



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0042189
(43) 공개일자 2025년03월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01)
G01N 33/574 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 47/6803 (2023.08)
- (21) 출원번호 10-2025-7008083(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2018년09월20일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2020-7011014
원출원일자(국제) 2018년09월20일
심사청구일자 2021년09월17일
- (85) 번역문제출일자 2025년03월11일
- (86) 국제출원번호 PCT/CN2018/106619
- (87) 국제공개번호 WO 2019/057100
국제공개일자 2019년03월28일
- (30) 우선권주장
PCT/CN2017/102631 2017년09월21일 중국(CN)
- (71) 출원인
우시 바이올로지스 아일랜드 리미티드
아일랜드 에이91 엑스56에프 코 라우스 던독 물러
할린
- (72) 발명자
리, 정
중국 200131 상하이 푸터 중 로드 299
류, 제잉
중국 200131 상하이 푸터 중 로드 299
- (74) 대리인
양영준, 이윤기

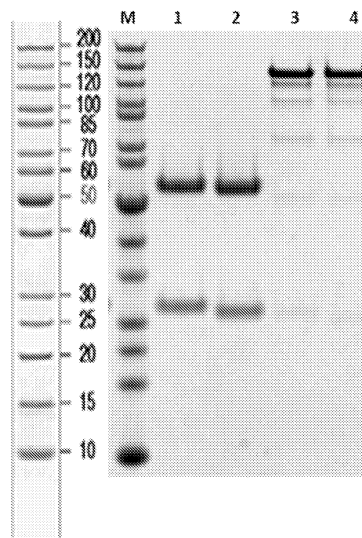
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 신규 항-CD19 항체

(57) 요약

항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 그를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드, 그를 포함하는 제약 조성물 및 그의 용도가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/6849 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C12N 5/0636 (2025.01)
G01N 33/57492 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
G01N 2333/70596 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

각각 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 14 및 서열식별번호: 15의 중쇄 CDR 1-3; 및 각각 서열식별번호: 16, 서열식별번호: 17 및 서열식별번호: 18의 카파 경쇄 CDR 1-3을 포함하는, 단리된 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열식별번호: 86, 87, 88, 89를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 90, 91, 92, 93을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 이뮤노글로불린 불변 영역을 추가로 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, IgG의 불변 영역을 추가로 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 인간 IgG1의 불변 영역을 추가로 포함하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 인간화 항체인 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 이중특이적 항체이고, 낙타화 단일 도메인 항체, 디아바디, scFv, scFv 이량체, BsFv, dsFv, (dsFv)₂, dsFv-dsFv', Fv 단편, Fab, Fab', F(ab')₂, ds 디아바디, 나노바디, 도메인 항체 또는 2가 도메인 항체인 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 1종 이상의 접합체에 연결된 항체 또는 그의 항원-결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 10

제9항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 11

제10항의 벡터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 상기 벡터가 발현되는 조건 하에 배양하는 것을 포함하는, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 발현시키는 방법.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 직접적으로 또는 링커를 통해 공유 부착된 1종 이상의 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 약물 모이어티는 세포독소 또는 방사성 동위원소인 항체-약물 접합체.

청구항 14

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 공유 부착된 1종 이상의 약물 모이어티를 포함하는 항체-약물 접합체를 포함하는, 대상체에서 CD19 관련 질환 또는 병태를 치료하기 위한 제약 조성물이며, 여기서 상기 CD19 관련 질환 또는 병태는 암인, 제약 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항원-결합 단편 및 T-세포 활성화 모이어티를 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)이며, 여기서 T-세포 활성화 모이어티는 T 세포 수용체의 막횡단 도메인 및 T 세포 수용체의 세포내 신호 전달 도메인을 포함하는 것인 키메라 항원 수용체 (CAR).

청구항 16

제15항의 CAR을 코딩하는 핵산.

청구항 17

제16항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 18

제15항의 CAR을 발현하는 단리된 T 세포.

청구항 19

샘플에서 CD19의 존재 또는 양을 검출하는데 유용한, 또는 대상체에서 CD19 관련 질환 또는 병태를 진단하는데 유용한, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 키트이며, 여기서 상기 CD19 관련 질환 또는 병태는 암인, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시내용은 일반적으로 신규 항-CD19 항체 및 그의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] CD19 (분화 클러스터 19)는 무통성 내지 공격성 형태의 B 세포 림프종의 모든 하위유형, 뿐만 아니라 B-세포 만성 림프구성 백혈병 및 비-T 급성 림프모구성 백혈병, 전구-B 세포, 초기 발생의 B 세포 (즉, 미성숙 B 세포), 형질 세포로의 말단 분화를 통한 성숙 B 세포, 및 악성 B 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는 B 세포의 표면 상에서 발현되는 구조적으로 별개의 세포 표면 수용체이다. CD19는 대부분의 전구-B 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 비-호지킨 림프종, B 세포 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 전-림프구성 백혈병, 모발상 세포 백혈병, 통상의 급성 림프구성 백혈병 및 일부 널(Null)-급성 림프모구성 백혈병에 의해 발현된다 (Nadler et al., J. Immunol., 131:244-250 (1983), Loken et al., Blood, 70:1316-1324 (1987), Uckun et al., Blood, 71:13-29 (1988), Anderson et al., 1984. Blood, 63:1424-1433 (1984), Scheuermann, Leuk. Lymphoma, 18:385-397 (1995)). 형질 세포 상에서의 CD19의 발현은 그것이 분화된 B 세포 종양, 예컨대 다발성 골수종, 형질세포종, 발덴스트롬 종양 상에서 발현될 수 있다는 것을 추가로 시사한다 (Grossbard et al., Br. J. Haematol., 102:509-15 (1998); Treon et al., Semin. Oncol., 30:248-52 (2003)). CD19는 또한 면역요법을 위한 많은 제안된 표적 중 하나였다. CD20 (또 다른 B 세포 표면 수용체)과 달리, CD19는 더 높은 수준으로 발현되고 항-CD19 항체에 의해 결합되었을 때 세포에 의해 내재화되는 것으로 생각되었다.

[0003] 특히 유리한 내재화 능력 및 높은 결합 친화도를 갖는 신규 항-CD19 항체에 대한 필요성이 존재한다.

발명의 내용

- [0004] 본 개시내용 전반에 걸쳐, 단수 표현은 그 표현의 문법적 대상의 하나 또는 하나 초과 (즉, 적어도 하나)를 지칭하는 것으로 본원에 사용된다. 예로서, "항체"는 하나의 항체 또는 하나 초과항체를 의미한다.
- [0005] 본 개시내용은 신규 모노클로날 항-CD19 항체, 그의 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열, 및 그의 용도를 제공한다.
- [0006] 한 측면에서, 본 개시내용은 서열식별번호(SEQ ID NO): 1, 2, 3, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 136, 140 및 141로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상 (예를 들어 1, 2 또는 3개)의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 서열 및/또는 서열식별번호: 4, 5, 6, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 40, 41, 42, 137, 138 및 139로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상 (예를 들어 1, 2 또는 3개)의 카파 경쇄 CDR 서열을 포함하는 단리된 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 제공한다.
- [0007] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 1, 2, 3, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 45, 136, 140 또는 141의 서열에 대해 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) 서열 동일성을 갖는 1, 2 또는 3개의 중쇄 CDR 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 4, 5, 6, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 40, 41, 42, 137, 138 또는 139의 서열에 대해 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) 서열 동일성을 갖는 1, 2 또는 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함한다.
- [0008] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역을 포함한다:
- [0009] a) 서열식별번호: 1, 서열식별번호: 2 및 서열식별번호: 3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0010] b) 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8 및 서열식별번호: 9로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0011] c) 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 14 및 서열식별번호: 15로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0012] d) 서열식별번호: 19, 서열식별번호: 20 및 서열식별번호: 21로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0013] e) 서열식별번호: 22, 서열식별번호: 23 및 서열식별번호: 24로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0014] f) 서열식별번호: 25, 서열식별번호: 26 및 서열식별번호: 27로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0015] g) 서열식별번호: 28, 서열식별번호: 29 및 서열식별번호: 30으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0016] h) 서열식별번호: 31, 서열식별번호: 32 및 서열식별번호: 33으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0017] i) 서열식별번호: 34, 서열식별번호: 35 및 서열식별번호: 36으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0018] j) 서열식별번호: 37, 서열식별번호: 38 및 서열식별번호: 39로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0019] k) 서열식별번호: 43, 서열식별번호: 44 및 서열식별번호: 45로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;
- [0020] l) 서열식별번호: 136, 서열식별번호: 2 및 서열식별번호: 3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역;

- [0021] m) 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 140 및 서열식별번호: 9로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및
- [0022] n) 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 141 및 서열식별번호: 15로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역.
- [0023] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 카파 경쇄 가변 영역을 포함한다:
- [0024] a) 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0025] b) 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11 및 서열식별번호: 12로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0026] c) 서열식별번호: 16, 서열식별번호: 17 및/또는 서열식별번호: 18로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0027] d) 서열식별번호: 40, 서열식별번호: 41 및 서열식별번호: 42로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역; 및
- [0028] e) 서열식별번호: 137, 서열식별번호: 138 및 서열식별번호: 139로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역.
- [0029] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0030] a) 서열식별번호: 1, 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0031] b) 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8 및 서열식별번호: 9로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11 및 서열식별번호: 12로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0032] c) 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 14 및 서열식별번호: 15로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 16, 서열식별번호: 17 및 서열식별번호: 18로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0033] d) 서열식별번호: 19, 서열식별번호: 20 및 서열식별번호: 21로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0034] e) 서열식별번호: 22, 서열식별번호: 23 및 서열식별번호: 24로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0035] f) 서열식별번호: 25, 서열식별번호: 26 및 서열식별번호: 27로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0036] g) 서열식별번호: 28, 서열식별번호: 29 및 서열식별번호: 30으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0037] h) 서열식별번호: 31, 서열식별번호: 32 및 서열식별번호: 33으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0038] i) 서열식별번호: 34, 서열식별번호: 35 및 서열식별번호: 36으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;

의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;

- [0039] j) 서열식별번호: 37, 서열식별번호: 38 및 서열식별번호: 39로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 40, 서열식별번호: 41 및 서열식별번호: 42로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0040] k) 서열식별번호: 43, 서열식별번호: 44 및 서열식별번호: 45로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5 및 서열식별번호: 6으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0041] l) 서열식별번호: 136, 서열식별번호: 2 및 서열식별번호: 3으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 137, 서열식별번호: 138 및 서열식별번호: 139로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0042] m) 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 140 및 서열식별번호: 9로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11 및 서열식별번호: 12로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역; 또는
- [0043] n) 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 141 및 서열식별번호: 15로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열식별번호: 16, 서열식별번호: 17 및 서열식별번호: 18로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역.
- [0044] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 3, 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 15, 서열식별번호: 21, 서열식별번호: 24, 서열식별번호: 27, 서열식별번호: 30, 서열식별번호: 33, 서열식별번호: 36, 서열식별번호: 39 및 서열식별번호: 45로부터 선택된 중쇄 CDR3 서열을 포함한다.
- [0045] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0046] a) 서열식별번호: 1, 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 19, 서열식별번호: 22, 서열식별번호: 25, 서열식별번호: 28, 서열식별번호: 31, 서열식별번호: 34, 서열식별번호: 37, 서열식별번호: 43 및 서열식별번호: 136으로부터 선택된 중쇄 CDR1 서열;
- [0047] b) 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 14, 서열식별번호: 20, 서열식별번호: 23, 서열식별번호: 26, 서열식별번호: 29, 서열식별번호: 32, 서열식별번호: 35, 서열식별번호: 38, 서열식별번호: 44, 서열식별번호: 140 및 서열식별번호: 141로부터 선택된 중쇄 CDR2 서열; 및
- [0048] c) 서열식별번호: 3, 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 15, 서열식별번호: 21, 서열식별번호: 24, 서열식별번호: 27, 서열식별번호: 30, 서열식별번호: 33, 서열식별번호: 36, 서열식별번호: 39 및 서열식별번호: 45로부터 선택된 중쇄 CDR3 서열.
- [0049] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0050] a) 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 16, 서열식별번호: 40 및 서열식별번호: 137로부터 선택된 경쇄 CDR1 서열;
- [0051] b) 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 11, 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 41 및 서열식별번호: 138로부터 선택된 경쇄 CDR2 서열; 및
- [0052] c) 서열식별번호: 6, 서열식별번호: 12, 서열식별번호: 18, 서열식별번호: 42 및 서열식별번호: 139로부터 선택된 경쇄 CDR3 서열.
- [0053] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0054] a) 서열식별번호: 1, 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 13, 서열식별번호: 19, 서열식별번호: 22, 서열식별번호: 25, 서열식별번호: 28, 서열식별번호: 31, 서열식별번호: 34, 서열식별번호: 37, 서열식별번호: 43 및 서열식별번호: 136으로부터 선택된 중쇄 CDR1 서열;
- [0055] b) 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 14, 서열식별번호: 20, 서열식별번호: 23, 서열식별번호: 26, 서열식별번호: 29, 서열식별번호: 32, 서열식별번호: 35, 서열식별번호: 38, 서열식별번호: 44, 서열식별번호: 140 및 서열식별번호: 141로부터 선택된 중쇄 CDR2 서열;

- [0056] c) 서열식별번호: 3, 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 15, 서열식별번호: 21, 서열식별번호: 24, 서열식별번호: 27, 서열식별번호: 30, 서열식별번호: 33, 서열식별번호: 36, 서열식별번호: 39 및 서열식별번호: 45로부터 선택된 중쇄 CDR3 서열;
- [0057] d) 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 16, 서열식별번호: 40 및 서열식별번호: 137로부터 선택된 경쇄 CDR1 서열;
- [0058] e) 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 11, 서열식별번호: 17, 서열식별번호: 41 및 서열식별번호: 138로부터 선택된 경쇄 CDR2 서열; 및
- [0059] f) 서열식별번호: 6, 서열식별번호: 12, 서열식별번호: 18, 서열식별번호: 42 및 서열식별번호: 139로부터 선택된 경쇄 CDR3 서열.
- [0060] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 54, 55, 56, 57, 70, 71, 72, 73, 86, 87, 88 및 89로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상 (예를 들어 1, 2, 3 또는 4개)의 중쇄 프레임워크 영역 (FR) 서열 및/또는 서열식별번호: 58, 59, 60, 61, 74, 75, 76, 77, 90, 91, 92 및 93으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상 (예를 들어 1, 2, 3 또는 4개)의 카파 경쇄 프레임워크 영역 (FR) 서열을 추가로 포함한다.
- [0061] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 54, 70 및 86으로부터 선택된 중쇄 FR1 서열; 서열식별번호: 55, 71 및 87로부터 선택된 중쇄 FR2 서열; 서열식별번호: 56, 72 및 88로부터 선택된 중쇄 FR3 서열; 및/또는 서열식별번호: 57, 73 및 89로부터 선택된 중쇄 FR4 서열을 추가로 포함한다.
- [0062] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 58, 74 및 90으로부터 선택된 경쇄 FR1 서열; 서열식별번호: 59, 75 및 91로부터 선택된 경쇄 FR2 서열; 서열식별번호: 60, 76 및 92로부터 선택된 경쇄 FR3 서열; 및/또는 서열식별번호: 61, 77 및 93으로부터 선택된 경쇄 FR4 서열을 추가로 포함한다.
- [0063] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 106, 서열식별번호: 108, 서열식별번호: 110, 서열식별번호: 112, 서열식별번호: 114, 서열식별번호: 116, 서열식별번호: 118, 서열식별번호: 122, 서열식별번호: 124, 서열식별번호: 128, 서열식별번호: 132 및 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 그의 상동 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0064] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 104, 서열식별번호: 120, 서열식별번호: 126, 서열식별번호: 130, 서열식별번호: 134 및 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 그의 상동 서열로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 94, 98, 102, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 122, 124, 128 및 132로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 서열의 모두 또는 일부분; 및/또는 서열식별번호: 100, 104, 120, 126, 130 및 134로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 서열의 모두 또는 일부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 94, 98, 102, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 122, 124, 128 및 132로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역의 모두 또는 일부분으로 이루어진 단일 도메인 항체이다.
- [0066] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 하기를 포함한다:
- [0067] a) 서열식별번호: 94를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0068] b) 서열식별번호: 98을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 100을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0069] c) 서열식별번호: 102를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 104를 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0070] d) 서열식별번호: 106을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0071] e) 서열식별번호: 108을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0072] f) 서열식별번호: 110을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0073] g) 서열식별번호: 112를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0074] h) 서열식별번호: 114를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;

- [0075] i) 서열식별번호: 116을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0076] j) 서열식별번호: 118을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 120을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0077] k) 서열식별번호: 122를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0078] l) 서열식별번호: 124를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 126을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역;
- [0079] m) 서열식별번호: 128을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130을 포함하는 카파 경쇄 가변 영역; 또는
- [0080] n) 서열식별번호: 132를 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 134를 포함하는 카파 경쇄 가변 영역.
- [0081] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 1개 이상의 아미노산 잔기 치환을 추가로 포함하지만 CD19에 대한 특이적 결합 친화도를 보유한다.
- [0082] 특정 실시양태에서, 치환은 하나 또는 둘 다의 가변 영역 서열 내 1개 이상의 CDR 서열 및/또는 1개 이상의 FR 서열 내, 및/또는 Fc 영역 내의 치환이다. 일부 실시양태에서, CDR 서열, FR 서열, 가변 영역 서열 또는 Fc 영역 내의 치환(들) 중 적어도 1개 (또는 모두)는 보존적 치환을 포함한다.
- [0083] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 136, 137, 138, 139, 140 및 141로부터 선택된 1개 이상의 CDR 서열에 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 잔기 치환을 포함한다.
- [0084] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 및 93으로부터 선택된 1개 이상의 FR 서열에 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 잔기 치환을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 94, 98, 102, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 122, 124, 128 및 132로부터 선택된 중쇄 가변 영역 서열의 CDR 서열 및/또는 FR 서열에 총 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 치환을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 96, 100, 104, 120, 126, 130 및 134로부터 선택된 경쇄 가변 영역 서열의 모든 FR에 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 잔기 치환을 포함한다.
- [0085] 특정 실시양태에서, 치환은 a) CD19에 대한 결합 친화도의 개선, b) 글리코실화 부위의 도입 또는 제거, c) 유리 시스테인 잔기의 도입, d) ADCC 또는 CDC의 증진 또는 감소, e) 혈청 반감기의 증가; 및 f) FcRn 결합의 증가로부터 선택된 1개 이상의 바람직한 특성을 부여한다.
- [0086] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 이뮤노글로불린 불변 영역을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 IgG의 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 마우스 IgG1, 마우스 IgG2a, 마우스 IgG2b 또는 인간 IgG1의 불변 영역을 포함한다.
- [0087] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 비-인간 (예를 들어 뮤린 또는 설치류) 항체 또는 인간화 항체이다.
- [0088] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 낙타화 단일 도메인 항체, 디아바디, scFv, scFv 이량체, BsFv, dsFv, (dsFv)₂, dsFv-dsFv', Fv 단편, Fab, Fab', F(ab')₂, 이중특이적 항체, ds 디아바디, 나노바디, 도메인 항체 또는 2가 도메인 항체이다.
- [0089] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 이중특이적이다.
- [0090] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 1종 이상의 접합체에 연결된다. 특정 실시양태에서, 접합체는 화학요법제, 독소, 방사성 동위원소, 란타나이드, 발광 표지, 형광 표지 또는 효소-기질 표지를 포함한다. 특정 실시양태에서, 접합체는 독소이다. 특정 실시양태에서, 독소는 세포독소, DNA-알킬화제, 토포이소머라제 억제제, 튜불린-결합제 또는 다른 항암 약물이다. 특정 실시양태에서, 항암 약물은 메이탄시노이드 세포독성제이다. 특정 실시양태에서, 독소는 DM1이다.
- [0091] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 CD19에 특이적으로 결합할 수 있다. 특정 실시양태에서, CD19는 마우스, 래트, 원숭이 또는 인간으로부터 유래된다.
- [0092] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 유동 세포측정법 검정에 의해 측정시 5×10^{-9} M 이하, $1 \times 10^{-}$

9 M 이하, $9 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $8 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $7 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $6 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $4 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $3 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $2 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하, $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 이하의 K_D 값으로 세포 표면 상에서 발현된 인간 CD19에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0093] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 유동 세포측정법 검정에 의해 0.04 nM 이하, 0.05 nM 이하, 0.1 nM 이하, 0.2 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.6 nM 이하, 0.7 nM 이하, 0.8 nM 이하, 0.9 nM 이하 또는 1 nM 이하의 EC_{50} 으로 세포 상에서 발현된 인간 CD19에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0094] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 유동 세포측정법 검정에 의해 0.2 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.8 nM 이하, 1 nM 이하, 2 nM 이하 또는 3 nM 이하의 EC_{50} 으로 세포 상에서 발현된 시노몰구스 원숭이 CD19에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0095] 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 Fab-Zap 검정에 의해 1 pM 이하, 2 pM 이하, 3 pM 이하, 4 pM 이하, 5 pM 이하, 6 pM 이하, 7 pM 이하, 8 pM 이하, 9 pM 이하, 10 pM 이하, 11 pM 이하, 12 pM 이하, 13 pM 이하, 14 pM 이하, 15 pM 이하, 16 pM 이하, 17 pM 이하, 18 pM 이하, 19 pM 이하, 20 pM 이하, 21 pM 이하, 22 pM 이하, 23 pM 이하, 24 pM 이하, 25 pM 이하, 30 pM 이하, 35 pM 이하, 40 pM 이하, 45 pM 이하 또는 50 pM 이하의 EC_{50} 으로 CD19-발현 세포에 의해 내재화될 수 있다.

[0096] 한 측면에서, 본 개시내용은 W7011-4.155.8, W7011-4.202.9 또는 W7011-4.225.7과 동일한 에피토프에 대해 경쟁하는 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0097] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 추가로 제공한다. 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 치료 효과를 증진시킬 수 있고/거나 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 부작용을 감소시킬 수 있는 제2 작용제를 추가로 포함한다.

[0098] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 추가로 제공한다. 특정 실시양태에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 95, 99, 103, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 123, 125, 129 및 133으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열 및/또는 서열식별번호: 97, 101, 105, 121, 127, 131 및 135로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열 또는 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 서열 동일성을 갖지만 동일한 단백질 서열을 코딩하는 그의 상동 서열을 포함한다.

[0099] 한 측면에서, 본 개시내용은 상기 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 추가로 제공한다.

[0100] 한 측면에서, 본 개시내용은 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포를 추가로 제공한다.

[0101] 한 측면에서, 본 개시내용은 상기 폴리뉴클레오티드가 발현되는 조건 하에 상기 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 발현시키는 방법을 추가로 제공한다.

[0102] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에 직접적으로 또는 링커를 통해 공유 부착된 1종 이상의 약물 모이어티를 포함하는 항체-약물 접합체를 추가로 제공한다. 특정 실시양태에서, 링커는 히드라존 링커, 디술피드 링커, 이관능성 링커, 디펩티드 링커, 글루쿠로니드 링커, 티오에테르 링커이다. 특정 실시양태에서, 링커는 SMCC이다.

[0103] 특정 실시양태에서, 적어도 1종의 약물 모이어티가 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 특정 부위에 부착된다. 특정 실시양태에서, 특정 부위는 시스테인 잔기이다. 특정 실시양태에서, 약물 모이어티는 독소 또는 방사성 동위원소이다. 특정 실시양태에서, 약물 모이어티는 독소, 임의로 세포독소, DNA-알킬화제, 토포이소머라제 억제제, 튜불린-결합제, 또는 다른 항암 약물, 임의로 메탄탄시노이드 세포독성제이고, 임의로 독소는 DM1이다.

[0104] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 본원에 제공된 항체-약물 접합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 추가로 제공한다.

[0105] 한 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 치료 유효량의 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 본원에 제공된 항체-약물 접합체 또는 본원에 제공된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 CD19 관련 질환 또는 병태를 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 특정 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 특정 실시양태에

서, 투여는 경구, 비강, 정맥내, 피하, 설하 또는 근육내 투여를 통한 것이다. 특정 실시양태에서, 상기 질환 또는 병태는 암이다. 특정 실시양태에서, 상기 암은 림프종, 폐암, 간암, 자궁경부암, 결장암, 유방암, 난소암, 췌장암, 흑색종, 교모세포종, 전립선암, 식도암 또는 위암이다. 특정 실시양태에서, 상기 질환 또는 병태는 B 세포 림프종, 임의로 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종이며, 여기서 비-호지킨 림프종은 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종, 변연부 B-세포 림프종 (MZL), 점막-연관 림프 조직 림프종 (MALT), 소림프구성 림프종 (만성 림프구성 백혈병, CLL), 외투 세포 림프종 (MCL), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 또는 발덴스트롬 마크로볼린혈증 (WM)을 포함한다.

- [0106] 한 측면에서, 본 개시내용은 CD19-발현 세포를 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 노출시키는 것을 포함하는, CD19-발현 세포에서 CD19 활성을 조정하는 방법을 추가로 제공한다.
- [0107] 한 측면에서, 본 개시내용은 CD19-발현 세포를 본원에 제공된 항체-약물 접합체와 접촉시키는 것을 포함하는, CD19-발현 세포를 사멸시키는 생체내 또는 시험관내 방법을 추가로 제공한다.
- [0108] 한 측면에서, 본 개시내용은 샘플을 본원에 제공되는 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시키는 단계 및 샘플에서 CD19의 존재 또는 양을 결정하는 단계를 포함하는, 샘플에서 CD19의 존재 또는 양을 검출하는 방법을 추가로 제공한다.
- [0109] 한 측면에서, 본 개시내용은 a) 대상체로부터 샘플을 수득하는 단계; b) 샘플을 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시키는 단계; c) 샘플에서 CD19의 존재 또는 양을 결정하는 단계; d) CD19의 존재 또는 양을 대상체에서의 질환 또는 병태와 상호연관시키는 단계를 포함하는, 대상체에서 CD19 관련 질환 또는 병태를 진단하는 방법을 추가로 제공한다.
- [0110] 한 측면에서, 본 개시내용은 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하기 위한 의약의 제조에서의 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도이며, 여기서 치료는 대상체에게 치료 유효량의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 투여하는 것을 포함하는 것인 용도를 추가로 제공한다.
- [0111] 한 측면에서, 본 개시내용은 CD19 관련 질환 또는 병태를 검출하기 위한 진단 시약의 제조에서의 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도를 추가로 제공한다.
- [0112] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항원 결합 단편 및 T-세포 활성화 모이어티를 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 제공한다. 일부 실시양태에서, T-세포 활성화 모이어티는 T 세포 수용체 (TCR)의 천연 T 세포 활성화 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, T-세포 활성화 모이어티는 TCR의 막횡단 도메인 및 TCR의 세포내 신호 전달 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 scFv이다.
- [0113] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 CAR을 코딩하는 핵산을 제공한다. 특정 실시양태에서, 핵산은 TCR의 막횡단 도메인 및 TCR의 세포내 신호 전달 도메인을 코딩하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열에 작동가능하게 연결된 본원에 제공된 항체의 항원 결합 단편을 코딩하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0114] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 CAR을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0115] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 CAR을 발현하는 단리된 T 세포를 제공한다.
- [0116] 한 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 유효량의 본원에 제공된 T 세포를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 CD19-발현 표적에 대한 T 세포-매개 면역 반응을 자극하는 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0117] 도 1은 WBP701-BMK1 및 WBP701-BMK2의 SDS-PAGE를 보여준다. M: 단백질 마커; 레인1: BMK1, 환원; 레인2: BMK2, 환원; 레인3: BMK1, 비-환원; 레인4: BMK4, 비-환원.
- 도 2는 WBP701-BMK3의 SDS-PAGE를 보여준다. M: 단백질 마커; 레인1: BMK3, 환원; 레인2: BMK3, 비-환원.
- 도 3a는 인간 CD19 형질감염된 293F 세포주 (WBP701.293F.hPro1.FL.A2)에서의 CD19 발현에 대한 유동 세포측정 히스토그램을 보여준다. 좌측의 피크는 음성 대조군 신호를 나타낸다. 우측-이동된 피크는 검출된 세포주에서의 CD19 발현을 나타낸다.
- 도 3b는 인간 CD19 형질감염된 CHO-K1 세포주 (WBP701.CHO-K1.hPro1.FL.B4)에서의 CD19 발현에 대한 유동 세포측정 히스토그램을 보여준다. 좌측의 피크는 음성 대조군 신호를 나타낸다. 우측-이동된 피크는 검출된 세포

주에서의 CD19 발현을 나타낸다.

도 3c는 시노물구스 원숭이 CD19 형질감염된 293 세포주 (WBP701.293F.cpro1.FL.C1)에서의 CD19 발현에 대한 유동 세포측정 히스토그램을 보여준다. 좌측의 피크는 음성 대조군 신호를 나타낸다. 우측-이동된 피크는 검출된 세포주에서의 CD19 발현을 나타낸다.

도 3d는 시노물구스 원숭이 CD19 형질감염된 CHO-K1 세포주 (WBP701.CHO-K1.cpro1.FL.C9)에서의 CD19 발현에 대한 유동 세포측정 히스토그램을 보여준다. 좌측의 피크는 음성 대조군 신호를 나타낸다. 우측-이동된 피크는 검출된 세포주에서의 CD19 발현을 나타낸다.

도 4a-4f는 FACS에 의한 라모스 세포에 대한 선택 서브클론의 결합을 보여준다.

도 5a-5c는 FACS에 의한 시노물구스 원숭이 CD19 발현 세포 (WBP701.CHO-K11.cynoPro1)에 대한 선택 서브클론의 결합을 보여준다.

도 6a-6e는 선택 서브클론의 Fab-Zap 검정을 보여준다.

도 7a-7c는 FACS에 의한 BMK1, BMK2 및 BMK3 항체에 대한 후보 항체 비닝을 보여준다.

도 8은 FACS에 의한 라모스 세포에 대한 항체 WBP7011-4.34.11-z1-m5-IgG1k의 스캐차드 결합 친화도 분석을 보여준다.

도 9는 FACS에 의한 라모스 세포에 대한 항체 WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)의 스캐차드 결합 친화도 분석을 보여준다.

도 10은 FACS에 의한 라모스 세포에 대한 항체 W7011-4.155.8-z1-uIgG1K의 스캐차드 결합 친화도 분석을 보여준다.

도 11은 다우더 세포에 대한 인간화 항체-약물-접합체 W7011-4.155.8-z1-uIgG1K-DM1 및 WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)-DM1의 세포독성 검정을 보여준다.

도 12는 Nalm-6 세포에 대한 인간화 항체-약물-접합체 WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)-DM1의 세포독성 검정을 보여준다.

도 13은 WSU-DLCL2 세포에 대한 인간화 항체-약물-접합체 W7011-4.155.8-z1-uIgG1K-DM1 및 WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)-DM1의 세포독성 검정을 보여준다.

도 14는 벤치마크 항체 (W7011-BMK1-DM1) 및 항체 (W7011-4.87.6-z1-uIgG1k (N-S)-DM1)의 항종양 효능을 보여주고, 데이터는 Nalm-6 림프종 암 이종이식편을 보유하는 암컷 CB17-SCID 마우스의 상이한 처리군들에서의 종양 부피를 나타낸다. 데이터 포인트는 평균 + SEM을 나타낸다. 화살표는 투여일을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0118] 본 개시내용의 하기 설명은 단지 본 개시내용의 다양한 실시양태를 예시하기 위해 의도된다. 따라서, 논의된 구체적 변형이 본 개시내용의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본 개시내용의 범주를 벗어나지 않고 다양한 등가물, 변화 및 변형이 이루어질 수 있음이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명할 것이고, 이러한 등가 실시양태가 본원에 포함되어야 하는 것으로 이해된다. 공개, 특허 및 특허 출원을 포함한 본원에 인용된 모든 참고문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0119] 정의

[0120] 본원에 사용된 용어 "항체"는 특이적 항원에 결합하는 임의의 이뮤노글로불린, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다가 항체, 2가 항체, 1가 항체, 다중특이적 항체 또는 이중특이적 항체를 포함한다. 천연 무손상 항체는 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함한다. 포유동물 중쇄는 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 분류되고, 각각의 중쇄는 가변 영역 (V_H) 및 제1, 제2 및 제3 불변 영역 (각각 C_{H1} , C_{H2} , C_{H3})으로 이루어지고; 포유동물 경쇄는 λ 또는 κ 로 분류되고, 각각의 경쇄는 가변 영역 (각각 λ 경쇄의 경우 V_L 또는 κ 경쇄의 경우 V_K) 및 불변 영역 (각각 λ 경쇄의 경우 C_L 또는 κ 경쇄의 경우 C_K)으로 이루어진다. 항체는 "Y" 형상을 가지며, Y의 줄기는 디설파이드 결합을 통해 함께 결합된 2개의 중쇄의 제2 및 제3 불변 영역으로 이루어진다. Y의 각각의 아암은 단일 경쇄의 가변 및 불변 영역에 결합된 단일 중쇄의 가변 영역 및 제1 불변 영역을 포함한다. 경쇄 및 중

쇄의 가변 영역은 항원 결합을 담당한다. 두 쇄 내의 가변 영역은 일반적으로 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 3개의 고도로 가변적인 루프를 함유한다 (경쇄 CDR은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고, 중쇄 CDR은 HCDR1, HCDR2, HCDR3을 포함함). 본원에 개시된 항체 및 항원-결합 단편에 대한 CDR 경계는 카바트(Kabat), IMGT, 코티아(Chothia) 또는 알-라지카니(Al-Lazikani)의 규정에 의해 정의되거나 확인될 수 있다 (Al-Lazikani, B., Chothia, C., Lesk, A. M., J. Mol. Biol., 273(4), 927 (1997); Chothia, C. et al., J Mol Biol. Dec 5;186(3):651-63 (1985); Chothia, C. and Lesk, A.M., J.Mol.Biol., 196,901 (1987); Chothia, C. et al., Nature. Dec 21-28;342(6252):877-83 (1989); Kabat E.A. et al., National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). 3개의 CDR은 CDR보다 더욱 고도로 보존되고 추가변 루프를 지지하기 위한 스캐폴드를 형성하는 프레임워크 영역 (FR)으로 공지된 플랭킹 스트레치들 사이에 끼여있다. 중쇄 및 경쇄의 불변 영역은 항원-결합에 관여하지 않지만, 다양한 이펙터 기능을 나타낸다. 항체는 그의 중쇄의 불변 영역의 아미노산 서열을 기준으로 하는 부류로 지정된다. 항체의 5가지 주요 부류 또는 이소형은 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이고, 이들은 각각 α , 델타, 엡실론, 감마 및 μ 중쇄의 존재를 특징으로 한다. 주요 항체 부류 중 몇몇은 하위부류, 예컨대 IgG1 (감마1 중쇄), IgG2 (감마2 중쇄), IgG3 (감마3 중쇄), IgG4 (감마4 중쇄), IgA1 (α 1 중쇄) 또는 IgA2 (α 2 중쇄)로 분류된다.

- [0121] 본원에 사용된 용어 "2가"는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭하고; 용어 "1가"는 1개의 단일 항원-결합 부위만을 갖는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭하고; 용어 "다가"는 다중 항원-결합 부위를 갖는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 2가이다.
- [0122] 본원에 사용된 "이중특이적" 항체는 2개의 상이한 모노클로날 항체로부터 유래된 단편을 갖고 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있는 인공 항체를 지칭한다. 2개의 에피토프는 동일한 항원 상에 존재할 수 있거나 또는 이들은 2개의 상이한 항원 상에 존재할 수 있다.
- [0123] 본원에 사용된 용어 "항원-결합 단편"은 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함하는 항체의 한 부분으로부터 형성된 항체 단편, 또는 항원에 결합하지만 무손상의 천연 항체 구조를 포함하지 않는 임의의 다른 항체 단편을 지칭한다. 항원-결합 단편의 예는 비제한적으로 디아바디, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 단편, 디설피드 안정화된 Fv 단편 (dsFv), (dsFv)₂, 이중특이적 dsFv (dsFv-dsFv'), 디설피드 안정화된 디아바디 (ds 디아바디), 단일쇄 항체 분자 (scFv), scFv 이량체 (2가 디아바디), 이중특이적 항체, 다중특이적 항체, 낙타화 단일 도메인 항체, 나노바디, 도메인 항체, 및 2가 도메인 항체를 포함한다. 항원-결합 단편은 모 항체가 결합하는 것과 동일한 항원에 결합할 수 있다.
- [0124] 항체와 관련하여 "Fab"는 디설피드 결합에 의해 단일 중쇄의 가변 영역 및 제1 불변 영역에 결합된 단일 경쇄 (가변 및 불변 영역 둘 다)로 이루어진 항체의 부분을 지칭한다.
- [0125] "Fab'"는 힌지 영역의 한 부분을 포함하는 Fab 단편을 지칭한다.
- [0126] "F(ab')₂"는 Fab'의 이량체를 지칭한다. 항체와 관련하여 "Fv"는 완전한 항원-결합 부위를 보유하는 항체의 가장 작은 단편을 지칭한다. Fv 단편은 단일 중쇄의 가변 영역에 결합된 단일 경쇄의 가변 영역으로 이루어진다.
- [0127] "dsFv"는 단일 경쇄의 가변 영역과 단일 중쇄의 가변 영역 사이의 연결이 디설피드 결합인 디설피드-안정화된 Fv 단편을 지칭한다. 일부 실시양태에서, "(dsFv)₂" 또는 "(dsFv-dsFv)"는 3개의 펩티드 쇄: 펩티드 링커 (예를 들어 긴 가요성 링커)에 의해 연결되고, 각각 디설피드 가교를 통해 2개의 V_L 모이어티에 결합된 2개의 V_H 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, dsFv-dsFv'는 각각의 디설피드 쌍형성된 중쇄 및 경쇄가 상이한 항원 특이성을 갖는 이중특이적이다.
- [0128] "단일쇄 Fv 항체" 또는 "scFv"는 직접적으로 또는 펩티드 링커 서열을 통해 서로 연결된 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역으로 이루어진 조작된 항체를 지칭한다 (Huston JS et al. Proc Natl Acad Sci USA, 85:5879(1988)).
- [0129] 항체와 관련하여 "Fc"는 디설피드 결합을 통해 제2 중쇄의 제2 및 제3 불변 영역에 결합된 제1 중쇄의 제2 및 제3 불변 영역으로 이루어진 항체의 부분을 지칭한다. 항체의 Fc 부분은 다양한 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 담당하지만, 항원 결합에서는 기능하지 않는다.

- [0130] "단일쇄 Fv-Fc 항체" 또는 "scFv-Fc"는 항체의 Fc 영역에 연결된 scFv로 이루어진 조작된 항체를 지칭한다.
- [0131] "낙타화 단일 도메인 항체", "중쇄 항체" 또는 "HCAb"는 2개의 V_H 도메인을 함유하고 경쇄가 없는 항체를 지칭한다 (Riechmann L. and Muyldermans S., J Immunol Methods. Dec 10;231(1-2):25-38 (1999); Muyldermans S., J Biotechnol. Jun;74(4):277-302 (2001); WO94/04678; WO94/25591; 미국 특허 번호 6,005,079). 중쇄 항체는 원래 낙타과 (낙타, 단봉낙타 및 라마)로부터 유래되었다. 경쇄가 결여되어 있지만, 낙타화 항체는 진정한 항원-결합 레퍼토리를 갖는다 (Hamers-Casterman C. et al., Nature. Jun 3;363(6428):446-8 (1993); Nguyen VK. et al. "Heavy-chain antibodies in Camelidae; a case of evolutionary innovation," Immunogenetics. Apr;54(1):39-47 (2002); Nguyen VK. et al. Immunology. May;109(1):93-101 (2003)). 중쇄 항체의 가변 도메인 (VHH 도메인)은 적응 면역 반응에 의해 생성되는 가장 작은 공지된 항원-결합 단위를 나타낸다 (Koch-Nolte F. et al., FASEB J. Nov;21(13):3490-8. Epub 2007 Jun 15 (2007)).
- [0132] "나노바디"는 중쇄 항체로부터의 VHH 도메인 및 2개의 불변 도메인 CH2 및 CH3으로 이루어진 항체 단편을 지칭한다.
- [0133] "디아바디" 또는 "dAb"는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 포함하며, 여기서 단편은 동일한 폴리펩티드 쇠에서 V_L 도메인에 연결된 V_H 도메인을 포함한다 (V_H - V_L 또는 V_L - V_H) (예를 들어 문헌 [Holliger P. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. Jul 15;90(14):6444-8 (1993)]; EP404097; WO93/11161 참조). 너무 짧아서 동일한 쇠 상의 두 도메인 사이에서는 쌍형성을 허용하지 않는 링커를 사용함으로써, 도메인이 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍형성되도록 하여, 2개의 항원-결합 부위를 생성한다. 항원-결합 부위는 동일한 또는 상이한 항원 (또는 에피토프)을 표적화할 수 있다. 특정 실시양태에서, "이중특이적 ds 디아바디"는 2개의 상이한 항원 (또는 에피토프)을 표적화하는 디아바디이다. 특정 실시양태에서, "scFv 이량체"는 한 모이어티의 V_H 가 다른 모이어티의 V_L 과 배위되어 동일한 항원 (또는 에피토프) 또는 상이한 항원 (또는 에피토프)을 표적화할 수 있는 2개의 결합 부위를 형성하도록 또 다른 V_H - V_L 모이어티와 이량체화된 V_H - V_L (펩티드 링커에 의해 연결됨)을 포함하는 2가 디아바디 또는 2가 ScFv (BsFv)이다. 다른 실시양태에서, "scFv 이량체"는 V_{H1} 과 V_{L1} 이 배위되고 V_{H2} 와 V_{L2} 가 배위되어 각각의 배위된 쌍이 상이한 항원 특이성을 갖도록 V_{L1} - V_{H2} (또한 펩티드 링커에 의해 연결됨)와 회합된 V_{H1} - V_{L2} (펩티드 링커에 의해 연결됨)를 포함하는 이중특이적 디아바디이다.
- [0134] "도메인 항체"는 중쇄의 가변 영역만을 또는 경쇄의 가변 영역만을 함유하는 항체 단편을 지칭한다. 특정 경우에, 2개 이상의 V_H 도메인이 펩티드 링커와 공유 연결되어 2가 또는 다가 도메인 항체를 생성한다. 2가 도메인 항체의 2개의 V_H 도메인은 동일한 또는 상이한 항원을 표적화할 수 있다.
- [0135] 본원에 사용된 용어 "키메라"는 중쇄 및/또는 경쇄의 한 부분이 한 종으로부터 유래되고 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지가 상이한 종으로부터 유래된 것인 항체 또는 항원-결합 단편을 의미한다. 예시적인 예에서, 키메라 항체는 인간으로부터 유래된 불변 영역 및 비-인간 동물, 예컨대 마우스 또는 래트부터 유래된 가변 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 비-인간 동물은 포유동물, 예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 염소, 양, 기니 피그 또는 햄스터이다.
- [0136] 본원에 사용된 용어 "인간화"는 항체 또는 항원-결합 단편이 비-인간 동물로부터 유래된 CDR, 인간으로부터 유래된 FR 영역, 및 적용가능한 경우 인간으로부터 유래된 불변 영역을 포함하는 것을 의미한다.
- [0137] 본원에 사용된 용어 "CD19"는 백혈병 전구체 세포 상에서 검출가능한 항원 결정기인 분화 클러스터 19 단백질을 지칭한다. 인간 및 마우스 CD19 아미노산 및 핵산 서열은 공중 데이터베이스, 예컨대 진뱅크(GenBank), 유니프루트(UniProt) 및 스위스-프로트(Swiss-Prot)에서 찾아볼 수 있다. 예를 들어, 인간 CD19의 아미노산 서열은 유니프루트/스위스-프로트 등록 번호 P15391로서 찾아볼 수 있고, 인간 CD19를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 등록 번호 NM_001178098에서 찾아볼 수 있다. 본원에 사용된 용어 CD19는 전장 야생형 CD19의 돌연변이, 예를 들어 점 돌연변이, 단편, 삽입, 결실 및 스플라이스 변이체를 포함하는 단백질을 포함한다. CD19는, 예를 들어 급성 림프모구성 백혈병, 만성 림프구 백혈병 및 비-호지킨 림프종을 포함한 대부분의 B 계열 암 상에서 발현된다. 이는 또한 B 세포 전구세포의 초기 마커이다. 예를 들어, 문헌 [Nicholson et al. Mol. Immun. 34 (16-17): 1157-1165 (1997)]을 참조한다. 한 측면에서, CD19 단백질은 암 세포 상에서 발현된다.
- [0138] 본원에 사용된 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합한다"는 두 분자 사이, 예컨대 예를 들어 항체와 항원

사이의 비-무작위 결합 반응을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 $\leq 10^{-6}$ M (예를 들어 $\leq 5 \times 10^{-7}$ M, $\leq 2 \times 10^{-7}$ M, $\leq 10^{-7}$ M, $\leq 5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 2 \times 10^{-8}$ M, $\leq 10^{-8}$ M, $\leq 5 \times 10^{-9}$ M, $\leq 4 \times 10^{-9}$ M, $\leq 3 \times 10^{-9}$ M, $\leq 2 \times 10^{-9}$ M 또는 $\leq 10^{-9}$ M)의 결합 친화도 (K_D)로 인간 및/또는 CD19에 특이적으로 결합한다. 본원에 사용된 K_D 는 회합물에 대한 해리율의 비 (k_{off}/k_{on})를 지칭하며, 이는 표면 플라즈몬 공명 방법, 마이크로스케일 열영동 방법, HPLC-MS 방법 및 유동 세포측정법 (예컨대 FACS) 방법을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 관련 기술분야에 공지된 임의의 통상적인 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 특정 실시양태에서, K_D 값은 유동 세포측정 방법을 사용하여 적절하게 결정될 수 있다.

[0139] 본원에 사용된 "결합을 차단하는" 또는 "동일한 에피토프에 대해 경쟁하는" 능력은 항체 또는 항원-결합 단편이 두 분자 (예를 들어 인간 CD19 및 항-CD19 항체) 사이의 결합 상호작용을 임의의 검출가능한 정도로 억제하는 능력을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 두 분자 사이의 결합을 차단하는 항체 또는 항원-결합 단편은 두 분자 사이의 결합 상호작용을 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 적어도 90% 억제한다. 특정 실시양태에서, 이러한 억제는 60% 초과, 70% 초과, 75% 초과, 80% 초과, 85% 초과 또는 90% 초과일 수 있다.

[0140] 본원에 사용된 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는 항원 상의 특이적 원자단 또는 아미노산을 지칭한다. 두 항체가 항원에 대해 경쟁적인 결합을 나타내는 경우 이들은 항원 내의 동일한 또는 밀접하게 관련된 에피토프에 결합할 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 항원-결합 단편이 항원 (예를 들어 인간/원숭이 CD19)에 대한 참조 항체의 결합을 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 적어도 90% 차단하는 경우에, 항체 또는 항원-결합 단편은 참조 항체와 동일한/밀접하게 관련된 에피토프에 결합하는 것으로 간주될 수 있다.

[0141] 관련 기술분야의 통상의 기술자는, 인간 모노클로날 항체가 본 개시내용의 항체 (예를 들어 마우스 모노클로날 항체 WBP7011-4.34.11, WBP7011-4.87.6, WBP7011_4.155.8, WBP7011_4.56.1, WBP7011-4.15.10, WBP7011-4.100.1, WBP7011-4.106.3, WBP7011_4.108.3, WBP7011_4.191.6, WBP7011_4.194.10, WBP7011_4.231.5, 및 인간 화 항체 W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 및 W7011-4.155.8-z1-P15)와 동일한 에피토프에 결합하는지를, 전자가 후자의 CD19 항원 폴리펩티드에 대한 결합을 방지하는지 여부를 확인함으로써 과도한 실험 없이 결정할 수 있음을 인식할 것이다. 본 개시내용의 항체의 CD19 항원 폴리펩티드에 대한 결합의 감소에 의해 나타난 바와 같이, 시험 항체가 본 개시내용의 항체와 경쟁하는 경우에, 두 항체는 동일한 또는 밀접하게 관련된 에피토프에 결합한다. 또는 시험 항체의 CD19 항원 폴리펩티드에 대한 결합이 본 개시내용의 항체에 의해 억제된 경우에, 두 항체는 동일한 또는 밀접하게 관련된 에피토프에 결합한다.

[0142] 본원에 제공된 바와 같은 항체 명칭에 사용된 다양한 기호는 상이한 표현을 갖는다: "mIgG2"는 IgG2 이소형의 마우스 불변 영역을 갖는 항체를 지칭하고; "uIgG1"은 IgG1 이소형의 인간 불변 영역을 갖는 항체를 지칭하고; "K" 또는 "L"은 카파 또는 람다 경쇄를 사용하는 항체를 지칭한다.

[0143] 아미노산 서열과 관련하여 "보존적 치환"은 아미노산 잔기를 유사한 생리화학적 성질을 갖는 측쇄를 갖는 상이한 아미노산 잔기로 대체하는 것을 지칭한다. 예를 들어, 보존적 치환은 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기 (예를 들어 Met, Ala, Val, Leu 및 Ile) 중에서, 중성 친수성 측쇄를 갖는 잔기 (예를 들어 Cys, Ser, Thr, Asn 및 Gln) 중에서, 산성 측쇄를 갖는 잔기 (예를 들어 Asp, Glu) 중에서, 염기성 측쇄를 갖는 아미노산 (예를 들어 His, Lys 및 Arg) 중에서, 또는 방향족 측쇄를 갖는 잔기 (예를 들어 Trp, Tyr 및 Phe) 중에서 이루어질 수 있다. 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 보존적 치환은 보통 단백질 입체형태적 구조에 유의한 변화를 야기하지 않고, 따라서 단백질의 생물학적 활성을 보유할 수 있다.

[0144] 본원에 사용된 용어 "상동체" 및 "상동"은 상호교환가능하고, 최적으로 정렬될 때 또 다른 서열에 대해 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%)의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 (또는 그의 상보적 가닥) 또는 아미노산 서열을 지칭한다.

[0145] 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)과 관련하여 "퍼센트 (%) 서열 동일성"은, 동일한 아미노산 (또는 핵산)의 최대 개수를 달성하도록 서열을 정렬하고, 필요에 따라 갭을 도입한 후에, 참조 서열에서의 아미노산 (또는 핵산) 잔기와 동일한 후보 서열에서의 아미노산 (또는 핵산) 잔기의 백분율로서 정의된다. 아미노산 잔기의 보존적 치환은 동일한 잔기로서 고려될 수 있거나 고려되지 않을 수 있다. 퍼센트 아미노산 (또는 핵산) 서열 동일성을 결정하려는 목적을 위한 정렬은, 예를 들어 공중 이용가능한 도구, 예컨대 BLASTN, BLASTP (미국 국립 생물 정

보 센터 (NCBI)의 웹사이트 상에서 이용가능함, 또한 문헌 [Altschul S.F. et al., J. Mol. Biol., 215:403-410 (1990); Stephen F. et al., Nucleic Acids Res., 25:3389-3402 (1997)] 참조), ClustalW2 (유럽 생물정보학 연구소의 웹사이트 상에서 이용가능함, 또한 문헌 [Higgins D.G. et al., Methods in Enzymology, 266:383-402 (1996); Larkin M.A. et al., Bioinformatics (Oxford, England), 23(21): 2947-8 (2007)] 참조), 및 ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 달성될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상기 도구에 의해 제공되는 디폴트 파라미터를 사용할 수 있거나, 또는 예를 들어 적합한 알고리즘을 선택하는 것과 같이 정렬에 적절한 파라미터를 맞춤화할 수 있다.

[0146] 본원에 사용된 "이펙터 기능"은 항체의 Fc 영역이 그의 이펙터, 예컨대 C1 복합체 및 Fc 수용체에 결합하는데 기여할 수 있는 생물학적 활성을 지칭한다. 예시적인 이펙터 기능은 항체와 C1 복합체 상의 C1q 사이의 상호작용에 의해 유도되는 보체 의존성 세포독성 (CDC); 항체의 Fc 영역이 이펙터 세포 상의 Fc 수용체에 결합함으로써 유도되는 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 및 식세포작용을 포함한다.

[0147] 본원에 사용된, "내재화되는" 또는 "내재화될 수 있는" 항체는 세포의 표면 상의 그의 항원에 결합시 세포에 의해 흡수되는 항체이다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 단편은 표면 상에 CD19를 발현하는 세포에 의해 적어도 어느 정도 내재화될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체는 B 세포 림프종 세포의 표면 상에서 발현된 CD19에 결합시 그 세포에 의해 내재화될 수 있다. 내재화는 시험관 내에서 또는 생체내에서 발생할 수 있다. 치료 용도를 위해, 내재화는 생체내에서 발생할 수 있다. 항체가 포유동물 세포에 결합시 내재화되는지 여부는 하기 실시예에 기재된 것 (예를 들어 Fab-Zap 방법)을 포함한 다양한 검정에 의해 결정될 수 있다. 항체가 세포 내로 내재화되는지 여부를 검출하는 방법은 또한 미국 특허 번호 7,619,068에 기재되어 있으며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, 내재화될 수 있는 항체 및 그의 항원 결합 단편은 내재화시 세포를 사멸시키는 세포독성 모이어티와 같은 항암제와 회합되거나 이에 접합될 수 있다. 항체 또는 항체 접합체의 효력에 따라, 일부 경우에, 세포 내로의 단일 항체 분자의 흡수는 항체가 결합하는 표적 세포를 사멸시키기에 충분하다. 예를 들어, 특정 독소는 항체에 접합된 한 독소 분자의 내재화가 종양 세포를 사멸시키기에 충분하도록 사멸에 있어서 고도로 강력하다.

[0148] 본원에 사용된 병태를 "치료하는" 또는 "치료"는 병태를 예방 또는 완화시키는 것, 병태의 발병 또는 발달 속도를 늦추는 것, 병태의 발달 위험을 감소시키는 것, 병태와 연관된 증상의 발달을 예방 또는 지연시키는 것, 병태와 연관된 증상을 감소 또는 종료시키는 것, 병태의 완전한 또는 부분적인 퇴행을 생성시키는 것, 병태를 치유하는 것, 또는 그의 일부 조합을 포함한다.

[0149] "단리된" 물질은 인간의 손에 의해 천연 상태에서부터 변경된 것이다. "단리된" 조성물 또는 물질이 자연에서 발생하는 경우, 이는 그의 원래 환경으로부터 변화 또는 제거되었거나 또는 이들 둘 다이다. 예를 들어, 살아있는 동물에 자연적으로 존재하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 "단리된" 것이 아니지만, 동일한 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드가 실질적으로 순수한 상태로 존재하도록 그의 천연 상태의 공존 물질로부터 충분히 분리된 경우 이는 "단리된" 것이다. 단리된 "핵산 서열" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 상호교환가능하게 사용되고, 단리된 핵산 분자의 서열을 지칭한다. 특정 실시양태에서, "단리된 항체 또는 그의 항원-결합 단편"은 전기영동 방법 (예컨대 SDS-PAGE, 등전 포커싱, 모세관 전기영동), 또는 크로마토그래피 방법 (예컨대 이온 교환 크로마토그래피 또는 역상 HPLC)에 의해 결정시 적어도 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 순도를 갖는 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다.

[0150] 본원에 사용된 용어 "벡터"는 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 그 단백질을 발현시키도록 작동가능하게 삽입될 수 있는 비히클을 지칭한다. 벡터는 그것이 숙주 세포 내에 운반하는 유전 요소를 발현시키도록 숙주 세포를 형질전환, 형질도입 또는 형질감염시키기 위해 사용될 수 있다. 벡터의 예는 플라스미드, 파지미드, 코스미드, 인공 염색체, 예컨대 효모 인공 염색체 (YAC), 박테리아 인공 염색체 (BAC) 또는 P1-유래된 인공 염색체 (PAC), 박테리오파지, 예컨대 람다 파지 또는 M13 파지, 및 동물 바이러스를 포함한다. 벡터로서 사용되는 동물 바이러스의 카테고리는 레트로바이러스 (렌티바이러스 포함), 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스바이러스 (예를 들어 단순 포진 바이러스), 폭스바이러스, 마를로바이러스, 유두종바이러스, 및 파포바바이러스 (예를 들어 SV40)를 포함한다. 벡터는 발현을 제어하는 다양한 요소, 예컨대 프로모터 서열, 전사 개시 서열, 인핸서 서열, 선택 요소 및 리포터 유전자를 함유할 수 있다. 추가로, 벡터는 복제 기점을 함유할 수 있다. 벡터는 또한 그의 세포 내로의 진입을 보조하는 물질, 예컨대 이에 제한되는 것은 아니지만, 바이러스 입자, 리포솜 또는 단백질 코팅을 포함할 수 있다. 벡터는 발현 벡터 또는 클로닝 벡터일 수 있다. 본 개시내용은 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 본원에 제공된 핵산 서열, 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 적

어도 1종의 프로모터 (예를 들어 SV40, CMV, EF-1 α), 및 적어도 1종의 선택 마커를 함유하는 벡터 (예를 들어 발현 벡터)를 제공한다. 벡터의 예는 레트로바이러스 (렌티바이러스 포함), 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스바이러스 (예를 들어 단순 포진 바이러스), 폭스바이러스, 바클로바이러스, 유두종바이러스, 파포바이러스 (예를 들어 SV40), 람다 파지 및 M13 파지, 플라스미드 pcDNA3.3, pMD18-T, pOptivec, pCMV, pEGFP, pIRES, pQD-Hyg-GSeu, pALTER, pBAD, pcDNA, pCal, pL, pET, pGEMEX, pGEX, pCI, pEGFT, pSV2, pFUSE, pVITRO, pVIVO, pMAL, pMONO, pSELECT, pUNO, pDUO, PsG5L, pBABE, pWPXL, pBI, p15TV-L, pPro18, pTD, pRS10, pLexA, pACT2.2, pCMV-SCRIPT.RTM., pCDM8, pCDNA1.1/amp, pcDNA3.1, pRc/RSV, PCR 2.1, pEF-1, pFB, pSG5, pXT1, pCDEF3, pSVSPORT, pEF-Bos 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0151] 본원에 사용된 어구 "숙주 세포"는 외인성 폴리뉴클레오티드 및/또는 벡터가 도입된 세포를 지칭한다.

[0152] 본원에 사용된 "CD19 관련 질환 또는 병태"는 CD19의 증가 또는 감소된 발현 또는 활성화에 의해 야기되거나, 악화되거나, 또는 달리 연관된 임의의 질환 또는 병태를 지칭한다. 일부 실시양태에서, CD19 관련 병태는 B 세포 림프종, 임의로 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종이며, 여기서 비-호지킨 림프종은 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종, 변연부 B-세포 림프종 (MZL), 점막-연관 림프 조직 림프종 (MALT), 소림프구성 림프종 (만성 림프구성 백혈병, CLL), 외투 세포 림프종 (MCL), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 또는 발덴스트롬 마크로블린혈증 (WM)을 포함한다.

[0153] 본원에 사용된 "암"은 악성 세포 성장 또는 신생물, 비정상적 증식, 침윤 또는 전이를 특징으로 하는 임의의 의학적 병태를 지칭하고, 고형 종양 및 백혈병과 같은 비-고형 암 (혈액 악성종양) 둘 다를 포함한다. 본원에 사용된 "고형 종양"은 신생물성 및/또는 악성 세포의 고형 종괴를 지칭한다. 암의 예는 비소세포 폐암 (편평/비편평), 소세포 폐암, 신세포암, 결장직장암, 결장암, 난소암, 유방암 (기저 유방 암종, 관 암종 및 소엽성 유방 암종 포함), 췌장암, 위 암종, 방광암, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 흑색종, 골수종, 균상 식육종, 메르켈 세포암, 간세포성 암종 (HCC), 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골원성 육종, 및 다른 육종, 활막종, 중피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 림프성 악성종양, 기저 세포 암종, 선암종, 한선 암종, 수질성 갑상선 암종, 유두상 갑상선 암종, 크롬친화 세포종 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질성 암종, 기관지원성 암종, 간세포암, 담즙 관 암종, 용모막암종, 윌름스 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 정상피종, 전형적 호지킨 림프종 (CHL), 원발성 종격 대 B-세포 림프종, T-세포/조직구-풍부 B-세포 림프종, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 급성 골수 백혈병, 만성 골수구성 (과립구성) 백혈병, 만성 골수 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 진성 다혈구혈증, 비만 세포 유래 종양, EBV-양성 및 -음성 PTLD, 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종, 변연부 B-세포 림프종 (MZL), 점막-연관 림프 조직 림프종 (MALT), 소림프구성 림프종 (만성 림프구성 백혈병, CLL), 외투 세포 림프종 (MCL), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 형질모구성 림프종, 결절외 NK/T-세포 림프종, 비인두 암종, HHV8-연관 원발성 삼출 림프종, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 발덴스트롬 마크로블린혈증 (WM), 중쇄 질환, 골수 이형성 증후군, 모발상 세포 백혈병 및 골수이형성증, 원발성 CNS 림프종, 척수축 종양, 뇌간 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 핏지교종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종 및 망막모세포종을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0154] 용어 "제약상 허용되는"은 지정된 담체, 비히클, 희석제, 부형제(들) 및/또는 염이 일반적으로 제제를 구성하는 다른 성분들과 화학적으로 및/또는 물리적으로 상용성이고, 그의 수용자와 생리학적으로 상용성인 것을 나타낸다.

[0155] 항-CD19 항체

[0156] 본 개시내용은 WBP7011-4.34.11, WBP7011-4.87.6, WBP7011_4.155.8, WBP7011_4.56.1, WBP7011-4.15.10, WBP7011-4.100.1, WBP7011-4.106.3, WBP7011_4.108.3, WBP7011_4.191.6, WBP7011_4.194.10, WBP7011_4.231.5, W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 및 W7011-4.155.8-z1-P15로부터 선택된 항-CD19 항체의 1개 이상 (예를 들어 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개)의 CDR 서열을 포함하는 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 개시내용 전반에 걸쳐, 항체 명칭과 관련하여 용어 "WBP7011"은 "W7011"과 상호교환가능하게 사용된다. 예를 들어, 항체 WBP7011-4.34.11은 또한 W7011-4.34.11로 지칭되고, 이러한 명칭은 동일한 항체를 지칭한다.

[0157] 본원에 사용된 "WBP7011-4.34.11"은 서열식별번호: 94의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.

[0158] 본원에 사용된 "WBP7011-4.87.6"은 서열식별번호: 98의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 100의 카파 경쇄 가변

영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.

- [0159] 본원에 사용된 "WBP7011_4.155.8"은 서열식별번호: 102의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 104의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0160] 본원에 사용된 "WBP7011_4.56.1"은 서열식별번호: 106의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0161] 본원에 사용된 "WBP7011-4.15.10"은 서열식별번호: 108의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0162] 본원에 사용된 "WBP7011-4.100.1"은 서열식별번호: 110의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0163] 본원에 사용된 "WBP7011-4.106.3"은 서열식별번호: 112의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0164] 본원에 사용된 "WBP7011_4.108.3"은 서열식별번호: 114의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0165] 본원에 사용된 "WBP7011_4.191.6"은 서열식별번호: 116의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0166] 본원에 사용된 "WBP7011_4.194.10"은 서열식별번호: 118의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 120의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0167] 본원에 사용된 "WBP7011_4.231.5"는 서열식별번호: 122의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 96의 카파 경쇄 가변 영역을 갖는 마우스 모노클로날 항체를 지칭한다.
- [0168] 본원에 사용된 "W7011-4.34.11-z1-m5"는 서열식별번호: 124의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 126의 카파 경쇄 가변 영역을 포함하는 WBP3311_2.166.48을 기재로 하는 인간화 항체를 지칭한다.
- [0169] 본원에 사용된 "W7011-4.87.6-z1(N-S)"는 서열식별번호: 128의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 130의 카파 경쇄 가변 영역을 포함하는 WBP3311_2.166.48을 기재로 하는 인간화 항체를 지칭한다.
- [0170] 본원에 사용된 "W7011-4.155.8-z1-P15"는 서열식별번호: 132의 중쇄 가변 영역 및 서열식별번호: 134의 카파 경쇄 가변 영역을 포함하는 WBP3311_2.166.48을 기재로 하는 인간화 항체를 지칭한다.
- [0171] 표 1은 이들 11종의 마우스 항-CD19 항체 및 3종의 인간화 항체 W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 및 W7011-4.155.8-z1-P15의 CDR 서열을 제시한다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열이 또한 하기에 제공된다.

[0172] 표 1.

		CDR1	CDR2	CDR3
WBP7011-4.34.11	VH	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3
		GYTFTNYVIH	YFNPYNDGTEYNE KFKA	GPYYYGGSPF DY
WBP7011-4.34.11	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011-4.87.6	VH	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 9
		GYAFSTYWMN	QIYPGDDDTKYNG KFKG	RYFRYDYWY SDV
WBP7011-4.87.6	VK	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12
		RASQDISNYLN	YTSRLHS	HQGNTLPLT
WBP7011_4.155.8	VH	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 15
		GYAFTSYNMY	YIDPYNGDTTYNQ KFKG	TAYAMDY
WBP7011_4.155.8	VK	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
		SASSTVNYMH	STSNLAS	HQWSSYPYT
WBP7011_4.56.1	VH	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 21
		GYTFTNYVIH	YINPYNDGTEYNE KFKG	GPYYYGGSPF DY
WBP7011_4.56.1	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011-4.15.10	VH	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 24
		GYTFTSYVMH	YINPYNDGTEYHE KFKG	GPYYYGGSPF DF
WBP7011-4.15.10	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011-4.100.1	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 27
		GYTFTSYVIH	YINPYNDGAEYTE KFKG	GPYYYGGSPF DY
WBP7011-4.100.1	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011-4.106.3	VH	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 30
		GYTFSSYVIH	YINPYNDGAEYAE KFKG	GPYYYGGSPF DY
WBP7011-4.106.3	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011_4.108.3	VH	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 33
		GYTFTSYVIH	YINPYNDGAEYNE KFKG	GPYYYGGSPF DY
	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6

[0173]

WBP7011_4.108.3		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011_4.191.6	VH	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
		GYTFTDYVIH	YINPYNDGSEYSE KFKG	GPYYYGGSPF DY
WBP7011_4.191.6	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011_4.194.10	VH	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 39
		GYTFTSYVMH	YINPYNDGTTYNE KFKG	GPYYYGSSPF DY
WBP7011_4.194.10	VK	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 42
		RSSQTLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
WBP7011_4.231.5	VH	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 45
		GYTFTSYVMH	YINPYNDGTQYNE KFKG	GPYYYSPSPF DY
WBP7011_4.231.5	VK	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
		RSSQSLENSNGN TYLN	RVSNRFS	LQVTHVPYT
W7011-4.34.11-z1-m5	VH	SEQ ID NO: 136	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3
		GYTFTDYVIH	YFNPYNDGTEYNE KFKG	GPYYYGSSPF DY
W7011-4.34.11-z1-m5	VK	SEQ ID NO: 137	SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 139
		RSSQSLENSNHN TYIN	RVSKRFS	HQVTHVPYT
W7011-4.87.6-z1(N-S)	VH	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 140	SEQ ID NO: 9
		GYAFSTYWMN	QIYPGDDDTKYSG KFKG	RYFRYDYWY SDV
W7011-4.87.6-z1(N-S)	VK	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12
		RASQDISNYLN	YTSRLHS	HQGNTLPLT
W7011-4.155.8-z1-P15	VH	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 141	SEQ ID NO: 15
		GYAFTSYNMY	YIDPYNADTTYNQ KFKG	TAYAMDY
W7011-4.155.8-z1-P15	VK	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
		SASSTVNYMH	STSNLAS	HQWSSYPYT

[0174]

[0175]

WBP7011-4.34.11, WBP7011-4.87.6, WBP7011_4.155.8, WBP7011_4.56.1, WBP7011-4.15.10, WBP7011-4.100.1, WBP7011-4.106.3, WBP7011_4.108.3, WBP7011_4.191.6, WBP7011_4.194.10 또는 WBP7011_4.231.5 및 인간화 W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 및 W7011-4.155.8-z1-P15 항체의 중쇄 또는 카파 경쇄 가변 영역 서열이 하기에 제공된다.

WBP7011-4.34.11-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 94):

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTNYVIHWVKQKPGQGLEWIGYFNPYN
DGTEYNEKFKAKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAKGPYYYGSSPFDYW
GQGTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 95):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCATACTATGTTATTCAGTGGG
TGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATTTAATCCTTACAA
TGATGGTACTGAATACAATGAGAAGTTCAAAGCCAAGGCCACACTGACTTCAGA
CAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCT
GCGGTCTATTACTGTGCAAAAGGTCCCTACTACTACGGTAGTAGCCCCTTTGACT
ACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

WBP7011-4.34.11-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLNSNGNTYLNWYWLQKPGQSPQLLIYRVS
NRFSGLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAAGTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCTTGACAGGTTCACTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011-4.87.6-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 98):

QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSTYWMNWVKQRPQGLEWIGQIYPGD
DDTKYNGKFKGKASLTADKSSSTAYMQLISLTSEDSAVYFCARRYFRYDYWYSDV
WGAGTTTVTVTS

핵산 서열 (서열식별번호: 99):

CAGGTTCAACTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGTCCTCAGTG
AAGATTTCTGCAAGGCTTCTGGCTATGCATTCAGTACCTATTGGATGAACTGGG
TGAAGCAGAGGCCTGGACAGGGTCTTGAGTGGATTGGACAGATTTATCCTGGAG
ATGATGATACTAAGTACAATGGAAAGTTCAAGGGTAAAGCCTCACTGACTGCAG
ACAAATCCTCCAGCACCGCCTACATGCAGCTCATCAGCCTAACATCTGAGGACTC
TGCGGTCTATTTCTGTGCAAGAAGATACTTTAGGTACGACTACTGGTATTCCGAT
GTCTGGGGCGCAGGGACACGGTCACCGTCACCTCA

[0176]

WBP7011-4.87.6-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 100):

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGV
PARFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCHQGNLPLTFGAGTKLELK

핵산 서열 (서열식별번호: 101):

GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAG
TCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCA
GCAGAAACCGGATGGAAGCTGTTAAACTCCTGATCTATTACACATCAAGATTACAC
TCAGGAGTCCCAGCAAGATTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTACTCTCTCA
CCATTAGTAACCTGGAACAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCACCAGGGTAA
TACGCTTCCGCTCACGTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

WBP7011-4.155.8-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 102):

EIQLQQSGPELVKPGASVKVSCKASGYAFTSYNMYWVKQSHGKSLEWIGYIDPYNG
DTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCLTTAYAMDYWGQGT
STVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 103):

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGGTATCCTGCAAGGCTTCTGGTTATGCATTCAGTCTACAACATGTACTGGG
TGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTGATCCTTACA
ATGGTGATACTACCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTTG
ACAAGTCTCCAGCACAGCCTACATGCATCTCAACAGCCTGACATCTGAGGACTC
TGCAGTCTATTACTGTCTCACTACGGCCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGA
ACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

WBP7011-4.155.8-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 104):

QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCASSTVNYMHWYQQKSGTSPKLLIYSTSNLASGVPS
RFGSGSGTFFYSLTIRSVAEEDAADYYCHQWSSYPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 105):

CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGGGAGGAGA
TCACCCTAACCTGCAGTGCCAGCTCGACTGTAAATTACATGCACTGGTACCAGCA
GAAGTCAGGCACTTCTCCCAAACCTCTTGATTTATAGCACATCCAACCTGGCTTCT
GGAGTCCCTTCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTTATTCTCTACAAT
CAGAAGTGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCGATTACTGCCATCAGTGGAGTAG
TTATCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA

[0177]

WBP7011_4.56.1-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 106):

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTNYVIHWVKQKPGQGLEWIGYINPYND
GTEYNEKFKGKATLTSDTSSSTAYMALSSLTSEDSAVYYCTRGPYYYGGSPFDYWG
QGTTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 107):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCATACTATGTTATACACTGGG
TGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTACTGAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAG
ACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGGCGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTC
TGCGGTCTATTACTGTACAAGAGGACCCTATTACTACGGTGGTAGCCCCCTTCGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

WBP7011_4.56.1-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLENSNGNTYLNWYLVKPGQSPQLLIYRVS
NRFSGLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAAGTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCTTGACAGGTTCACTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011_4.15.10-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 108):

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWMKQKPGQGLEWIGYINPYN
DGTEYHEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVFYCARGPYYYGGSPFDFWG
QGTTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 109):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCATAGCTATGTTATGCACTGGA
TGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTACTGAGTACCATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAG
ACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTC
TGCGGTCTTTTACTGTGCAAGAGGACCCTATTACTACGGTGGTAGCCCCTTTGAC
TTCTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACGGTCTCCTCA

[0178]

WBP7011_4.15.10-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLENSNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFS
GVLDLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAACCTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCTTGACAGGTTTCAGTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011_4.100.1-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 110):

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVIHWVKQKPGQGLEWIGYINPYND
GAEYTEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSTVYYCARGPYYYGGSPFDYWG
QGTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 111):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTCTAGCTATGTTATACACTGGG
TGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTGTGAGTACACTGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTTCAG
ACAAATCCTCCAGTACTGCCTATATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTC
TACGGTCTATTACTGTGCACGAGGACCCCTATTACTACGGTGGTAGCCCTTTGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

WBP7011_4.100.1-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLENSNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFS
GVLDLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAACCTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCTTGACAGGTTTCAGTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011_4.106.3-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 112):

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSSYVIHWVKQKPGQGLEWIGYINPYND
GAEYAEKFKGKATLTSKSSSSAYMELGSLTSEDSAVYYCARGPYYYGGSPFDYWG
QGTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 113):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTAGTTATGTTATACACTGGG
TGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTGCTGAGTATGCTGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCCACTGACTTCAG
ACAAATCCTCCAGTTCTGCCTATATGGAGCTCGGCAGCCTGACCTCTGAGGACTC
TGCGGTCTATTACTGTGCACGAGGACCTATTACTACGGTGGTAGTCCCTTTGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

WBP7011_4.106.3-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLNSNGNTYLNWYQLKPGQSPQLLIYRVS
NRFSGVLDRLFSGSGSDFTLTKISRVEAEDLGYYFCLQVTHVPYTFGGGKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAACCTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCTTGACAGGTTTCAAGTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011_4.108.3-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 114):

EVQLQQSGPELVKPGASVEMSKASGYTFTSYVIHWLQKPGQGLEWIGYINPYND
GAEYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMDLNSLTSEDSAVYYCARGPYYYGSSPFDYWG
QGTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 115):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG
GAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTAGCTATGTTATTCAGTGGT
TGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTGCTGAGTATAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCCACTGACTTCAG
ACAAATCCTCCAGTACAGCCTATATGGATCTCAACAGCCTGACCTCTGAGGACTC
TGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGACCTATTACTACGGTAGTAGCCCTTTGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

[0180]

WBP7011_4.108.3-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVSLGDAQISCRSSQSLNSNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVS
NRFSGVLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAAGTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCTTGACAGGTTTCAGTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011_4.191.6-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 116):

EVQLLQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVIHWVKQRPQGLEWIGYINPYND
GSEYSEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGPYYYGGSPFDYWG
QGTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 117):

GAGGTCCAGCTGCTGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTATGTTATACACTGGG
TGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTTCTGAGTACAGTGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAG
ACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTC
TGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGACCCTATTACTACGGTGGTAGTCCCTTTGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

WBP7011_4.191.6-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVSLGDAQISCRSSQSLNSNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVS
NRFSGVLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAAGTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCTTGACAGGTTTCAGTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011_4.194.10-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 118):

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYN
DGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGPYYYGSSPFDYW
GQGTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 119):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTATGTTATGCACTGGG
TGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAG
ACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAAGTACAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTC
TGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGACCCTATTACTACGGTAGTAGCCCTTTGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

WBP7011_4.194.10-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 120):

DAVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQTL ENSNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVS
NRFSGLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 121):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGACCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAAGTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCTTAGACAGGTTCACTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGACTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGCCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

WBP7011_4.231.5-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 122):

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYN
DGTQYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGPYYYSPSPFDYW
GQGTTLTVSS

핵산 서열 (서열식별번호: 123):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTATGTCATGCACTGGG
TGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACA
ATGATGGTACTCAGTACAATGAGAAGTTTAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAG
ACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTC

TGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGACCCTATTACTACAGTCCTAGCCCTTTGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

WBP7011_4.231.5-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 96):

DAVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSLENSNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVS
NRFSGLDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPYTFGGGTKLEIK

핵산 서열 (서열식별번호: 97):

GATGCTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG
CCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTTGAAAACAGTAATGGAAACACCTA
TTTGAAGTGGTACCTCCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAGG
GTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCTTGACAGGTTCACTGGTAGTGGATCAGGGA
CAGATTTACACTGAAAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTT
CTGTCTCCAAGTTACACATGTCCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGA
AATAAAA

[0182]

[0183]

- [0184] CDR은 항원 결합을 담당하는 것으로 공지되어 있지만, 6개의 CDR 모두가 필수적이거나 불변하는 것은 아니라는 것이 밝혀졌다. 다시 말해서, 항-CD19 항체 WBP7011-4.34.11, WBP7011-4.87.6, WBP7011_4.155.8, WBP7011_4.56.1, WBP7011-4.15.10, WBP7011-4.100.1, WBP7011-4.106.3, WBP7011_4.108.3, WBP7011_4.191.6, WBP7011_4.194.10, WBP7011_4.231.5, W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 또는 W7011-4.155.8-z1-P15에서 1, 2 또는 3개의 CDR을 대체 또는 변화 또는 변형시키지만 CD19에 대한 특이적 결합 친화도를 실질적으로 보유하는 것이 가능하다.
- [0185] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 항-CD19 항체 WBP7011-4.34.11, WBP7011-4.87.6, WBP7011_4.155.8, WBP7011_4.56.1, WBP7011-4.15.10, WBP7011-4.100.1, WBP7011-4.106.3, WBP7011_4.108.3, WBP7011_4.191.6, WBP7011_4.194.10, WBP7011_4.231.5, W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 또는 W7011-4.155.8-z1-P15 중 하나의 중쇄 CDR3 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 서열식별번호: 3, 9, 15, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 및 45로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 CDR3 서열을 포함한다. 중쇄 CDR3 영역은 항원-결합 부위의 중앙에 위치하고, 따라서 항원과 가장 많이 접촉하여 항원에 대한 항체의 친화도에 가장 많은 자유 에너지를 제공하는 것으로 여겨진다. 또한, 중쇄 CDR3은 다수의 다양화 메커니즘에 의해 길이, 아미노산 조성 및 입체형태의 면에서 항원-결합 부위의 단연코 가장 다양한 CDR인 것으로 여겨진다 (Tonegawa S. *Nature*. 302:575-81). 중쇄 CDR3 내의 다양성은 대부분의 항체 특이성 (Xu JL, Davis MM. *Immunity*. 13:37-45) 뿐만 아니라 바람직한 항원-결합 친화도 (Schier R, etc. *J Mol Biol*. 263:551-67)를 생성하기에 충분하다.
- [0186] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 항체 및 그의 항원-결합 단편이 CD19에 특이적으로 결합할 수 있는 한 적합한 프레임워크 영역 (FR) 서열을 포함한다. 표 1에 제공된 CDR 서열은 마우스 항체로부터 획득되지만, 이들은 관련 기술분야에 공지된 적합한 방법, 예컨대 재조합 기술을 사용하여 임의의 적합한 종, 예컨대 특히 마우스, 인간, 래트, 토끼의 임의의 적합한 FR 서열에 그래프팅될 수 있다.
- [0187] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 인간화된 것이다. 인간화 항체 또는 항원-결합 단편은 인간에서의 그의 감소된 면역원성에 있어서 바람직하다. 인간화 항체는 비-인간 CDR 서열이 인간 또는 실질적으로 인간 FR 서열에 그래프팅되기 때문에 그의 가변 영역에 있어서 키메라이다. 항체 또는 항원-결합 단편의 인간화는 비-인간 (예컨대 뮌) CDR 유전자를 인간 이뮤노글로불린 유전자에서의 상응하는 인간 CDR 유전자로 치환시킴으로써 본질적으로 수행될 수 있다 (예를 들어 문헌 [Jones et al. (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann et al. (1988) *Nature* 332:323-327; Verhoeyen et al. (1988) *Science* 239:1534-1536] 참조).
- [0188] 이러한 목적을 달성하기 위해 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 적합한 인간 중쇄 및 경쇄 가변 도메인이 선택될 수 있다. 예시적인 예에서, "최적-피트" 접근법이 사용될 수 있으며, 여기서 비-인간 (예를 들어 설치류) 항체 가변 도메인 서열이 공지된 인간 가변 도메인 서열의 데이터베이스에 대해 스크리닝되거나 BLAST 검색되고, 비-인간 질의 서열에 가장 가까운 인간 서열이 비-인간 CDR 서열을 그래프팅하기 위한 인간 스캐폴드로서 확인되고 사용된다 (예를 들어 문헌 [Sims et al., (1993) *J. Immunol.* 151:2296; Chothia et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901] 참조). 대안적으로, 모든 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 프레임워크가 비-인간 CDR의 그래프팅을 위해 사용될 수 있다 (예를 들어 문헌 [Carter et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; Presta et al. (1993) *J. Immunol.*, 151:2623] 참조).
- [0189] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항체 또는 항원-결합 단편은 비-인간인 CDR 서열을 제외하고는 실질적으로 모든 인간 서열로 구성된다. 일부 실시양태에서, 가변 영역 FR 및 불변 영역은 존재하는 경우 완전히 또는 실질적으로 인간 이뮤노글로불린 서열로부터의 것이다. 인간 FR 서열 및 인간 불변 영역 서열은 상이한 인간 이뮤노글로불린 유전자로부터 유래될 수 있고, 예를 들어 FR 서열은 하나의 인간 항체로부터 유래되고 불변 영역은 또 다른 인간 항체로부터 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체 또는 항원-결합 단편은 인간 중쇄/경쇄 FR1-4를 포함한다.
- [0190] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항체 및 그의 항원-결합 단편은 W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 또는 W7011-4.155.8-z1-P15의 1개 이상의 FR 서열을 포함한다. 하기 표 2는 W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 또는 W7011-4.155.8-z1-P15의 FR 서열을 제시한다. 상응하는 천연 마우스 FR 서열이 또한 표 2에 제공된다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열이 또한 하기에 제공된다.

[0191] 표 2.

	FR1	FR2	FR3	FR4
WBP7011-4.34.11-VH	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 48	SEQ ID NO: 49
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS	WVKQRPGQGLEWIG	KATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAK	WGQGTTLTVSS
W7011-4.34.11-z1-m5-VH	SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 55	SEQ ID NO: 56	SEQ ID NO: 57
	QVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSKCAS	WVRQAPG QGLEWMG	RVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCAR	WGQGT TVTVSS
WBP7011-4.34.11-VK	SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 52	SQ ID NO: 53
	DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISC	WYQQKPGQSPKLLIY	GVLD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	FGGGT KLEIK
W7011-4.34.11-z1-m5-VK	SEQ ID NO: 58	SEQ ID NO: 59	SEQ ID NO: 60	SEQ ID NO: 61
	DIVMTQTPLSLPV TPGEPASISC	WYLQKPG QSPQLLIY	GVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGYYC	FGQGT KLEIK
WBP7011-4.87.6-VH	SEQ ID NO: 62	SEQ ID NO: 63	SEQ ID NO: 64	SEQ ID NO: 65
	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKAS	WVKQRPGQGLEWIG	KASLTADKSSSTAYMQLISLTSEDSAVYFCAR	WGAGT TVTVTS
W7011-4.87.6-z1(N-S)-VH	SEQ ID NO: 70	SEQ ID NO: 71	SEQ ID NO: 72	SEQ ID NO: 73
	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSKCKAS	WVRQAPG QGLEWMG	RVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCAR	WGQGT TVTVSS
WBP7011-4.87.6-VK	SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 68	SEQ ID NO: 69
	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISC	WYQQKPDGTVKLLIY	GVPARFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFC	FGAGT KLELK
W7011-4.87.6-z1(N-S)-VK	SEQ ID NO: 74	SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 77
	DIQMTQSPSSLSA SVGDRVITIC	WYQQKPG KVPKLLIY	GVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDVATYYC	FGQGT KLEIK
WBP7011_4.155.8-VH	SEQ ID NO: 78	SEQ ID NO: 79	SEQ ID NO: 80	SEQ ID NO: 81
	EIQLQQSGPELVKPGASVKVSKCAS	WVKQSHGKSLEWIG	KATLTVDKSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCLT	WGQGT SVTVSS
	SEQ ID NO: 86	SEQ ID NO: 87	SEQ ID NO: 88	SEQ ID NO: 89

[0192]

W7011-4.155.8-z1-P15-VH	QMQLVQSGPEVK KPGTSVKVSKCKAS	WVRQAR GQRLEWIG	RVTITRDMSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCLT	WGQGT LTVSS
WBP7011_4.155.8-VK	SEQ ID NO: 82	SEQ ID NO: 83	SEQ ID NO: 84	SEQ ID NO: 85
	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTC	WYQQKSGTSPKLLIY	GVPSRFSGSGSGTFYSLTIRSV EAEDAADYYC	FGGGT KLEIK
W7011-4.155.8-z1-P15-VK	SEQ ID NO: 90	SEQ ID NO: 91	SEQ ID NO: 92	SEQ ID NO: 93
	DIQLTQSPSFLSAS VGDRVITIC	WYQQKPG KAPKLLIY	GVPSRFSGSGSGTEFT LTISLQPEDFATYYC	FGQGT KLEIK

[0193]

W7011-4.34.11-z1-m5-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 124):

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYVIHWVRQAPGQGLEWMGYFNPYN
DGTEYNEKFKARVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPYYYGSSPFDYW
GQGTTVTVSS

아미노산 서열 (서열식별번호: 125):

CAGGTGCAGCTTGTGCAGTCTGGAGCTGAAGTGAAGAAGCCAGGATCCTCCGTG
AAGGTCTCCTGTAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCGATTACGTGATCCACTGGG
TCAGGCAGGCCCTGGGCAAGGCTTGGAGTGGATGGGGTACTTTAACCCCTACA
ACGATGGGACTGAGTACAATGAGAAGTTTAAAGCACGGGTGACCATTACCGCCG
ACAAGAGCACAAAGCACAGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTCCGCAGCGAGGATA
CAGCCGTCTACTACTGCGCCAGAGGCCCTTACTACTATGGGTCCAGCCCCCTCGA
CTATTGGGGCCAGGGGACTACAGTGAAGTGTCAAGTTCA

W7011-4.34.11-z1-m5-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 126):

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLENSNHNTYINWYLQKPGQSPQLLIYRVSKR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCHQVTHVTPYTFGQGTKLEIK

아미노산 서열 (서열식별번호: 127):

GATATCGTGATGACCCAGACTCCCCTGTCCCTTCTGTGACCCAGGAGAACCAG
CTTCTATCAGCTGTAGGTCTCACAGAGCCTGGAGAACTCCAACCACAACACCTA
CATAAACTGGTACCTCCAGAAGCCTGGGCAGTCTCCCCAGTTGCTGATCTACAGG
GTCAGCAAACGCTTCTCCGGGGTGCCCGATCGGTTTAGTGGGAGCGGGAGCGGC
ACAGACTTTACACTCAAGATTTCCAGAGTGGAGGCCGAGGACGTCGGCGTCTATT
ACTGCCACCAAGTGACACACGTGCCCTACACATTCGGCCAGGGCACTAAACTGG
AGATTAAG

W7011-4.87.6-z1(N-S)-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 128):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFSTYWMNWVRQAPGQGLEWMGQIYPG
DDDTKYSGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRYFRYDYWYSDV
WGQGTTVTVSS

아미노산 서열 (서열식별번호: 129):

CAGGTCCAGCTTGTCCAGTCTGGAGCAGAAGTGAAGAAGCCAGGGGCTTCAGTG
AAGGTGTCTTGCAAGGCTTCCGGATACGCCTTCTCCACTTACTGGATGAACTGGG
TGCGCCAGGCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGCCAGATCTATCCCGGCG
ATGACGACACAAAATACAGCGGGAAGTTCAAGGGGCGGGTGACCATTACCGCCG
ATAAAAGCACCTCCACCGCCTACATGGAGCTCAGTTCCCTGAGAAGCGAGGATA
CAGCCGTGTACTACTGTGCCAGGAGGTACTTTCGGTACGACTACTGGTATAGCGA
CGTCTGGGGGCAAGGCACAACCTGTCACAGTGAGCAGC

W7011-4.87.6-z1(N-S)-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 130):

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKVPKLLIYYTSRLHSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCHQGNLTPLTFGQGTKLEIK

아미노산 서열 (서열식별번호: 131):

GACATCCAAATGACCCAGAGCCCTTCCTCCTTGTCCGCAAGTGTGGGAGATAGAG
TGACCATCACCTGCAGGGCTTCTCAGGATATCTCCAACTACCTGAACTGGTATCA
GCAGAAGCCCGGCAAGGTGCCAAAGCTCCTTATTTACTACACCTCCCGGCTGCAC
AGCGGAGTCCCATCTCGCTTCAGCGGGTCAGGCAGCGGCACTGACTTTACTCTGA
CAATTAGCAGCCTCCAGCCTGAAGACGTCGCCACTTACTACTGTCATCAGGGGAA
TACACTCCCCCTGACATTCGGGCAGGGGACAAAAGTGGAGATTAAG

W7011-4.155.8-z1-P15-VH

아미노산 서열 (서열식별번호: 132):

QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSKASGYAFTSYNMYWVRQARGQRLEWIGYIDPYN
ADTTYNQKFKGRVTITRDMSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCLTAYAMDYWGQGT
LTVSS

아미노산 서열 (서열식별번호: 133):

CAAATGCAGCTCGTCCAGTCTGGACCTGAAGTGAAGAAGCCCGGGACATCCGTC
AAGGTCTCATGTAAGGCTAGCGGGTACGCATTCACTTCCTACAACATGTACTGGG
TGCGCCAGGCCAGAGGACAGAGGTTGGAGTGGATCGGCTACATCGACCCATACA
ACGCCGATACTACCTACAATCAGAAGTTTAAAGGGCGGGTGACCATTACCCGGG
ATATGTCCACCTCCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGGAGCGAGGACA
CAGCCGTGTACTACTGCCTGACAACAGCCTATGCCATGGACTATTGGGGCCAGGG
CACACTTGTGACTGTGAGCAGT

W7011-4.155.8-z1-P15-VK

아미노산 서열 (서열식별번호: 134):

DIQLTQSPSFLSASVGDRTTITCSASSTVNYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVP
SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCHQWSSYPYTFGQGTKLEIK

아미노산 서열 (서열식별번호: 135):

GACATCCAGCTCACCCAATCCCCCTTCTTTCTCTCCGCAAGTGTCCGAGATAGGG
TGACTATCACCTGCTCAGCTTCTTCAACCGTGAACCTACATGCATTGGTACCAGCA
GAAGCCCGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATCTACAGCACCTCCAATCTGGCCAG
TGGAGTGCCAAGCCGGTTTAGCGGGAGCGGCTCCGGCACTGAATCACTTTGACA
ATTAGCAGCCTTCAGCCTGAGGACTTTGCCACATATTACTGTCACCAGTGGTCCA
GCTACCCCTACACATTCGGGCAGGGCACAAAGCTGGAGATTAAG

[0195]

[0196]

예시적인 인간화 항-CD19 항체 W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 또는 W7011-4.155.8-z1-P15는 모두 CD3-발현 세포 (예를 들어 CD4 T 세포)에 대한 특이적 결합 친화도를 보유하였으며, 그 측면에서 모 마우스 항체에 적어도 대응하거나 또는 그보다 훨씬 더 우수하다.

[0197]

일부 실시양태에서, 인간으로부터 유래된 FR 영역은 그것이 유래된 인간 이뮤노글로불린과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 인간 FR의 1개 이상의 아미노산 잔기는 모 비-인간 항체로부터의 상응하는 잔기로 치환된다. 이는 특정 실시양태에서 인간화 항체 또는 그의 단편을 비-인간 모 항체 구조에 밀접하게 근사화하기 위해 바람직할 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항체 또는 항원-결합 단편은 각각의 인간 FR 서열에 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 잔기 치환, 또는 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인의 모든 FR에 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 잔기 치환을 포함한다. 일부 실시양태에서, 아미노산 잔기의 이러한 변화는 중쇄 FR 영역에서만, 경쇄 FR 영역에서만, 또는 둘 다의쇄에서 존재할 수 있다.

[0198]

특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 106, 서열식별번호: 108, 서열식별번호: 110, 서열식별번호: 112, 서열식별번호: 114, 서열식별번호: 116, 서열식별번호: 118, 서열식별번호: 122, 서열식별번호: 124, 서열식별번호: 128, 서열식별번호: 132로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 가변 도메인 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본원에

제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 104, 서열식별번호: 120, 서열식별번호: 126, 서열식별번호: 130, 서열식별번호: 134로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 가변 도메인 서열을 포함한다.

- [0199] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 중쇄 가변 도메인의 모두 또는 일부분 및/또는 경쇄 가변 도메인의 모두 또는 일부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 본원에 제공된 중쇄 가변 도메인의 모두 또는 일부분으로 이루어진 단일 도메인 항체이다. 이러한 단일 도메인 항체의 보다 많은 정보가 관련 기술분야에서 이용가능하다 (예를 들어 미국 특허 번호 6,248,516 참조).
- [0200] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 그의 단편은 이뮤노글로불린 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 이뮤노글로불린 불변 영역은 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 CH1, 힌지 및/또는 CH2-CH3 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 중쇄 불변 영역은 Fc 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 경쇄 불변 영역은 C_K를 포함한다.
- [0201] 일부 실시양태에서, 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 IgG1, IgG2a 또는 IgG2b 이소형의 불변 영역을 갖고, 이는 감소된 또는 고갈된 이펙터 기능, 예컨대 ADCC 또는 CDC를 가지며, 이는 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정, 예를 들어 Fc 수용체 결합 검정, C1q 결합 검정 및 세포 용해 검정에 의해 평가될 수 있다.
- [0202] 본원에 제공된 항체 및 항원-결합 단편의 결합 친화도는 항원과 항원-결합 분자 사이의 결합이 평형에 도달할 때의 회합률에 대한 해리율의 비 (k_{off}/k_{on})를 나타내는 K_D 값으로 표시될 수 있다. 항원-결합 친화도 (예를 들어 K_D)는, 예를 들어 유동 세포측정법 검정을 포함한 관련 기술분야에 공지된 적합한 방법을 사용하여 적절하게 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상이한 농도에서의 항원에 대한 항체의 결합은 유동 세포측정법에 의해 결정될 수 있고, 결정된 평균 형광 강도 (MFI)가 먼저 항체 농도에 대해 플롯팅될 수 있고, 이어서 K_D 값이 프리즘 버전 5 (그래프패드 소프트웨어(GraphPad Software), 캘리포니아주 샌디에고)를 사용하여 특이적 결합 형광 강도 (Y) 및 항체의 농도 (X)의 상관성을 한 부위 포화 방정식: $Y=B_{max} * X / (K_D + X)$ (스캐차드 분석)에 피팅함으로써 계산될 수 있으며, 여기서 B_{max} 는 항원에 대한 시험 항체의 최대 특이적 결합을 지칭한다.
- [0203] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 자연적으로 또는 인공적으로 세포 표면 상에서 발현된 인간/시노물구스 원숭이 CD19에 특이적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, 인간/시노물구스 원숭이 CD19 DNA 서열을 발현 벡터 내로 클로닝한 다음, 293F 세포에 형질감염시키고 그에서 발현시켜 인간/시노물구스 원숭이 CD19 단백질이 형질감염된 293F 세포의 표면 상에서 발현될 수 있도록 할 수 있다.
- [0204] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 유동 세포측정법 검정에 의해 측정 시 5×10^{-9} M 이하, 1×10^{-9} M 이하, 9×10^{-10} M 이하, 8×10^{-10} M 이하, 7×10^{-10} M 이하, 6×10^{-10} M 이하, 5×10^{-10} M 이하, 4×10^{-10} M 이하, 3×10^{-10} M 이하, 2×10^{-10} M 이하 또는 1×10^{-10} M 이하의 결합 친화도 (K_D)로 세포의 표면 상에서 발현된 인간 CD19에 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0205] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 세포 표면 상에서 발현된 시노물구스 원숭이 CD19와 교차-반응한다.
- [0206] 세포 상에서 발현된 CD19에 대한 항체의 결합은 또한 그의 최대 효과 (예를 들어 결합 또는 억제 등)의 50%가 관찰되는 항체의 농도를 지칭하는 "반수 최대 유효 농도" (EC_{50}) 값으로 표시될 수 있다. EC_{50} 값은 관련 기술 분야에 공지된 방법, 예를 들어 샌드위치 검정, 예컨대 ELISA, 웨스턴 블롯, 유동 세포측정법 검정 및 다른 결합 검정에 의해 측정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 단편은 유동 세포측정법 검정에 의해 0.01 nM 이하, 0.02 nM 이하, 0.03 nM 이하, 0.04 nM 이하, 0.05 nM 이하, 0.1 nM 이하, 0.2 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.6 nM 이하, 0.7 nM 이하, 0.8 nM 이하, 0.9 nM 이하 또는 1 nM 이하의 EC_{50} 으로 세포 상에서 발현된 인간 CD19에 특이적으로 결합한다.
- [0207] 특정 실시양태에서, 항체 및 그의 항원-결합 단편은 인간 CD19의 것과 유사한 결합 친화도로 시노물구스 원숭이 CD19에 결합한다. 예를 들어, 예시적인 항체 WBP7011-4.34.11, WBP7011-4.87.6, WBP7011_4.155.8, WBP7011_4.56.1, WBP7011-4.15.10, WBP7011-4.100.1, WBP7011-4.106.3, WBP7011_4.108.3, WBP7011_4.191.6, WBP7011_4.194.10, WBP7011_4.225.7 또는 WBP7011_4.231.5의 시노물구스 원숭이 CD19에 대한 결합은 인간 CD19

의 것과 유사한 친화도 또는 EC_{50} 값으로의 결합이다.

- [0208] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 유동 세포측정법 검정에 의해 0.2 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.8 nM 이하, 1 nM 이하, 2 nM 이하 또는 3 nM 이하의 EC_{50} 으로 세포 상에서 발현된 시노물구스 원숭이 CD19에 특이적으로 결합한다.
- [0209] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 단편은 Fab-Zap 검정에 의해 1 pM 이하, 2 pM 이하, 3 pM 이하, 4 pM 이하, 5pM 이하, 6 pM 이하, 7 pM 이하, 8 pM 이하, 9 pM 이하, 10 pM 이하, 11 pM 이하, 12 pM 이하, 13pM 이하, 14 pM 이하, 15 pM 이하, 16 pM 이하, 17 pM 이하, 18 pM 이하, 19 pM 이하, 20pM 이하, 21 pM 이하, 22 pM 이하, 23pM 이하, 24 pM 이하, 25pM 이하, 30pM 이하, 35pM 이하, 40pM 이하, 45pM 이하 또는 50pM 이하의 EC_{50} 으로 CD19-발현 세포에 의해 내재화된다.
- [0210] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 단편은 진단 및/또는 치료 용도를 제공하기에 충분한 인간 CD19에 대한 특이적 결합 친화도를 갖는다. 다수의 치료 전략은 임상적으로 사용되는 항-인간 CD19 모노클로날 항체에 의해 B 세포를 표적화한다.
- [0211] 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 재조합 항체, 이중특이적 항체, 표지된 항체, 2가 항체 또는 항-이디오타입 항체일 수 있다. 재조합 항체는 재조합 방법을 사용하여 동물에서가 아니라 시험관내에서 제조된 항체이다.
- [0212] 항체 변이체
- [0213] 본 개시내용은 또한 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편의 다양한 유형의 변이체를 포괄한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 예시적인 항체, 즉, WBP7011-4.34.11, WBP7011-4.87.6, WBP7011_4.155.8, WBP7011_4.56.1, WBP7011-4.15.10, WBP7011-4.100.1, WBP7011-4.106.3, WBP7011_4.108.3, WBP7011_4.191.6, WBP7011_4.194.10, WBP7011_4.231.5, W7011-4.34.11-z1-m5, W7011-4.87.6-z1(N-S) 또는 W7011-4.155.8-z1-P15의 변이체를 포괄한다.
- [0214] 특정 실시양태에서, 항체 변이체는 표 1에 제공된 바와 같은 1, 2 또는 3개의 CDR 서열, 표 2에 제공된 1개 이상의 FR 서열, 본원에 제공된 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 서열, 및/또는 불변 영역 (예를 들어 Fc 영역)에 1개 이상의 변형 또는 치환을 포함한다. 이러한 항체 변이체는 그의 모 항체의 CD19에 대한 특이적 결합 친화도를 보유하지만, 변형(들) 또는 치환(들)에 의해 부여되는 1개 이상의 바람직한 특성을 갖는다. 예를 들어, 항체 변이체는 개선된 항원-결합 친화도, 개선된 글리코실화 패턴, 감소된 글리코실화 위험, 감소된 탈아미노화, 감소된 또는 고갈된 이펙터 기능(들), 개선된 FcRn 수용체 결합, 증가된 약동학적 반감기, pH 감수성, 및/또는 접합에 대한 상용성 (예를 들어 1개 이상의 도입된 시스테인 잔기)을 가질 수 있다.
- [0215] 모 항체 서열은 변형 또는 치환될 적합한 또는 바람직한 잔기를 확인하기 위해, 관련 기술분야에 공지된 방법, 예를 들어 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"을 사용하여 스크리닝될 수 있다 (예를 들어 문헌 [Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085] 참조). 간략하게, 표적 잔기 (예를 들어 하전된 잔기, 예컨대 Arg, Asp, His, Lys 및 Glu)가 확인되고 중성 또는 음으로 하전된 아미노산 (예를 들어 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체될 수 있으며, 변형된 항체가 생산되고 관심 특성에 대해 스크리닝될 수 있다. 특정한 아미노산 위치에서의 치환이 관심 기능적 변화를 나타내는 경우에, 위치는 변형 또는 치환을 위한 잠재적 잔기로서 확인될 수 있다. 잠재적 잔기는 상이한 유형의 잔기 (예를 들어 시스테인 잔기, 양으로 하전된 잔기 등)로 치환시킴으로써 추가로 평가될 수 있다.
- [0216] 친화성 변이체
- [0217] 친화성 변이체는 표 1에 제공된 바와 같은 1개 이상의 CDR 서열, 표 2에 제공된 1개 이상의 FR 서열, 또는 본원에 제공된 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 서열에 변형 또는 치환을 함유할 수 있다. 친화성 변이체는 모 항체의 CD19에 대한 특이적 결합 친화도를 보유하거나 또는 심지어 모 항체에 비해 개선된 CD19 특이적 결합 친화도를 갖는다. 특정 실시양태에서, CDR 서열, FR 서열 또는 가변 영역 서열 내의 치환(들) 중 적어도 하나 (또는 모두)는 보존적 치환을 포함한다.
- [0218] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 표 1 및 표 2에 제공된 CDR 서열 및 FR 서열에서, 1개 이상의 아미노산 잔기가 치환될 수 있지만, 생성된 항체 또는 항원-결합 단편은 여전히 CD19에 대한 결합 친화도를 보유하거나 또는 심지어 개선된 결합 친화도를 갖는다는 것을 이해할 것이다. 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법을 사용하여

이러한 목적을 달성할 수 있다. 예를 들어, 항체 변이체 (예컨대 Fab 또는 scFv 변이체)의 라이브러리를 생성하고, 파지 디스플레이 기술에 의해 발현시킨 다음, 인간 CD19에 대한 결합 친화도에 대해 스크리닝할 수 있다. 또 다른 예로, 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 인간 CD19에 대한 항체의 결합을 실질적으로 시뮬레이션하고, 결합 계면을 형성하는 항체 상의 아미노산 잔기를 확인할 수 있다. 이러한 잔기는 결합 친화도의 감소를 방지하도록 치환시에 피할 수 있거나 또는 더 강한 결합을 제공하기 위해 치환의 표적으로 할 수 있다.

[0219] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 인간화 항체 또는 항원-결합 단편은 1개 이상의 CDR 서열 및/또는 1개 이상의 FR 서열에 1개 이상의 아미노산 잔기 치환을 포함한다. 특정 실시양태에서, 친화성 변이체는 CDR 서열 및/또는 FR 서열에 총 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 치환을 포함한다.

[0220] 특정 실시양태에서, 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 것 (또는 것들)에 대해 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) 서열 동일성을 갖는 1, 2 또는 3개의 CDR 서열을 포함하고, 한편 그의 모 항체와 유사하거나 그보다 훨씬 더 높은 수준의 CD19에 대한 결합 친화도를 보유한다.

[0221] 특정 실시양태에서, 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 표 2에 열거된 것 (또는 것들)에 대해 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) 서열 동일성을 갖는 1개 이상의 FR 서열을 포함하고, 한편 그의 모 항체와 유사하거나 그보다 훨씬 더 높은 수준의 CD19에 대한 결합 친화도를 보유한다.

[0222] 특정 실시양태에서, 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 106, 서열식별번호: 108, 서열식별번호: 110, 서열식별번호: 112, 서열식별번호: 114, 서열식별번호: 116, 서열식별번호: 118, 서열식별번호: 122, 서열식별번호: 124, 서열식별번호: 128, 서열식별번호: 132, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 104, 서열식별번호: 120, 서열식별번호: 126, 서열식별번호: 130, 서열식별번호: 134에 열거된 것 (또는 것들)에 대해 적어도 80% (예를 들어 적어도 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) 서열 동일성을 갖는 1개 이상의 가변 영역 서열을 포함하고, 한편 그의 모 항체와 유사하거나 그보다 훨씬 더 높은 수준의 CD19에 대한 결합 친화도를 보유한다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 106, 서열식별번호: 108, 서열식별번호: 110, 서열식별번호: 112, 서열식별번호: 114, 서열식별번호: 116, 서열식별번호: 118, 서열식별번호: 122, 서열식별번호: 124, 서열식별번호: 128, 서열식별번호: 132, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 104, 서열식별번호: 120, 서열식별번호: 126, 서열식별번호: 130 및 서열식별번호: 134로부터 선택된 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 또는 결실되었다. 일부 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다.

[0223] 글리코실화 변이체

[0224] 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 또한 항체 또는 항원 결합 단편의 글리코실화 정도를 증가 또는 감소시키기 위해 수득될 수 있는 글리코실화 변이체를 포괄한다.

[0225] 항-CD19 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 탄수화물 모이어티 (예를 들어 올리고사카라이드 구조)가 부착될 수 있는 측쇄를 갖는 1개 이상의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 항체의 글리코실화는 전형적으로 N-연결 또는 O-연결된다. N-연결된 탄수화물 모이어티가 아스파라긴 잔기, 예를 들어 트리펩티드 서열, 예컨대 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌 (여기서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)에서의 아스파라긴 잔기의 측쇄에 부착된 것을 지칭한다. O-연결된 글리코실화는 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 크실로스 중 하나가 히드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 트레오닌에 부착된 것을 지칭한다. 천연 글리코실화 부위의 제거는, 예를 들어 서열 중에 존재하는 상기 기재된 트리펩티드 서열 (N-연결된 글리코실화 부위의 경우) 또는 세린 또는 트레오닌 잔기 (O-연결된 글리코실화 부위의 경우) 중 하나가 치환되도록 아미노산 서열을 변경시킴으로써 편리하게 달성될 수 있다. 새로운 글리코실화 부위는 이러한 트리펩티드 서열 또는 세린 또는 트레오닌 잔기를 도입함으로써 유사한 방식으로 생성될 수 있다.

[0226] 시스테인-조작된 변이체

[0227] 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 또한 1개 이상의 도입된 유리 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 시스테인-조작된 변이체를 포괄한다.

[0228] 유리 시스테인 잔기는 디설피드 가교의 일부가 아닌 것이다. 시스테인 조작된 변이체는 조작된 시스테인의 부위에서, 예를 들어 말레이미드 또는 할로아세틸을 통해, 예를 들어 특히 세포독성 및/또는 영상화 화합물, 표지

또는 방사성동위원소와의 접합에 유용하다. 유리 시스테인 잔기를 도입하기 위해 항체 또는 항원-결합 단편을 조작하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 예를 들어 W02006/034488을 참조한다.

- [0229] Fc 변이체
- [0230] 본원에 제공된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 또한 그의 Fc 영역 및/또는 힌지 영역에서 1개 이상의 아미노산 잔기 변형 또는 치환을 포함하는 Fc 변이체를 포괄한다.
- [0231] 특정 실시양태에서, 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 대한 pH-의존성 결합을 개선시키는 1개 이상의 아미노산 치환(들)을 포함한다. 이러한 변이체는 연장된 약동학적 반감기를 가질 수 있는데, 이는 그것이 리소솜에서의 분해를 피한 다음 전위되어 세포 밖으로 방출되도록 하는 산성 pH에서 FcRn에 결합하기 때문이다. FcRn과의 결합 친화도를 개선시키기 위해 항체 및 그의 항원-결합 단편을 조작하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Vaughn, D. et al., Structure, 6(1): 63-73, 1998; Kontermann, R. et al., Antibody Engineering, Volume 1, Chapter 27: Engineering of the Fc region for improved PK, published by Springer, 2010; Yeung, Y. et al., Cancer Research, 70: 3269-3277 (2010); 및 Hinton, P. et al., J. Immunology, 176:346-356 (2006)]을 참조한다.
- [0232] 특정 실시양태에서, 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 변경시키는 1개 이상의 아미노산 치환(들)을 포함한다. Fc 영역의 CH2 도메인에서의 특정 아미노산 잔기는 치환되어 증진된 ADCC 활성을 제공할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 항체 상의 탄수화물 구조가 변화되어 ADCC 활성을 증진시킬 수 있다. 항체 조작에 의해 ADCC 활성을 변경시키는 방법은 관련 기술분야에 기재되었으며, 예를 들어 문헌 [Shields RL. et al., J Biol Chem. 2001, 276(9): 6591-604; Idusogie EE. et al., J Immunol. 2000, 164(8):4178-84; Steurer W. et al., J Immunol. 1995, 155(3):1165- 74; Idusogie EE. et al., J Immunol. 2001, 166(4): 2571-5; Lazar GA. et al., PNAS, 2006, 103(11): 4005-4010; Ryan MC. et al., Mol. Cancer Ther., 2007, 6: 3009-3018; Richards JO. et al., Mol Cancer Ther. 2008, 7(8): 2517-27; Shields R. L. et al., J. Biol. Chem, 2002, 277: 26733-26740; Shinkawa T. et al., J. Biol. Chem, 2003, 278: 3466-3473]을 참조한다.
- [0233] 특정 실시양태에서, 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들어 C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 개선 또는 감소시킴으로써 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 변경시키는 1개 이상의 아미노산 치환(들)을 포함한다 (예를 들어 Fc 영역 변이체의 다른 예에 관하여 W099/51642; 문헌 [Duncan & Winter Nature 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 번호 5,648,260; 미국 특허 번호 5,624,821; 및 W094/29351 참조).
- [0234] 특정 실시양태에서, 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 이중이량체화를 용이하게 하고/거나 촉진하기 위해 Fc 영역의 계면 내에 1개 이상의 아미노산 치환(들)을 포함한다. 이들 변형은 제1 Fc 폴리펩티드 내로의 돌출부 및 제2 Fc 폴리펩티드 내로의 공동의 도입을 포함하며, 여기서 돌출부는 제1 및 제2 Fc 폴리펩티드의 상호작용을 촉진하여 이중이량체 또는 복합체를 형성하도록 공동 내에 위치될 수 있다. 이들 변형을 갖는 항체를 생성시키는 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 5,731,168에 기재된 바와 같이 관련 기술분야에 공지되어 있다.
- [0235] 항원-결합 단편
- [0236] 또한 항-CD19 항원-결합 단편이 본원에 제공된다. 다양한 유형의 항원-결합 단편이 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 CDR 및 FR 서열이 표 1 및 2에 제시된 것인 예시적인 항체 및 그의 상이한 변이체 (예컨대 친화성 변이체, 글리코실화 변이체, Fc 변이체, 시스테인-조작 변이체 등)를 포함한 본원에 제공된 항-CD19 항체에 기초하여 개발될 수 있다.
- [0237] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항-CD19 항원-결합 단편은 낙타화 단일 도메인 항체, 디아바디, 단일쇄 Fv 단편 (scFv), scFv 이량체, BsFv, dsFv, (dsFv)₂, dsFv-dsFv', Fv 단편, Fab, Fab', F(ab')₂, 이중특이적 항체, ds 디아바디, 나노바디, 도메인 항체, 단일 도메인 항체 또는 2가 도메인 항체이다.
- [0238] 다양한 기술이 이러한 항원-결합 단편의 생산을 위해 사용될 수 있다. 예시적인 방법은 무손상 항체의 효소적 소화 (예를 들어 문헌 [Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992); 및 Brennan et al., Science, 229:81 (1985)] 참조), 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이(E. Coli)에 의한 재조합 발현 (예를 들어 Fab, Fv 및 ScFv 항체 단편의 경우), 상기 논의된 바와 같은 파지 디스플레이 라이브러리로부터의 스크리닝 (예를 들어 ScFv의 경우), 및 F(ab')₂ 단편을 형성하기 위한 2개의 Fab'-SH 단편의 화학적 커플링 (Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992))을 포함한다. 항체 단편의 생산을 위한 다른 기술

은 숙련된 기술자에게 분명할 것이다.

- [0239] 특정 실시양태에서, 항원-결합 단편은 scFv이다. scFv의 생성은, 예를 들어 WO 93/16185; 미국 특허 번호 5,571,894; 및 5,587,458에 기재되어 있다. scFv는 이펙터 단백질에 아미노 또는 카르복시 말단 중 어느 하나에서 융합되어 융합 단백질을 제공할 수 있다 (예를 들어 문헌 [Antibody Engineering, ed. Borrebaeck] 참조).
- [0240] 본원에 제공된 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편은 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 재조합 항체, 이중특이적 항체, 표지된 항체, 2가 항체 또는 항-이디오타입 항체일 수 있다. 재조합 항체는 재조합 방법을 사용하여 동물에서가 아니라 시험관내에서 제조된 항체이다.
- [0241] 특정 실시양태에서, 항체 및 그의 항원-결합 단편은 이중특이적 또는 다가 항체 또는 항체-약물 접합체의 기재로서 사용될 수 있다.
- [0242] 이중특이적 항체, 다가 항체
- [0243] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 2가, 4가, 6가 또는 다가이다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 단일특이적 또는 이중특이적이다.
- [0244] 본원에 사용된 용어 "가"는 주어진 분자 내 명시된 개수의 항원 결합 부위의 존재를 지칭한다. 따라서, 용어 "2가", "4가" 및 "6가"는 항원-결합 분자 내 각각 2개의 결합 부위, 4개의 결합 부위 및 6개의 결합 부위의 존재를 나타낸다. 2가 분자는 2개의 결합 부위가 둘 다 동일한 항원 또는 동일한 에피토프의 특이적 결합에 대한 것인 경우 단일특이적일 수 있다. 유사하게, 3가 분자는, 예를 들어 2개의 결합 부위가 제1 항원 (또는 에피토프)에 대해 단일특이적이고 제3 결합 부위가 제2 항원 (또는 에피토프)에 특이적인 경우 이중특이적일 수 있다.
- [0245] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 동일한 항원 또는 에피토프에 대해 특이적인 적어도 2개의 결합 부위를 갖는, 단일특이적이지만 2가, 3가 또는 4가일 수 있다. 이는 특정 실시양태에서 1가 대응물보다 항원 또는 에피토프에 대한 더 강한 결합을 제공한다. 특정 실시양태에서, 2가 항원-결합 모이머티에서, 제1가의 결합 부위 및 제2가의 결합 부위는 구조적으로 동일하거나 (즉 동일한 서열을 가짐) 또는 구조적으로 상이하다 (즉 동일한 특이성을 갖긴 하지만 상이한 서열을 가짐).
- [0246] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체 및 그의 항원-결합 단편은 이중특이적이다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 이중특이적 항체 및 그의 항원-결합 단편은 CD19에 대한 제1 특이성 및 제2 특이성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제2 특이성은 CD19에 대한 것이지만 상이한 에피토프에 대한 것이다. 일부 실시양태에서, 제2 특이성은 CD19과 상이한 제2 항원에 대한 것이고, 이들이 매우 근접할 때 CD19-발현 표적 세포에 대한 면역 반응을 촉진하거나 용이하게 할 수 있다. 예를 들어, 이중특이적 항체는 CD19-발현 표적 세포를 면역 세포, 예컨대 T 세포 또는 NK 세포에 매우 근접하게 가져가, 이에 따라 면역계에 의한 이러한 표적 세포의 인식 또는 제거를 촉진할 수 있다.
- [0247] 본원에 제공된 이중특이적 항체 및 항원-결합 단편은 관련 기술분야에 공지된 임의의 적합한 방법으로 제조될 수 있다. 통상적인 접근법에서, 상이한 항원 특이성을 갖는 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍을 재조합 방식으로 숙주 세포에서 공동-발현시켜 이중특이적 항체를 생산할 수 있고 (예를 들어 문헌 [Milstein and Cuello, Nature, 305: 537 (1983)] 참조), 이어서 친화도 크로마토그래피에 의해 정제할 수 있다.
- [0248] 2가지 특이성에 대한 항체 중쇄 가변 도메인을 코딩하는 서열을 각각 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열에 융합시키고, 이어서 발현 벡터에 삽입하고, 이를 경쇄 서열에 대한 발현 벡터와 함께 이중특이적 항체의 재조합 발현을 위한 적합한 숙주 세포에 공동-형질감염시키는 재조합 접근법이 또한 사용될 수 있다 (예를 들어 WO94/04690; 문헌 [Suresh et al., Methods in Enzymology, 121:210 (1986)] 참조). 유사하게, scFv 이량체는 또한 숙주 세포로부터 재조합적으로 구축 및 발현될 수 있다 (예를 들어 문헌 [Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)] 참조.)
- [0249] 또 다른 방법에서, Fos 및 Jun 단백질로부터의 류신 지퍼 펩티드는 유전자 융합에 의해 2개의 상이한 항체의 Fab' 부분에 연결될 수 있다. 연결된 항체는 힌지 영역에서 4개의 절반 항체 (즉 단량체)로 환원된 다음 재-산화되어 이중이량체를 형성한다 (Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)).
- [0250] 2개의 항원-결합 도메인은 또한 접합 또는 가교되어 이중특이적 항체 또는 항원-결합 단편을 형성할 수 있다. 예를 들어, 하나의 항체는 비오틴에 커플링될 수 있고 한편 다른 항체는 아비딘에 커플링될 수 있으며, 비오틴과 아비딘 사이의 강한 회합은 2개의 항체를 함께 복합체화하여 이중특이적 항체를 형성한다 (예를 들어 미국

특허 번호 4,676,980; WO 91/00360, WO 92/00373 및 EP 03089 참조). 또 다른 예로, 2개의 항체 또는 항원-결합 단편은, 예를 들어 미국 특허 번호 4,676,980에 개시된 바와 같은 관련 기술분야에 공지된 통상적인 방법에 의해 가교될 수 있다.

[0251] 이중특이적 항원-결합 단편은 이중특이적 항체로부터, 예를 들어 단백질분해적 절단에 의해 또는 화학적 연결에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 항체의 항원-결합 단편 (예를 들어 Fab')을 제조하고, Fab'-티올 유도체로 전환시킨 다음, 상이한 항원 특이성을 갖는 또 다른 전환된 Fab' 유도체와 혼합 및 반응시켜 이중특이적 항원-결합 단편을 형성할 수 있다 (예를 들어 문헌 [Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)] 참조).

[0252] 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 2개의 상이한 항원-결합 부위의 이중이량체화를 촉진하기 위해 노브-인트루-홀 회합이 형성될 수 있도록 계면에서 조작될 수 있다. 본원에 사용된 "노브-인트루-홀"은, 하나의 폴리펩티드는 벌키 측쇄를 갖는 아미노산 잔기 (예를 들어 티로신 또는 트립토판)의 존재로 인해 돌출부 (즉 "노브")를 갖고, 다른 폴리펩티드는 작은 측쇄 아미노산 잔기 (예를 들어 알라닌 또는 트레오닌)가 존재하는 공동 (즉 "홀")을 갖고, 돌출부는 2개의 폴리펩티드의 상호작용을 촉진하여 이중이량체 또는 복합체를 형성하도록 공동 내에 위치가능한 것인, 2개의 폴리펩티드 (예컨대 Fc) 사이의 상호작용을 지칭한다. 노브-인트루-홀을 갖는 폴리펩티드를 생성하는 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 5,731,168에 기재된 바와 같이 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0253] 접합체

[0254] 일부 실시양태에서, 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편은 접합체에 연결된다. 접합체는 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 부착될 수 있는 비-단백질성 모이어티이다. 다양한 접합체가 본원에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에 연결될 수 있는 것으로 고려된다 (예를 들어 문헌 ["Conjugate Vaccines", Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr. (eds.), Carger Press, New York, (1989)] 참조). 이들 접합체는 다른 방법들 중에서 공유 결합, 친화성 결합, 삽입, 배위 결합, 복합체화, 회합, 블렌딩 또는 부가에 의해 항체 또는 항원-결합 단편에 연결될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 링커를 통해 1종 이상의 접합체에 연결된다. 특정 실시양태에서, 링커는 히드라존 링커, 디술피드 링커, 이관능성 링커, 디펩티드 링커, 글루쿠로니드 링커, 티오에테르 링커이다.

[0255] 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 1종 이상의 접합체에 대한 결합에 이용될 수 있는, 에피토프 결합 부분 외부의 특정 부위를 함유하도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 이러한 부위는 1개 이상의 반응성 아미노산 잔기, 예컨대 예를 들어 시스테인 또는 히스티딘 잔기를 포함하여, 접합체와의 공유 연결을 용이하게 할 수 있다.

[0256] 접합체는 치료제 (예를 들어 화학요법제), 방사성 동위원소, 검출가능한 표지 (예를 들어 란타나이드, 발광 표지, 형광 표지 또는 효소-기질 표지), 약동학 조절 모이어티, 또는 정제 모이어티 (예컨대 자기 비드 또는 나노입자)일 수 있다.

[0257] 검출가능한 표지의 예는 형광 표지 (예를 들어 플루오레세인, 로다민, 단실, 피코에리트린 또는 텍사스 레드), 효소-기질 표지 (예를 들어 양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 루시페라제, 글루코아미라제, 리소자임, 사카라이드 옥시다제 또는 β -D-갈락토시다제), 방사성동위원소, 다른 란타나이드, 발광 표지, 발색단 모이어티, 디곡시게닌, 비오틴/아비딘, DNA 분자 또는 검출용 금속을 포함할 수 있다.

[0258] 방사성동위원소의 예는 ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^3H , ^{111}In , ^{112}In , ^{14}C , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{86}Y , ^{88}Y , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{211}At , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi 및 ^{32}P 를 포함할 수 있다. 방사성동위원소 표지된 항체가 수용체 표적화된 영상화 실험에서 유용하다.

[0259] 특정 실시양태에서, 접합체는 항체의 반감기를 증가시키는 것을 돕는 약동학 조절 모이어티, 예컨대 PEG일 수 있다. 다른 적합한 중합체는, 예컨대 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체 등을 포함한다.

[0260] 특정 실시양태에서, 접합체는 정제 모이어티, 예컨대 자기 비드 또는 나노입자일 수 있다.

[0261] 항체-약물 접합체

[0262] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 세포독성제, 예컨대 화학요법제, 약물, 성장 억제제, 독소 또는 방사성 동위원소 (즉, 방사성접합체)에 접합된 임의의 상기 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하는 항체-약물 접합

체 (ADC)를 제공한다.

- [0263] 항체-약물 접합체는, 예를 들어 암의 치료에서 세포독성제의 국부 전달에 유용할 수 있다. 이는 세포독성제의 종양으로의 표적화된 전달 및 그 안의 세포내 축적을 가능하게 하며, 이는 접합되지 않은 이들 세포독성제의 전신 투여가 제거하고자 하는 정상 세포뿐만 아니라 종양 세포에 대해 허용될 수 없는 수준의 독성을 초래할 수 있는 경우에 특히 유용하다 (문헌 [Baldwin et al., (1986) Lancet pp. (Mar. 15, 1986):603-05; Thorpe, (1985) "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, A. Pinchera et al. (ed.s), pp. 475-506; Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614; Niculescu-Duvaz and Springer (1997) Adv. Drg Del. Rev. 26:151-172]; 미국 특허 번호 4,975,278 참조).
- [0264] 특정 실시양태에서, 세포독성제는 세포에 유해하거나 또는 세포를 손상 또는 사멸시킬 수 있는 임의의 작용제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포독성제는 임의로 세포독소, DNA-알킬화제, 토포이소머라제 억제제, 튜불린-결합제 또는 다른 항암 약물이다.
- [0265] 효소적으로 활성화된 세포독소의 예는 박테리아 독소 및 식물 독소, 예컨대 예를 들어 디프테리아 독소, 외독소 A 쉐 (슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa)로부터의 것), 리신, 아브린, 모데신, 알파-사르신, 알레우리테스 포르이디(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(Phytolaca americana) 단백질 (PARI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(momordica charantia) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(sapaonaria officinalis) 억제제, 겔로닌, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트리코테센 (예를 들어 WO 93/21232 참조)을 포함한다. 이러한 거대 분자 독소는, 예를 들어 문헌 [Vitetta et al. (1987) Science, 238:1098]에 기재된 바와 같은 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 본원에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에 접합될 수 있다.
- [0266] 세포독성제는 또한 소분자 독소 및 약물, 예컨대 겔다나마이신 (Mandler et al. (2000) Jour. of the Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581; Mandler et al. (2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791), 메이탄시노이드 (EP 1391213; Liu et al., (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623), 칼리케아미신 (Lode et al. (1998) Cancer Res. 58:2928; Hinman et al. (1993) Cancer Res. 53:3336-3342), 탁솔, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 브로민화에티뮴, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈테신, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시아트라신디온, 미복산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-테히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 푸로마이신 및 그의 유사체, 항대사물 (예를 들어 메토폭세이트, 6-메르캅토피린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카르바진), 알킬화제 (예를 들어 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴 (BSNU) 및 로무스틴 (CCNU), 시클로포스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 및 시스-디클로로디아민 백금 (II) (DDP) 시스플라틴), 안트라시클린 (예를 들어 다우노루비신 (이전에 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제 (예를 들어 악티노마이신 (이전에 악티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신 (AMC)), 및 항유사분열제 (예를 들어 빈크리스틴 및 빈블라스틴), 칼리케아미신, 메이탄시노이드, 돌라스타틴, 아우리스타틴, 트리코테센, 및 CC1065, 및 세포독성 활성을 갖는 그의 유도체일 수 있다.
- [0267] 세포독성제는 또한 고도로 방사성인 동위원소일 수 있다. 예는 At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 방사성동위원소를 항체에 접합시키는 방법, 예를 들어 적합한 리간드 시약을 통한 것이 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어 WO94/11026; 문헌 [Current Protocols in Immunology, Volumes 1 and 2, Coligen et al., Ed. Wiley-Interscience, New York, N.Y., Pubs. (1991)] 참조). 리간드 시약은 방사성동위원소 금속에 결합하거나, 이를 킬레이트화하거나 또는 달리 이와 착물을 형성할 수 있는 킬레이트화 리간드를 갖고, 또한 항체 또는 항원-결합 단편의 시스테인의 티올과 반응성인 관능기를 갖는다. 예시적인 킬레이트화 리간드는 DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA 및 TETA (마크로시클릭(Macrocyclics), 텍사스주 달라스)를 포함한다.
- [0268] 본원에 제공된 항체 (또는 항원-결합 단편) 및 세포독성제의 접합체는 다양한 이관능성 단백질 연결제를 사용하여 제조될 수 있다. 예시적인 이관능성 연결 시약은, 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카복실레이트 (SMCC), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대 비스 (p-아지도벤조일) 핵산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대 톨루엔 2,6-

다이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 포함한다.

- [0269] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 ADC는 BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPRH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술폰-EMCS, 술폰-GMBS, 술폰-KMUS, 술폰-MBS, 술폰-SIAB, 술폰-SMCC, 및 술폰-SMPB, 및 SVSG (숙신이미딜-(4-비닐술폰)벤조에이트)로 이루어진 군으로부터 선택된 링커 시약을 사용하여 제조된다. 이러한 링커 시약은 상업적으로 입수가능하다 (예를 들어 미국 일리노이주 록포드 소재의 피어스 바이오테크놀로지, 인크.(Pierce Biotechnology, Inc.)로부터, 문헌 [pages 467-498, 2003-2004 Applications Handbook and Catalog] 참조).
- [0270] 특정 실시양태에서, 링커는 특정한 생리학적 환경 하에 절단가능하여, 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 한다. 예를 들어, 링커는 산-불안정성 링커, 펩티다제-민감성 링커, 광불안정성 링커, 디메틸 링커 또는 디술폰-함유 링커일 수 있다 (문헌 [Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)]; 미국 특허 번호 5,208,020). 일부 실시양태에서, 링커는 아미노산 잔기, 예컨대 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드 또는 펜타펩티드를 포함할 수 있다. 링커 내의 아미노산 잔기는 자연 또는 비-자연 발생 아미노산 잔기일 수 있다. 이러한 링커의 예는 발린-시트룰린 (ve 또는 val-cit), 알라닌-페닐알라닌 (af 또는 ala-phe), 글리신-발린-시트룰린 (gly-ylal-cit), 글리신-글리신-글리신 (gly-gly-gly), 발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카르보닐 ("vc-PAB")을 포함한다. 아미노산 링커 성분은 특정한 효소, 예를 들어 종양-연관 프로테아제, 카텝신 B, C 및 D, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소적 절단에 대한 그의 선택성에 있어서 설계 및 최적화될 수 있다.
- [0271] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 ADC에서, 항체 (또는 항원-결합 단편)는 1종 이상의 세포독성제에 약 1 내지 약 20, 약 1 내지 약 6, 약 2 내지 약 6, 약 3 내지 약 6, 약 2 내지 약 5, 약 2 내지 약 4, 또는 약 3 내지 약 4의 항체:작용제 비로 접합된다.
- [0272] 본원에 제공된 ADC는 관련 기술분야에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체 (또는 항원-결합 단편)의 친핵성 기를 먼저 이관능성 링커 시약과 반응시킨 다음 세포독성제에 연결하거나, 또는 다른 방식으로, 즉, 먼저 세포독성제의 친핵성 기를 이관능성 링커와 반응시킨 다음 항체에 연결한다.
- [0273] 특정 실시양태에서, 세포독성제는 본원에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편의 유리 시스테인의 시스테인 티올과 반응할 수 있는 티올 반응성 관능기를 함유할 수 있다 (또는 함유하도록 변형될 수 있다). 예시적인 티올-반응성 관능기는, 예를 들어 말레이미드, 아이오도아세트아미드, 피리딜 디술폰, 할로아세틸, 숙신이미딜 에스테르 (예를 들어 NHS, N-히드록시숙신이미드), 이소티오시아네이트, 술폰일 클로라이드, 2,6-디클로로트리아지닐, 펜타플루오로페닐 에스테르 또는 포스포르아미다이트를 포함한다 (Haugland, 2003, Molecular Probes Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes, Inc.; Brinkley, 1992, Bioconjugate Chem. 3:2; Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, London; Means (1990) Bioconjugate Chem. 1:2; Hermanson, G. in Bioconjugate Techniques (1996) Academic Press, San Diego, pp. 40-55, 643-671).
- [0274] 세포독성제 또는 항체는 연결 시약과 반응한 후에 접합되어 ADC를 형성할 수 있다. 예를 들어, 세포독성제의 N-히드록시숙신이미딜 에스테르 (NHS)는 사전형성, 단리, 정제 및/또는 특정화될 수 있거나, 또는 이는 계내에서 형성되고 항체의 친핵성 기와 반응할 수 있다. 전형적으로, 접합체의 카르복실 형태는 카르보디이미드 시약, 예를 들어 디시클로헥실카르보디이미드; 다이소프로필 카르보디이미드, 또는 우로늄 시약, 예를 들어 TsTu (O--((N-숙신이미딜)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트, HBTU (O-벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트) 또는 HATU (O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트), 활성화제, 예컨대 1-히드록시벤조트리아졸 (HOBt), 및 N-히드록시숙신이미드의 일부 조합과의 반응에 의해 활성화되어 NHS 에스테르를 제공한다. 일부 경우에, 세포독성제 및 항체는 한 단계로 계내 활성화 및 반응에 의해 연결되어 ADC를 형성할 수 있다. 다른 활성화 및 연결 시약은 TBTU (2-(1H-벤조트리아조-1-일)-1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트), TFFH (N,N',N'',N'''-테트라메틸우로늄 2-플루오로-헥사플루오로포스페이트), PyBOP (벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스-피롤리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트), EEDQ (2-에톡시-1-에톡시카르보닐-1,2-디히드로-퀴놀린), DCC (디시클로헥실카르보디이미드); DIPCDI (다이소프로필카르보디이미드), MSNT (1-(메틸렌-2-술폰일)-3-니트로-1H-1,2,4-트리아졸, 및 아릴 술폰일 할라이드, 예를 들어 트리이소프로필벤젠술폰일 클로라이드를 포함한다. 또 다른 예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 비오틴에 접합된 다음, 아비딘에 접합된 제2 접합체에 간접적으로 접합될 수 있다.
- [0275] 메이탄신 및 메이탄시노이드

- [0276] 한 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 1개 이상의 메이탄시노이드 분자에 접합된다. 메이탄시노이드는 튜블린 중합을 억제함으로써 작용하는 유사분열 억제제이다.
- [0277] 메이탄시노이드 약물 모이어티로서 사용하기에 적합한 메이탄신 화합물 (예컨대 메이탄시놀 및 C-3 메이탄시놀 에스테르)은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 공지된 방법에 따라 천연 공급원으로부터 단리될 수 있거나, 유전 공학 기술을 사용하여 생산될 수 있거나 (문헌 [Yu et al. (2002) PNAS 99:7968-7973] 참조), 또는 메이탄시놀 및 메이탄시놀 유사체는 공지된 방법에 따라 합성적으로 제조될 수 있다 (예를 들어 미국 특허 번호 4,137,230; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428; 4,313,946; 4,315,929; 4,317,821; 4,322,348; 4,331,598; 4,361,650; 4,364,866; 4,424,219; 4,450,254; 4,362,663; 및 4,371,533 참조).
- [0278] 적합한 메이탄시노이드는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,208,020 및 본원에 참조된 다른 특허 및 비특허 간행물에 개시되어 있다. 예시적인 메이탄시노이드는 메이탄시놀 및 메이탄시놀 분자의 방향족 고리 또는 다른 위치에서 변형된 메이탄시놀 유사체이며, 예를 들어 C-49-테클로로 (미국 특허 번호 4,256,746); C-20-히드록시 (또는 C-20-테메틸) +/-C-19-테클로로 (미국 특허 번호 4,361,650 및 4,307,016); C-20-테메톡시, C-20-아실옥시 (-OCOR), +/-테클로로 (미국 특허 번호 4,294,757), C-9-SH (미국 특허 번호 4,424,219); C-14-알콕시메틸(테메톡시/CH₂OR) (미국 특허 번호 4,331,598); C-14-히드록시메틸 또는 아실옥시메틸 (CH₂OH 또는 CH₂OAc) (미국 특허 번호 4,450,254); C-15-히드록시/아실옥시 (미국 특허 번호 4,364,866); C-15-메톡시 (미국 특허 번호 4,313,946 및 4,315,929); C-18-N-테메틸 (미국 특허 번호 4,362,663 및 4,322,348); 및 4,5-테옥시 (미국 특허 번호 4,371,533)를 참조한다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체에 접합된 메이탄시노이드는 DM1 (N2'-테아세틸-N2'-(3-메르캅토-1-옥소프로필)-메이탄신), 또는 DM4 (N2'-테아세틸-N2'-(4-메르캅토-4-메틸-1-옥소펜틸)-6-메틸메이탄신)이다.
- [0279] 항-CD19 항체-메이탄시노이드 접합체는 항체 또는 메이탄시노이드 분자의 생물학적 활성을 유의하게 감소시키지 않으면서 항체를 메이탄시노이드 분자에 화학적으로 연결시킴으로써 제조될 수 있다. 예를 들어 미국 특허 번호 5,208,020 (이의 개시내용은 본원에 명백하게 참조로 포함됨)을 참조한다. 특정 실시양태에서, 항체의 기능 또는 용해도에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 항체 분자당 평균 1 내지 4개, 2 내지 4개 또는 3 내지 4개의 메이탄시노이드 분자가 접합된다.
- [0280] 메이탄시노이드 모이어티는 관련 기술분야에 공지된 임의의 적합한 링커를 통해 항체 또는 항원-결합 단편에 연결될 수 있으며, 예를 들어 미국 특허 번호 5,208,020, 6,441,163, 또는 EP 특허 0 425 235 B1, 문헌 [Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)], 및 US 2005/0169933 A1 (이들의 개시내용은 본원에 명백하게 참조로 포함됨)을 참조한다. 본원에 제공된 ADC에서의 링커는 디설피드 기, 티오에테르 기, 산 불안정성 기, 광 불안정성 기, 펩티다제 불안정성 기 또는 에스테라제 불안정성 기를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 ADC에서의 링커는 이관능성 단백질 커플링제, 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리디디티오) 프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카르복실레이트 (SMCC), N-숙신이미딜-4-(2-피리디티오)펜타노에이트 (SPP), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대 비스 (p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)이다.
- [0281] 링커는 연결의 유형에 따라 메이탄시노이드 분자에 다양한 위치에서 부착될 수 있다. 예를 들어, 에스테르 연결은 통상적인 커플링 기술을 사용하여 히드록실 기와의 반응에 의해 형성될 수 있다. 반응은 히드록실 기를 갖는 C-3 위치, 히드록시메틸로 변형된 C-14 위치, 히드록실 기로 변형된 C-15 위치, 및 히드록실 기를 갖는 C-20 위치에서 일어날 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 연결은 메이탄시놀 또는 메이탄시놀 유사체의 C-3 위치에서 형성된다.
- [0282] 아우리스타틴 및 돌로스타틴
- [0283] 한 실시양태에서, 본원에 제공된 임의의 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 1개 이상의 돌로스타틴, 돌로스타틴 펩티드 유사체 및 유도체, 또는 아우리스타틴에 접합된다 (미국 특허 번호 5,635,483; 5,780,588). 돌로스타틴 및 아우리스타틴은, 아마도 미세관 역학, GTP가수분해, 및 핵 및 세포 분열에 의한 간섭에 의해 항암 및 항진균 활성을 갖는다 (예를 들어 미국 특허 번호 5,663,149; 문헌 [Pettit et al. (1998) Antimicrob. Agents

Chemother. 42:2961-2965; Woyke et al. (2001) Antimicrob. Agents and Chemother. 45(12):3580-3584] 참조).

- [0284] 예시적인 아우리스타틴은 MMAE 및 MMAF를 포함한다. 아우리스타틴/돌라스타틴 약물 모이어티는 US 2005/0238649; 미국 특허 번호 5,635,483; 미국 특허 번호 5,780,588; 문헌 [Pettit et al. (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit et al. (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G. R., et al. Synthesis, 1996, 719-725; Pettit et al. (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5:859-863; 및 Doronina (2003) Nat Biotechnol 21(7):778-784]의 방법에 따라 제조될 수 있다.
- [0285] 돌라스타틴 또는 아우리스타틴 약물 모이어티는 펩티드성 약물 모이어티의 N (아미노) 말단 또는 C (카르복실) 말단을 통해 항체에 부착될 수 있다 (WO 02/088172).
- [0286] 키메라 항원 수용체 (CAR) 조성물
- [0287] 본 개시내용은 또한 CD19에 특이적으로 결합하는 본원에 제공된 항체의 항원 결합 단편 및 T-세포 활성화 모이어티를 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 제공한다. 일부 실시양태에서, T-세포 활성화 모이어티는 TCR의 천연 T-세포 활성화 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, T-세포 활성화 모이어티는 TCR의 막횡단 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0288] 항원 결합 단편
- [0289] 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 임의의 1종 이상의 본원에 제공된 항체로부터 유래된 항원 인식 도메인을 포함하지만 이에 제한되지 않는, CD19에 결합하는 임의의 단편일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 CAR이 궁극적으로 사용될 동일한 종으로부터 유래된 것이 유익하다. 예를 들어, 인간에서 사용하기 위해서는, CAR에 사용된 항원 결합 단편이 인간 항체 또는 인간화 항체로부터 유래된 것이 유익할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은 단일쇄 가변 단편 (scFv)이다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편은, 예를 들어 Fv, Fab 및 (Fab')₂, 뿐만 아니라 이관능성 (즉 이중특이적) 하이브리드 항체 단편을 포함한 다양한 다른 형태로 존재할 수 있다 (예를 들어 문헌 [Lanzavecchia et al., Eur. J. Immunol. 17, 105 (1987)]).
- [0290] 막횡단 도메인
- [0291] 막횡단 도메인과 관련하여, 다양한 실시양태에서, CAR은 CAR의 세포의 도메인에 융합된 막횡단 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 실시양태에서, CAR 내의 도메인들 중 하나와 자연적으로 회합된 막횡단 도메인이 사용된다. 일부 경우에, 막횡단 도메인은 이러한 도메인이 동일한 또는 상이한 표면 막 단백질의 막횡단 도메인에 결합하는 것을 피하여 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하기 위해 아미노산 치환에 의해 선택 또는 변형될 수 있다.
- [0292] 막횡단 도메인은 천연 또는 합성 공급원으로부터 유래될 수 있다. 공급원이 천연인 경우, 도메인은 임의의 막-결합 또는 막횡단 단백질로부터 유래될 수 있다. 본 발명에서 특히 사용하기 위한 막횡단 영역은 T-세포 수용체, CD28, CD3엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154의 알파, 베타 또는 제타 쇠로부터 유래될 수 있다 (즉 이들의 적어도 막횡단 영역(들)을 포함할 수 있다). 일부 경우에, 인간 Ig (이뮤노글로불린) 힌지를 포함한 다양한 인간 힌지가 또한 사용될 수 있다.
- [0293] 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 합성일 수 있고, 이 경우에 우세하게는 소수성 잔기, 예컨대 류신 및 발린을 포함할 것이다. 한 측면에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체가 합성 막횡단 도메인의 각각의 말단에 서 발견될 것이다. 임의로, 2 내지 10개 아미노산 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커가 CAR의 막횡단 도메인과 세포질 신호전달 도메인 사이의 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체가 특히 적합한 링커를 제공한다.
- [0294] 신호 전달 도메인
- [0295] 본 개시내용의 CAR의 신호 전달 도메인은 CAR이 배치된 T 세포의 정상 TCR 이펙터 기능 중 적어도 하나의 활성화를 담당한다. T 세포의 TCR 이펙터 기능은, 예를 들어 시토카인의 분비를 포함한 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다. 따라서, 용어 "신호 전달 도메인"은 TCR 이펙터 기능 신호를 전달하고 T 세포가 특수한 기능을 수행하도록 지시하는 단백질의 부분을 지칭한다. 통상적으로 전체 세포내 신호 전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에 전체 쇠를 사용할 필요는 없다. 세포내 신호 전달 도메인의 말단절단된 부분이 사용되는 정도까지, 이러한 말단절단된 부분은 이펙터 기능 신호를 전달하는 한 무손상 쇠 대신에 사용될 수 있다.

따라서, 용어 세포내 신호전달 도메인은 TCR 이펙터 기능 신호를 전달하기에 충분한 세포내 신호 전달 도메인의 임의의 말단절단된 부분을 포함하는 것으로 의도된다.

- [0296] 본 개시내용의 CAR에서 사용하기 위한 세포내 신호전달 도메인의 예는 항원 수용체 결속 후 신호 전달을 개시하도록 협력하여 작용하는 T 세포 수용체 (TCR) 및 공동-수용체의 세포질 서열, 뿐만 아니라 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 동일한 기능적 능력을 갖는 임의의 합성 서열을 포함한다.
- [0297] TCR 단독을 통해 생성된 신호는 T 세포의 전체 활성화를 위해서는 불충분하고 2차 또는 공동-자극 신호가 또한 요구되는 것으로 공지되어 있다. 따라서, T 세포 활성화는 하기 2가지 별개 부류의 세포질 신호전달 서열에 의해 매개되는 것으로 언급될 수 있다: TCR을 통해 항원-의존성 1차 활성화를 개시하는 것 (1차 세포질 신호전달 서열) 및 항원-비의존성 방식으로 작용하여 2차 또는 공동-자극 신호를 제공하는 것 (2차 세포질 신호전달 서열).
- [0298] 1차 세포내 신호 전달 서열은 자극 방식으로 또는 억제 방식으로 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포내 신호전달 서열은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 함유할 수 있다.
- [0299] 본 발명에서 특히 사용되는 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로부터 유래된 것을 포함한다. 본 발명의 CAR에서의 세포질 신호전달 분자는 CD3-제타로부터 유래된 세포질 신호전달 서열을 포함하는 것이 특히 바람직하다.
- [0300] 바람직한 실시양태에서, CAR의 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타 신호전달 도메인을 그 자체로 포함하거나 또는 본 개시내용의 CAR과 관련하여 유용한 임의의 다른 목적하는 세포질 도메인(들)과 조합하여 포함하도록 설계된다. 예를 들어, CAR의 세포내 신호전달 도메인은 CD3 제타쇄 부분 및 공동자극 신호전달 영역을 포함할 수 있다. 공동자극 신호전달 영역은 공동자극 분자의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 일부분을 지칭한다. 공동자극 분자는 항원에 대한 림프구의 효율적인 반응에 요구되는, 항원 수용체 또는 그의 리간드 이외의 세포 표면 분자이다. 이러한 분자의 예는 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, 림프구 기능-연관 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드 등을 포함한다. CD3 제타쇄 부분 및 공동자극 신호전달 영역은 무작위로 또는 명시된 순서로 서로 연결될 수 있다. 임의로, 예를 들어 2 내지 10개 아미노산 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커가 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체가 특히 적합한 링커를 제공한다.
- [0301] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 항체의 항원 결합 단편을 코딩하는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열 및 임의로 TCR의 막횡단 도메인 및 세포내 신호 전달 도메인을 코딩하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 본원에 제공된 CAR을 코딩하는 핵산 서열을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 단편을 코딩하는 서열은 TCR의 막횡단 도메인 및 신호 전달 도메인을 코딩하는 서열에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 신호 전달은 공동자극 신호전달 영역 및/또는 CD3 제타쇄 부분을 포함한다. 목적하는 분자를 코딩하는 핵산 서열은 관련 기술분야에 공지된 재조합 방법을 사용하여, 예컨대, 예를 들어 유전자를 발현하는 세포로부터 라이브러리를 스크리닝함으로써, 그를 포함하는 것으로 공지된 벡터로부터 유전자를 유도함으로써, 또는 표준 기술을 사용하여 그를 함유하는 세포 및 조직으로부터 직접 분리함으로써 획득될 수 있다. 대안적으로, 관심 유전자는 클로닝되기보다는 합성적으로 생산될 수 있다.
- [0302] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 CAR을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 세포 내로 직접적으로 형질도입될 수 있는 본 개시내용의 CAR을 발현하는 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 구축물, 또는 세포 내로 직접적으로 형질감염될 수 있는 RNA 구축물이다.
- [0303] 한 측면에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 CAR을 발현하는 분리된 숙주 세포를 제공한다.
- [0304] 한 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 유효량의 본원에 제공된 CAR을 발현하는 T 세포를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 CD19-발현 표적에 대한 T 세포-매개 면역 반응을 자극하는 방법을 추가로 제공한다.
- [0305] 폴리뉴클레오타이드 및 재조합 방법
- [0306] 본 개시내용은 항-CD19 항체 및 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 분리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 특정 실시양태에서, 분리된 폴리뉴클레오타이드는 예시적인 항체의 가변 영역을 코딩하는 서열식별번호: 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133 및/또는 135에 제시

된 바와 같은 1개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA는 통상적인 절차를 사용하여 (예를 들어 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하여) 용이하게 단리되고 서열분석된다. 코딩 DNA는 또한 합성 방법에 의해 수득될 수 있다.

[0307] 항-CD9 항체 및 그의 항원-결합 단편을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어 서열식별번호: 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133 및/또는 135에 제시된 바와 같은 서열 포함)는 관련 기술분야에 공지된 재조합 기술을 사용하여 추가의 클로닝 (DNA의 증폭) 또는 발현을 위해 벡터 내로 삽입될 수 있다. 많은 벡터들이 이용가능하다. 벡터 성분은 일반적으로 신호 서열, 복제 기점, 1종 이상의 마커 유전자, 인핸서 요소, 프로모터 (예를 들어 SV40, CMV, EF-1 α) 및 전사 종결 서열 중 하나 이상을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0308] 일부 실시양태에서, 벡터 시스템은 포유동물, 박테리아, 효모 시스템 등을 포함하며, 플라스미드, 예컨대 이에 제한되지는 않지만, pALTER, pBAD, pcDNA, pCal, pL, pET, pGEMEX, pGEX, pCI, pCMV, pEGFP, pEGFT, pSV2, pFUSE, pVITRO, pVIVO, pMAL, pMD18-T, pMONO, pSELECT, pUNO, pDUO, Psg5L, pBABE, pWPXL, pBI, p15TV-L, pPro18, pTD, pRS420, pLexA, pACT2.2 등 및 다른 실험실용 및 상업적으로 입수가능한 벡터를 포함한다. 적합한 벡터는 플라스미드 또는 바이러스 벡터 (예를 들어 복제 결손 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)를 포함할 수 있다.

[0309] 항체 또는 항원-결합 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터는 클로닝 또는 유전자 발현을 위해 숙주 세포에 도입될 수 있다. 본원에서 벡터 내의 DNA를 클로닝 또는 발현시키는데 적합한 숙주 세포는 상기 기재된 원핵생물, 효모 또는 고등 진핵 세포이다. 이러한 목적에 적합한 원핵생물은 유박테리아, 예컨대 그람-음성 또는 그람-양성 유기체, 예를 들어 엔테로박테리아세아에(Enterobacteriaceae), 예컨대 에스케리키아(Escherichia), 예를 들어 이. 콜라이(E. coli), 엔테로박터(Enterobacter), 에르위니아(Erwinia), 클레브시엘라(Klebsiella), 프로테우스(Proteus), 살모넬라(Salmonella), 예를 들어 살모넬라 티피무리움(Salmonella typhimurium), 세라티아(Serratia), 예를 들어 세라티아 마르세스칸스(Serratia marcescans), 및 시겔라(Shigella), 뿐만 아니라 바실루스(Bacilli), 예컨대 비. 서브틸리스(B. subtilis) 및 비. 리케니포르미스(B. licheniformis), 슈도모나스(Pseudomonas), 예컨대 피. 아에루기노사(P. aeruginosa), 및 스트렙토미세스(Streptomyces)를 포함한다.

[0310] 원핵생물 이외에도, 진핵 미생물, 예컨대 사상 진균 또는 효모가 항-CD19 항체-코딩 벡터에 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 사카로미세스 세레비지아에(Saccharomyces cerevisiae) 또는 통상의 빵 효모가 하등 진핵 숙주 미생물 중에서 가장 흔히 사용된다. 그러나, 다수의 다른 속, 종 및 균주, 예컨대 쉬조사카로미세스 폼베(Schizosaccharomyces pombe); 클루이베로미세스(Kluyveromyces) 숙주, 예컨대, 예를 들어 케이. 락티스(K. lactis), 케이. 프라길리스(K. fragilis) (ATCC 12,424), 케이. 불가리쿠스(K. bulgaricus) (ATCC 16,045), 케이. 위케라미이(K. wickerhamii) (ATCC 24,178), 케이. 왈티이(K. waltii) (ATCC 56,500), 케이. 드로소필라룸(K. drosophilorum) (ATCC 36,906), 케이. 써모톨레란스(K. thermotolerans), 및 케이. 마르시아누스(K. marxianus); 야로위아(yarrowia) (EP 402,226); 피키아 파스토리스(Pichia pastoris) (EP 183,070); 칸디다(Candida); 트리코더마 레에시아(Trichoderma reesia) (EP 244,234); 뉴로스포라 크라사(Neurospora crassa); 슈완니오미세스(Schwanniomyces), 예컨대 슈완니오미세스 옥시덴탈리스(Schwanniomyces occidentalis); 및 사상 진균, 예컨대, 예를 들어 뉴로스포라(Neurospora), 페니실륨(Penicillium), 톨리포클라디움(Tolypocladium), 및 아스페르길루스(Aspergillus) 숙주, 예컨대 에이. 니둘란스(A. nidulans) 및 에이. 니거(A. niger)가 흔히 이용가능하고 본원에 유용하다.

[0311] 본원에 제공된 글리코실화 항체 또는 항원-단편의 발현에 적합한 숙주 세포는 다세포 유기체로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 수많은 바칼로바이러스 균주 및 변이체, 및 숙주로부터의 상응하는 허용되는 곤충 숙주 세포, 예컨대 스포도프테라 프루기페르다(Spodoptera frugiperda) (모충), 아에테스 아에집티(Aedes aegypti) (모기), 아에테스 알보픽투스(Aedes albopictus) (모기), 드로소필라 멜라노가스터(Drosophila melanogaster) (과실파리), 및 봄빅스 모리(Bombyx mori)가 확인되었다. 형질감염을 위한 다양한 바이러스 균주, 예를 들어 아우토그라파 칼리포르니카(Autographa californica) NPV의 L-1 변이체 및 봄빅스 모리(Bombyx mori) NPV의 Bm-5 균주가 종종 이용가능하고, 이러한 바이러스는 특히 스포도프테라 프루기페르다 세포의 형질감염을 위해 본 발명에 따라 본원에서의 바이러스로서 사용될 수 있다. 목화, 옥수수, 감자, 대두, 페튜니아, 토마토 및 담배의 식물 세포 배양물이 또한 숙주로서 이용될 수 있다.

[0312] 그러나, 척추동물 세포에 가장 큰 관심이 있었고, 배양물 (조직 배양물) 중에서의 척추동물 세포의 증식은 상용

절차가 되었다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주 (현탁 배양에서의 성장을 위해 서브클로닝된 293 또는 293 세포, [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]); 새끼 햄스터 신장 세포 (BHK, ATCC CCL 10); 차이니스 햄스터 난소 세포/-DHFR (CHO, [Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)]); 마우스 세르톨리 세포 (TM4, [Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)]); 원숭이 신장 세포 (CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포 (MDCK, ATCC CCL 34); 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포 (Hep G2, HB 8065); 마우스 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51); TRI 세포 (Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); MRC 5 세포; FS4 세포; 및 인간 간세포암 세포주 (Hep G2)이다. 일부 바람직한 실시양태에서, 숙주 세포는 293F 세포이다.

[0313] 숙주 세포는 항-CD19 항체 생산을 위해 상기 기재된 발현 또는 클로닝 벡터로 형질전환되고, 프로모터의 유도, 형질전환체의 선택 또는 목적하는 서열을 코딩하는 유전자의 증폭에 적절하도록 변형된 통상적인 영양 배지에서 배양된다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 관련 기술분야에 공지된 상동 재조합에 의해 생산될 수 있다.

[0314] 본원에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편을 생산하기 위해 사용되는 숙주 세포는 다양한 배지에서 배양될 수 있다. 상업적으로 입수가 가능한 배지, 예컨대 햄 F10 (시그마(Sigma)), 최소 필수 배지 (MEM) (시그마), RPMI-1640 (시그마) 및 둘베코 변형 이글 배지 (DMEM) (시그마)가 숙주 세포의 배양에 적합하다. 추가로, 문헌 [Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980)], 미국 특허 번호 4,767,704; 4,657,866; 4,927,762; 4,560,655; 또는 5,122,469; WO 90/03430; WO 87/00195; 또는 미국 특허 Re. 30,985에 기재된 임의의 배지가 숙주 세포를 위한 배양 배지로서 사용될 수 있다. 임의의 이들 배지는 필요에 따라 호르몬 및/또는 다른 성장 인자 (예컨대 인슐린, 트랜스페린 또는 표피 성장 인자), 염 (예컨대 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘 및 포스페이트), 완충제 (예컨대 HEPES), 뉴클레오티드 (예컨대 아데노신 및 티미딘), 항생제 (예컨대 겐타마이신(GENTAMYCIN)TM 약물), 미량 원소 (마이크로물 범위의 최종 농도로 통상적으로 존재하는 무기 화합물로서 정의됨), 및 글루코스 또는 등가 에너지원으로 보충될 수 있다. 임의의 다른 필수 보충물이 또한 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있을 적절한 농도로 포함될 수 있다. 배양 조건, 예컨대 온도, pH 등은 발현을 위해 선택된 숙주 세포와 함께 이전에 사용된 것이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명할 것이다.

[0315] 세포로부터 제조된 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편은, 예를 들어 히드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, DEAE-셀룰로스 이온 교환 크로마토그래피, 황산암모늄 침전, 염석 및 친화도 크로마토그래피를 사용하여 정제될 수 있으며, 친화도 크로마토그래피가 바람직한 정제 기술이다.

[0316] 특정 실시양태에서, 고체 상에 고정화된 단백질 A가 항체 및 그의 항원-결합 단편의 면역친화도 정제에 사용된다. 친화도 리간드로서의 단백질 A의 적합성은 항체 내에 존재하는 임의의 이뮤노글로불린 Fc 도메인의 종 및 이소형에 좌우된다. 단백질 A는 인간 감마1, 감마2 또는 감마4 중쇄에 기초하는 항체를 정제하는데 사용될 수 있다 (Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)). 단백질 G는 모든 마우스 이소형 및 인간 감마3에 권장된다 (Guss et al., EMBO J. 5:1567 1575 (1986)). 친화성 리간드가 부착되는 매트릭스는 가장 흔하게는 아가로스이지만, 다른 매트릭스도 이용가능하다. 기계적으로 안정한 매트릭스, 예컨대 제어 세공 유리 또는 폴리(스티렌디비닐)벤젠은 아가로스 사용시에 달성될 수 있는 것보다 더 빠른 유속 및 더 짧은 처리 시간을 가능하게 한다. 항체가 CH3 도메인을 포함하는 경우에, 베이커본드 ABXTM 수지 (제이. 티. 베이커(J. T. Baker), 뉴저지주 필립스버그)가 정제에 유용하다. 또한 회수될 항체에 따라 다른 단백질 정제 기술, 예컨대 이온-교환 칼럼 상의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상의 크로마토그래피, 헤파린 세파로스(SEPHAROSE)TM 상의 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 (예컨대 폴리아스파르트산 칼럼) 상의 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE 및 황산암모늄 침전이 이용가능하다.

[0317] 임의의 예비 정제 단계(들) 후에, 관심 항체 및 오염물을 포함하는 혼합물은 바람직하게는 낮은 염 농도 (예를 들어 약 0-0.25M 염)에서 수행되는, pH 약 2.5-4.5의 용리 완충제를 사용하는 낮은 pH 소수성 상호작용 크로마토그래피에 적용될 수 있다.

[0318] 제약 조성물

[0319] 본 개시내용은 본원에 제공된 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 항체-약물 접합체 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 추가로 제공한다.

- [0320] 본원에 개시된 제약 조성물에 사용하기 위한 제약상 허용되는 담체는, 예를 들어 제약상 허용되는 액체, 겔, 또는 고체 담체, 수성 비히클, 비수성 비히클, 항균제, 등장화제, 완충제, 항산화제, 마취제, 현탁화제/분산제, 격리제 또는 킬레이트화제, 희석제, 아주반트, 부형제, 또는 비-독성 보조 물질, 관련 기술분야에 공지된 다른 성분, 또는 그의 다양한 조합을 포함할 수 있다.
- [0321] 적합한 성분은, 예를 들어 항산화제, 충전제, 결합제, 붕해제, 완충제, 보존제, 윤활제, 향미제, 증점제, 착색제, 유화제 또는 안정화제, 예컨대 당 및 시클로덱스트린을 포함할 수 있다. 적합한 항산화제는, 예를 들어 메티오닌, 아스코르브산, EDTA, 티오황산나트륨, 백금, 카탈라제, 시트르산, 시스테인, 티오글리세롤, 티오글리콜산, 티오소르비톨, 부틸화 히드록시아니솔, 부틸화 히드록시톨루엔 및/또는 프로필 갈레이트를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 본원에 개시된 항체 또는 항원-결합 단편 및 접합체를 포함하는 조성물 중에 1종 이상의 항산화제, 예컨대 메티오닌을 포함시키는 것은 항체 또는 항원-결합 단편의 산화를 감소시킨다. 이러한 산화의 감소는 결합 친화도의 손실을 방지하거나 감소시켜, 항체 안정성을 개선시키고 보관-수명을 최대화시킨다. 따라서, 특정 실시양태에서 본원에 개시된 바와 같은 1종 이상의 항체 또는 항원-결합 단편 및 1종 이상의 항산화제, 예컨대 메티오닌을 포함하는 조성물이 제공된다. 항체 또는 항원-결합 단편을 1종 이상의 항산화제, 예컨대 메티오닌과 혼합함으로써, 본원에 제공된 바와 같은 항체 또는 항원-결합 단편의 산화를 방지하고/거나, 보관-수명을 연장시키고/거나, 효능을 개선시키는 방법이 추가로 제공된다.
- [0322] 추가로 예시하기 위해, 제약상 허용되는 담체는, 예를 들어 수성 비히클, 예컨대 염화나트륨 주사, 링거 주사, 등장성 텍스트로스 주사, 멸균수 주사, 또는 텍스트로스 및 락테이트화 링거 주사, 비수성 비히클, 예컨대 식물성 기원의 고정 오일, 목화씨 오일, 옥수수 오일, 참깨 오일, 또는 땅콩 오일, 정박테리아 또는 정진균 농도의 향미생물제, 등장화제, 예컨대 염화나트륨 또는 텍스트로스, 완충제, 예컨대 포스페이트 또는 시트레이트 완충제, 항산화제, 예컨대 중황산나트륨, 국부 마취제, 예컨대 프로카인 히드로클로라이드, 현탁화제 및 분산제, 예컨대 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 또는 폴리비닐피롤리돈, 유화제, 예컨대 폴리소르베이트 80 (TWEEN-80), 격리제 또는 킬레이트화제, 예컨대 EDTA (에틸렌디아민테트라아세트산) 또는 EGTA (에틸렌 글리콜 테트라아세트산), 에틸 알콜, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 수산화나트륨, 염산, 시트르산, 또는 락트산을 포함할 수 있다. 담체로서 이용되는 향미생물제는 페놀 또는 크레졸, 수은, 벤질 알콜, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-히드록시벤조산 에스테르, 티메로살, 벤즈알코늄 클로라이드 및 벤즈에토늄 클로라이드를 포함하는 다중-용량 용기 내의 제약 조성물에 첨가될 수 있다. 적합한 부형제는, 예를 들어 물, 염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올을 포함할 수 있다. 적합한 비-독성 보조 물질은, 예를 들어 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 안정화제, 용해도 증진제, 또는 작용제, 예컨대 아세트산나트륨, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트, 또는 시클로덱스트린을 포함할 수 있다.
- [0323] 제약 조성물은 액체 용액, 현탁액, 에멀전, 환제, 캡슐, 정제, 지속 방출 제제 또는 분말일 수 있다. 경구 제제는 표준 담체, 예컨대 제약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 사카린나트륨, 셀룰로오스, 탄산마그네슘 등을 포함할 수 있다.
- [0324] 특정 실시양태에서, 제약 조성물을 주사가능한 조성물로 제제화될 수 있다. 주사가능한 제약 조성물은 임의의 통상적인 형태, 예컨대 예를 들어 액체 용액, 현탁액, 에멀전, 또는 액체 용액, 현탁액 또는 에멀전을 생성하는데 적합한 고체 형태로 제조될 수 있다. 주사용 제제는 즉시 주사용 멸균 및/또는 비-발열성 용액, 멸균 건조 가용성 생성물, 예컨대 사용 직전에 용매와 즉시 조합되는 동결건조 분말, 예컨대 피하 정제, 즉시 주사용 멸균 현탁액, 사용 직전에 비히클과 즉시 조합되는 멸균 건조 불용성 생성물, 및 멸균 및/또는 비-발열성 에멀전을 포함할 수 있다. 용액은 수성 또는 비수성일 수 있다.
- [0325] 특정 실시양태에서, 단위-용량 비경구 제제는 앰플, 바이알 또는 바늘을 갖는 시린지에 포장된다. 비경구 투여를 위한 모든 제제는 관련 기술분야에 공지되고 실시되는 바와 같이 멸균 및 비발열성이어야 한다.
- [0326] 특정 실시양태에서, 멸균 동결건조 분말은 적합한 용매 중에 본원에 개시된 바와 같은 항체 또는 항원-결합 단편을 용해시킴으로써 제조된다. 용매는 분말 또는 분말로부터 제조된 재구성된 용액의 안정성 또는 다른 약리학적 요소를 개선시키는 부형제를 함유할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 물, 텍스트로스, 소르비탈, 프루토스, 옥수수 시럽, 크실리톨, 글리세린, 글루코스, 수크로스 또는 다른 적합한 작용제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 용매는 완충제, 예컨대 시트레이트, 인산나트륨 또는 인산칼륨, 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다른 이러한 완충제, 한 실시양태에서는 거의 중성 pH의 완충제를 함유할 수 있다. 후속하여 용액의 멸균 여과, 이어서 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 표준 조건 하에서의 동결건조가 바람직한 제제를 제공한다. 한 실시양태에서, 생성된 용액은 동결건조를 위해 바이알 내로 배분될 것이다. 각각의 바이

알은 단일 투여량 또는 다중 투여량의 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 그의 조성물을 함유할 수 있다. 정확한 샘플 채취 및 정확한 투여를 용이하게 하기 위해 용량 또는 용량 세트에 필요한 것보다 조금 더 많은 양으로 (예를 들어 약 10%) 바이알을 과충전하는 것이 허용가능하다. 동결건조 분말은 적절한 조건, 예컨대 약 4℃ 내지 실온 하에 저장될 수 있다.

[0327] 동결건조 분말을 주사용수로 재구성하여 비경구 투여에 사용하기 위한 제제를 제공한다. 한 실시양태에서, 멸균 및/또는 비-발열성 물 또는 다른 액체로 재구성하기 위해 적합한 담체가 동결건조 분말에 첨가된다. 정확한 양은 주어지는 선택 요법에 좌우되고, 실험적으로 결정될 수 있다.

[0328] 사용 방법

[0329] 본 개시내용은 또한 치료 유효량의 본원에 제공된 바와 같은 항체 또는 항원-결합 단편을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 CD19-관련 병태 또는 장애를 치료 또는 예방하는 것을 포함하는 치료 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, CD19-관련 병태 또는 장애는 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 B 세포 림프종, 임의로 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 비-호지킨 림프종은 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종, 변연부 B-세포 림프종 (MZL), 점막-연관 림프 조직 림프종 (MALT), 소림프구성 림프종 (만성 림프구성 백혈병, CLL), 또는 외투 세포 림프종 (MCL), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 또는 발텐스트롬 마크로볼린혈증 (WM)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0330] 또 다른 측면에서, 면역 반응의 CD19의 조정으로부터 이익을 얻을 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 본원에 제공된 바와 같은 항체 또는 항원-결합 단편을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 면역 반응의 CD19의 조정으로부터 이익을 얻을 병태를 치료하는 방법이 제공된다.

[0331] 본원에 제공된 바와 같은 항체 또는 항원-결합 단편의 치료 유효량은 관련 기술분야에 공지된 다양한 인자, 예컨대 예를 들어 대상체의 체중, 연령, 과거 병력, 현재 의약, 건강 상태 및 교차-반응, 알레르기, 과민증 및 유해 부작용의 가능성, 뿐만 아니라 투여 경로 및 질환 발달 정도에 좌우될 것이다. 투여량은 이들 및 다른 상황 또는 요건에 의해 나타난 바와 같이 관련 기술분야의 통상의 기술자 (예를 들어 의사 또는 수의사)에 의해 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다.

[0332] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 바와 같은 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 약 0.01 mg/kg 내지 약 100 mg/kg (예를 들어 약 0.01 mg/kg, 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 55 mg/kg, 약 60 mg/kg, 약 65 mg/kg, 약 70 mg/kg, 약 75 mg/kg, 약 80 mg/kg, 약 85 mg/kg, 약 90 mg/kg, 약 95 mg/kg, 또는 약 100 mg/kg)의 치료 유효 용량으로 투여될 수 있다. 이들 중 특정 실시양태에서 항체 또는 항원-결합 단편은 약 50 mg/kg 이하의 투여량으로 투여되고, 이들 중 특정 실시양태에서 투여량은 10 mg/kg 이하, 5 mg/kg 이하, 3 mg/kg 이하, 1 mg/kg 이하, 0.5 mg/kg 이하 또는 0.1 mg/kg 이하이다. 특정 실시양태에서, 투여 투여량은 치료 과정에 걸쳐 변화될 수 있다. 예를 들어, 특정 실시양태에서 초기 투여 투여량은 후속 투여 투여량보다 더 많을 수 있다. 특정 실시양태에서, 투여 투여량은 대상체의 반응에 따라 치료 과정에 걸쳐 달라질 수 있다.

[0333] 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어 치료 반응)을 제공하기 위해 조정될 수 있다. 예를 들어, 단일 용량이 투여될 수 있거나 또는 여러 분할 용량이 시간에 걸쳐 투여될 수 있다.

[0334] 본원에 개시된 항-CD19 항체 및 항원-결합 단편은 관련 기술분야에 공지된 임의의 경로, 예컨대 예를 들어 비경구 (예를 들어 피하, 복강내, 정맥내, 예컨대 정맥내 주입, 근육내 또는 피내 주사) 또는 비-비경구 (예를 들어 경구, 비강내, 안내, 설하, 직장 또는 국소) 경로에 의해 투여될 수 있다.

[0335] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 단독으로 또는 1종 이상의 추가의 치료 수단 또는 작용제와 조합되어 투여될 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 항체 또는 항원-결합 단편은 또 다른 치료제, 예를 들어 화학요법제 또는 항암 약물과 조합되어 투여될 수 있다.

[0336] 이들 중 특정 실시양태에서, 1종 이상의 추가의 치료제와 조합되어 투여되는 본원에 개시된 바와 같은 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 1종 이상의 추가의 치료제와 동시에 투여될 수 있고, 이들 중 특정 실시양태에서, 항체 또는 항원-결합 단편 및 추가의 치료제(들)는 동일한 제약 조성물의 일부로서 투여될 수 있다. 그러나, 또 다른 치료제와 "조합되어" 투여되는 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은 상기 치료제와 동시에 투여되거나 동일한 조성물 중에서 투여될 필요는 없다. 또 다른 작용제 전에 또는 후에 투여되는 항-CD19 항체 또는 항원-결합 단편은, 심지어 상기 항체 또는 항원-결합 단편 및 제2 작용제가 상이한 경로로 투여되더라도, 상기 어구

가 본원에 사용된 바와 같이 상기 작용제와 "조합되어" 투여되는 것으로 고려된다. 가능한 경우, 본원에 개시된 항체 또는 항원-결합 단편과 조합되어 투여되는 추가의 치료제는 추가의 치료제의 제품 정보 시트에 열거된 스케줄에 따라 또는 문헌 [Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57th Ed; Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 57th edition (November 2002))] 또는 관련 기술분야에 공지된 프로토콜에 따라 투여된다.

- [0337] 본 개시내용은 항-CD19 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 사용하는 방법을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 CD19-발현 세포를 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시키는 것을 포함하는, 생체내에서 또는 시험관내에서 CD19-발현 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 CD19-발현 세포를 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편에 노출시키는 것을 포함하는, CD19-발현 세포에서 CD19 활성을 조정하는 방법을 제공한다.
- [0338] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 샘플을 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시키는 단계 및 샘플에서 CD19의 존재 또는 양을 결정하는 단계를 포함하는, 샘플에서 CD19의 존재 또는 양을 검출하는 방법을 제공한다.
- [0339] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 a) 대상체로부터 샘플을 수득하는 단계; b) 샘플을 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편과 접촉시키는 단계; c) 샘플에서 CD19의 존재 또는 양을 결정하는 단계; 및 d) 대상체에서 CD19 관련 질환 또는 병태의 존재를 결정하는 단계를 포함하는, 대상체에서 CD19 관련 질환 또는 병태를 진단하는 방법을 제공한다.
- [0340] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 검출가능한 모이어티와 임의로 접합된 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 키트를 제공한다. 키트는 CD19의 검출 또는 CD19 관련 질환의 진단에 유용할 수 있다.
- [0341] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 또한 대상체에서 CD19 관련 질환 또는 병태를 치료하기 위한 의약의 제조에서의, CD3 관련 질환 또는 병태를 진단하기 위한 진단 시약의 제조에서의 본원에 제공된 항체 또는 그의 항원-결합 단편의 용도를 제공한다.
- [0342] 하기 실시예는 청구된 발명을 더 잘 예시하기 위해 제공되고, 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되지는 않는다. 하기 기재된 모든 특정 조성물, 물질 및 방법은 전체적으로 또는 부분적으로 본 발명의 범주 내에 속한다. 이들 특정 조성물, 물질 및 방법은 본 발명을 제한하는 것으로 의도되는 것이 아니라, 단지 본 발명의 범주 내에 속하는 특정 실시양태를 예시하기 위한 것으로 의도된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 발명적 능력을 행사하지 않고 본 발명의 범주를 벗어나지 않으면서 등가의 조성물, 물질 및 방법을 개발할 수 있다. 본원에 기재된 절차는 본 발명의 한계 내에 여전히 유지되면서 많은 변화가 이루어질 수 있다는 것이 이해될 것이다. 이러한 변화가 본 발명의 범주 내에 포함되는 것이 본 발명자들의 의도이다.
- [0343] 실시예 1: 물질 생성
- [0344] 1.1 참조 항체 생성
- [0345] 항-CD19 참조 항체 (WBP701-BMK1은 특허 US20140072587A1에서의 huB4에 상응하고; WBP701-BMK2는 특허 US8242252B2에서의 hBU12에 상응하고; WBP701-BMK3은 특허 US8097703B2에서의 21D4에 상응함)의 가변 영역 유전자를 인간 Fc 영역 유전자 함유 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 엑스피렉타민293 형질감염 키트 (인비트로젠 (Invitrogen)-A14524)를 사용하여 엑스피293 세포 (인비트로젠-A14527) 내로 발현 플라스미드를 형질감염시켰다. 37°C 인큐베이터 내에서 135 rpm으로 회전하는 오비탈 진탕기 플랫폼 상의 엑스피293 발현 배지 (인비트로젠-A1435101)에서 세포를 배양하였다. 수거된 상청액을 단백질 A 칼럼 (지이 헬스케어(GE Healthcare) 17543802)을 사용하여 정제하였다.
- [0346] 상기 방법에 따라 생성된 참조 항체 WBP701-BMK1, WBP701-BMK2 및 WBP701-BMK3을 SDS PAGE 상에서 분석하였다. 도 1 및 2는 모든 3종의 생성된 참조 항체가 환원 조건 하의 SDS-PAGE에서 경쇄 및 중쇄에 상응하는 25 kDa 및 55 kDa의 겔보기 분자 질량으로 이동하였음을 보여주었다. 비-환원 조건 하의 주요 밴드는 ~ 150 KD의 분자량을 갖는 전체 IgG에 상응한다. 참조 항체의 순도는 95% 초과이다 (도 1 및 2 참조).
- [0347] 1.2 인간 또는 시노물구스 원숭이 CD19 발현 세포주 생성
- [0348] 전장 인간 또는 시노물구스 원숭이 CD19의 유전자를 pcDNA3.3 벡터 내로 클로닝하였다. 간략하게, 1×10^6 개/mL 밀도의 30 mL 부피의 프리스타일 293F 세포 (써모피셔(ThermoFisher)-R79007)에 플라스펙트 시약 (바이올라인 (Bioline)-46025)을 사용하여 30 µg DNA를 형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 37°C, 8% CO₂ 및 100 rpm 진탕

속도의 인큐베이터 세팅에서 배양하였다. 형질감염 24시간 후, 4-10 $\mu\text{g/mL}$ 의 최종 농도의 블라스티시딘 (인비트로젠-A1113902)을 사용하여 안정한 풀을 생성하였다. 선택된 클론을 항-CD19 항체를 사용하여 FACS에 의해 시험하였다. 2 내지 3회 계대 선택 후, 세포에 PE 접합된 항-CD19 항체 및 항-PE 마이크로비드 (밀테니(Miltenyi)-013-048-801)를 풍부화시켰다. 안정한 단세포 클론을 한계 희석에 의해 단리하고, 항-CD19 항체를 사용하여 FACS에 의해 스크리닝하였다.

[0349] 전장 인간 또는 시노물구스 원숭이 CD19의 유전자를 pcDNA3.3 벡터 내로 클로닝하였다. 이어서 각각의 발현 벡터를 리포펙타민 2000을 사용하여 각각 CHO-K1 세포 내로 형질감염시켰다. 세포를 10% FBS가 존재하는 F12-K에서 배양하였다. 형질감염 24-48시간 후 블라스티시딘을 첨가하였다. 2 내지 3회 계대 선택 후, 세포에 PE 접합된 항-CD19 항체 및 항-PE 마이크로비드 (밀테니-013-048-801)를 풍부화시켰다. 안정한 단세포 클론을 한계 희석에 의해 단리하고, 항-CD19 항체를 사용하여 FACS에 의해 스크리닝하였다.

[0350] 형질감염된 세포주의 인간 CD19 및 시노물구스 원숭이 CD19의 발현을 항-CD19 항체를 사용하여 유동 세포측정법에 의해 검출하였다. 형질감염된 세포주 WBP701.293F.hPro1.FL.A2, WBP701.CHO-K1.hPro1.FL.B4, WBP701.cPro1.293F.FL.C1 및 WBP701.CHO-K1.cpro1.FL.C9는 모두 인간 또는 원숭이 CD19의 높은 발현을 나타냈다 (도 3a-3d).

[0351] 실시예 2: 항체 생성

[0352] 2.1 면역화

[0353] Balb/c 마우스를 CD19 형질감염된 293F 세포로 면역화시켰다. 세포 막 용해물을 CpG-ODN 및 Adju-Phos 또는 Titer-Max를 포함한 아주반트와 혼합하였다. 마우스를 2주 간격으로 발바닥, 피하 또는 복강내 경로를 통해 2회 면역화시켰다. 높은 혈청 역가를 갖는 마우스에게 PBS 중 1×10^6 개 세포/동물 및 10 μg 의 ECD 단백질/동물의 세포 막 용해물을 최종 부스트로 제공하였다.

[0354] 2.2 혈청 역가 검출

[0355] 혈청 역가를 유동 세포측정법에 의해 검출하였다. CD19 형질감염된 CHO-K1 세포를 96-웰 U-바닥 플레이트 (비디(BD))에 1×10^5 개 세포/웰의 밀도로 스프레딩하였다. 마우스 혈청을 염색 완충제 (1X PBS/1%BSA)를 사용하여 100배 희석으로부터 시작하여 1:3의 비로 희석하였다. 혈청 샘플을 세포와 함께 4°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 염색 완충제로 2회 세척한 후, PE-접합된 염소 항-마우스 IgG Fc 항체 (잭슨(Jackson))를 첨가하고, 암소 내 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 2회 세척하고, 100 μL 염색 완충제 중에 재-현탁시켰다. 형광 강도를 유동 세포측정법 (비디 칸토 II)에 의해 측정하고, 플로우조에 의해 분석하였다.

[0356] 모든 마우스는 CD19 특이적 역가를 나타냈다. 높은 혈청 역가를 갖는 마우스를 하이브리도마 융합을 위해 선택하였다 (표 3).

[0357] 표 3. 혈청 역가

마우스#	1	2	3	4	5
CHO-K1.CD19 세포에 대한 사전-채혈액	<100	<100	<100	<100	<100
CHO-K1.CD19 세포에 대한 역가	1968300	656100	218700	656100	72900
모 CHO-K1 세포에 대한 역가	2700	2700	900	300	2700

[0358]

[0359] 2.3 하이브리도마 생성

[0360] 림프절 세포를 Sp2/0 골수종 세포와 일반적인 전기-융합 절차에 따른 전기-융합에 의해 융합시켰다. 세포 융합 후, 세포를 20% FBS 및 1% HAT를 함유하는 DMEM 배지가 존재하는 96-웰 플레이트에 1×10^4 개 림프구/웰로 플레이트팅하였다. 플레이트를 37°C에서 10-12일 동안 인큐베이션하였다.

[0361] 2.4 항체 스크리닝

[0362] 2.4.1 인간 CD19에 대한 결합

[0363] 인간 CD19 형질감염된 CHO-K1 세포를 96-웰 U-바닥 플레이트 (비디)에 1×10^5 개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 하이브리도마 상청액을 플레이트로 옮기고, 세포와 함께 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 염색 완충제 (BSA/1X PBS)로 2회 세척하였다. PE-접합된 염소 항-마우스 IgG Fc 항체 (책슨 115-115-164)를 첨가하고, 암소 내 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 2회 세척하고, 100 μ L 염색 완충제 중에 재-현탁시켰다. 형광 강도를 유동 세포측정법 (비디 칸토 II)에 의해 측정하고, 플로우조에 의해 분석하였다.

[0364] 2.4.2 시노물구스 원숭이 CD19에 대한 결합

[0365] 시노물구스 CD19 형질감염된 CHO-K1 세포를 96-웰 U-바닥 플레이트 (비디)에 1×10^5 개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 하이브리도마 상청액을 플레이트로 옮기고, 세포와 함께 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 염색 완충제 (BSA/1X PBS)로 2회 세척하였다. PE-접합된 염소 항-마우스 IgG Fc 항체 (책슨 115-115-164)를 첨가하고, 암소 내 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 2회 세척하고, 100 μ L 염색 완충제 중에 재-현탁시켰다. 형광 강도를 유동 세포측정법 (비디 칸토 II)에 의해 측정하고, 플로우조에 의해 분석하였다.

[0366] 2.4.3 내재화 검정

[0367] Fab-ZAP는 염소 항-인간 1가 항체 및 리보솜-불활성화 단백질인 사포린의 화학적 접합체이다. Fab-ZAP는 항체의 내재화 능력을 결정하는데 사용된다. 하이브리도마 상청액 중 IgG 농도를 ELISA에 의해 결정하였다. 정규화된 하이브리도마 상청액 및 Fab-ZAP를 1:3의 물비로 혼합하였다. 라모스 세포 (5000개/웰)를 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터 내에서 상이한 농도의 접합체와 함께 96시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 세포독성을 셀타이터 글로 (프로메가(Promega))에 의해 결정하였다. 세포 생존율 (%)을 하기와 같이 계산하였다: 세포 생존율 (%) = 샘플의 RLU / 대조군의 RLU x 100% (여기서 RLU는 상대 광 단위를 나타냄).

[0368] 결과:

[0369] 하이브리도마 상청액을 1차 스크린에 사용하였다. 1차 결합 스크린은 항원-특이적 결합 항체를 생산할 수 있는 116개의 하이브리도마를 확인하였다. 이어서 항원-특이적 하이브리도마가 CD19 형질감염된 CHO-K1 세포에 결합한다는 것을 확인하고, 모 CHO-K1 세포에 대해 카운터 스크리닝하였다. 선택된 40개의 하이브리도마 세포주가 라모스 세포에 결합한다는 것을 확인하였다. 이어서 양성 결합체를 Fab-Zap 검정에서 스크리닝하였다. 13개의 하이브리도마 세포주를 결합 및 내재화 능력에 기초하여 서브클로닝을 위해 선택하였다.

[0370] 2.5 하이브리도마의 서브클로닝

[0371] 각각의 선택된 세포주의 하이브리도마 세포를 96-웰 플레이트에 1개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 플레이트를 가습 인큐베이터 내 37℃, 6% CO₂에서 10-12일 동안 유지시켰다. 단일 클론을 골라내고, FACS에 의해 시험하였다.

[0372] 2.6 이소형

[0373] 항체 이소형을 ELISA에 의해 확인하였다. 플레이트 (눈크(Nunc))를 4℃에서 밤새 2 μ g/ml의 염소 항-마우스 IgG1, 항-마우스 IgG2a, 항-마우스 IgG2b, 항-마우스 IgG3, 항-마우스 IgM 항체로 코팅하였다. 차단 및 세척 후, 하이브리도마 상청액을 코팅된 플레이트로 옮기고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 플레이트를 2차 항체 염소 항-마우스 카파 HRP 또는 염소 항 마우스 람다 HRP (서던 바이오테크(Southern Biotech))와 함께 45분 동안 인큐베이션하였다. 세척 후, TMB 기질을 첨가하고, 반응을 2M HCl에 의해 정지시켰다. 마이크로플레이트 판독기 (몰레큘라 디바이스(Molecular Device))를 사용하여 450 nm에서의 흡광도를 판독하였다.

[0374] 결과:

[0375] 하이브리도마 서브클론을 CD19 세포주에 대한 결합에 의해 확인하고, 그의 이소형을 또한 검출하였다 (표 4 참조). 선택된 서브클론을 정제하고, 결합 검정, 내재화 검정, 교차-패밀리 결합 검정 및 비닝 검정에서 추가로 평가하였다.

표 4. 항체 이소형

항체	이소형
WBP7011_4.34.11	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.87.6	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.100.1	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.106.3	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.155.8	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.15.10	마우스 IgG1, 카파
WBP7011_4.56.1	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.202.9	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.231.5	마우스 IgG2b, 카파
WBP7011_4.108.3	마우스 IgG2a, 카파
WBP7011_4.191.3	마우스 IgG1, 카파
WBP7011_4.194.10	마우스 IgG2b, 카파
WBP7011_4.225.7	마우스 IgG2a, 카파

실시예 3: 항체 후보 특징화

3.1 항체 정제

수거된 하이브리도마 상청액을 pH 7.0으로 조정 후 단백질 A 칼럼 (맵셀렉트 슈어, 지이)에 로딩하였다. 항체를 글리신에 의해 용리시키고, 이어서 1 M 트리스를 사용하여 즉시 중화시켰다. 항체 농도를 나노 드롭 (썬모-피셔)에 의해 시험하였다. 단백질의 순도를 SDS-PAGE (인비트로젠, NuPAGE 4%-12% 비스-트리스 겔) 및 HPLC-SEC (애질런트(Agilent))에 의해 평가하였다.

3.2 FACS에 의한 친화도

CD19 형질감염된 CHO-K1 세포 또는 라모스 세포를 96-웰 플레이트 (비디)에 5×10^4 개 세포/웰의 밀도로 플레이팅 하였다. 시험할 항체를 염색 완충제 (1X PBS/1% BSA) 중에 연속 희석하고, 세포와 함께 4°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 상청액을 폐기한 후, PE 접합된 염소 항-마우스 IgG Fc 항체 (잭슨 115-1154-164)를 첨가하고, 암소 내 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 1회 세척하고, 100 μ L 염색 완충제 중에 재현탁시켰다. 형광 강도를 유동 세포측정법 (비디 칸토 II)에 의해 측정하고, 플로우조에 의해 분석하였다. 결합된 IgG 및 유리 IgG 농도를 정량적 비드의 형광 강도 (PE 형광 정량 키트, 비디 340495)에 기초하여 계산하였다. K_D 를 스캐차드 분석을 사용하여 계산하였다.

결과:

CD19 형질감염된 CHO-K1 세포에 대한 선택된 후보 항체의 친화도를 유동 세포측정법에 의해 시험하였다. K_D 값을 표 5에 요약하였다. 모든 후보 항체는 인간 CD19에 대한 나노몰-미만의 결합 친화도를 나타냈다.

[0385] 표 5. 후보 항체의 친화도

항체	KD (M)
W7011-4.34.11	1.81E-10
W7011-4.87.6	9.55E-11
W7011-4.100.1	2.13E-10
W7011-4.106.3	2.31E-10
W7011-4.155.8	9.49E-10
W7011-4.15.10	1.70E-10
W7011-4.56.1	1.18E-10
W7011-4.202.9	8.47E-10
W7011-4.231.5	1.70E-10
W7011-4.108.3	2.52E-10
W7011-4.191.3	1.14E-10
W7011-4.194.10	4.20E-10
W7011-4.225.7	7.35E-10

[0386]

[0387] 3.3 인간 CD19에 대한 결합

[0388] 라모스 세포를 96-웰 U-바닥 플레이트 (비디)에 1×10^5 개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 정제된 항체를 염색 완충제 (1X PBS/1% BSA) 중에 연속 희석하고, 세포와 함께 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 염색 완충제 (BSA/1XPBS)로 2회 세척하였다. PE-접합된 염소 항-마우스 IgG Fc 항체 (잭슨 115-115-164)를 첨가하고, 암소 내 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 2회 세척하고, 100 μ L 염색 완충제 중에 재-현탁시켰다. 형광 강도를 유동 세포측정법 (비디 칸토 II)에 의해 측정하고, 플로우조에 의해 분석하였다.

[0389] 라모스 세포에 대한 선택된 서브클론의 결합 활성을 유동 세포측정법에 의해 시험하였다 (도 4). 결합 EC50 값을 표 6에 요약하였다. 모든 후보 항체는 결합 검정에서 나노몰-미만의 EC50을 나타냈다.

[0390] 표 6. 선택된 서브클론의 결합 활성

클론#	EC50 (nM)
W7011-4.34.11	0.23
W7011-4.34.17	0.21
W7011-4.34.18	0.24
W7011-4.87.6	0.10
W7011-4.87.8	0.09
W7011-4.87.18	0.09
W7011-4.100.1	0.17
W7011-4.100.14	0.17
W7011-4.100.18	0.18
W7011-4.106.3	0.23
W7011-4.106.9	0.18
W7011-4.106.20	0.19
W7011-4.155.8	0.85
W7011-4.155.14	0.82
W7011-4.155.17	0.69
W7011-4.15.10	0.31
W7011-4.15.13	0.32
W7011-4.56.1	0.10
W7011-4.56.2	0.08
W7011-4.202.9	0.64
W7011-4.231.5	0.12
W7011-4.231.6	0.05
W7011-4.231.15	0.09
W7011-4.108.3	0.19
W7011-4.108.6	0.09
W7011-4.108.11	0.05
W7011-4.202.3	0.58
W7011-4.202.8	0.34
W7011-4.191.3	0.04
W7011-4.191.6	0.07
W7011-4.191.16	0.13
W7011-4.194.10	0.15
W7011-4.194.11	0.26
W7011-4.194.13	0.34
W7011-4.225.7	0.45
W7011-4.225.9	0.39
WBP701.BMK3	0.11

[0391]

[0392] 3.4 시노물구스 원숭이 CD19에 대한 결합

[0393] 시노물구스 CD19 형질감염된 CHO-K1 세포를 96-웰 U-바닥 플레이트 (비디)에 1×10^5 개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 정제된 항체를 염색 완충제 (1X PBS/1% BSA) 중에 연속 희석하고, 세포와 함께 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 염색 완충제 (BSA/1XPBS)로 2회 세척하였다. PE-접합된 염소 항-마우스 IgG Fc 항체 (잭슨 115-115-164)를 첨가하고, 압소 내 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 2회 세척하고, 100 μ L 염색 완충제 중에 재-현탁시켰다. 형광 강도를 유동 세포측정법 (비디 칸토 II)에 의해 측정하고, 플로우조에 의해 분석하였다.

[0394] 시노물구스 원숭이 CD19 형질감염된 CHO-K1 세포주를 사용하여 후보 항체의 시노물구스 원숭이 CD19에 대한 결합 활성을 평가하였다 (도 5). 결합 EC50 값을 표 7에 요약하였다. 모든 선택된 클론은 시노물구스 원숭이 CD19 세포에 대한 강한 결합을 나타냈다.

[0395] 표 7. 시노물구스 원숭이 CD19에 대한 결합 활성

항체	EC50 (nM)
W7011-4.34.11	0.4427
W7011-4.87.6	0.285
W7011-4.100.1	0.4384
W7011-4.106.3	0.4959
W7011-4.155.8	1.542
W7011-4.15.10	0.4598
W7011-4.56.1	0.4381
W7011-4.202.9	2.299
W7011-4.231.5	0.628
W7011-4.108.3	0.8634
W7011-4.191.3	0.5984
W7011-4.194.10	0.9959
W7011-4.225.7	1.77
WBP701-BMK1	0.4473
WBP701-BMK2	0.7407
WBP701-BMK3	0.1936

[0396]

[0397] 3.5 내재화 검정

[0398] Fab-ZAP는 항체의 내재화 능력을 결정하는데 사용된다. 연속 희석된 항체를 Fab-Zap와 1:3의 몰비로 혼합하였다. 라모스 세포 (5000개/웰)를 상이한 농도의 접합체와 함께 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터 내에서 96시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 세포독성을 셀타이터 글로 (프로메가)에 의해 결정하였다. 세포 생존율 (%)을 하기와 같이 계산하였다: 세포 생존율 (%) = 샘플의 RLU / 대조군의 RLU x 100%.

[0399] 라모스에 대한 선택된 서브클론의 내재화 활성을 Fab-Zap 검정을 사용하여 시험하였다 (도 6). 세포 생존율의 EC50을 표 8에 요약하였다. 모든 후보 항체는 라모스 세포에서 내재화될 수 있고, Fab-Zap 검정에서 피코몰 EC50 값을 나타냈다.

[0400] 표 8. Fab-Zap 검정

항체	EC ₅₀ (pM)
W7011-4.34.11	7
W7011-4.34.17	8.9
W7011-4.34.18	8.9
W7011-4.87.6	8.5
W7011-4.87.8	5.8
W7011-4.87.18	7.2
W7011-4.100.1	14.8
W7011-4.100.14	11.5
W7011-4.100.18	11
W7011-4.106.3	13.6
W7011-4.106.9	12.7
W7011-4.106.20	16.2
W7011-4.155.8	27.6
W7011-4.155.14	44.9
W7011-4.155.17	30.2
W7011-4.15.10	13.9
W7011-4.15.13	11
W7011-4.56.1	8.4
W7011-4.56.2	5.2
W7011-4.61.10	23.1
W7011-4.61.12	21.1
W7011-4.61.16	19.4
W7011-4.231.5	8.5
W7011-4.231.6	14.8
W7011-4.231.15	14.7
W7011-4.108.3	20.6
W7011-4.108.6	15.7
W7011-4.108.11	18.7
W7011-4.202.3	28.3
W7011-4.202.8	35.4
W7011-4.202.9	23.6
W7011-4.191.3	18.4
W7011-4.191.6	19.1
W7011-4.191.16	18.2
W7011-4.194.10	11.7
W7011-4.194.11	11.8
W7011-4.194.13	12.8
W7011-4.225.7	15
W7011-4.225.9	15.8

[0401]

[0402] 3.6 에피토프 비닝

[0403] CD19 형질감염된 세포 WBP701.CHO-K1.hPro1.B4를 96-웰 플레이트 (비디)에 1×10^5 개 세포/웰의 밀도로 플레이팅 하였다. 시험할 항체를 연속 희석하고, 참조 항체와 혼합하였다. 혼합물을 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 30 분 동안 인큐베이션하였다. 세척 후, PE-접합된 염소 항-인간 IgG Fc 항체 (잭슨)를 첨가하고, 암소 내 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 2회 세척하고, 100 μL 염색 완충제 (1X PBS/1% BSA) 중에 재-현탁시켰다. 형광 강도를 유동 세포측정법 (비디 칸토 II)에 의해 측정하고, 플로우조에 의해 분석하였다.

[0404] 선택된 후보 클론을 BMK1, BMK2 및 BMK3 참조 항체에 대한 경쟁적 결합에 관해 시험하였다. 일부 후보 항체는 CD19에 대한 참조 항체의 결합을 차단할 수 있다. W7011-4.155.8, W7011-4.202.9 및 W7011-4.225.7은 참조 항체와 경쟁하지 않는다 (도 7). 경쟁적 결합 결과에 기초하여, 항체를 2개의 에피토프 빈에 할당하였다 (표 9).

[0405] 표 9. 후보 항체의 에피토프 빈

빈1	빈2
WBP701-BMK1	W7011-4.155.8
WBP701-BMK2	W7011-4.202.9
WBP701-BMK3	W7011-4.225.7
W7011-4.34.11	
W7011-4.87.6	
W7011-4.100.1	
W7011-4.106.3	
W7011-4.15.10	
W7011-4.56.1	
W7011-4.231.5	
W7011-4.108.3	
W7011-4.191.3	
W7011-4.194.10	

[0406]

[0407] 항체 클론의 서열분석시, 본 발명자들은 항체 클론 W7011-4.155.8, W7011-4.202.9 및 W7011-4.225.7의 아미노산 서열이 동일하다는 것을 발견하였다. 항체 클론에 대한 아미노산 및 핵산 서열은 상세한 설명 섹션에 열거된다.

[0408]

실시예 4: 항체 인간화 및 친화도 성숙

[0409]

4.1 하이브리도마 서열분석

[0410]

트리졸 시약 (인비트로젠-15596018)을 사용하여 하이브리도마 세포로부터 RNA를 분리하였다. cDNA를 5'-RACE 키트 (타카라(Takara)-28001488)를 사용하여 증폭시키고, 이어서 3'-측중성 프라이머 및 3'-어댑터 프라이머 (ExTaq: 타카라-RR001B)를 사용하여 PCR 증폭시켰다. PCR 단편을 pMD18-T 벡터 (타카라-D101C) 내로 삽입하고, 서열분석을 위해 보냈다 (상하이 바이오순(Shanghai Biosune)).

[0411]

하이브리도마로부터의 항체 서열 (마우스)은 서열식별번호: 94-123에 제시된 바와 같다.

[0412]

4.2 인간화

[0413]

"최적 피트" 접근법을 사용하여 항체 경쇄 및 중쇄를 인간화하였다. 경쇄의 경우, 상응하는 V-유전자의 아미노산 서열을 사내 인간 배선 V-유전자 데이터베이스에 대해 블라스트 검색하였다. 카바트 CDR 정의를 사용하여 상위 히트의 인간 CDR 서열을 마우스 CDR 서열로 대체함으로써 인간화 VL-유전자의 서열을 유도하였다. 중쇄의 경우, 4개의 인간화 서열을 유도하고, 경쇄의 경우, 먼저 상기 기재된 방법에 따라 1개의 인간화 서열을 유도하고, 인간 배선 V-유전자 데이터베이스에 대해 마우스 프레임워크를 블라스트 검색함으로써 3개의 추가의 서열을 생성하였다. 카바트 CDR1을 N-말단에서 5개의 아미노산만큼 연장시킨 연장된 CDR 정의를 사용하여 프레임워크를 정의하였다. 상위 3개의 히트를 사용하여 인간화 V 유전자의 서열을 유도하였다. 인간화 유전자를 역-번역하고, 포유동물 발현을 위해 코돈-최적화하고, 진아트 맞춤 유전자 합성(GeneArt Custom Gene Synthesis) (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))에 의해 합성하였다. 합성 유전자를 IgG 발현 벡터 내로 재-클로닝하고, 발현시키고, 정제하였다.

[0414]

4.3 친화도 성숙

[0415]

6개의 상보성-결정 영역 (CDR)의 각각의 아미노산을 혼성화 돌연변이유발 방법을 사용하여 20개의 아미노산으로 개별적으로 돌연변이시켰다 (Kunkel, 1985). 20개의 아미노산을 코딩하는 NNS 코돈을 함유하는 DNA 프라이머를 사용하여 돌연변이를 각각의 표적화된 CDR 위치에 도입하였다. 개별 측중성 프라이머를 혼성화 돌연변이유발 반응에 사용하였다. VH 및 VL CDR에 대한 합성 생성물을 각각 풀링하였다. 200 ng의 풀링된 라이브러리 DNA를 scFv 단편의 생산을 위해 BL21 내로 형질감염시켰다.

[0416]

먼저 돌연변이체를 박테리아의 주변세포질 추출물을 사용하여 포획 ELISA에 의해 스크리닝하였다. 96-웰 맥시 소르프 이뮤노플레이트 (눈크)를 코팅 완충제 (200 mM Na₂CO₃/NaHCO₃, pH9.2) 중 항-c-myc 항체로 4°C에서 밤새

코팅하였다. 실온에서 1시간 동안 카세인으로 차단한 후, 이어서 주변세포질 추출물 샘플을 플레이트에 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세척 후, 비오틴화 CD19 ECD 단백질을 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 이어서 스트렙타비딘-HRP와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세척 후, TMB 기질을 첨가하고, 반응을 2M HCl에 의해 정지시켰다. 마이크로플레이트 판독기 (몰레큘라 디바이스)를 사용하여 450 nm에서의 흡광도를 판독하였다.

[0417] 모 클론보다 더 큰 450 nm에서의 광학 밀도 (OD) 신호를 나타내는 클론을 서열분석을 위해 골라냈다. 돌연변이체 scFv 및 모 항체의 상대 결합 친화도를 결정하기 위해 고유 클론을 정규화된 scFv 농도 하에 FACS에 의해 확인하였다.

[0418] 추가의 결합 상승작용을 얻기 위해 항원에 대한 결합에 유익한 것으로 결정된 VH 및 VL 내의 점 돌연변이를 추가로 조합하였다. 조합 돌연변이체를 scFv로서 발현시키고, 포획 ELISA를 사용하여 스크리닝하였다. 모 클론보다 더 큰 450 nm에서의 광학 밀도 (OD) 신호를 나타내는 클론을 서열분석하고, 결합 FACS에 의해 추가로 확인하였다.

[0419] 4.4 조작된 항체의 결합 친화도

[0420] 4.4.1 WBP7011-4.34.11-z1-m5-IgG1k

[0421] 항체 WBP7011-4.34.11을 인간화하고, 친화도 성숙시켰다. 라모스 세포에 대한 조작된 항체 WBP7011-4.34.11-z1-m5의 친화도를 FACS에 의해 측정하였다 (도 8). K_D 를 스캐차드 분석을 사용하여 계산하였다. WBP7011-4.34.11-z1-m5-IgG1k의 친화도는 0.23 nM이었다.

[0422] 4.4.2 WBP7011-4.87.6-z1-IgG1k (N-S)

[0423] 항체 WBP7011-4.87.6을 인간화하고, PTM 위험성 잔기에 대해 조작하였다. 라모스 세포에 대한 최종 리드 항체 WBP7011-4.87.6-z1-IgG1k (N-S)의 친화도를 FACS에 의해 측정하였다 (도 9). K_D 를 스캐차드 분석을 사용하여 계산하였다. WBP7011-4.87.6-z1-IgG1k (N-S)의 친화도는 0.25 nM이다.

[0424] 4.4.3 W7011-4.155.8-z1-uIgG1K

[0425] 항체 W7011-4.155.8을 인간화하였다. CD19 형질감염된 CHO-K1 세포에 대한 인간화 항체 W7011-4.155.8-z1-uIgG1K의 친화도를 FACS에 의해 측정하였다 (도 10). K_D 를 스캐차드 분석을 사용하여 계산하였다. W7011-4.155.8-z1-uIgG1K의 친화도는 0.82 nM이다.

[0426] 4.5 조작된 항체 서열

[0427] 조작된 항체 서열은 서열식별번호: 124-135에 의해 제시된 바와 같다.

[0428] 실시예 5: 항체-약물 접합체 (ADC)의 생성

[0429] 항체를 PBS (pH7.4) 완충제 내로 완충제 교환하고, DMA (알파 에이사(Alfa Aesar))와 혼합하였다. 이어서 DM1-SMCC (브라이트진(BrightGene))를 첨가하고, 혼합물을 접합을 위해 서서히 회전시키면서 22°C에서 인큐베이션하였다.

[0430] 유리 약물을 제거하기 위해, ADC 생성물을 30 KDa 울트라필터 튜브 (밀리포어(Millipore))를 사용하여 ADC 저장 완충제로 완충제 교환하였다. 8배 완충제 교환 후, ADC 생성물을 최종 특징화를 위해 0.22 μ m 막으로 여과하였다.

[0431] ADC의 농도를 UV-vis (나노드롭)로 특징화하였다. DAR 값을 UV-vis 및 SEC-HPLC에 의해 결정하였다. 응집 수준 및 순도를 SEC-HPLC에 의해 결정하였다. 유리 약물을 RP-HPLC에 의해 결정하였다. 내독소 수준을 동적 비탁 검정에 의해 결정하였다.

[0432] 리드 항체를 DM1과 접합시켰다. 접합 후 농도, 순도, DAR, 응집 수준 및 유리 약물%를 평가하였다 (표 10).

표 10. DM1 접합된 항체의 특징화

항체	농도 mg/ml	순도%	유리 약물%	내독소 EU/mg	UV-	SEC- DAR	응집%
					DAR		
W7011-BMK1-DM1	14.2	95.45	0	0.039	3.57	3.57	4.54
W7011-4.87.6-z1-IgG1K(N-S)-DM1	9.71	97.7	1.06	2.36	3.38	2.95	2.31
W7011-4.34.11-z1-m5-IgG1K-DM1	6.45	96.38	0	한계값	3.32	3.38	3.02
IgG1K 이소형 대조군-DM1	5.85	98.47	0	0.086	2.86	2.69	1.53

실시예 6: ADC의 세포 독성 분석

B 림프종 세포 (5000개/웰)를 다양한 농도의 DM1-접합된 항체와 함께 37℃에서 72시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 세포독성을 셀타이터 글로 (프로메가)에 의해 결정하였다. 세포 생존율 (%)을 하기와 같이 계산하였다: 세포 생존율 (%) = 샘플의 RLU / 대조군의 RLU x 100%.

DM1 접합된 항체를 다우디, Nalm-6 및 WSU-DLCL2 세포에 대한 세포독성 검정에서 시험하였다 (도 11, 12, 13). EC50 값을 표 11, 12 및 13에 요약하였다. ADC WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)-DM1은 모든 시험된 종양 세포에 대해 WBP701-BMK1-DM1보다 더 우수한 세포독성 활성을 나타냈다. ADC WBP7011-4.34.11-z1-m5-uIgG1K-DM1은 WBP701-BMK1-DM1과 대등한 세포독성 활성을 나타냈다.

표 11. 다우디에 대한 세포독성 검정

항체	EC50 (nM)
WBP7011-4.34.11-z1-m5-uIgG1K-DM1	27
WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)-DM1	1.9
WBP701-BMK1-DM1	22
IgG1k 이소형 대조군-DM1	NA

표 12. Nalm-6 세포에 대한 세포독성 검정

항체	EC50 (nM)
WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)-DM1	0.73
WBP701-BMK1-DM1	NA
IgG1k 이소형 대조군-DM1	NA

표 13. WSU-DLCL2 세포에 대한 세포독성 검정

항체	EC50 (nM)
WBP7011-4.34.11-z1-m5-uIgG1K-DM1	10.1
WBP7011-4.87.6-z1-IgG1K (N-S)-DM1	1.4
WBP701-BMK1-DM1	9.0

실시예 7: ADC의 항종양 분석

7.1 세포 배양

Nalm-6 종양 세포를 가슴 분위기 (95% 공기 및 5% CO₂) 하에 37℃에서 10% 태아 소 혈청이 보충된 RPMI-1640 중의 현탁 배양물로서 시험관내에서 유지시켰다. 종양 세포를 매주 2회 상용적으로 계대배양하였다. 지수 성장기에서 성장하는 세포를 수거하고, 종양 접종을 위해 계수하였다.

7.2 종양 접종 및 군 할당

[0448] 종양 발생을 위해 각각의 마우스에게 우측 옆구리에 Nalm-6 종양 세포 (10백만개 + 마트리젤)를 피하로 이식하였다. 평균 종양 부피가 113 mm^3 에 도달하였을 때 처리를 시작하였다. 각각의 군에서의 시험 물품 투여 및 동물 수를 하기 표에 제시하였다.

[0449] 표 14. 각각의 군에서의 시험 ADC 투여 및 동물 수

군	처리	n	용량 (mg/kg)	투여 부피 (ul/g)	투여 경로	스케줄
1	이소형 대조군-DM1	6	10	10	i.v.	Biw*3주
2	W7011-BMK1-DM1	6	1	10	i.v.	Biw*3주
3	W7011-BMK1-DM1	6	10	10	i.v.	Biw*3주
4	W7011-4.87.6-z1- ulgG1k (N-S)-DM1	6	1	10	i.v.	Biw*3주
5	W7011-4.87.6-z1- ulgG1k (N-S)-DM1	6	3	10	i.v.	Biw*3주
6	W7011-4.87.6-z1- ulgG1k (N-S)-DM1	6	10	10	i.v.	Biw*3주

[0450]

[0451] 7.3 관찰

[0452] 본 연구에서 동물의 관리 및 사용에 관한 프로토콜 및 임의의 개정(들) 또는 절차는 수행 전에 옥시 애플(WuXi AppTec)의 동물 실험 윤리 위원회 (IACUC)에 의해 검토되고 승인될 것이다. 연구 동안, 실험 동물 관리 평가 인증 협회 (AAALAC)의 규정에 따라 동물의 관리 및 사용을 수행하였다. 접종 후, 동물을 이환을 및 사망물에 대해 매일 점검하였다. 상용 모니터링 시에, 동물을 정상 행동에 대한 종양 성장 및 처리의 임의의 효과, 예컨대 이동성, 음식 및 물 소비, 체중 증가/감소 (체중은 매일 측정함), 눈/모발의 윤기상실 및 임의의 다른 비정상적 효과에 대해 점검하였다. 사망 및 관찰된 임상 징후를 각각의 하위세트 내의 동물의 수에 기초하여 기록하였다.

[0453] 7.4 종양 측정 및 종점

[0454] 주요 종점은 종양 성장이 지연될 수 있는지 또는 마우스가 치유될 수 있는지를 알아보는 것이었다. 종양 크기를 캘리퍼를 사용하여 2 치수로 매주 2회 측정하고, 부피를 하기 식을 사용하여 mm^3 으로 표현하였다: $V = 0.5 a \times b^2$ (여기서 a 및 b는 각각 종양의 긴 직경 및 짧은 직경임). 이어서 종양 크기를 T/C 값 및 TGI의 계산에 사용하였다. T/C 값 (퍼센트 단위)은 항종양 유효성의 지표이고; T 및 C는 제21일 및 제28일에 각각 처리군 및 대조군의 평균 부피이다. TGI를 하기 식을 사용하여 각각의 군에 대해 계산하였다: $\text{TGI} (\%) = [1 - (T_i - T_0) / (V_i - V_0)] \times 100$; T_i 는 제21일 및 제28일에 처리군의 평균 종양 부피이고, T_0 은 처리 시작일에 처리군의 평균 종양 부피이고, V_i 는 제21일 및 제28일에 비히클 대조군의 평균 종양 부피이고, V_0 은 처리 시작일에 비히클 군의 평균 종양 부피이다.

[0455] 모든 군을 프로토콜에 따라 제28일에 취하였다.

[0456] 모든 동물은 실험 기간 동안 체중을 잘 유지하였다.

[0457] 7.5 Nalm-6 림프종 암 이종이식편 모델에서의 효능 연구

[0458] 본 연구에서, 참조 항체-약물-접합체 W7011-BMK1-DM1 및 W7011-4.87.6-z1-uIgG1k (N-S)-DM1의 효능을 암컷 CB17-SCID 마우스 내의 Nalm-6 림프종 암 이종이식편에서 평가하였다. 다양한 시점에서의 모든 군의 종양 부피가 도 14에 디스플레이되어 있다.

[0459] PG-D21에, 이소형 대조군 처리군의 평균 종양 부피는 840 mm^3 에 도달하였다. W7011-BMK1-DM1을 1 mg/kg ($\text{TV}=364 \text{ mm}^3$, $\text{TGI}=66\%$, $p<0.01$) 및 10 mg/kg ($\text{TV}=327 \text{ mm}^3$, $\text{TGI}=71\%$, $p<0.001$)으로 사용한 처리는 유의한 항종양 활성을 나타냈다. ADC W7011-4.87.6-z1-uIgG1k (N-S)-DM1은 1 mg/kg ($\text{TV}=398 \text{ mm}^3$, $\text{TGI}=61\%$, $p<0.01$), 3 mg/kg ($\text{TV}=387 \text{ mm}^3$, $\text{TGI}=62\%$, $p<0.01$) 및 10 mg/kg ($\text{TV}=332 \text{ mm}^3$, $\text{TGI}=70\%$, $p<0.001$)에서 모두 유의한 항종양 활성을 나타냈다.

[0460] 1주 동안 현탁액을 투여한 후, 이소형 대조군 처리군의 평균 종양 부피는 1266 mm^3 에 도달하였다. W7011-BMK1-

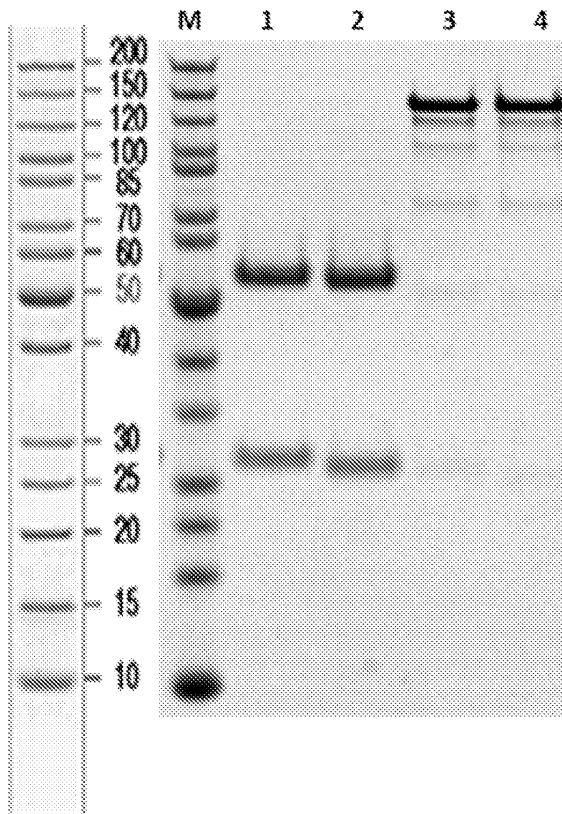
DM1을 1 mg/kg (TV=593 mm³, TGI=58%, p<0.01) 및 10 mg/kg (TV=499 mm³, TGI=67%, p<0.001)으로 사용한 처리는 유의한 항종양 활성을 나타냈다. ADC W7011-4.87.6-z1-uIgG1k (N-S)-DM1은 1 mg/kg (TV=562 mm³, TGI=61%, p<0.01), 3 mg/kg (TV=556 mm³, TGI=62%, p<0.01) 및 10 mg/kg (TV=502 mm³, TGI=66%, p<0.001)에서 모두 유의한 항종양 활성을 나타냈다.

[0461]

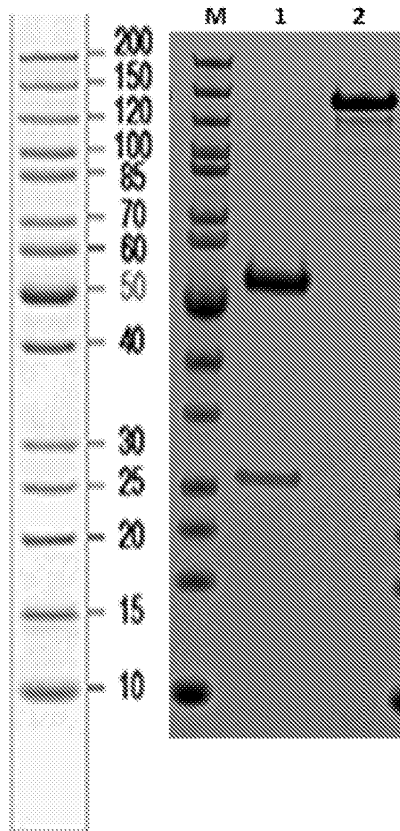
모든 동물은 실험 기간 동안 체중을 잘 유지하였다.

도면

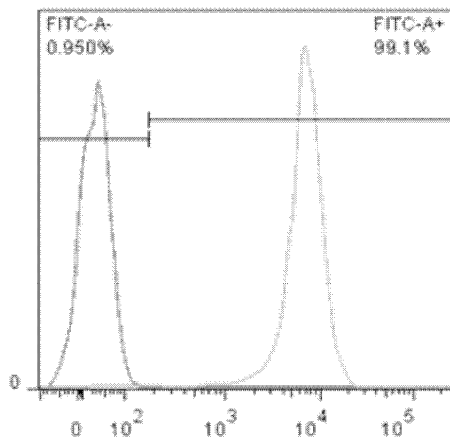
도면1



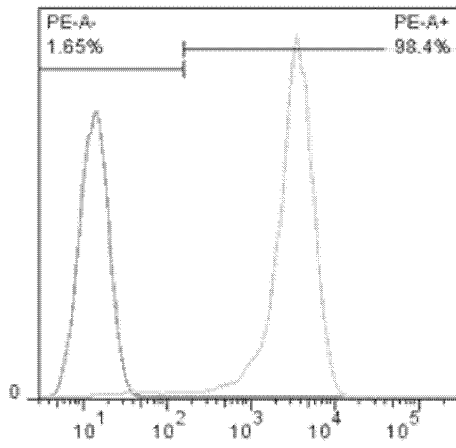
도면2



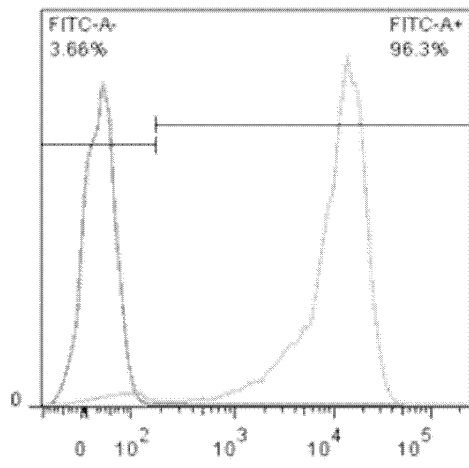
도면3a



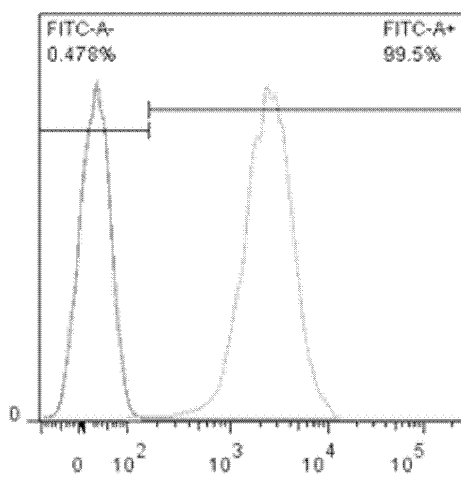
도면3b



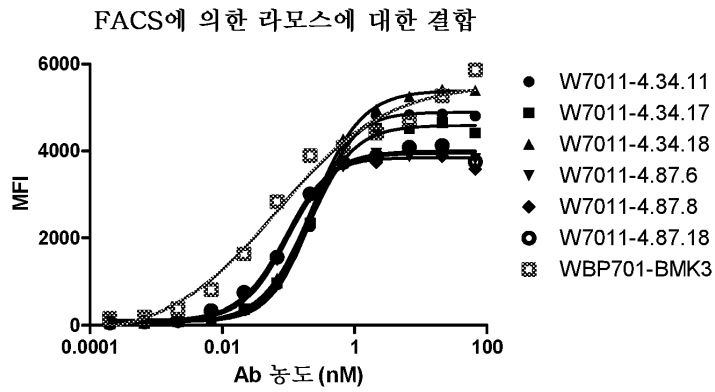
도면3c



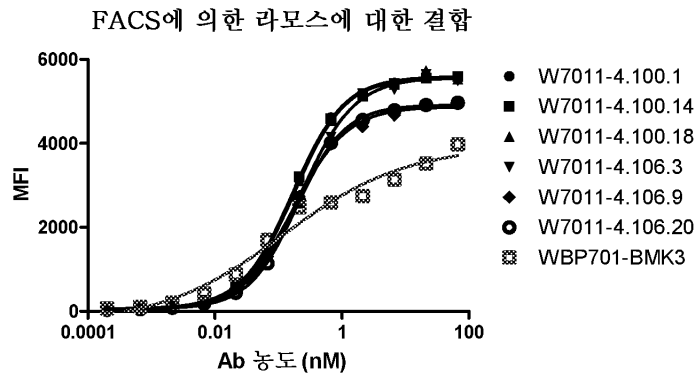
도면3d



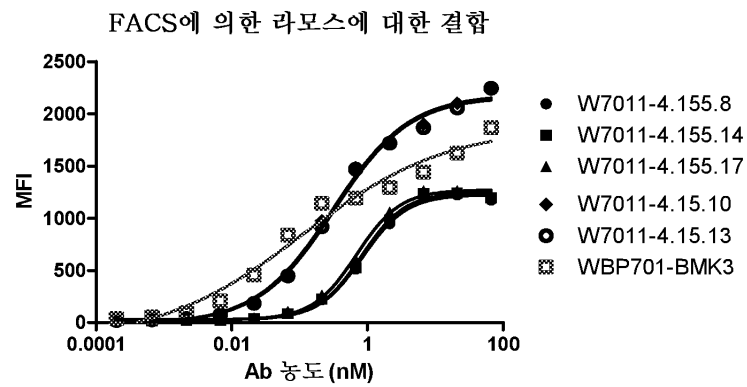
도면4a



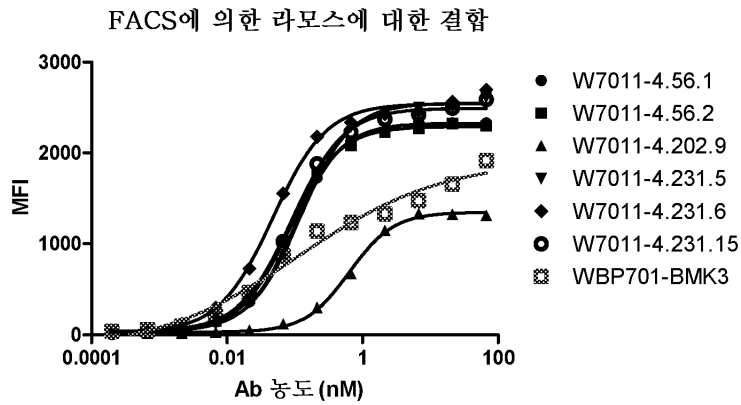
도면4b



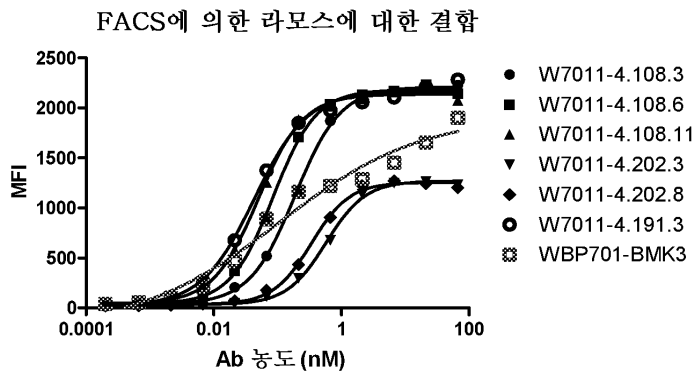
도면4c



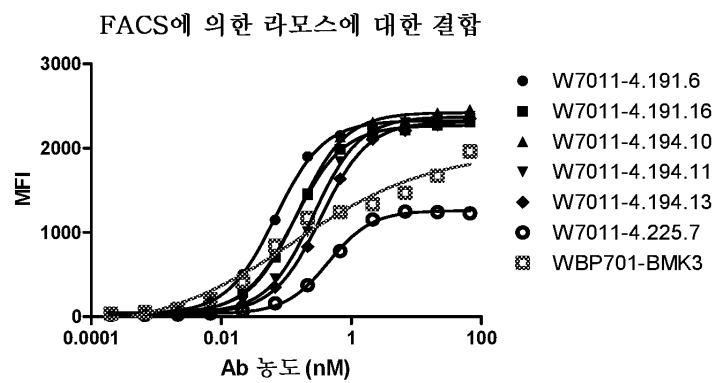
도면4d



도면4e

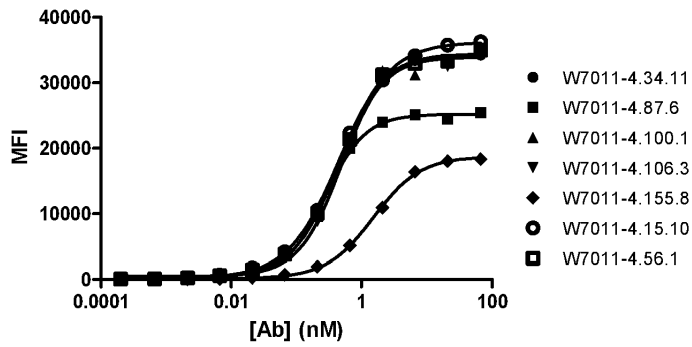


도면4f



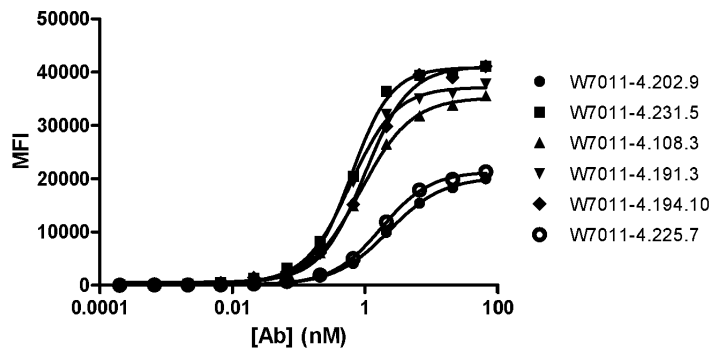
도면5a

FACS에 의한 WBP701.CHO-K1.cynoPro1에 대한 결합



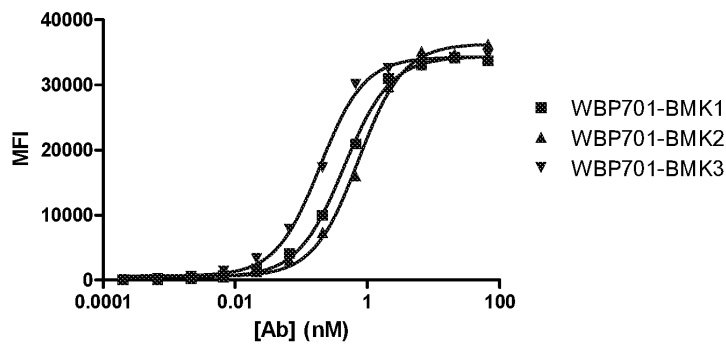
도면5b

FACS에 의한 WBP701.CHO-K1.cynoPro1에 대한 결합

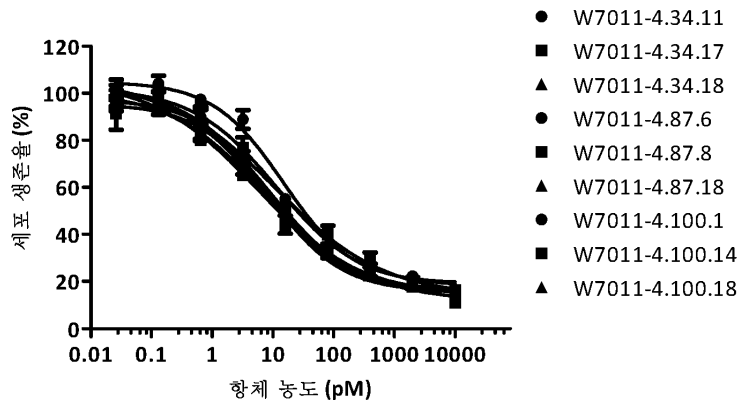


도면5c

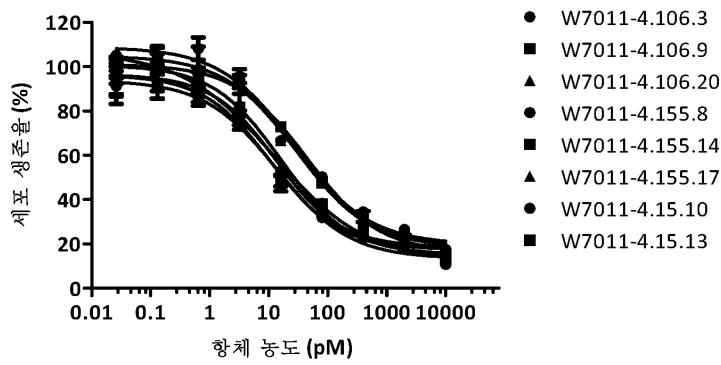
FACS에 의한 WBP701.CHO-K1.cynoPro1에 대한 결합



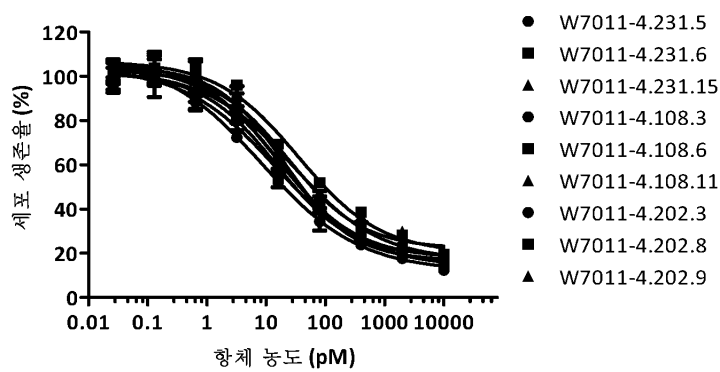
도면6a



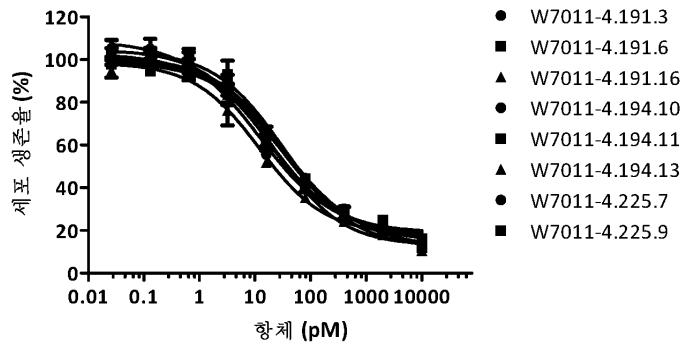
도면6b



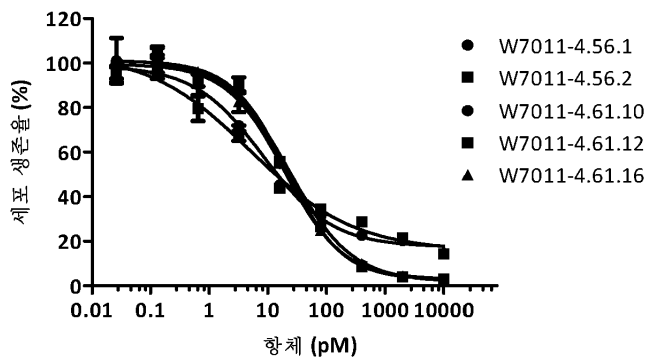
도면6c



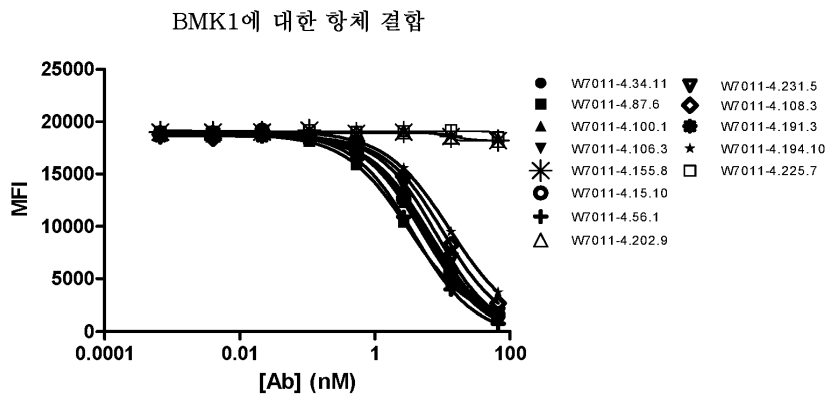
도면6d



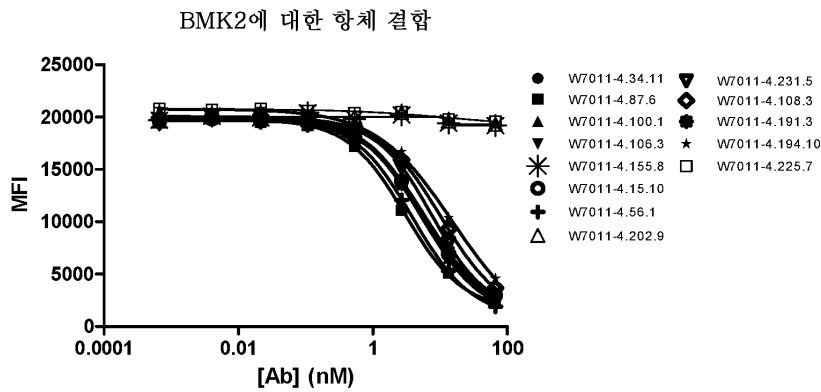
도면6e



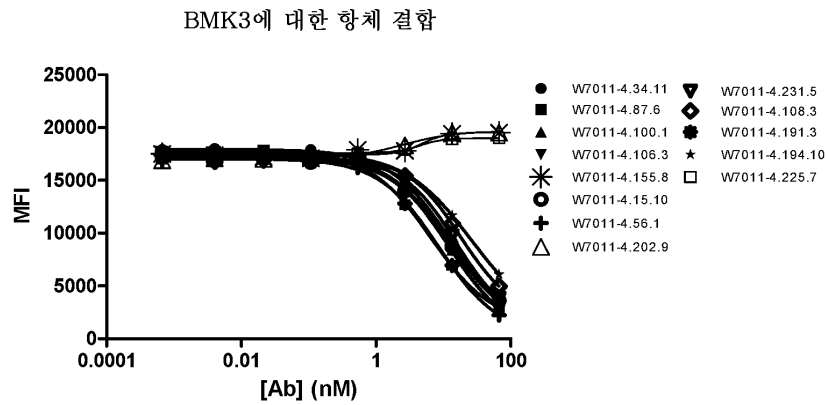
도면7a



도면7b

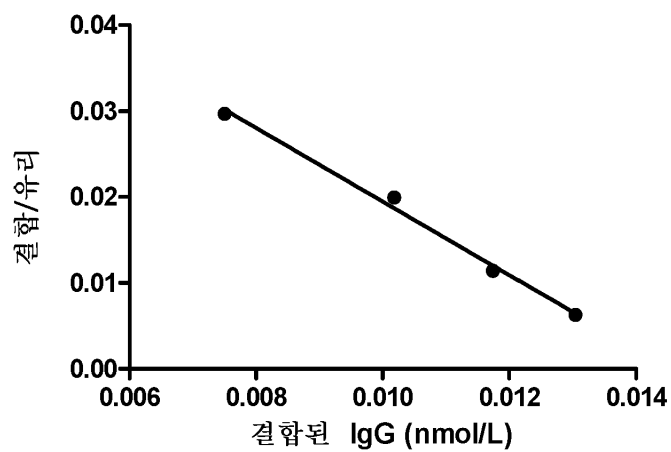


도면7c



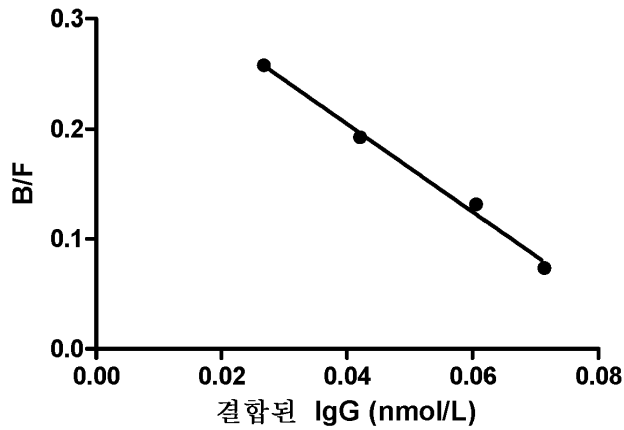
도면8

라모스에 대한 WBP7011-4.34.11-z1-m5-IgG1k 친화도 검증



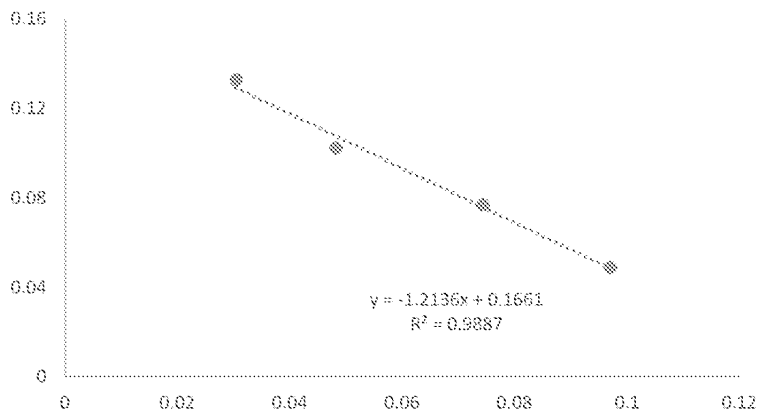
도면9

라모스에 대한 WBP7011-4.87.6-z1-IgG1k(N-S) 친화도 검정



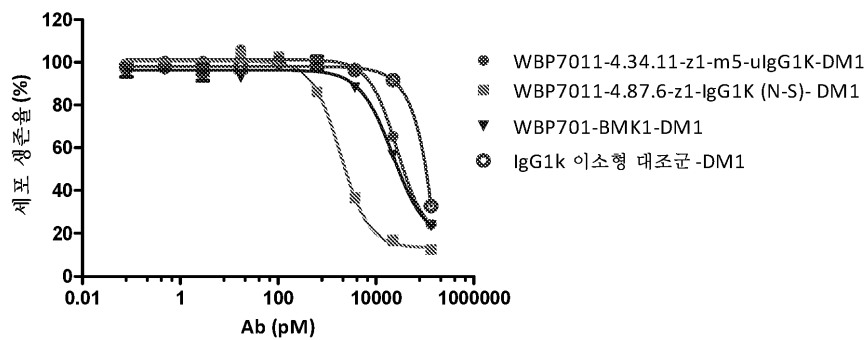
도면10

WBP701.CHO-K1.hPro1 세포에 대한
W7011-4.155.8-z1-ulgG1K 친화도 검정

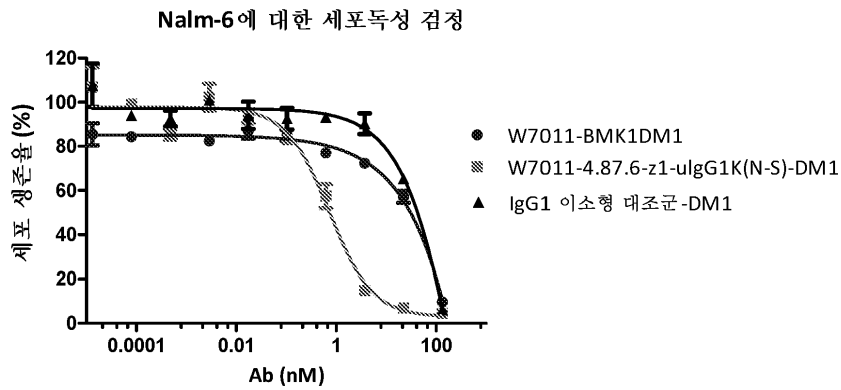


도면11

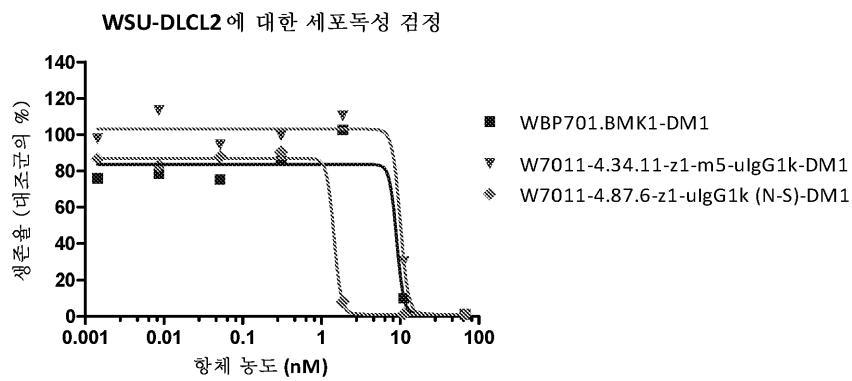
다우디에 대한 세포독성 검정



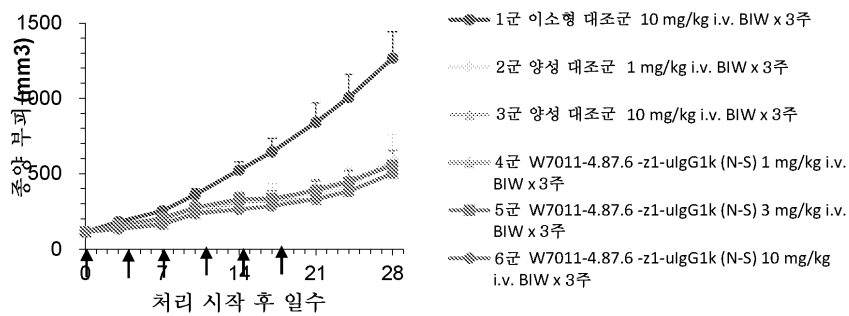
도면12



도면13



도면14



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> WUXI BIOLOGICS (SHANGHAI) CO. LTD.

WUXI BIOLOGICS (CAYMAN) INC.

<120> NOVEL ANTI-CD19 ANTIBODIES

<130> 053674-8013W002

<160> 141

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Val Ile His

1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ala

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 5

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Gly Tyr Ala Phe Ser Thr Tyr Trp Met Asn

1 5 10

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 9

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Arg Tyr Phe Arg Tyr Asp Tyr Trp Tyr Ser Asp Val

1 5 10

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 11

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

His Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr Asn Met Tyr

1 5 10

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Thr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

Ser Ala Ser Ser Thr Val Asn Tyr Met His

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 17

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 19

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Val Ile His

1 5 10

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 21

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 22

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Met His

1 5 10

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 23

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr His Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 24

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 24

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 25

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Ile His

1 5 10

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 26

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

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 27

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 28

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Val Ile His

1 5 10

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 29

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Glu Tyr Ala Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 30

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 31

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Ile His

1 5 10

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 32

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 33

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 34

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Val Ile His

1 5 10

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 35

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Glu Tyr Ser Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 36

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 37

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Met His

1 5 10

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 38

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 39

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 39

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 40

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 40

Arg Ser Ser Gln Thr Leu Glu Asn Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 41

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 42

Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 43

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 43

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Met His

1 5 10

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 44

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

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 45

Gly Pro Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210>

46

<211> 25

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 46

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser

20 25

<210> 47

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 47

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

1 5 10

<210> 48

<211> 32

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 49

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 49

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 50

<211> 23

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 50

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 51

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 51

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

1 5 10 15

<210> 52

<211> 32

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 52

Gly Val Leu Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys

20

25

30

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 53

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 54

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

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

20 25

<210> 55

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

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

1 5 10

<210> 56

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 58

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 59

<211>

15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

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

1 5 10 15

<210> 60

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

20

25

30

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 62

<211> 25

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 62

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser

20 25

<210> 63

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 63

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

1 5 10

<210> 64

<211> 32

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 64

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

1 5 10 15

Leu Ile Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 65

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 65

Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Thr Ser

1 5 10

<210> 66

<211> 23

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 66

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 67

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210>

68

<211> 32

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 68

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 69

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 69

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

1 5 10

<210> 70

<211> 25

<

212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

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

20 25

<210> 71

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

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

1 5 10

<210> 72

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 73

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 74

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

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

20

<210> 75

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 76

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 78

<211> 25

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 78

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

20 25

<210> 79

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 79

Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 80

<211> 32

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 80

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 81

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 82

<211> 23

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 82

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

1 5 10 15

Glu Glu Ile Thr Leu Thr Cys

20

<210> 83

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 83

Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 84

<211> 32

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 84

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 85

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 86

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

20 25

<210> 87

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

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

1 5 10

<

210> 88

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 90

<

211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 91

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

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

1 5 10 15

<210> 92

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 94

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

<210> 95

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 95

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcttgaagg ctcttgata cacattcact aactatgtta ttactgggt gaagcagaag 120

cctgggcagg gccttgagtg gattggatat tttaatcctt acaatgatgg tactgaatac 180

aatgagaagt tcaaagccaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aaaaggtccc 300

tactactacg gtagtagccc ctttgactac tggggccaag gcaccactct cacagtctcc 360

tca 363

<210> 96

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 97

<211> 336

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 97

gatgctgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca ggcttagtca gagccttgaa aacagtaatg gaaacaccta ttgaaactgg 120

tacctccaga aaccaggcca gtctccacag ctctgatct acagggtttc caaccgattt 180

tctgggggcc ttgacaggtt cagtggtagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc 240

agtagagtgg aggcctgagga ttggggagtt tatttctgtc tccaagttac acatgtcccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 98

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

65 70 75 80
Met Gln Leu Ile Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Tyr Phe Arg Tyr Asp Tyr Trp Tyr Ser Asp Val Trp Gly
100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Thr Ser
115 120

<210> 99

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 99

caggttcaac tgcagcagtc tgggctgag ctggtgaggc ctgggtcctc agtgaagatt 60

tcttgaagg ctctggcta tgcattcagt acctattgga tgaactgggt gaagcagagg 120

cctggacagg gtcttgagtg gattggacag atttaccctg gagatgatga tactaagtac 180

aatggaaagt tcaagggtaa agcctcactg actgcagaca aatcctccag caccgcctac 240

atgcagctca tcagcctaac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagaagatac 300

tttaggtacg actactggta ttccgatgtc tggggcgcag ggaccacggt caccgtcacc 360

tca 363

<210> 100

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 100

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

100 105

<210> 101

<211> 321

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 101

gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60

atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaaccg 120

gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaagat tacactcagg agtcccagca 180

agattcagtg gcagtgggtc tggaacagat tactctctca ccattagtaa cctggaacaa 240

gaagatattg ccacttactt ttgccaccag ggtaatacgc ttccgctcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa a 321

<210> 102

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

50									55									60
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr			
65					70					75					80			
Met	His	Leu	Asn	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85					90					95				
Leu	Thr	Thr	Ala	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val			
				100					105					110				
Thr	Val	Ser	Ser															
				115														
<210>	103																	
<211>	348																	
<212>	DNA																	
<213>	Mus musculus																	
<400>	103																	
gagatccagc	tcgacgcagtc	tggacctgag	ctggtgaagc	ctggggcttc	agtgaaggta											60		
tcctgcaagg	cttctggtta	tgcattcact	agctacaaca	tgtactgggt	gaagcagagc											120		
catggaaaga	gccttgagtg	gattggatat	attgatcctt	acaatggtga	tactacctac											180		
aaccagaagt	tcaagggcaa	ggccacattg	actgttgaca	agtcctccag	cacagcctac											240		
atgcatctca	acagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtct	cactacggcc											300		
tatgctatgg	actactgggg	tcaaggaacc	tcagtcaccg	tctctctca												348		
<210>	104																	
<211>	106																	
<212>	PRT																	
<213>	Mus musculus																	
<400>	104																	
Gln	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ile	Met	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly			
1				5				10				15						
Glu	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Cys	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Val	Asn	Tyr	Met			
				20					25					30				
His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr			
				35					40					45				
Ser	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser			

50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Arg Ser Val Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 105
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> Mus musculus
 <400> 105
 caaattgttc tcaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctctagggga ggagatcacc 60
 ctaacctgca gtgccagctc gactgtaaat tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120
 acttctccca aactcttgat ttatagcaca tccaacctgg cttctggagt cccttctcgc 180
 ttcagtggca gtgggtctgg gaccttttat tctctcacia tcagaagtgt ggaggtcgaa 240
 gatgctgccg attattactg ccatcagtgg agtagttatc cgtacacgtt cggagggggg 300
 accaagctgg aaataaaa 318
 <210> 106
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 106
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Val Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

Thr Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 107

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 107

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggttaaagc ctggggcttc agtgaagatg	60
tcctgcaagg ctcttgata cacattcact aactatgtta tacactgggt gaagcagaag	120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatacctt acaatgatgg tactgagtac	180

aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca catectccag cacagcctac	240
atggcgctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaggaccc	300
tattactacg gtggtagccc cttcgactac tggggccaag gcaccactct cacagtctcc	360
tca	363

<210> 108

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 108

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr His Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Phe Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 109

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 109

gaggtccagc tgcagcagtc tgggcctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg ctcttgata cacattcact agctatgtta tgcactggat gaaacagaag 120

cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactgagtac 180
catgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct tttactgtgc aagaggaccc 300
tattactacg gtggtagccc ctttgacttc tggggccaag gcaccactct cacggtctcc 360
tca 363

<210> 110

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 110

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Glu Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Ser Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 113

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 113

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg	60
tcctgcaagg ctcttgata cacattcagt agttatgtta tacactgggt gaagcagaag	120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatacctt acaatgatgg tgctgagtat	180
gctgagaagt tcaagggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag ttctgcctat	240
atggagctcg gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc acgaggaccc	300
tattactacg gtggtagtcc ctttgactac tggggccaag gcaccactct cacagtctcc	360
tca	363

<210> 114

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 114

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

Ser Val Glu Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Ile His Trp Leu Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Glu Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Asp Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 115

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 115

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtggagatg 60
tcttgcgaagg ctcttgata cacattcact agctatgtta ttacttggtt gaagcagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tgctgagtat 180
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag tacagcctat 240
atggatctca acagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaggaccc 300
tattactacg gtagtagccc ctttgactac tggggccaag gcaccactct cacagtctcc 360

tca 363

<210> 116

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 116

Glu Val Gln Leu Leu Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Val Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 117

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 117

gaggtccagc tgctgcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactatgtta tacactgggt gaagcagagg 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaaccctt acaatgatgg ttctgagtac 180
agtgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaggaccc 300

tattactacg gtggtagtcc ctttgactac tggggccaag gcaccactct cacagtctcc 360
tca 363

<210> 118

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 118

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

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

20 25 30
Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 119

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 119

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg ctcttgata cacattcact agctatgtta tgcactgggt gaagcagaag 120

cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac 180

aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaggaccc 300

tattactacg gtagtagccc ctttgactac tggggccaag gcaccactct cacagtctcc 360

tca 363

<210> 120

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 120

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

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Leu Glu Asn Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Thr Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 121

<211> 336

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 121

gatgctgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca ggtctagtca gacccttgaa aacagtaatg gaaacaccta ttggaactgg 120
tacctccaga aaccaggcca gtctccacag ctctgatct acagggtttc caaccgattt 180
tctgggtgcc tagacaggtt cagtggtagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc 240

agcagagtgg agactgagga ttggggagtt tatttctgcc tccaagttac acatgtcccg 300
tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 122

<211> 121

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 122

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

100 105 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 123

<211> 363

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 123

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctatgtca tgcactgggt gaagcagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactcagtac 180
aatgagaagt ttaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaggaccc 300
tattactaca gtcttagccc ctttgactac tggggccaag gcaccactct cacagtctcc 360
tca 363

<210> 124

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 124

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 Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 125

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 125

caggtgcagc ttgtgcagtc tggagctgaa gtgaagaagc caggatcctc cgtgaaggtc 60

tcctgtaagg cttctggcta caccttcacc gattacgtga tccactgggt caggcaggcc 120

cctgggcaag gcttggagtg gatggggtac tttaacccct acaacgatgg gactgagtac 180

aatgagaagt ttaaagcacg ggtgaccatt accgccgaca agagcacaag cacagcctac 240

atggagctgt ccagcctccg cagcgaggat acagccgtct actactgcgc cagaggccct 300

tactactatg ggtccagccc cttcgactat tggggccagg ggactacagt gactgtcagt 360

tca 363

<210> 126

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 126

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

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

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

<210> 127

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 127

gatatacgtga tgaccacagac tccctgtcc ctctctgtga cccagagaga accagcttct 60

atcacgtgta ggtcctcaca gagcctggag aactccaacc acaacaccta cataaactgg 120

tacctccaga agcctgggca gtctccccag ttgtgatct acagggtcag caaacgcttc 180

tccgggggtgc ccgacgggtt tagtgggagc gggagcggca cagactttac actcaagatt 240

tccagagtgg aggccgagga cgtcggcgtc tattactgcc accaagtgc acacgtgccc 300

tacacattcg gccagggcac taaactggag attaag 336

<210> 128

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 128

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

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

<210> 129

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 129

caggtccagc ttgtccagtc tggagcagaa gtgaagaagc caggggcttc agtgaaggtg 60
tcttgcaagg ctcccgata cgccttctcc acttactgga tgaactgggt gcgccaggcc 120
cctgggcagg gcttggagtg gatgggccag atctatcccg gcgatgacga cacaaaatac 180
agcgggaagt tcaagggcg ggtgaccatt accgccgata aaagcacctc caccgcctac 240
atggagctca gticcctgag aagcgaggat acagccgtgt actactgtgc caggaggtac 300
tttcggtacg actactggtg tagcgacgtc tgggggcaag gcacaactgt cacagtgagc 360
agc 363

<210> 130

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 130

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 Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 131

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 131

gacatccaaa tgaccagag cccttcctcc ttgtccgcaa gtgtgggaga tagagtgacc 60

atcacctgca gggctttctca ggatatctcc aactacctga actggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggtgc caaagctcct tatttactac acctcccggc tgcacagcgg agtcccatct 180

cgcttcagcg ggtcaggcag cggcactgac ttactctga caattagcag cctccagcct 240

gaagacgtcg ccacttacta ctgtcatcag gggaatacac tcccctgac attcgggcag 300

gggacaaaac tggagattaa g 321

<210> 132

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 132

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met 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

Leu Thr Thr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 133

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 133

caaatgcagc tcgtccagtc tggacctgaa gtgaagaagc ccgggacatc cgtaaggtc 60

tcatgtaagg ctacgggta cgcattcact tctacaaca tgtactgggt gcgccaggcc 120

agaggacaga gggtggagtg gatcggtac atcgacccat acaacgccga tactacctac 180

aatcagaagt ttaaagggcg ggtgaccatt acccgggata tgtccacctc caccgcctac 240

atggagctga gcagcctgag gagcgaggac acagccgtgt actactgcct gacaacagcc 300

tatgccatgg actattgggg ccagggcaca cttgtgactg ttagcagt 348

<210> 134

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 134

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Thr Val Asn Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 135

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400>

> 135

gacatccagc tcacccaatc ccttctttc ctctccgcaa gtgtcggaga tagggtgact 60

atcacctgct cagcttcttc aaccgtgaac tacatgcatt ggtaccagca gaagcccggg 120

aaagccccaa agctgctgat ctacagcacc tccaatctgg ccagtggagt gccaagccgg 180

tttagcggga gcggtccgg cactgaattc actttgacaa ttagcagcct tcagcctgag 240

gactttgcc catattactg tcaccagtgg tccagctacc cctacacatt cgggcagggc 300

acaaagctgg agattaag

318

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 136

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Val Ile His

1 5 10

<210> 137

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 137

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn His Asn Thr Tyr Ile Asn

1 5 10 15

<210> 138

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 138

Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser

1 5

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 139

His Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 140

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 140

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

1 5 10 15

Gly

<210> 141

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 141

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Ala Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly