	120		
ccgggacagg gactggaatg gatgggagag attaacccct cccagggagg caccaactac	180		
aacgagaagt tcaagtcccg ggtcacatg accgtggata agtccatcag cactgcctac	240		
atggagctgt cccgcctgcg gtcggacgac accgccgtgt actactgcgc catcggggcg	300		
aactacggcg gactggtgta ctggggccag gggactctcg tgactgtgtc ctcggctagc	360		
accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaaact	420		
gctgccttgg gttgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcttgaac	480		
tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg	540		
tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaacca gacctatc	600		
tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtga gccaagagc	660		
tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttc	720		
gtgttctgt tccccccaa gccaaggac accctgatga tcagcaggac ccccgaggtg	780		
acctgcgtgg tggcggacgt gtcccacgag gaccagagg tgaagttaa ctggtacgtg	840		
gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc	900		
tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac	960		
aagtgcgaag tctccaacaa ggccctgcc gcccgaatcg aaaagacaat cagcaaggcc	1020		
aagggccagc caggggagcc ccaggtgtac accctgcccc ccagccggga ggagatgacc	1080		

aagaaccagg tgccttgac ctgtctggtg aagggttctt accccagcga tatcgccgtg 1140  
gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccccc agtgctggac 1200  
agcgacggca gcttcttctt gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag 1260  
ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta cacccagaag 1320  
tccctgagcc tgagccccgg caag 1344

<210> 91

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 91

Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met Asn

1 5 10 15

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 92

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 93

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Arg Thr

1 5

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 94

Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe

1 5 10

<210> 95

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<400> 95

Ala Ala Ser

1

<210> 96

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 96

Ser Lys Glu Val Pro Arg

1 5

<210> 97

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 97

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

35 40 45

Arg Phe Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Ile Pro Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys

85 90 95

Glu Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 98

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 98

gaaattgtgc tgaccagtc ccccgcgacg ctgtcactgt cccctgggga gcgggctacc 60

ttgtcctgcc gcgcctccga atcgctcgac aactacggca tcagcttcac gaactggttc 120

cagcaaaagc cgggacaggc cccacgggtc ctgatctacg ccgcatcgaa ccagggttca 180

gggattcccg cgaggttctc gggatctgga tccggcaccg acttcactct gacaatcagc 240

agcctgcagc ctgaagatac cgccgtgtac ttctgccaac agtccaagga ggtcccgcgg 300  
acttttggcg gaggcaccaa agtggagatc aag 333

<210> 99

<211>

218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15  
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr  
20 25 30  
Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
35 40 45  
  
Arg Phe Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Ile Pro Ala  
50 55 60  
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
65 70 75 80  
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys  
85 90 95  
Glu Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
100 105 110  
  
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
115 120 125  
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
130 135 140  
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
145 150 155 160  
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215

<210> 100

<211> 654

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 100

gaaattgtgc tgaccagtc ccccgacg ctgtactgt cccctgggga ggggctacc	60
ttgtcctgcc ggcctccga atcgtcgac aactacggca tcagttcat gaactggttc	120
cagcaaaagc cgggacagc cccacgggtc ctgatctacg ccgcatcgaa ccagggttca	180
gggattcccg cgaggttctc gggatctgga tccggcaccg acttactct gacaatcagc	240
agcctgcagc ctgaagatac cgccgtgtac ttctgccaac agtccaagga ggtcccgcgg	300
acttttggcg gaggcaccaa agtggagatc aagcgtacgg tggccgtcc cagcgtgttc	360
atcttcccc ccagcgacga gcagctgaag agcggcaccg ccagcgtggt gtgcctgctg	420

aacaattct accccggga ggccaagggt cagtggaagg tggacaacgc cctgcagagc	480
ggcaacagcc aggagagcgt caccgagcag gacagcaagg actccaccta cagcctgagc	540
agcacctga cctgagcaa ggccgactac gagaagcata aggtgtacgc ctgcgaggtg	600
accaccagg gcctgtccag ccccgtagc aagagcttca acaggggcga gtgc	654

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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



peptide"

<400> 101

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 102

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 102

His Ile Ile Pro His Trp Gly His Ala Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 103

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 103

Ser Ala Ser Ser Leu Pro His Phe His Trp Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 104

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 105

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 105

Ile Pro His Trp Gly His

1 5

<210> 106

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 106

Ser Ala Ser Ser Leu Pro His Phe His Trp Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 107

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 107

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

1 5 10 15

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

65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Ser Ala Ser Ser Leu Pro His Phe His Trp Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 108

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 108

caagtccaac tcgtgcagtc tggagcagaa gtcaagaagc cgggctcaag cgtgaaggtg	60
tcctgcaaag ccagcggagg gaccttctcc tcctatgccca tctcatgggt cagacaggcc	120
ccgggccagg gcctggaatg gatgggtcac atcatccccc attggggaca cgcgcgtac	180
gcccagaagt ttcagggccg cgtgactatt accgcggacg aaagcacttc caccgcctac	240
atggagctgt cctccctgcg gtcggaggac accgcagtgt actactgcgc ccggtcggct	300
tcgtccctgc cacacttcca ctggttcgat tactggggac agggaaccct ggtcactgtg	360
tccagc	366

<210> 109

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly His Ile Ile Pro His Trp Gly His Ala Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Ala Ser Ser Leu Pro His Phe His Trp Phe Asp Tyr 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 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 Arg 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                      320  
 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 Glu Glu Met 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                      400  
 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> 110

<211> 1356

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 110

caagtccaac tcgtgcagtc tggagcagaa gtcaagaagc cgggctcaag cgtgaaggtg	60
tcctgcaaag ccagcggagg gaccttctcc tcctatgccca tctcatgggt cagacaggcc	120
ccgggccagg gcctggaatg gatgggtcac atcatcccc attggggaca cgcgcgtac	180
gcccagaagt ttcagggccg cgtgactatt acccgggacg aaagcacttc caccgcctac	240
atggagctgt cctccctgcg gtcggaggac accgcagtgt actactgcgc ccggtcggct	300
tcgtccctgc cacacttcca ctggttcgat tactggggac aggggaacct ggtcactgtg	360
tccagcgcta gcaccaaggg cccaagtgtg ttccccctgg cccccagcag caagtctact	420
tccggcgga a ctgctgcctt gggttgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtagaca	480
gtgtcctgga actctggggc tctgacttcc ggcgtagaca cttccccgc cgtgctgcag	540
agcagcggcc tgiacagcct gagcagcgtg gtgacagtgc cctccagctc tctgggaacc	600
cagacctata tctgcaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtg	660
gagcccaaga gctgcgacaa gaccacacc tgccccccct gccagctcc agaactgctg	720
ggagggcctt ccgtgttctt gttccccccc aagcccaagg acaccctgat gatcagcagg	780
acccccgagg tgacctgcgt ggtggtggac gtgtccacg aggaccaga ggtgaagttc	840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aacgccaaga ccaagcccag agaggagcag	900
tacaacagca cctacagggt ggtgtccgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac	960
ggcaaagaat acaagtgcaa agtctccaac aaggccctgc cagccccaat cgaaaagaca	1020
atcagcaagg ccaagggcca gccacgggag ccccaggtgt acaccctgcc cccagccgg	1080
gaggagatga ccaagaacca ggtgtccctg acctgtctgg tgaagggtt ctacccagc	1140
gatatcgccg tggagtggga gagcaacggc cagcccagaga acaactaaa gaccaccccc	1200
ccagtgtctg acagcgacgg cagcttcttc ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc	1260
aggtggcagc agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac	1320
tacaccaga agtccctgag cctgagcccc ggcaag	1356

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 111

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 112

Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser

1 5

<210> 113

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 113

Gln Gln Arg Asp Thr Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 114

Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 115

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 115

Ala Ala Ser

1

<210> 116

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 116

Arg Asp Thr Thr Pro Trp

1 5

<210> 117

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 117



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

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

<210> 118

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

gatatccaga tgactcagtc cccatcctcc ctgtcggcct ccgtgggcga tcgggtcact 60

attacgtgcc gcgccagcca ggacattaac aactacctga actggtatca acagaagccg 120

gggaaggccc ctaagctgct gatctacgt gcaagccggt tgcagtcagg agtgcctca 180

aggttctccg gticcggatc gggcaccgac ttcacctga ccatcagcag cctccagccg 240

gaggactttg cgacctacta ctgtcagcaa agagacacca cccctggac attcggacag 300

ggcaccaaag tggaaatcaa g 321

<210> 119

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 119

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 Ile Asn Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asp Thr Thr Pro Trp

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> 120

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 120

gatatccaga tgactcagtc cccatcctcc ctgtcggcct ccgtgggcga tcgggtcact 60

attacgtgcc gcgccagcca ggacattaac aactacctga actggtatca acagaagccg 120

gggaaggccc ctaagctgct gatctacgt gcaagccggt tgcagtcagg agtgcctca 180

aggttctccg gttccggatc gggcaccgac ttcacctga ccatcagcag cctccagccg 240

gaggactttg cgacctacta ctgtcagcaa agagacacca cccctggac attcggacag 300

ggcaccaaag tggaatcaa gcgtacgggt gccgtccca gcgtgttcat cttcccccc 360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 121

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 121

Ser Ala Trp Met Ser

1 5

<210> 122

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 122

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 123

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 123

Val Gly Gly Tyr Tyr Gly Tyr Gly Tyr Ala Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 124

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 124

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ala

1 5

<210> 125

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 125

Lys Ser Lys Thr Tyr Gly Gly Thr

1 5

<210> 126

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 126

Val Gly Gly Tyr Tyr Gly Tyr Gly Tyr Ala Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 127

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 127

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65                      70                      75                      80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Val Gly Gly Tyr Tyr Gly Tyr Gly Tyr Ala Phe Ala

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 128

<211> 372

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 128

caagtcacgc tgcgcgaatc cggctggcggc ctcgtgaagc cgggaggatc cctgcggctg 60

tcctgcgccg cctccgggtt cactttttcc tccgcatgga tgtcatgggt ccgccaggcc 120

cccgggaagg gtctggaatg ggtcgggcac atcaagtcaa agacctacgg cggcaccatt 180

gactacgccg cccagtgaa aggaagggtc actatctcgc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctcaagacc gaggatactg cggtgtacta ctgcgcaaga 300

gtgggcggat actacggta cggtacgct ttgcgtact ggggacaggg caccctcgtg 360

accgtgtcga gc 372

<210> 129

&lt;211&gt; 454

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 129

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

1                      5                      10                      15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ala  
 20 25 30  
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
  
 Gly His Ile Lys Ser Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Ile Asp Tyr Ala Ala  
 50 55 60  
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95  
 Tyr Cys Ala Arg Val Gly Gly Tyr Tyr Gly Tyr Gly Tyr Ala Phe Ala  
 100 105 110  
  
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
 115 120 125  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly  
 130 135 140  
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
 145 150 155 160  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
 165 170 175  
  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 180 185 190  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn  
 195 200 205  
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro  
 210 215 220  
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
 225 230 235 240  
  
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 245 250 255  
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

260 265 270  
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
275 280 285  
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn  
290 295 300

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 130

<211> 1362

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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



<400> 130

caagtccagc tcgtcgaatc cggcggcgga ctctgaagc cgggaggatc cctgcggctg	60
tcctgcgccg cctccgggtt cactttttcc tccgcatgga tgtcatgggt ccgccaggcc	120
cccgggaagg gtctggaatg ggtcgggcac atcaagtcaa agacctacgg cggcaccatt	180
gactacgccg cccagtgaa aggaagggtt actatctgc gggacgacag caagaacacc	240
ctgtatctgc aaatgaacag cctcaagacc gaggatactg cgggtacta ctgcgcaaga	300
gtggcgccgat actacgggta cggctacgtt ttcgctact ggggacaggg caccctctg	360
accgtgtcga gcgctagcac caagggccca agtgtgttc ccctggcccc cagcagcaag	420
tctacttccg gcggaactgc tgccctgggt tgccctgtga aggactactt ccccagccc	480
gtgacagtgt cctggaactc tggggctctg acttccggcg tgcacacctt ccccgccgtg	540
ctgcagagca gggcctgta cagcctgagc agcgtgtga cagtgcctc cagctctctg	600
ggaaccaga cctatatctg caactgaac cacaagcca gcaacacaa ggtggacaag	660
agagtggagc ccaagagctg cgacaagacc cacacctgcc cccctgccc agctccagaa	720
ctgctgggag ggccttccgt gttctgttc cccccaagc ccaaggacac cctgatgatc	780
agcaggaccc ccgaggtgac ctgctgtgtg gtggacgtgt cccacagga cccagaggtg	840
aagtccaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaacg ccaagacaa gccagagag	900
gagcagtaca acagcaccta cagggtgtgt tccgtgtga ccgtgtgca ccaggactgg	960
ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaagtc tccaacaagg ccctgccagc cccaatcgaa	1020
aagacaatca gcaaggccaa gggccagcca cgggagcccc aggtgtacac cctgcccccc	1080
agccgggagg agatgacaa gaaccagggt tccctgacct gtctggtgaa gggcttctac	1140
cccagcgata tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc	1200
acccccccag tgetggacag cgacggcagc ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac	1260
aagtccaggt ggcagcaggc caactgttc agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac	1320
aaccactaca ccagaagtc cctgagcctg agccccggca ag	1362

<210> 131

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 131

Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Lys Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 132

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 133

<211>

> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

Ser Ser Thr Ala Ser Lys Ser Phe Asn Val

1 5 10

<210> 134

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 134

Asp Asn Ile Gly Asp Lys Tyr

1 5

<210> 135

<211> 3

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 135

Asp Asp Asn

1

<210> 136

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 136

Thr Ala Ser Lys Ser Phe Asn

1 5

<210> 137

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 137

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Lys Tyr Val

20 25 30

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

35 40 45

Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

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

<210> 138

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 138

agctacgaac tcacccagcc tctgtccgtg tccgtcgcgc tgggacagac tgctcgcac 60  
acttgctccg gcgacaacat cggggacaaa tacgtgtcgt ggtaccagca gaagccgggc 120  
caagcccccg tgctggtcat ctatgacgat aacaagcggc catcgggcat tccggagaga 180  
ttcagcgggt ccaacagcgg aaacactgcc accctgacca tcagcagggc acaggccggg 240  
gatgaggccg actactactg ctcatccacc gcctccaagt cattcaatgt gttcggaggc 300  
ggcaccaagc tgaccgtgct c 321

<210> 139

<211> 213

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 139

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
1 5 10 15

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

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

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

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

Pro Thr Glu Cys Ser  
 210

<210> 140

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 140

agctacgaac tcacccagcc tctgtccgtg tccgtcgcgc tgggacagac tgctcgcac 60

acttgctccg gcgacaacat cggggacaaa tacgtgtcgt ggtaccagca gaagccgggc 120

caagccccc tgctgtcat ctatgacgat aacaagcggc catcgggcat tccggagaga 180

ttcagcggtt ccaacagcgg aaacactgcc accctgacca tcagcagggc acaggccggg 240

gatgaggcgg actactactg ctcatccacc gcctccaagt cattcaatgt gttcggaggc 300

ggcaccaagc tgaccgtgct cggtaacct aaggtgccc ccagcgtgac cctgttcccc 360

cccagcagcg aggagctgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgcctgat cagcgacttc 420

taccaggcgg ccgtgaccgt ggcctggaag gccgacagca gcccctgaa ggccggcgtg 480

gagaccacca cccccagcaa gcagagcaac aacaagtacg ccgccagcag ctacctgagc 540

ctgacccccc agcagtggaag gagccacagg tcctacagct gccaggtgac ccacgagggc 600

agcaccgtgg aaaagaccgt ggccccaacc gattgcagc 639

<210> 141

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 141

Ser Tyr Tyr Met Asn

1 5

<210> 142

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<400> 142

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

1                      5                      10                      15

Gly

<210> 143

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 143

Asn Tyr Phe Asp Val

1                      5

<210> 144

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 144

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1                      5

<210> 145

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 145

Asn Pro Val Gln Gly Asn

1                      5

<210> 146

<211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 146

Asn Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 147

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 147

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asn Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

Ser Ser



<210> 148

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 148

caagtccagc tcgtccaatc cgggtgctgaa gtcaagaagc cgggagccag cgtgaaagtg	60
tcctgcaagg cctccgggta caccttcacc tcctactaca tgaactgggt cagacaggcc	120
ccgggccagg gcctggagtg gatgggatgg atcaatccag tgcagggaaa cactaactac	180

gcgcagaagt tccagggtcg cgtgaccatg actcgggaca ctagcatttc cacggcctac	240
atggagctgt caaggctgcg gtcggaagat acccggtgtg attactgcgc ccgcaactac	300
ttcgacgtgt ggggacaggg aacccttgtg accgtgtcca gc	342

<210> 149

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 149

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90				95			
Ala	Arg	Asn	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
				100				105				110			
Ser	Ser	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				160			
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	Arg	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				240			
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	Lys	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

Glu Glu Met 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 Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440

<210> 150

<211> 1332

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 150

caagtccagc tegtccaatc cgggtctgaa gtcaagaagc cgggagccag cgtgaaagt	60
tcctgcaagg cctccgggta caccitcacc tctactaca tgaactgggt cagacaggcc	120
ccgggcccagg gcctggagtg gatgggatgg atcaatccag tgcagggaaa cactaactac	180
gcgcagaagt tccagggtcg cgtgacatg actcgggaca ctagcatttc cacggcctac	240
atggagctgt caaggctcgc gtcggaagat accgcggtgt attactgcgc ccgcaactac	300
ttcgactgt ggggacaggg aacccttgtg accgtgtcca gcgctagcac caagggccca	360
agtgtgtttc ccctggcccc cagcagcaag tctacttccg gcggaactgc tgccctgggt	420

tgcctggtga aggactactt ccccgagccc gtgacagtgt cctggaactc tggggtctg 480  
 acttcggcgc tgcacacctt ccccgccgtg ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc 540  
 agcgtggtga cagtgcctc cagctctctg ggaaccaga cctatatctg caacgtgaac 600  
 cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag agagtggagc ccaagagctg cgacaagacc 660  
 cacacctgcc cccctgcc agctccagaa ctgctgggag ggccttcctg gtctctgttc 720  
 cccccaagc ccaaggacac cctgatgac agcaggaccc ccgaggtgac ctgcgtggtg 780  
 gtggacgtgt cccacgagga cccagagggtg aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 840

gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gagcagtaca acagcaccta cagggtggtg 900  
 tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaagtc 960  
 tccaacaagg cctgcccagc cccaatcgaa aagacaatca gcaaggccaa gggccagcca 1020  
 cgggagcccc aggtgtacac cctgcccccc agccgggagg agatgaccaa gaaccaggtg 1080  
 tccttgacct gtctggtgaa gggcttctac cccagcgata tcgccgtgga gtgggagagc 1140  
 aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc accccccag tgctggacag cgacggcagc 1200  
 ttcttctgt acagcaagct gaccgtggac aagtcagggt ggcagcaggg caacgtgttc 1260

agctgcagcg tgatgcagga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgagcctg 1320  
 agccccggca ag 1332

<210> 151

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 151

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 152

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser

1 5

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 153

Gln Gln Leu Tyr Ala Glu Ser Ile Thr

1 5

<210> 154

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 154

Ser Gln Thr Ile Ser Asn Phe

1 5

<210> 155

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 155

Ala Ala Ser

1

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 156

Leu Tyr Ala Glu Ser Ile

1 5

<210> 157

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 157

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 Thr Ile Ser Asn Phe

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 158

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 158

gatatccaga tgaccagag cccatcatcc ctgtcgccct ccgtgggcga cagagtgacc	60
attacttgcc gggcatcaca gacgatctcc aactttctgg cctggtatca gcagaagccg	120
gggaaggcgc ccaagctgct catctacgct gcctccaacc tccaatccgg agtgcctagc	180
cggttcagcg gctcgggac cgggactgac ttaccctga ctatctcgag cctgcagccg	240
gaggacttcg cgggtgtacta ctgtcagcaa ctgtacgccg aatccatcac attcggacag	300

ggcaccaaag tggagattaa g	321
-------------------------	-----

<210> 159

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 159

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 Thr Ile Ser Asn Phe	
20                      25                      30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
35                      40                      45	
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
50                      55                      60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
65                      70                      75                      80	
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Tyr Ala Glu Ser Ile	

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> 160

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 160

gatatccaga tgaccagag cccatcatcc ctgtcgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60

attacttgcc gggcatcaca gacgatctcc aactttctgg cctggtatca gcagaagccg 120

gggaaggcgc ccaagctgct catctacgt gctccaacc tccaatccgg agtgcctagc 180

cggttcagcg gctcgggac cgggactgac ttaccctga ctatctcgag cctgcagccg 240

gaggacttcg cggtgtacta ctgtcagcaa ctgtacgcc aatccatcac attcggacag 300

ggcaccaaag tggagattaa gcgtacggtg gccgtccca gcgtgttcat cttccccccc 360



agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420  
 ccccgaggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480  
 gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgagggtgac ccaccagggc 600  
 ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 161

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 161

Asp Tyr Ala Ile His

1 5

<210> 162

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 162

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

1 5 10 15

Gly

<210> 163

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 163

Arg Ile Val Ser Asp Ser Val Ala Val Gln Tyr Arg His Ala Phe Asp

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 164

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 164

Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

1                    5

<210> 165

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 165

Ile Pro Phe Phe Gly Thr

1                    5

<210> 166

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 166

Arg Ile Val Ser Asp Ser Val Ala Val Gln Tyr Arg His Ala Phe Asp  
 1 5 10 15  
 Pro

<210> 167

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 167

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Ile Val Ser Asp Ser Val Ala Val Gln Tyr Arg His Ala  
 100 105 110  
 Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 168

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 168

caagtgaac tcgtccagtc tgggtccgaa gtcaagaagc caggatcctc ggtgaaagtg	60
tcctgcaagg cctccggggg aaccttttcc gactacgcca tccactgggt ccgccaagca	120
ccgggacagg gcctggaatg gatgggtggc attatccctt tcttcgggac tgcttactat	180
gcgcagaagt tccagggaag agtgacgatt accgccgacg agagcacctc caccgcctac	240
atggaactga gctcactgag gtcggaggat actgcggtgt actactgcgc ccgccggatc	300
gtgtcggatt ccgtggccgt gcagtaccgg catgccttcg acccgtgggg ccaggaacc	360
ctggtcactg tgtcatcc	378

<210> 169

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 169

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
1                      5                      10                      15	
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr	
20                      25                      30	
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
35                      40                      45	
Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe	
50                      55                      60	
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
65                      70                      75                      80	
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85                      90                      95	
Ala Arg Arg Ile Val Ser Asp Ser Val Ala Val Gln Tyr Arg His Ala	

100 105 110  
 Phe Asp Pro 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 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 Arg Val  
  
 210 215 220  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 225 230 235 240  
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 245 250 255  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 260 265 270  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
  
 275 280 285  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 290 295 300  
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 305 310 315 320  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 325 330 335  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
  
 340 345 350

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

405 410 415  
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 420 425 430  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 435 440 445  
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455

<210> 170

<211> 1368

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 170

caagtgaac tcgtccagtc tgggtccgaa gtcaagaagc caggatcctc ggtgaaagtg	60
tcctgaagg cctccggggg aaccttttcc gactacgcca tccactgggt ccgccaagca	120
ccgggacagg gcctggaatg gatgggtggc attatccctt tcttcgggac tgcttactat	180
gcgcagaagt tccagggaag agtgacgatt accgccgacg agagcacctc caccgcctac	240
atggaactga gctcactgag gtcggaggat actgcggtgt actactgcgc ccgccggatc	300
gtgtcggatt ccgtggccgt gcagtaccgg catgccttcg acccgtgggg ccagggaacc	360
ctggtcactg tgcatccgc tagcaccaag ggcccaagtg tgtttccctt ggcccccagc	420
agcaagtcta cttccggcgg aactgctgcc ctgggttgcc tggatgaagga ctacttcccc	480
gagcccgtga cagtgtcctg gaactctggg gctctgactt ccggcgtgca caccttcccc	540
gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc ctgagcagcg tggtagacagt gccctccagc	600

tctctgggaa cccagacctat tatctgcaac gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg 660  
gacaagagag tggagcccaa gagctgagac aagaccacaca cctgcccccc ctgcccagct 720  
ccagaactgc tgggagggcc ttccgtgttc ctgttcccc ccaagcccaa ggacaccctg 780  
atgatcagca ggacccccga ggtgacctgc gtggtggtgg acgtgtccca cgaggaccca 840

gaggtgaagt tcaactggtat cgtggacggc gtggaggtgc acaacgcaa gaccaagccc 900  
agagaggagc agtacaacag cacctacagg gtggtgtccg tgctgaccgt gctgcaccag 960  
gactggctga acggcaaaga atacaagtgc aaagtctcca acaaggccct gccagcccca 1020  
atcgaagaaga caatcagcaa ggccaagggc cagccacggg agcccaggt gtacaccctg 1080  
ccccccagcc gggaggagat gaccaagaac caggtgtccc tgacctgtct ggtgaagggc 1140  
ttctacccca gcgatatcgc cgtggagtgg gagagcaacg gccagcccga gaacaactac 1200  
aagaccaccc cccagtgtct ggacagcgac ggcagcttct tctgtacag caagctgacc 1260

gtggacaagt ccaggtggca gcagggaac gtgttcagct gcagcgtgat gcacagggcc 1320  
ctgcacaacc actacacca gaagtccctg agcctgagcc ccggcaag 1368

<210> 171

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 171

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr

1 5 10

<210> 172

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 172

Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 173

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 173

Asn Ala Trp Asp Thr Lys Ala Tyr Val Trp Val

1 5 10

<210> 174

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 174

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr

1 5

<210> 175

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 175

Gly Asn Asn

1

<210> 176

<211> 8

<212> PRT



<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 176

Trp Asp Thr Lys Ala Tyr Val Trp

1 5

<210> 177

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 177

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ala Trp Asp Thr Lys Ala

85 90 95

Tyr Val Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 178

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 178

cagtctgtgc tgactcagcc tccgagcgtg tcaggagcac cgggacagag agtgaccatc	60
tcctgttcgg ggiccagctc gaacattggc tccaactacg tgtactggta tcagcagctc	120
cccgtaccg cgcccaagct gttgatctac ggcaacaaca accggcctag cggcgtgccg	180
gataggttct cgggttcaaa atccgggacg tccgcttccc tggccatcac tggcctgcaa	240

gcggaggacg aagccgacta ctactgcaat gcctgggaca ccaaggccta cgtctgggtg	300
ttcggaggag gcactaagct gaccgtgctg	330

<210> 179

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 179

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln	
1                      5                      10                      15	
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn	
20                      25                      30	
Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu	
35                      40                      45	
Ile Tyr Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser	
50                      55                      60	
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln	
65                      70                      75                      80	
Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ala Trp Asp Thr Lys Ala	
85                      90                      95	
Tyr Val Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln	

100 105 110  
 Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu  
 115 120 125  
 Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
 130 135 140  
 Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
  
 145 150 155 160  
 Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
 165 170 175  
 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
 180 185 190  
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
 195 200 205  
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 180

<211> 648

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 180

cagtcgtgtgc tgactcagcc tccgagcgtg tcaggagcac cgggacagag agtgaccatc	60
tcctgttcgg ggtccagctc gaacattggc tccaactacg tgtactggta tcagcagctc	120
cccgttaccg cgcccaagct gttgatctac ggcaacaaca accggcctag cggcgtgccg	180
gataggttct cgggttcaaa atccgggacg tccgttccc tggccatcac tggcctgcaa	240
gcggaggacg aagccgacta ctactgcaat gcctgggaca ccaaggccta cgtctgggtg	300
ttcggaggag gactaagct gaccgtgctg ggacagccta aggctgcccc cagcgtgacc	360
ctgttcccc ccagcagcga ggagctgcag gccacaagg ccacctggt gtgcctgatc	420
agcgacttct acccaggcgc cgtgaccgtg gcctggaagg ccgacagcag ccccgtaag	480
gccggcgtgg agaccaccac cccagcaag cagagcaaca acaagtacgc cgccagcagc	540

tacctgagcc tgacccccga gcagtgggaag agccacaggt cctacagctg ccaggtgacc 600  
cacgagggca gcaccgtgga aaagaccgtg gcccacaccg agtgcagc 648

<210> 181  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"  
<400> 181  
Ser Tyr Asn Met His  
1 5  
<210> 182  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"  
<400> 182  
Val Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Val Thr Ser Tyr Ser Gln Lys Phe Lys  
1 5 10 15  
Asp

<210> 183  
<211> 13  
<212> PRT  
<213>  
> Artificial Sequence  
<220><221> source  
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide"  
<400> 183  
Asp Asp Tyr Phe Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

```

1             5             10
<210> 184
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      peptide"
<400> 184
Gly Tyr Thr Phe Pro Ser Tyr
1             5
<210> 185
<211> 6
<212> PRT
<213>
> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      peptide"
<400> 185
Tyr Pro Gly Asn Gly Val
1             5
<210> 186
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      peptide"
<400> 186
Asp Asp Tyr Phe Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr
1             5             10
<210> 187
<211> 122
<212> PRT

```

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 187

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Pro Ser Tyr

20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Arg Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Val Thr Ser Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Asp Tyr Phe Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 188

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 188

caggcttattc tacagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctggggcctc agtgaagatg 60

tcctgcaagg ctcttggeta cacatttccc agttacaata tgactgggt aaagcagaca 120

cctagacagg gcctggaatg gattggagtt atttatccag gaaatggtgt tacttcctac 180

agtcagaagt tcaaggacaa ggccacactg actgtagaca aatcttccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aaaagacgat 300

tatttctacg gtggtagcta tgctatggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 189

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu His

1 5 10

<210> 190

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 190

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 191

Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 192

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 192

Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn

1 5

<210> 193

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 193

Tyr Ala Ser

1

<210> 194

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 194

Ser His Ser Trp Pro Tyr

1 5

<210> 195

<211> 107



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 195

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

1 5 10 15

Asp Ser Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Ile Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Met Glu Thr

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Met Phe Phe Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 196

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 196

gatattgtgc taactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagcgtcagt 60

ctttcctgca gggccagcca aagtattagc aacaacctac actggtatca gcaaatatca 120

catgagtctc caaggttct catcaagtat gctccagc ccatctctgg catcccctec 180

aggttcagtg gcagtggatc agggacagat ttactctca gtatcaacag tatggagact 240

gaagattttg gaatgttttt ctgtcaacag agtcacagct ggccttacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 197

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 197

Arg Tyr Trp Met His

1 5

<210> 198

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 198

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

1 5 10 15

Ser

<210> 199

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 199

Gly Ser Asn Tyr Gly Gly Phe Val Tyr

1 5

<210> 200  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 200  
 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr  
 1 5

<210> 201  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 201  
 Asn Pro Ser Asn Gly Gly  
 1 5

<210> 202  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><221> source  
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 202  
 Gly Ser Asn Tyr Gly Gly Phe Val Tyr  
 1 5

<210> 203  
 <211> 118  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 203

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Met Gly Ser Asn Tyr Gly Gly Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 204

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 204

caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag gctgtgaagc ctggggcttc agtgaagttg 60

tcctgcaagg ctcttggeta caccttcacc aggtattgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gattggagag attaatccta gcaatggtgg tactaactac 180

aatgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240  
atgcaactca gcagcctgac atctgaggat ttgcggtct attactgtac aatggggagt 300  
aactacgggg gttttgttta ctggggccaa gggactctgg tcactgtctc tgca 354

<210> 205

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 205

Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met Asn

1 5 10 15

<210> 206

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 206

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser

1 5

<210> 207

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 207

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Arg Thr

1 5

<210> 208

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 208

Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe

1                      5                      10

<210> 209

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 209

Ala Ala Ser

1

<210> 210

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 210

Ser Lys Glu Val Pro Arg

1                      5

<210> 211

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 211

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Phe Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Leu Glu Glu Asp Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys

85 90 95

Glu Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 212

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 212

gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60

atctcctgca gagccagcga aagtcttgat aattatggca ttagttttat gaattggttc 120

caacagaaac caggacagcc acccaaattc ctcatctatg ctgcatcaa ccaaggaagc 180

ggggtccctg ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcagcct caacatccat 240

cctttggagg aggatgatac tgcaatgtat tttctgcagc aaagtaagga ggttcctcgg 300

acgttcggtg gaggcaccaa actggaaatc aaa 333

<210> 213

<211> 429

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Met Cys Pro Gly Ala Leu Trp Val Ala Leu Pro Leu Leu Ser Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Pro Glu His Thr Phe Asn Leu Lys Met Phe Leu Glu Asn Val Lys Val

50 55 60

Asp Phe Leu Arg Ser Leu Asn Leu Ser Gly Val Pro Ser Gln Asp Lys

65 70 75 80

Thr Arg Val Glu Pro Pro Gln Tyr Met Ile Asp Leu Tyr Asn Arg Tyr

85 90 95

Thr Ser Asp Lys Ser Thr Thr Pro Ala Ser Asn Ile Val Arg Ser Phe

100 105 110

Ser Met Glu Asp Ala Ile Ser Ile Thr Ala Thr Glu Asp Phe Pro Phe

115 120 125

Gln Lys His Ile Leu Leu Phe Asn Ile Ser Ile Pro Arg His Glu Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Pro Ser His Asp Leu Lys Gly Ser Val Val Ile Tyr Asp Val Leu

165 170 175

Asp Gly Thr Asp Ala Trp Asp Ser Ala Thr Glu Thr Lys Thr Phe Leu

180 185 190

Val Ser Gln Asp Ile Gln Asp Glu Gly Trp Glu Thr Leu Glu Val Ser

195 200 205



Ser Ala Val Lys Arg Trp Val Arg Ser Asp Ser Thr Lys Ser Lys Asn

210 215 220

Lys Leu Glu Val Thr Val Glu Ser His Arg Lys Gly Cys Asp Thr Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

Phe Ser Asn Asp His Ser Ser Gly Thr Lys Glu Thr Arg Leu Glu Leu

260 265 270

Arg Glu Met Ile Ser His Glu Gln Glu Ser Val Leu Lys Lys Leu Ser

275 280 285

Lys Asp Gly Ser Thr Glu Ala Gly Glu Ser Ser His Glu Glu Asp Thr

290 295 300

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

305 310 315 320

Ala Gly Ala Gly Ser His Cys Gln Lys Thr Ser Leu Arg Val Asn Phe

325 330 335

Glu Asp Ile Gly Trp Asp Ser Trp Ile Ile Ala Pro Lys Glu Tyr Glu

340 345 350

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

355 360 365

Thr Pro Thr Lys His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Lys Phe

370 375 380

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

385 390 395 400

Ile Ser Val Leu Tyr Lys Asp Asp Met Gly Val Pro Thr Leu Lys Tyr

405 410 415

His Tyr Glu Gly Met Ser Val Ala Glu Cys Gly Cys Arg

420 425

<210> 214

<211> 1942

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 214

cgggtccagcc cggcagcggg tgagagtagg tgctggccaa gacggttcct tcagagcaaa	60
cagcagggag atgccggccc gctccttccc agctcctccc cgtgcccgt aacacagcac	120
ggccgcctgc agtctcctct ctgggtgatt gcgcgggcct aagatgtgtc ctggggcact	180
gtgggtggcc ctgcccctgc tgctcctgct ggctggctcc ctacagggga agccactgca	240
gagctgggga cgagggtctg ctgggggaaa cgcccacagc ccactggggg tgcctggagg	300
tgggtgcct gagcacacct tcaacctgaa gatgtttctg gagaacgtga aggtggattt	360
cctgcgcagc cttaacctga gtggggtccc ttgcaggac aaaaccaggg tggagccgcc	420
gcagtacatg attgacctgt acaacaggta cacgtccgat aagtcgacta cgccagcgtc	480
caacattgtg cggagcttca gcatggaaga tgccatctcc ataactgcca cagaggactt	540
ccccctccag aagcacatct tgctcttcaa catctccatt cctaggcatg agcagatcac	600
cagagctgag ctccgactct atgtctctg tcaaaatcac gtggaccct ctcatgacct	660
gaaaggaagc gtggtcattt atgatgttct ggatggaaca gatgcctggg atagtgtac	720
agagacaaa accttcctgg tgctccagga cattcaggat gagggctggg agaccttga	780
agtgtccagc gccgtgaagc gctgggtccg gtccgactcc accaagagca aaaataagct	840
ggaagtgact gtggagagcc acaggaaggg ctgcgacagc ctggacatca gtgtccccc	900
aggttcaga aacctgccct tctttgtgtt ctctccaat gaccacagca gtggaaccaa	960
ggagaccagg ctggagctga gggagatgat cagccatgaa caagagagcg tgctcaagaa	1020
gctgtccaag gacggctcca cagaggcagg tgagagcagt cacgaggagg acacggatgg	1080
ccacgtggct gcggggtcga ctttagccag gcggaaaagg agcggcgggg ctggcagcca	1140
ctgtcaaaag acctccctgc gggtaaaact cgaggacatc ggctgggaca gctggatcat	1200
tgcaccaag gatlataag cctacgagt taaggcggc tgcttcttc ctttggtga	1260
cgatgtgacg ccgacgaac acgctatcgt gcagaccctg gtgcatctca agttccccac	1320
aaaggtgggc aaggcctgct gtgtgcccac caaactgagc cccatctccg tectctaaa	1380
ggatgacatg gaggtgcccc ccctcaagta ccattacgag ggcatgagcg tggcagagt	1440
tgggtgcagg tagtatctgc ctgcggggct ggggagcgag gccaaagggg ctccacatga	1500
gaggtcctgc atgcccctgg gcacaacaag gactgattca atctgcatgc cagcctggag	1560
gaggaaaggg agcctgctct cctccccac accccacca aagcatacac cgctgagctc	1620
aactgccagg gaaggctaag gaaatgggga tttagacaca acaggaaagc ctgggagggt	1680
tgttgggatg caaggaggtg atgaaaagga gacaggggga aaaataatcc atagtacga	1740

gaaaacaaca gcagttagacc agaggagcac aggcgggcag gtcactgcag agactgatgg 1800  
aagtttagaga ggtggaggag gccagctcac tccaaaaccc ttggggagta gaggggaagga 1860  
gcaggccgcg tgtcacaccc atcattgtat gttatttccc acaaccagtg tggaggggca 1920

tggcttccaa tttagagacc cg 1942

<210> 215

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

Ser Ala Gly Ala Gly Ser His Cys Gln Lys Thr Ser Leu Arg Val Asn

1 5 10 15

Phe Glu Asp Ile Gly Trp Asp Ser Trp Ile Ile Ala Pro Lys Glu Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Val Thr Pro Thr Lys His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Ile Ser Val Leu Tyr Lys Asp Asp Met Gly Val Pro Thr Leu Lys

85 90 95

Tyr His Tyr Glu Gly Met Ser Val Ala Glu Cys Gly Cys Arg

100 105 110

<210> 216

<211> 414

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Glu Asp Met Ser Leu Phe Gly Asp Val Phe Ser Glu Gln Asp Gly  
 35 40 45  
 Val Asp Phe Asn Thr Leu Leu Gln Ser Met Lys Asp Glu Phe Leu Lys  
 50 55 60  
 Thr Leu Asn Leu Ser Asp Ile Pro Thr Gln Asp Ser Ala Lys Val Asp  
 65 70 75 80  
 Pro Pro Glu Tyr Met Leu Glu Leu Tyr Asn Lys Phe Ala Thr Asp Arg  
 85 90 95  
 Thr Ser Met Pro Ser Ala Asn Ile Ile Arg Ser Phe Lys Asn Glu Asp  
 100 105 110  
 Leu Phe Ser Gln Pro Val Ser Phe Asn Val Ser Ile Pro His His Glu  
 115 120 125  
 Glu Val Ile Met Ala Glu Leu Arg Leu Tyr Thr Leu Val Gln Arg Asp  
 130 135 140  
 Arg Met Ile Tyr Asp Gly Val Asp Arg Lys Ile Thr Thr Phe Glu Val  
 145 150 155 160  
 Leu Glu Ser Lys Gly Asp Asn Glu Gly Glu Arg Asn Met Leu Val Leu  
 165 170 175  
 Val Ser Gly Glu Ile Tyr Gly Thr Asn Ser Glu Trp Glu Thr Phe Asp  
 180 185 190  
 Val Thr Asp Ala Ile Arg Arg Trp Gln Lys Ser Gly Ser Ser Thr His  
 195 200 205  
 Gln Leu Glu Val His Ile Glu Ser Lys His Asp Glu Ala Glu Asp Ala  
 210 215 220  
 Ser Ser Gly Arg Leu Glu Ile Asp Thr Ser Ala Gln Asn Lys His Asn  
 225 230 235 240  
 Pro Leu Leu Ile Val Phe Ser Asp Asp Gln Ser Ser Asp Lys Glu Arg  
 245 250 255  
 Lys Glu Glu Leu Asn Glu Met Ile Ser His Glu Gln Leu Pro Glu Leu  
 260 265 270  
 Asp Asn Leu Gly Leu Asp Ser Phe Ser Ser Gly Pro Gly Glu Glu Ala

275 280 285  
Leu Leu Gln Met Arg Ser Asn Ile Ile Tyr Asp Ser Thr Ala Arg Ile

290 295 300  
Arg Arg Asn Ala Lys Gly Asn Tyr Cys Lys Arg Thr Pro Leu Tyr Ile

305 310 315 320  
Asp Phe Lys Glu Ile Gly Trp Asp Ser Trp Ile Ile Ala Pro Pro Gly

325 330 335  
Tyr Glu Ala Tyr Glu Cys Arg Gly Val Cys Asn Tyr Pro Leu Ala Glu

340 345 350  
His Leu Thr Pro Thr Lys His Ala Ile Ile Gln Ala Leu Val His Leu

355 360 365  
Lys Asn Ser Gln Lys Ala Ser Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Lys Leu

370 375 380  
Glu Pro Ile Ser Ile Leu Tyr Leu Asp Lys Gly Val Val Thr Tyr Lys

385 390 395 400  
Phe Lys Tyr Glu Gly Met Ala Val Ser Glu Cys Gly Cys Arg

405 410  
<210> 217

<211> 1584

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 217

ggggagagga agagtggtag ggggagggag agagagagga agagtttcca aacttgtctc 60

cagtgcagg agacatttac gttccacaag ataaaactgc cacttagagc ccagggaagc 120

taaaccttcc tggtttggcc taggagctcg agcggagtca tgggtctctc ggtcctgaca 180

ctgtgcgctc ttttctgcct ggcagcttac ttggtttctg gcagcccat catgaaccta 240

gagcagtctc ctctggaaga agatatgtcc ctcttttggtg atgttttctc agagcaagac 300

ggtgtcgact ttaacacact gctccagagc atgaaggatg agtttcttaa gacactaaac 360

ctctctgaca tccccacgca ggattcagcc aaggtggacc caccagagta catgttggaa 420

ctctacaaca aatttgcaac agatcggaac tccatgccct ctgccaacat cattaggagt 480

ttcaagaatg aagatctgtt ttcccagccg gtcagtttta atgggctccg aaaatacccc 540

ctcctcttca atgtgtccat tcctcaccat gaagaggtca tcatggctga acttaggcta 600  
 tacacactgg tgcaaaggga tcgtatgata tacgatggag tagaccggaa aattaccatt 660  
 tttgaagtgc tggagagcaa aggggataac gagggagaaa gaaacatgct ggtcctgggtg 720  
 tctggggaga tatatggaac caacagttag tgggagactt ttgatgtcac agatgccatc 780  
 agacgttggc aaaagtcagg ctcatccacc caccagctgg aggcccatc tgagagcaaa 840  
 cagcatgaag ctgaggatgc cagcagtga cgctagaaa tagataccag tgcccagaat 900  
 aagcataacc ctttgcitcat cgtgttttct gatgaccaa gcagtgacaa ggagaggaag 960

gaggaactga atgaaatgat ttcccatgag caacctccag agctggacaa cttgggcctg 1020  
 gatagctttt ccagtggacc tggggaagag gctttgttgc agatgagatc aaacatcatc 1080  
 tatgactcca ctgcccgaat cagaaggaac gccaaaggaa actactgtaa gaggaccccg 1140  
 ctctacatcg acttcaagga gattgggtgg gactcctgga tcatcgctcc gcctggatac 1200  
 gaagcctatg aatgccgtgg tgtttgtaac taccctctgg cagagcatct cacaccaca 1260  
 aagcatgcaa ttatccaggc cttgggtccac ctcaagaatt ccagaaaagc ttccaaagcc 1320  
 tgctgtgtgc ccacaaagct agagcccatc tccatcctct atttagacaa aggcgtcgtc 1380

acctacaagt ttaaatacga aggcattggc gtctccgaat gtggctgtag atagaagaag 1440  
 agtcctatgg cttatttaaat aactgtaaat gtgtatattt ggtgttccta tttaatgaga 1500  
 ttatttaata aggggtgtaca gtaatagagg cttgctgcct tcaggaaatg gacaggtcag 1560  
 tttgtttag gaaatgcata tttt 1584

<210> 218

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

6xHis tag"

<400> 218

His His His His His His

1

5

<210> 219

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 219

cgaggcggca tgtgttcc 18

<210> 220

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 220

tctggggaac cgagagcac 19

<210> 221

<211>

> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 221

cgtgccgcct ggagaaacc 19

<210> 222

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 222

tggaagagtg ggagttgctg ttg 23