(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.^{7} **C07K 16/28**		**(11) 공개번호** **(43) 공개일자**	**10-2004-0070254** **2004년08월06일**

(21) 출원번호	10-2004-7009664		
(22) 출원일자	2004년06월18일		
번역문 제출일자	2004년06월18일		
(86) 국제출원번호	PCT/US2002/040597	(87) 국제공개번호	WO 2003/054216
(86) 국제출원출원일자	2002년12월19일	(87) 국제공개일자	2003년07월03일

(30) 우선권주장	60/341,237	2001년12월20일	미국(US)
	60/369,877	2002년04월05일	미국(US)
	60/384,828	2002년06월04일	미국(US)
	60/396,591	2002년07월18일	미국(US)
	60/403,370	2002년08월15일	미국(US)
	60/425,737	2002년11월13일	미국(US)

(71) 출원인	휴먼 게놈 사이언시즈, 인코포레이티드 미국 메릴랜드주 20850-3338 록크빌 키 웨스트 애비뉴 9410
(72) 발명자	살세도테오도라 미국 뉴욕주 13057 이스트 사이라커스 맥쿨 애비뉴 403
	알버트비비안알 미국 메릴랜드주 20850 락빌 밀스 파암 로드 13710
	로젠크레이크에이 미국 메릴랜드주 20882 레이톤스빌 롤링 힐 레인 22400
	험프레이스로빈 미국 메릴랜드주 21704 프레데릭 빌스 파암 로드 9014
	보우간트리스탄존 영국 캠브릿지샤이어 씨비2 5에이큐 캠브릿지 그레이트 셀포드 코피스 애비뉴 25
(74) 대리인	이병호 김영관 홍동오

심사청구 : 없음

(54) TRAIL 수용체에 면역특이적으로 결합하는 항체

요약

본 발명은 TRAIL 수용체, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체 및 관련 분자에 관한 것이다. 이러한 항체는, 예를 들어, 암 및 기타 과증식성 장애의 치료 및 예방에 사용된다. 또한, 본 발명은 항-TR7 항체를 암호화하는 핵산 분자, 이들 핵산 분자를 함유하는 벡터 및 숙주 세포, 및 이를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은, TRAIL 수용체 TR7에 면역특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 관련 분자의 유효량을 동물, 바람직하게는 사람에게 투여함을 포함하여, 질환 또는 장애, 특히 암 및 기타 과증식성 장애를 예방, 탐지, 진단, 치료 또는

경감하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

대표도

도 1A

색인어

TRAIL 수용체, TR7, 항체, 면역특이적, 암, 과증식성 장애

명세서

기술분야

본 발명은 TRAIL 수용체, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체 및 관련 분자에 관한 것이다. 이러한 항체는, 예를 들면, 암 및 기타 증식성 장애의 예방 및 치료에서 사용된다. 또한, 본 발명은 항-TR7 항체를 암호화하는 핵산 분자, 이들 핵산을 함유하는 벡터 및 숙주 세포, 및 이를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은, TR7에 면역특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 관련 분자의 유효량을 동물, 바람직하게는 사람에게 투여함을 포함하여, 질환 또는 장애, 특히 암 및 기타 과증식성 장애를 예방, 탐지, 진단, 치료 또는 경감하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경기술

많은 생물학적 작용, 예를 들어, 특정 자극에 대한 반응 및 천연 생물학적 과정은 사이토킨 같은 인자들에 의해 조절된다. 많은 사이토킨들이 수용체에 결합하여 세포내 반응을 일으키는 방법으로 수용체를 통해 작용한다.

예를 들면, 종양 괴사 인자(TNF) 알파 및 베타는, TNF 수용체를 통해 작용하 여 감염 예방 및, 쇼크 및 염증 질환의 유도를 포함하는 수 많은 생물학적 과정을 조절하는 사이토킨이다. TNF 분자는 'TNF-리간드' 슈퍼패밀리에 속하며, 이의 수용체 또는 카운터-리간드, 즉 'TNF-수용체' 슈퍼패밀리와 함께 작용한다. 지금까지, TNF 리간드 슈퍼패밀리의 18개 이상의 구성원이 동정되었으며 TNF-수용체 슈퍼패밀리의 19개 이상의 구성원의 특징이 규명되었다[참조문헌: Locksley et el., Cell (2001) 104: 487-501].

리간드 중에는, TNF-α, 림포톡신-α(LT-α, 또한 TNF-β로 공지됨), LT-β(이종삼량체 LT-α2-β 복합체에서 발견됨), FasL, CD40L, CD27L, CD30L, 4-1BBL, OX40L 및 신경 성장 인자(NGF)가 포함된다. TNF 수용체의 슈퍼패밀리는 p55TNF 수용체, p75TNF 수용체, TNF 수용체-관련 단백질, FAS 항원 또는 APO-1, CD40, CD27, CD30, 4-1BB, OX40, 저 친화도 p75 및 NGF-수용체[참고: Meager, A., Biologicals, 22:291-295 (1994)]를 포함한다.

TNF-리간드 슈퍼패밀리의 많은 구성원들은 활성화 T-세포에 의해 발현되며, 이는 이들이 세포 개체발생 및 세포 기능에 기초가 되는 기타 세포 유형과 T-세포와의 상호작용에 필요함을 의미한다.[상기 Meager, A.].

TNF 수용체 패밀리 중 수 개의 구성원의 필수적인 기능에 대한 상당한 통찰력은 이러한 단백질의 발현을 억제시킨 돌연변이체의 동정 및 작제로부터 수득되었다. 예를 들면, FAS 항원 및 이의 리간드에서의 천연 돌연변이는 임파구 증식성 장애를 야기하며[참고: Watanabe-Fukunaga, R., et al., Nature 356:314 (1992)], 이는 아마도 프로그램된 세포 사멸의 실패를 반영한다. CD40 리간드의 돌연변이는 혈장 중 높은 수준의 면역글로불린 M 및 낮은 수준의 면역글로불린 G로 특성화되는 X-연관된 면역결핍 상태를 야기하며, 이는 비정상적인 T-세포-의존성 B-세포 활성화를 의미한다[Allen, R.C. et al., Science 259: 990 (1993)]. 낮은 친화도의 신경 성장 인자 수용체의 의도된 돌연변이는 말초 구조의 비정상적인 감각 혁신에 의해 특성화되는 장애를 야기한다[참고 : Lee, K.F. et al., Cell 69: 737 (1992)].

TNF 및 LT-α는 2개의 TNF 수용체(55- 및 75-kd TNF 수용체)에 결합할 수 있다. 수용체를 통해 작용하는 TNF 및 LT-α에 의해 유도되는 수많은 생물학적 효과들은 이식된 종양의 출혈성 괴사, 세포독성, 내독성 쇼크, 염증, 면역조절, 증식 및 항-바이러스성 반응에서의 역할 뿐만 아니라 이온화 방사능의 유해 효과로부터의 보호를 포함한다. TNF 및 LT-α는 내독성 쇼크, 뇌성 말라리아, 종양, 자가면역 질환, AIDS 및 이식편-숙주 거부 반응을 포함하는, 광

범위한 질환의 발병에 관여한다[Beutler, B. 및 Von Huffel, C., Science 264: 667-668 (1994)]. p55 수용체에서의 돌연변이는 미생물 감염에 대한 감수성 증가를 초래한다.

추가로, TNFR1(p55) 및 Fas의 C-말단에 인접한 약 80개 아미노산 도메인은 '사멸 도메인(death domain)'으로 공지되어 있으며, 이는 프로그램된 세포 사멸을 위한 신호 전달에 관여한다[참고: Tartaglia et al., Cell 74: 845 (1993)].

아폽토시스(apoptosis), 또는 프로그램된 세포 사멸은 다세포 유기체의 정상적인 발달 및 항상성에 필수적인 생리적 과정이다[참고: H. Steller, Science 267, 1445-1449 (1995)]. 아폽토시스의 교란은 암, 신경퇴행성 장애, 및 후천성 면역결핍증을 포함하는 수 개의 사람 질환의 발병에 관여한다[참고: C.B. Thompson, Science 267, 1456-1462 (1995)]. 최근에, 많은 관심들이 2개의 세포 표면 사멸 수용체, Fas/APO-1 및 TNFR-1의 신호 전달 및 생물학적 기능에 집중되고 있다[참고: J.L. Cleveland, et al., Cell 81, 479-482 (1995); A. Fraser, et al., Cell 85, 781-784 (1996); S. Nagata, et al., Science 267, 1449-56 (1995)]. 둘 모두는 TNF 수용체 패밀리의 구성원이며, 상기 패밀리는 또한 그외에, TNFR-2, 낮은 친화도 NGFR, CD40 및 CD30을 포함한다[참고: C.A. Smith, et al., Science 248, 1019-23 (1990); M. Tewari, V.M. Dixit, in Modular Texts in Molecular 및 Cell Biology M. Purton, Heldin, Carl, Ed.(Chapman 및 Hall, London, 1995)]. 상기 패밀리 구성원들은 이들의 세포외 도메인에서 시스테인-풍부 반복체의 존재로서 정의되는 반면, Fas/APO-1 및 TNFR-1은 또한 '사멸 도메인'으로 적합하게 명명된, 세포내 상동성 영역을 공유하며, 이는 초파리(Drosophila) 자살 유전자인, reaper와 미약하게 관련이 있다[참고: P. Golstein, D. Marguet, V. Depraetere, Cell 81, 185-6 (1995); K. White et al., Science 264, 677-83 (1994)]. 이러한 공유된 사멸 도메인은 두 수용체 모두가 최근까지 미확인된 채로 남아 있는, 관련된 신호 전달 분자 세트와 상호작용 한다는 것을 제시한다. Fas/APO-1의 활성화는 사멸 도메인-함유 어댑터 분자 FADD/MORT1을 보강하고[참고: A.M. Chinnaiyan, et al., Cell 81, 505-12 (1995); M.P. Boldin, et al., J. Biol Chem 270, 7795-8 (1995); F.C. Kischkel, et al., EMBO 14, 5579-5588 (1995)], 상기 분자는 차례로 프로-아폽토시스성 프로테아제의 ICE/CED-3 패밀리 중 한 구성원인, FLICE/MACH1에 결합하여 이를 활성화시키는 것으로 보인다[참고: M. Muzio et al., Cell 85, 817-827 (1996); M.P. Boldin, et al., Cell 85, 803-815 (1996)]. Fas/APO-1의 중심 역할이 세포 사멸을 촉진하는 것인데 반해, TNFR-1은 NF-kB를 활성화시키는 이의 능력으로부터 주로 기인하는, 다양한 생물학적 활성을 전달할 수 있다[참고: L.A. Tartaglia, et al., Immunol Today 13, 151-3 (1992)]. 따라서, TNFR-1은 다가 어댑터 분자 TRADD를 보강하며, 이는 FADD와 마찬가지로, 또한 사멸 도메인을 함유한다[H. Hsu, et al., Cell 81, 495-504 (1995); H. Hsu, et al., Cell 84, 299-308 (1996)]. FADD, TRAF2 및 RIP를 포함하는 수 많은 신호전달 분자와의 결합을 통하여, TRADD는 아폽토시스와 NF-kB 활성화 신호를 모두 전달할 수 있다[참고: H. Hsu, et al., Cell 84, 299-308 (1996); H. Hsu, et al., Immunity 4, 387-396(1996)].

하나의 TNF-관련 아폽토시스 유도성 리간드가 수 개의 그룹에 의해 보고되었으며, 명칭을 아폽토시스 유도성 분자 I (AIM-I)[참조: 국제출원 WO 97/33899] 및 TNF-관련 아폽토시스-유도성 리간드 또는 (TRAIL)[참조: Wiley, S.R. et al., Immunity 3: 673-682 (1995)]로 기술하였다. 피티(Pitti, R. M. et al.,)는 새로운 분자를 Apo-2 리간드 또는 ('Apo-2L')로 지칭한다. 편의상, 본원에서는 이를 TRAIL로서 지칭할 것이다. TRAIL의 아미노산 서열은 서열번호 72에 제공된다.

FAS 리간드의 전사체가 자극된 T-세포에 주로 제한되는 것으로 보이는 것과는 달리, 상당한 수준의 TRAIL이 많은 조직에서 나타났으며, 이는 일부 세포주에 의해 구성적으로 전사된다. TRAIL이 FAS 리간드와는 독립적으로 작용한다는 것이 밝혀졌다[참조: Wiley, S.R., et al. (1995), supra]. 마스터(Marsters, S. A. et al.)에 의한 연구는, TRAIL이 FAS/Apo-1L에 의한 사멸 신호전달과는 유사하지만, TNF-유도된 아폽토시스 보다 훨씬 신속히, 일정 시간 범위 내에서 아폽토시스를 급속히 촉진하는 것을 나타내었다[참조: Current Biology, 6: 750-752 (1996)].

다음과 같은 5종의 TRAIL 수용체가 동정되었다: TR7 (또한 TRAIL 수용체 1 (TRAIL-R1) 및 사멸 수용체 4 (DR4)로서 공지됨[참조 문헌: Pan et al., Science 276:111-3 (1997), 국제출원 W098/32856, WOOO/67793, W099/37684, W02000/34355, W099/02653, SEQ ID NO:1]; TR7 (또한 TRAIL 수용체 2 (TRAIL-R2), DR5, 및 KILLER로서 지칭됨)[참조 문헌: Pan et al., Science 277:815-8 (1997), Sheridan et al., Science 277:818-21 (1997), Chaudhury et al., Immunity 7: 821-30 (1997), 국제출원 W098/46643, W099/09165, W099/11791, W098/41629, WO00/66156, 및 W098/35986, SEQ ID NO:3]; TR1 (또한 오스테오프로테제린 (OPG) 파골세포분화(osteoclastogenesis) 억제 인자 (OCIF), TNFRSF11B, 및 FTHMA-090로서 지칭됨 [참조 문헌: 국제출원 W098/12344, W02000/54651, W02001/04137, W066/26217, W098/07840, W02000/21554, W099/53942, 및 W02001/03719, SEQ ID NO:5]; TR5 (또한 TRAIL 수용체 3 (TRAIL-R3), 유인 수용체 1 (DcRL) 및 TRID로서 지칭됨)[참조 문헌: Degli-Esposti et al., J.Exp.Med. 186: 1165-70 (1997), 국제출원 W098/30693, WO00/71150, W099/00423, EP867509, W098/58062, SEQ ID NO:2]; 및 TR10 (또한 TRAIL 수용체 4 (TRAIL-R4), DcR2, 및 TRUNDD로서 지칭됨)[참조 문헌: Pan et al., FEBS Lett. 424:41-5 (1998), Degli-Eposti et al., Immunity 7: 813-20 (1997), 국제출원 W098/54202, WO00/73321, W02000/08155, W099/03992, WO 2000/34355 및 W09910484, SEQ ID NO:4]. TR7 및 TR7은 이들의 세포질 후부중에 사멸 도메인을 함유하며, 이들 수용체의 자극으로 아폽토시스가 유발된다. 다른 한편, TR1, TR5 및 TR10은, 각각 부재하거나 절두된 이들의 세포질 사멸 도메인 때문에, 부분적으로 세포독성 리간드 TRAIL에 의해 유도된 아폽토시스를 억제할 수 있다. 상기 인용된 각 공보 및 특허는 특히 공개된 TRAIL

수용체의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열과 관련하여, 이들의 전문이 참조로서 본원에 인용된다.

TNF 패밀리 리간드 및 TNF 패밀리 수용체의 효과는 포유동물계의 생물학적 과정에서 다양하며, 수 많은 정상적인 및 비정상적인 기능들에 영향을 미친다. 따라서, 정상 상태 및 질환 상태 모두에서 TNF 수용체의 생물학적 활성에 영향을 미치는 조성물, 예를 들어 항체를 동정하고 특성을 규명할 필요가 명백하다. 특히, TRAIL 수용체의 생물학적 활성을 조절하는 항체를 분리하고 특성을 규명할 필요가 있다.

발명의 개요

본 발명은 TR7 폴리펩티드 또는 TR7의 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체 (항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나, 이로 이루어진 분자를 포함)를 포괄한다. 특히, 본 발명은 서열번호 3과 같은 사람 TR7의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체 (항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나, 이로 이루어진 분자를 포함)를 포괄한다. 일부 태양에서, TR7 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 항체는 또한 TR7(예: 서열번호 3)에 결합하지만, 다른 단백질, 예를 들어 TR1, TR5 및 TR10(서열번호 5, 2 및 4)에는 결합하지 않는다.

본 발명은 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 관련 분자의 유효량을 동물, 바람직하게는 사람에게 투여함을 포함하여, 질환이나 장애를 예방, 치료 또는 경감시키기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 구체적 태양에서, 본 발명은 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 관련 분자의 유효량을 동물, 바람직하게는 사람에게 투여함을 포함하여, TR7 기능 또는 TR7 리간드 기능 또는 비정상적 TR7 또는 TR7 리간드 발현과 관련된 질환이나 장애를 예방, 치료 또는 경감시키기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 보다 바람직한 태양에서, 본 발명은 암 및 기타 과증식성 장애(예: 백혈병, 암종 및 림프종)을 예방, 치료 또는 경감시키기 위한 항체-이용 방법 및 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 항체로 치료, 예방 또는 호전될 수 있는 기타 질환 및 장애에는 신경퇴행성 장애(예를 들어, 파킨슨 질환, 알츠하이머 질환, 헌팅톤 질환); 면역 장애(예를 들어, 루프스, 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 하시모토 질환, 면역결핍 증후군), 염증성 장애(예를 들어, 천식, 알레르기성 장애, 및 류마티스 관절염), 감염성 질환(예를 들어, AIDS, 헤르페스 바이러스 감염증 및 기타 바이러스 감염증), 및 증식성 장애가 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다.

또한, 본 발명은 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하 는 하나 이상의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 관련 분자의 유효량을 동물, 바람직하게는 사람에게 투여함을 포함하여, 질환이나 장애를 탐지, 진단 또는 예후하기 위한 방법 및 조성물을 포괄한다. 구체적 태양에서, 본 발명은 또한 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체, 또는 관련 분자의 유효량을 동물, 바람직하게는 사람에게 투여함을 포함하여, TR7 기능 또는 TR7 리간드 기능 또는 비정상적 TR7 또는 TR7 리간드 발현과 관련된 질환이나 장애를 탐지, 진단 또는 예후하기 위한 방법 및 조성물을 포괄한다. 보다 바람직한 태양에서, 본 발명은 암 및 기타 과증식성 장애(예: 백혈병, 암종 및 림프종)을 탐지, 진단 또는 예후하기 위한 항체-이용 방법 및 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 항체로 탐지, 진단 또는 예후할 수 있는 기타 질환 및 장애에는 신경퇴행성 장애(예를 들어, 파킨슨 질환, 알츠하이머 질환, 헌팅톤 질환); 면역 장애(예를 들어, 루프스, 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 하시모토 질환 및 면역결핍 증후군), 염증성 장애(예를 들어, 천식, 알레르기성 질환, 및 류마티스 관절염), 감염성 질환(예를 들어, AIDS, 헤르페스 바이러스 감염증 및 기타 바이러스 감염증), 및 증식성 장애가 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다.

보다 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 다음 유형의 암을 예방, 진단, 예후, 치료 또는 경감시키기 위한 방법 및 조성물에 사용된다: 유방암, 폐암(비-소세포 폐암 포함), 결장암, 요도암, 방광암, 신장암, 췌장암, 간암, 위암, 전립선암, 백혈병, 비-호지킨 림프종, 식도암, 뇌암, 백혈병, 난소암, 고환암, 흑색종, 자궁암, 경부암, 후두암, 직장암, 및 구강암. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 화학치료제, 예를 들어 파클리탁셀(Taxol), 이리노테칸(Camptosar, CPT-11), 이리노테칸 동족체 및 겜시타빈(GEMZAR ™)과 함께 투여된다.

본 발명의 또 다른 태양은 세포상에 TR7 발현을 모니터하기 위한 진단 도구로서의 본 발명의 항체의 용도를 포함한다.

본원의 발명자들은 TR7 폴리펩티드(예: 서열번호 3)에 면역특이적으로 결합하는 단일쇄 Fv's(scFvs)를 생성하였다. 따라서, 본 발명은 표 1에 기재된 이들 scFv를 포괄한다. 또한, 본 발명은 표 1에 기재된 일자에 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션('ATCC')에 기탁되고 표 1에서 동정된 ATCC 수탁번호가 주어진 이들 scFv에 상응하는 항체를 발현시키도록 조작된 세포주를 포괄한다. ATCC는 미국 버지니아주 20110-2209 마나사스 유니버시티 불러바드 10801에 소재한다. 당해 ATCC 기탁은 특허 절차의 목적상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약의 기준에 따른 것이다.

또한, 본 발명은 scFv를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 및 scFv의 아미노산 서열을 포괄한다. TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 이들 scFv의 단편 또는 변이체(예를 들어, 표 1에 언급된 것들중 임의의 하나의 scFv의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, VH CDR, VL 도메인 또는 VL CDR)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 분자가 또한 본 발명에 포괄되고, 이들 항체 및/또는 분자를 암호화하는 핵산 분자도 그러하다. 보다 바람직한 태양에서, 본 발명은 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체의 세포외 영역/도메인에 결합하는 항체, 이의 단편 또는 변이체를 포괄한다.

또한, 본 발명은 검출가능한 표지, 예를 들어 효소, 형광성 표지, 발광성 표지, 또는 생물발광성 표지에 결합된 TR7 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다. 또한, 본 발명은 치료제 또는 세포독성제에 결합된 TR7 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다. 또한, 본 발명은 방사성 물질에 결합된 TR7 폴리펩티드에 결합된 항체를 제공한다.

또한, 본 발명은 TR7 효능제 또는 TR7 길항제로서 작용하는 TR7 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극한다. 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TRAIL이 TR7에 결합하는 것을 억제한다. 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 발현을 상향조절한다.

또한, 본 발명은 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 억제하는 항체를 제공한다. 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 발현을 하향조절한다.

추가적 태양에서, 본 발명의 항체는 10^{-7} M 이하의 해리 상수(K_D)를 갖는다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 10^{-9} M 이하의 해리 상수(K_D)를 갖는다.

본 발명은 동일한 농도의 TRAIL 폴리펩티드가 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것 보다도 더욱 강하게 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체를 추가로 제공한다.

본 발명은 항체 가교 시약의 존재 또는 부재하에서 동등하게 강하게 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하고/하거나; 가교 항체 또는 다른 가교제의 부재하에서 동일한 농도의 TRAIL과 동일하거나 보다 강한 효능으로 아폽토시스를 추가로 자극한다.

추가적 태양에서, 본 발명의 항체는 10^{-3} /초 이하의 해리(off) 속도(k_{off})를 가진다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 10^{-4} /초 이하의 해리 속도(k_{off})를 가진다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 10^{-5} /초 이하의 해리 속도(k_{off})를 가진다.

또한, 본 발명은 기타 단백질(TR1, TR5 및 TR10을 포함)에 결합하는 이들의 능력에 비해 TR7 및/또는 TR7에 우선적으로 결합하는 항체를 제공한다.

특정 태양에서, 하기 실시예에 기술된 바와 같은 본 발명의 항체의 특성은 이전에 기술된 TR7 결합 항체 보다 당해 항체를 더욱 우수한 치료제로 만든다.

또한, 본 발명은 패널(panel) 구성원이 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개, 15개, 20개 또는 그 이상의 상이한 본 발명의 항체(예를 들어, 전체 항체, Fab, $F(ab')_2$ 단편, Fd 단편, 디설파이드 연결된 Fv(sdFv), 항이디오형(항-Id) 항체 및 scFv)에 상응하는, 항체(항체 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 분자를 포함)의 패널을 제공한다. 본 발명은 추가로 항체의 혼합물을 제공하 고, 이때 혼합물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개, 15개, 20개, 또는 그 이상의 상이한 본 발명의 항체(예를 들어, 전체 항체, Fab, $F(ab')_2$ 단편, Fd 단편, 디설파이드 연결된 Fv(sdFv), 항이디오형(항-Id) 항체 및 scFv)에 상응한다. 본 발명은 또한 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개, 15개, 20개, 또는 그 이상의 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 분자를 포함)를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 하나 이상의 항체 또는 단편 또는 이의 변이체의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개, 15개, 20개, 또는 그 이상의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이들로 이루어질 수 있다. 달리, 본 발명의 조성물은 하나 이상의 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산 분자를 포함하거나, 또는 이들로 이루어질 수 있다.

본 발명은 또한 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 분자를 포함) 및 이종성 폴리펩티드(즉, 항체 또는 항체 도메인과 관련이 없는 폴리펩티드)를 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 이들 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자가 또한 본 발명에 의해 포괄된다. 본 발명의 조성물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개, 15개, 20개, 또는 그 이상의 본 발명의 융합 단백질을 포함하거나, 또는 이들로 이루어질 수 있다. 달리, 본 발명의 조성물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개, 15개, 20개, 또는 그 이상의 본 발명의 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 포함하거나, 또는 이들로 이루어질 수 있다.

본 발명은 또한 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 scFv, VH 도메인

또는 VL 도메인과 같은 분자를 포함)를 암호화하는, 일반적으로 분리된 핵산 분자(들)를 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 핵산 분자로 형질전환된 숙주 세포 및 이의 후손을 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 분자를 포함)를 생성하는 방법을 제공한다. 본 발명은 추가로 핵산 분자로부터 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 분자를 포함)를 발현시키는 방법을 제공한다. 본 발명의 상기 및 다른 측면이 추가로 하기에서 상세하게 기술된다.

도면의 간단한 설명

도 1A 내지 C는 사이클로헥스이미드의 존재 및 부재하에 시험관 내에서 MD-MBA-231 및 SW480 세포의 아폽토시스를 유발하는 항-TR7 항체의 능력을 나타낸다.

도 2는 스위스 nu/nu 마우스에서 SW480 종양 형성에 미치는 항-TRAIL 수용체 항체 처리의 효과를 나타낸다.

발명의 상세한 설명

정의

본원에서 사용되는 바와 같은 용어 '항체'는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성 부분, 즉 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 의미한다. 이와 같이, 용어 항체는 전체 항체 분자 뿐 만 아니라, 항체, 항체 다량체 및 항체 단편의 변이체(유도체 포함)뿐만 아니라 항체 다량체 및 항체 단편도 또한 포괄한다. 본원에서 용어 '항체'에 의해 기술되는 분자의 예는 단일쇄 Fv(scFv), Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')$_2$, 디설파이드 연결된 Fv(sdFv), Fv 및 VL 또는 VH 도메인을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 단편을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 '단일쇄 Fv' 또는 'scFv'는 항체의 VH 도메인에 연결된 항체의 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 의미한다. 면역특이적으로 TR7에 결합하는 항체는 기타 항원, 예를 들면, 다른 TRAIL 수용체에 대해 교차 반응성을 가질 수 있다. 바람직하게는, 면역특이적으로 TR7에 결합하는 항체는 기타 항원(예를 들면, 다른 TRAIL 수용체 또는 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리의 다른 구성원)과 교차 반응하지 않는다. 면역특이적으로 TR7에 결합하는 항체는, 예를 들면, 당업자에게 공지된 면역분석법 또는 기타 기술, 예를 들어, 하기 실시예에 기술된 면역분석법에 의해 동정될 수 있다.

본 발명의 항체는 모노클로날, 다중특이적, 사람 또는 키메라 항체, 단일쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, 항이디오형(항-Id) 항체(예를 들어, 본 발명의 항체에 대한 항-Id 항체를 포함), 세포내에서 제조된 항체(예: 내체(intrabody)) 및 상기된 것의 모든 에피토프 결합 단편을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 모든 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 이의 부류(예를 들어, IgG$_1$, IgG$_2$, IgG$_3$, IgG$_4$, IgA$_1$ 및 IgA$_2$) 또는 하위부류일 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 항체는 표 1에 제시된 것 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, VH CDR, VL 도메인 또는 VL CDR, 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진다. 바람직한 태양에서, 면역글로불린은 IgG1 이소형(isotype)이다. 또 다른 바람직한 태양에서, 면역글로불린은 IgG4 이소형이다. 면역글로불린은 중쇄 및 경쇄를 모두 가질 수 있다. IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY 중쇄의 배열이 카파 또는 람다 형의 경쇄와 쌍을 형성할 수 있다.

본 발명의 항체는 또한 항체의 다중체 형태를 포함할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 항체는 단량체 면역글로부린 분자의 항체 이량체, 삼량체, 또는 고도의 다량체 형태를 취할 수 있다. 전체 면역글로불린 분자 또는 F(ab')$_2$ 단편의 이량체는 4가인 반면, Fab 단편 또는 scFv 분자의 이량체는 2가이다. 항체 다량체중의 개개의 단량체는 동일하거나 상이할 수 있는데, 즉 이들은 이종성 또는 동종성 항체 다량체일 수 있다. 예를 들면, 다량체내에 개개의 항체는 동일하거나 상이한 결합 특이성을 가질 수 있다. 항체의 다량체형성은 항체의 천연적 집괴 또는 당업계에 공지된 화학적 또는 재조합 연결 기술을 통해서 이루어질 수 있다. 예를 들면, 정제된 항체 제제(예를 들어, 정제된 IgG1 분자)의 일부 비율은 항체 동종이량체, 및 다른 고도 배열의 항체 다량체를 함유하는 단백질 집괴물을 자연 발생적으로 형성한다. 달리, 항체 동종이량체는 당업계에 공지된 화학적 결합 기술을 통해서 형성될 수 있다. 예를 들면, SMCC [석신이미딜 4-(말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트] 및 SATA [*N*-석신이미딜 *S*-아세틸티오-아세테이트] (예를 들면, 문헌[참고: Pierce Biotechnology, Inc. (Rockford, IL)]으로부터 이용가능함)를 포함하나, 이에 한정되지 않는 이종이중작용성 가교제는 항체 다량체를 형성하는데 사용될 수 있다. 항체 동종이량체를 형성하는 예시적 프로토콜은 전문이 본원에 참조로서 인용되는 문헌[참고: Ghetie et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* (1997) 94:7509-7514]에서 제시된다. 항체 동종이량체는 Fab'2 동종이량체로 펩신 분해를 통해서 전환될 수 있다. 항체 동종이량체를 형성하는 다른 방법은 전문이 본원에 참조로서 인용되는 문헌[참고: Zhao and Kohler, *The Journal of Immunology* (2002) 25:396-404]에 기술된 자가호성(autophilic) T15 펩티드의 사용을 통하는 것이다.

또한, 항체는 재조합 DNA 기술을 통해서 다량체화될 수 있다. IgM 및 IgA는 천연적으로 J쇄 폴립펩티드와의 상호작용을 통해서 항체 다량체를 형성한다. 비-IgA 또는 비-IgM 분자, 예를 들어 IgG 분자는 IgA 또는 IgM의 J쇄 상호작용 도메인을 함유하여서, 비-IgA 또는 비-IgM 분자상의 고도 배열 다량체를 형성하는 능력을 주도록 제조될 수 있다. (예를 들면, 문헌[참고: Chintalacharuvu et al., (2001) *Clinical Immunology* 101:21-31. and Frigerio et al., (2000) *Plant Physiology* 123:1483-94.]을 참조하는데, 여기서 양 문헌은 전문이 본원에 참조로서 인용된다) ScFv 이량체는 또한 당업계에 공지된 재조합 기술을 통해서 형성될 수 있다; scFv 이량체의 작제의 예는 전문이 본원에 참조로서 인용되는 문헌[참고: Goel et al., (2000) *Cancer Research* 60:6964-6971]에 제시된다. 항체 다량체는 크기 배제 크로마토그래피를 포함하나 이에 한정되지 않는 당업계에 공지된 적합한 방법을 사용 하여서 정제될 수 있다.

본 명세서에서 달리 정의되지 않는 한, 항-TR7 항체에 의한 특이적 결합 또는 면역특이적 결합은 항-TR7 항체가 TR7에 결합하나 동일 계열의 단백질중의 다른 단백질과 같은 TR7 이외의 단백질에 주목할 정도로 결합하지(즉, 교차 반응하지) 않는다는 것을 의미한다. TR7 단백질에 결합하나 다른 단백질과 교차-반응하지 않는 항체는 필수적으로 모든 상태중의 상기 다른 단백질과 결합하지 않는 항체이다; 반대로, 본 발명의 TR7-특이적 항체는 바람직하게 상기 다른 단백질에 결합하는 능력에 비교하여 TR7에 결합하여서 1형태 이상의 검정 또는 처리에 사용하기에 적합한데, 즉, 처리에서 낮은 주변배경 수준으로 나타나거나 비합리적 역효과를 전혀 초래하지 않는다. 항체에 결합되는 단백질의 부분은 에피토프로서 공지된 것은 익히 공지되어 있다. 에피토프는 선형 (즉, 단백질 서열중의 순차적 아미노산 잔기로 구성됨) 또는 입체적 (즉, 단백질의 1차 구조에 근접한 것이 아니라 단백질의 2차, 3차 또는 4차 구조에 의해 접촉되는 하나 이상의 아미노산 잔기로 구성됨)일 것이다. TR7-특이적 항체는 TR7의 에피토프에 결합한다면, TR7에 특이적으로 결합하는 항체는 TR7의 단편 또는 변이체에서 주어진 TR7-특이적 항체에 의해 결합된 에피토프의 존재 또는 부재에 좌우되는 TR7의 단편 및/또는 TR7의 변이체 (예를 들어, TR7에 90% 이상이 일치하는 단백질)에 결합하거나 결합하지 않을 수 있다. 마찬가지로, 본 발명의 TR7-특이적 항체는 오토로그(orthologue)에서 항체에 의해 인지되는 에피토프의 존재 또는 부재에 좌우되는 TR7의 종 오토로그 (이의 단편 포함)에 결합할 수 있다. 부가적으로, 본 발명의 TR7-특이적 항체는 TR7의 변형된 형태, 예를 들면, TR7 융합 단백질에 결합할 수 있다. 본 발명의 항체가 TR7 융합 단백질에 결합하는 상기 경우에, 상기 항체는 결합이 특이적이기 위해서 결합이 융합 단백질의 TR7 일부분과 접촉해야만 한다. TR7에 특이적으로 결합하는 항체는, 예를 들면, 면역검정법 또는 당업자에게 공지된 다른 기술, 예로 하기 실시예에 기술된 면역검정법에 의해서 동정될 수 있다.

일부 태양에서 본 발명은 TR7 및 TR4 모두에 면역특이적으로 또는 특이적으로 결합하는 항체를 포괄한다. TR7 및 TR4에 면역특이적으로 결합하는 항체에 의한 특이적 결합 또는 면역특이적 결합은 항체가 TR7 및 TR4에 결합하나 TR7 또는 TR4 이외의 단백질, 예를 들어 동일 계열의 단백질중의 다른 단백질에 현저히 결합하지 (즉, 교차 반응하지) 않는다는 것을 의미한다. TR7 및 TR4 단백질과 결합하고 다른 단백질과 교차-반응하지 않는 항체는 필수적으로 모든 상태에서 상기 다른 단백질과 결합하지 않는 항체가 아니다; 반대로, TR7 및 TR4 모두에 면역특이적으로 또는 특이적으로 결합하는 항체는 바람직하게 상기 다른 단백질에 결합하는 능력에 비교되는 TR7 및 TR4에 결합하여서 1형태 이상의 검정 또는 처리에서 사용하기에 적합할 것인데, 즉, 처리에서 낮은 주변배경 수준을 나타내거나 비합리적인 역효과를 전혀 초래하지 않을 것이다. 항체에 결합되는 단백질의 일부분은 에피토프로 공지된 것은 익히 공지되어 있다. 에피토프는 선형 (즉, 단백질 서열중의 순차적 아미노산 잔기로 구성됨) 또는 입체적 (즉, 단백질의 1차 구조에 근접한 것이 아니라 단백질의 2차, 3차 또는 4차 구조에 의해 접촉되는 하나 이상의 아미노산 잔기로 구성됨)일 것이다. TR7 및 TR4에 결합하는 항체가 TR7 및 TR4에 공통적인 에피토프에 결합한다면, TR7 및 TR4에 특이적으로 결합하는 항체는 TR7 또는 TR4 단편 또는 변이체에서 주어진 항체에 의해 결합되는 에피토프의 존재 또는 부재에 좌우되어 TR7, TR4의 단편 및/또는 TR7 또는 TR4의 변이체 (예를 들어, 각각 TR7 또는 TR4에 90% 이상 일치하는 단백질)에 결합하거나 결합하지 않을 수 있다. 마찬가지로, TR7 및 TR4에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 항체는 오토로그에서 항체에 의해 인지되는 에피토프의 존재 또는 부재에 좌우되어 TR7 및/또는 TR4의 종 오토로그 (이의 단편 포함)에 결합할 수 있다. 부가적으로, TR7 및 TR4에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 항체는 TR7 또는 TR4의 변형된 형태, 예를 들면, TR7 또는 TR4 융합 단백질에 결합할 수 있다. 본 발명의 항체가 융합 단백질에 결합하는 상기와 같은 경우에, 상기 항체는 결합이 특이적으로 되기 위해 결합이 융합 단백질의 TR7 또는 TR4 일부분과 접촉하도록 하여야 한다. TR7 또는 TR4에 특이적으로 결합하는 항체는, 예를 들면, 면역검정법 또는 당업자에게 공지된 다른 기술, 예를 들어 하기 실시예에 기재된 면역검정법에 의해서 동정될 수 있다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 '변이체'는 각각 TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편과 유사하거나 동일한 기능을 갖지만, TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편과 유사하거나 동일한 아미노산 서열을 반드시 포함하는 것은 아니거나, TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편과 유사하거나 동일한 구조를 갖는 것을 의미한다. 유사한 아미노산 서열을 갖는 변이체는 하기 조건중 하나 이상을 만족시키는 폴리펩티드를 의미한다: (a) 본원에 기술된 TR7 폴리펩 티드(서열번호 3), 또는 이의 TR7의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편(표 1에 언급된 하나 이상의 임의의 scFv의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, VHCDR, VL 도메인 또는 VLCDR을 포함)의 아미노산 서열과 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70%이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 폴리펩티드, (b) 5개 이상의 아미노산 잔기, 10개 이상의 아미노산 잔기, 15개 이상의 아미노산 잔기, 20개 이상의 아미노산 잔기, 25개 이상의 아미노산 잔기, 30개 이상의 아미노산 잔기, 40개 이상의 아미노산 잔기, 50개 이상의 아미노산 잔기, 60개 이상의

아미노산 잔기, 70개 이상의 아미노산 잔기, 80개 이상의 아미노산 잔기, 90개 이상의 아미노산 잔기, 100개 이상의 아미노산 잔기, 125개 이상의 아미노산 잔기 또는 150개 이상의 아미노산 잔기로 이루어진, 본원에 기술된 TR7 (서열번호 3), TR7 폴리펩티드의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편(표 1에 언급된 것중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, VHCDR, VL 도메인 또는 VLCDR을 포함)을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 엄격한 조건하에서 이들 뉴클레오티드 서열과 하이브리드화하는 상보적 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드, (c) 본원에 기술된 TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편(표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, VHCDR, VL 도메인 또는 VLCDR을 포함)을 암화화하는 뉴클레오티드 서열과 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70%이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드. 본원에 기술된 TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편과 유사한 구조를 가진 폴리펩티드는 본원에 기술된 TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편, 항-TR7 항체 또는 이의 항체 단편과 유사한 2차 구조, 3차 구조 또는 4차 구조를 갖는 폴리펩티드를 의미한다. 폴리펩티드의 구조는 X선 결정그래피, 핵 자기 공명 및 결정그래피 전자 현미경을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 방법에 의해 결정할 수 있다.

2개의 아미노산 서열 또는 2개의 핵산 서열의 동일성 %를 결정하기 위해, 서열을 최적으로 비교될 수 있도록 정렬한다(예를 들어, 2번째 아미노산 또는 핵산 서열과 최적으로 정렬하기 위해 1번째 아미노산 또는 핵산 서열의 서열중에 갭이 도입될 수 있다). 이어서 상응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오티드 위치에서 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드가 비교된다. 1번째 서열에서의 위치가 2번째 서열중의 상응하는 위치에서 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드로 점유되는 경우, 분자는 당해 위치에서 동일한 것이다. 2개의 서열간의 동일성 %는 서열이 공유하는 동일한 위치의 수에 대한 함수이다(즉, 동일성 % = 동일한 중복 위치의 수/전체 위치의 수 x 100%). 일 태양에서, 2개의 서열의 길이는 동일하다.

2개의 서열간의 동일성 %의 결정은 당업자에게 공지된 수학적 알고리듬을 사용하여 성취될 수 있다. 2개의 서열을 비교하기 위한 수학적 알고리듬의 예는 문헌[참조: Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877(1993)]에서 변경된 알고리듬[참조: Karlin 및 Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268(1990)]이다. 문헌[참조: Altschul et al. J. Mol. Biol. 215:403-410(1990)]의 BLASTn 및 BLASTx 프로그램은 이러한 알고리듬을 도입하였다. BLAST 뉴클레오티드 검색은 BLASTn 프로그램(스코어=100, 워드길이=12)로 수행하여 본 발명의 핵산 분자와 상동성인 뉴클레오티드 서열을 수득할 수 있다. BLAST 단백질 검색은 BLASTx 프로그램(스코어=50, 워드길이=3)으로 수행하여 본 발명의 단백질 분자와 상동성인 아미노산 서열을 수득할 수 있다. 비교 목적으로 갭이 있는 정렬체를 수득하기 위해, Gapped BLAST를 문헌[참조: Altschul et al. Nucleic Acids Res. 25:3389-3402(1997)]에 기술된 바와 같이 사용할 수 있다. 또한, PSI-BLAST를 사용하여 분자간의 거리 관계(Id)를 탐지하는 반복 검색을 수행할 수 있다. BLAST, Gapped BLAST 및 PSI-BLAST 프로그램을 사용하는 경우, 각 프로그램(예를 들어, BLASTx 및 BLASTn)의 디폴트 파라미터를 사용할 수 있다[인터넷 주소 참조: http://www.ncbi.nlm.nih.gov.].

서열 비교를 위해 사용되는 수학적 알고리듬의 또 다른 예는 문헌[참조: Myers and Miller, CABIOS(1989)]의 알고리듬이다. GCG 서열 정렬 소프트웨어 팩키지의 일부인 ALIGN 프로그램(버젼 2.0)이 상기와 같은 알고리듬을 도입하였다. 당업계에 공지된 서열 분석을 위한 기타 알고리듬은 문헌[참조: Torellis and Robotti Comput. Appl. Biosci., 10:3 - 5(1994)]에 기술된 바와 같은 ADVANCE 및 ADAM 및 문헌[참조: Pearson and Lipman Proc. Natl. Acad. Sci. 85:2444-8(1998)]에 기술된 FASTA를 포함한다. FASTA에서 ktup은 검색 속도 및 검색 감도를 설정하는 조절 옵션이다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 '유도체'는 아미노산 잔기가 치환되거나 결실되거나 첨가되어 변형된, TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편 또는 면역특이적으로 TR7 폴리펩티드에 결합하는 본 발명의 항체를 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 본 발명의 변이체 폴리펩티드를 의미한다. 또한, 본원에 사용된 바와 같은 용어 '유도체'는, 예를 들어 임의의 유형의 분자가 폴리펩티드에 공유 결합되어 변형된 TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편, 면역특이적으로 TR7 폴리펩티드에 결합하는 항체를 의미한다. 예를 들면, TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편 또는 항-TR7 항체는,예를 들어 글리코실화, 아세틸화, 페질화(pegylation), 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단 그룹에 의한 유도체화, 단백질분해 절단, 세포 리간드 또는 기타 단백질과의 결합 등에 의해 변형될 수 있다. TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편 또는 항-TR7 항체의 유도체는 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포밀화, 투니카마이신의 대사적 합성 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 화학적 변형에 의해 변형될 수 있다. 추가로, TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편 또는 항-TR7 항체의 유도체는 하나 이상의 비전형적인 아미노산을 함유할 수 있다. 폴리펩티드 유도체는 본원에 기술된 TR7 폴리펩티드, TR7 폴리펩티드의 단편 또는 항-TR7 항체와 유사하거나 동일한 기능을 갖고 있다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 '에피토프'는 동물, 바람직하게는 포유동물내에서 항원 또는 면역원 활성을 갖는 TR7의 일부를 의미한다. 면역원 활성을 갖는 에피토프는 동물에서 항체 반응을 유도하는 TR7의 일부이다. 항원 활성을 갖는 에 피토프는 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 본원에 기술된 면역분석법에 의해 결정된 바와 같이 항체가 면역특이적으로 결합하는 TR7의 일부이다. 항원성 에피토프는 반드시 면역원성일 필요는 없다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 '단편'은 TRAIL 수용체에 면역특이적으로 결합하는 TR7의 아미노산 서열 또는 항-TR7 항체(항체 단편 또는 이의 변형체를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 scFv와 같은 분자를 포함)의 5개 이상의 아미노산 잔기, 10개 이상의 아미노산 잔기, 15개 이상의 아미노산 잔기, 20개 이상의 아미노산 잔기, 25개 이상의 아미노산 잔기, 30개 이상의 아미노산 잔기, 35개 이상의 아미노산 잔기, 40개 이상의 아미노산 잔기, 45개 이상의 아미노산 잔기, 50개 이상의 아미노산 잔기, 60개 이상의 아미노산 잔기, 70개 이상의 아미노산 잔기, 80개 이상의 아미노산 잔기, 90개 이상의 아미노산 잔기, 100개 이상의 아미노산 잔기, 125개 이상의 아미노산 잔기, 150개 이상의 아미노산 잔기, 175개 이상의 아미노산 잔기, 200개 이상의 아미노산 잔기 또는 250개 이상의 아미노산 잔기의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 의미한다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 '융합 단백질'은 본 발명의 항-TR7 항체 및 이종성 폴리펩티드(즉, 항체 또는 항체 도메인과 관련이 없는 폴리펩티드)의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩티드를 의미한다.

본원에 사용된 바와 같은 용어 '숙주 세포'는 핵산 분자로 형질감염된 특정 해당 세포 및 이러한 세포의 후손 또는 잠재적인 후손을 의미한다. 후손 세포는 연속되는 세대를 거치면서 발생할 수 있는 돌연변이 또는 환경적 영향 또는 숙주 세포 게놈속으로의 핵산 분자의 통합으로 인해, 핵산 분자로 형질감염된 모세포와 동일하지 않을 수 있다.

본 발명의 항체는 바람직하게는 분리된 형으로 제공되고, 바람직하게는 실질적으로 정제된다. '분리된'이란 항체가 이의 천연 환경으로부터 제거된 것을 의미한다. 따라서, 예를 들면, 재조합 숙주 세포내에서 생성되고/되거나 함유된 폴리펩티드는 본 발명의 목적상 분리된 것으로 간주된다.

'분리된 항체'에 의해서 이의 천연 환경으로부터 제거된 항체를 의미한다. 따라서, 재조합 숙주 세포내에서 생성되고/되거나 함유된 항체는 본 발명의 목적상 분리된 것으로 간주된다.

항체 구조

기본 항체 구조 단위는 4량체를 포함하는 것으로 공지되어 있다. 각 4량체는, 하나의 '경쇄'(약 25kDa) 및 하나의 '중쇄'(약 50 내지 70kDa)를 각각 갖는 2개의 동일한 쌍의 폴리펩티드 쇄로 구성된다. 각 쇄의 아미노-말단부는 항원 인식에 주로 관여하는 약 100 내지 110 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 각 쇄의 카복시-말단부는 효과인자(effector) 기능에 주로 관여하는 불변 영역을 정의한다. 사람 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로서 분류된다. 중쇄는 뮤, 델타, 감마, 알파, 또는 엡실론으로서 분류되고, 항체의 이소형을 각각 IgM, IgD, lgG, IgA 및 IgE로서 정의한다[참조 문헌: Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N. Y. (1989)(모든 목적을 위해 이의 전문이 참조로 인 용됨). 각 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 항체 결합 부위를 형성한다.

따라서, 온전한 IgG 항체는 2개의 결합 부위를 갖는다. 이작용성 또는 이중특이적 항체를 제외하고는, 2개의 결합 부위는 동일하다.

모든 상기 쇄들은 상보성 결정 영역 또는 CDR로 불리우는 3개의 과가변 영역에 의해 연결된 비교적 보존된 주쇄 영역(FR)과 동일한 전반적 구조를 나타낸다. 각 쌍의 중쇄 및 경쇄로부터의 CDR은 주쇄 영역에 의해 정렬되어, 특이적 에피토프에 결합될 수 있다. N-말단으로부터 C-말단에 이르기까지, 경쇄 및 중쇄 모두는 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 아미노산을 각 도메인에 정렬시키는 것은 문헌[참고: Kabat Sequences of Proteins of Immunological interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 및 1991), or Chothia amp; Lesk J Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Chothia et al. Nature 342: 878-883 (1989)]의 정의에 따른 것이다.

이중특이적 또는 이작용성 항체는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 가진 인공적 하이브리드 항체이다. 이중특이적 항체는 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함한 각종 방법에 의해 생성될 수 있다[참조 문헌: Songsivilai amp; Lachmann Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990), Kostelny et al. J Immunol. 148:1547 1553 (1992)]. 또한, 이중특이적 항체는 '다이아바디(diabody)' [참조: Holliger et al. 'Diabodies': small bivalent and bispecific antibody fragments' PNAS USA 90:6444-6448(1993)] 또는 '야누신(Janusin)' [참조: Traunecker et al. 'Bispecific single chain molecule (Janusins) target cytotoxic lymphocytes on HIV infected cells' EMBO J 10: 3655-3659 (1991) and Traunecker et al. 'Janusin: new molecular design for bispecific reagents 'Int J Cancer Suppl 7: 51-52 (1992)] 로서 형성될 수 있다.

이중특이적 항체의 생산은 통상의 항체 생산과 비교하여 비교적 노동 집약적 과정일 수 있고, 이중특이적 항체에 대한 수율 및 순도는 일반적으로 더 낮다. 이중특이적 항체는 단일 결합 부위를 갖는 단편(예: Fab, Fab' 및 Fv)의 형태로 존재하지 않는다.

항-TR7 항체

파아지 전시 기술을 사용하여, TR7(또는 이의 단편 또는 변이체)에 면역특이적으로 결합하는 단일쇄 항체 분자('scFv')가 동정되었다. TR7(또는 이의 단편 또는 변이체)에 면역특이적으로 결합하는 이들 scFv의 단편 또는 변이체(예를 들어, 표 1에 언급된 것들중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, VH CDR, VL 도메인 또는 VL CDR을 포함)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 분자가 본 발명에 포괄되고, 이들 scFv 및/또는 분자를 암호화하는 핵산 분자도 그러하다.

특히, 본 발명은 하기 표 1에 제시된 바와 같은 서열번호 42 내지 56, 바람직하게는 서열번호 42, 50 및 56으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 scFv에 관한 것이다. TR7에 면역특이적으로 결합하는 이들 scFv의 단편 또는 변이체(예를 들어, 표 1에 언급된 것들중 어느 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, VH CDR, VL 도메인 또는 VL CDR을 포함)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 분자가 또한 본 발명에 포괄되고, 이들 scFv 및/또는 분자를 암호화하는 핵산 분자(예: 서열번호 57 내지 71)도 그러하다.

서열번호 42 내지 56에 상응하는 scFv는 TR7 폴리펩티드에 결합하는 이들의 능력으로 선별하였다.

본 발명은 TR7의 폴리펩티드 또는 이의 폴리펩티드 단편에 면역특이적으로 결합하는 항체(이의 항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 분자를 포함)에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 표 1에 제시된 scFv에 상응하는 항체를 제공한다. 이러한 scFv는 통상적으로, 예를 들면, scFv의 VH 및/또는 VL 도메인을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 불변 도메인 서열을 함유하는 발현 벡터속으로 삽입함으로써 면역글로불린 분자로 '전환'될 수 있으며, 아래의 실시예 4에 보다 상세히 기술된 바와 같이 당해 면역글로불린 분자의 발현을 유도할 수 있도록 조작될 수 있다.

본 발명의 scFv의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 IgG1 항체를 발현하는 NS0 세포주는 표 1에 기재된 일자에 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션('ATCC')에 기탁되고 표 1에서 확인된 ATCC 수탁번호가 주어졌다. ATCC는 미국 버지니아주 20110-2209 마나사스 유니버시티 불러바드 10801에 소재한다. 당해 ATCC 기탁은 특허 절차의 목적상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약의 기준에 따른 것이다.

따라서, 일 태양에서, 본 발명은 본 발명의 scFv의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체를 제공한다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 2002년 3월 25일에 ATCC에 기탁되고 ATCC 수탁번호 PTA-4178인 세포주 NSO TR7 2521 #140 p:12에 의해 발현된 항체이다(표 1 참조).

또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 2002년 7월 10일에 ATCC에 기탁되고 ATCC 수탁번호 PTA-4539인 세포주 NSO TR7 2521 (5G08) #176-41, p:10에 의해 발현된 항체이다(표 1 참조).

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 2002년 5월 21일에 ATCC에 기탁되고 ATCC 수탁번호 PTA-4376인 세포주 NSO TR7 2654 (84A02) #62 p:10에 의해 발현된 항체이다(표 1 참조).

또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 2002년 7월 17일에 ATCC에 기탁되고 ATCC 수탁번호 PTA-4547인 세포주 NSO TR7 Ab 2834 #10, p12에 의해 발현된 항체이다(표 1 참조).

[표 1a]

TRAIL 수용체에 면역특이적으로 결합하는 scFv

ScFv	ScFv 단백질 서열번호	ScFv DNA 서열번호	VH 도메인의 AAs	VH CDR1의 AAs	VH CDR2의 AAs	VH CDR3의 AAs	VL 도메인의 AAs	VL CDR1의 AAs	VL CDR2의 AAs	VL CDR3의 AAs	항체발현 세포주	ATCC 기탁번호	ATCC 기탁일
CM005G08	42	57	1-121	26-35	50-66	99-110	136-244	158-168	184-190	223-233	NSO TR7 2521 #140 p;12 NSO TR7 2521 (5G08) #176-41, p:10	PTA-4178 PTA-4539	2002년 3월 25일 2002년 7월 10일
CM005A08	43	58	1-122	26-35	50-66	99-111	137-245	159-169	185-191	224-234			
CM014C10	44	59	1-119	26-35	50-66	99-108	136-246	158-170	186-192	225-235			
CM029B01	45	60	1-121	26-35	50-66	99-110	136-244	158-168	184-190	223-233			
CM033D06	46	61	1-114	26-35	50-66	99-103	129-235	151-161	177-183	216-224			
CM013A11	47	62	1-121	26-35	50-66	99-110	139-245	161-171	187-193	226-234			
CM013F04	48	63	1-120	26-35	50-66	99-109	137-247	159-172	188-194	227-236			
CM088F10	49	64	1-128	26-35	50-63	99-117	145-255	167-180	196-202	235-244			
CM084A02	50	65	1-120	26-35	50-66	99-109	137-248	159-171	187-193	226-237	NSO TR7 2654 (84A02) #62 p:10	PTA-4376	2002년 5월 21일
CM087C06	51	66	1-116	26-35	50-66	99-105	133-243	155-167	183-189	222-232			
CM055A01	52	67	1-117	26-35	50-66	99-106	133-240	154-164	180-186	219-229			
CM085C11	53	68	1-116	26-35	50-66	99-105	133-243	155-167	183-189	222-232			
CM089A03	54	69	1-126	26-35	50-66	99-115	143-253	165-178	194-200	233-242			
CM075A01	55	70	1-115	26-35	50-66	99-104	133-243	155-167	183-189	224-231			

[표 1b]

CM059H03	56	71	1-121	26-35	50-66	99-110	139-247	162-173	189-195	228-236	NSO TR7 Ab 2834 #10 p12	PTA-4547	2002년 7월 17일

본 발명은 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편, 변이체 또는 융합 단백질에 면역특이적으로 결합하는 항체(이의 항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 분자를 포함)를 포괄한다. TR7 폴리펩티드는 TR7(서열번호 3) 또는 1997년 3월 7일에 기탁된 ATCC 수탁번호 97920에 함유된 클론 HLYBX88중의 cDNA에 의해 암호화된 폴리펩티드를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 일부 태양에서, 본 발명의 항체는 상기한 바와 같은 TR7 및 TR4(서열번호 1) 또는 1997년 1월 21일에 기탁된 ATCC 수탁번호 97853에 함유된 클론 HCUDS60중의 cDNA에 의해 암호화된 폴리펩티드 모두에 면역특이적으로 결합될 수 있다. TRAIL 수용체는 서열번호 1 내지 5의 폴리펩티드(각각 TR4, TR5, TR7, TR10 및 TR1)를 암호화하는 핵산(예를 들어, ATCC 수탁번호 97853(TR4), 97798(TR5, 1996년

11월 20일 기탁), 97920(TR7), 또는 209040(TR10, 1997년 5월 15일 기탁)의 cDNA)의 재조합 발현을 통하여 생성될 수 있다.

일 태양에서, 본 발명의 항체는, TR1, TR4, TR5 또는 TR10(서열번호 5, 1, 2 및 4)을 포함한 다른 단백질 또는 이의 단편, 변이체 또는 융합 단백질에 결합하는 능력에 비해, TR7(서열번호 3), 또는 이의 단편, 변이체 또는 융합 단백질(예: Fc 도메인에 융합된 TR7의 세포외 영역)에 우선적으로 결합한다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는, TR1, TR5 또는 TR10(서열번호 5, 2 및 4)을 포함한 다른 단백질 또는 이의 단편, 변이체 또는 융합 단백질에 결합하는 능력에 비해, TR7 및 TR4(서열번호 3 및 1), 또는 이의 단편 및 변이체에 우선적으로 결합한다. 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 TR1, TR4, TR5, TR7 및 TR10(서열번호 5, 1, 2, 3 및 4)에 결합한다. 다른 항원에 비해 특정 항원에 우선적으로 결합할 수 있는 항체의 능력은 당업계에서 공지된 임의의 방법을 사용하여 측정할 수 있다.

TR7 폴리펩티드

본 발명의 특정 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 폴리펩티드, 이의 단편 또는 변이체에 결합한다. 다음 섹션은 본 발명의 항체에 의해 결합될 수 있는 TR7 폴리펩티드, 단편 및 변이체를 보다 상세히 기술한다. 또한 본 발명의 항체에 의해 결합될 수 있는 TR7 폴리펩티드, 단편 및 변이체는, 예를 들면, 참조로 전문이 인용된 국제공보 WO98/41629, WO00/66156 및 WO98/35986에 기술되어 있다.

특정 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합한다. TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체는, 일부 태양에서, TR7의 단편, 변이체(TR7의 종 오토로그(ortholog)를 포함), 다량체 또는 변형된 형태에 결합한다. 예를 들면, TR7에 면역특이적인 항체는 TR7의 전부 또는 일부를 포함하는 융합 단백질의 TR7 잔기에 결합할 수 있다.

TR7 단백질은 단량체 또는 다량체(즉, 이량체, 삼량체, 사량체 및 보다 고 도의 다량체)로서 발견될 수 있다. 따라서, 본 발명은 단량체로서 또는 다량체의 일부로서 발견된 TR7 단백질에 결합하는 항체에 관한 것이다. 구체적 태양에서, TR7 폴리펩티드는 단량체, 이량체, 삼량체 또는 사량체이다. 부가적 태양에서, 본 발명의 다량체는 적어도 이량체, 적어도 삼량체, 또는 적어도 사량체이다.

본 발명의 항체는 TR7 동종체 또는 이종체에 결합할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 동종체는 본 발명의 TR7 단백질(본원에서 기술된 TR7 단편, 변이체 및 융합 단백질 포함)만을 함유하는 다량체를 의미한다. 이들 동종체는 동일하거나 상이한 폴리펩티드 서열을 가진 TR7 단백질을 함유할 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 동종체는 동일한 폴리펩티드 서열을 가진 TR7 단백질만을 함유하는 다량체이다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 상이한 폴리펩티드 서열을 가진 TR7 단백질을 함유하는 TR7 동종체에 결합한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 동종체(예를 들면, 동일하거나 상이한 폴리펩티드 서열을 가진 TR7 단백질 함유)에 결합한다. 부가적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7의 적어도 동종이량체, 적어도 동종삼량체, 또는 적어도 동종사량체에 결합한다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 동종삼량체(예를 들면, 동일하거나 상이한 폴리펩티드 서열을 가진 TR7 단백질 함유)에 결합한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 이종체는, 본 발명의 TR7 단백질에 부가하여 이종성 단백질(즉, TR7 폴리펩티드 서열에 상응하지 않는 폴리펩티드 서열을 함유하는 단백질)을 함유하는 다량체를 의미한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 이종이량체, 이종삼량체 또는 이종사량체에 결합한다. 부가적 태양에서, 본 발명 의 항체는 하나 이상의 TR7 폴리펩티드를 함유하는 적어도 동종이량체, 적어도 동종삼량체, 또는 적어도 동종사량체에 결합한다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 이종삼량체(예를 들면, 1 또는 2개의 TR7 단백질 및 2 또는 1개의 TR4 단백질을 각각 함유)에 결합한다.

본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 다량체는 소수성, 친수성, 이온 및/또는 공유 결합의 산물이고/이거나, 간접적으로 예를 들면 리포좀 형성에 의해 연결될 수 있다. 따라서, 일 태양에서, TR7 단백질이 용액중에서 서로 접촉하는 경우, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 다량체, 예를 들면 동종이량체 또는 동종삼량체가 형성된다. 또 다른 태양에서, TR7 단백질이 용액중에서 TR7 폴리펩티드에 대한 항체(또는 융합 단백질중의 이종성 폴리펩티드 서열에 대한 항체)와 접촉하는 경우, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 이종다량체, 예를 들면 이종삼량체 또는 이종사량체가 형성된다. 다른 태양에서, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 다량체는 본 발명의 TR7 단백질과 및/또는 사이의 공유 결합에 의해 형성된다. 이러한 공유 결합은 단백질의 폴리펩티드 서열(예를 들면, 서열번호 3에 제시된 폴리펩티드 서열 또는 ATCC 수탁번호 97920의 기탁된 cDNA 클론에 의해 암호화된 폴리펩티드)중에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기와 관련이 있을 수 있다. 일례에서, 공유 결합은 고유(즉, 천연의) 폴리펩티드에서 상호작용하는 단백질의 폴리펩티드 서열내에 위치하는 시스테인 잔기 사이의 가교이다. 또 다른 일례에서, 공유 결합은 화학적 또는 재조합 조작의 결과이다. 달리, 이러한 공유 결합은 TR7 융합 단백질의 이종성 폴리펩티드 서열중에 함

유된 하나 이상의 아미노산 잔기와 관련이 있을 수 있다. 일례에서, 공유 결합은 융합 단백질중에 함유된 이종성 서열 사이에서 형성된다[참조: 미국 특허 제5,478,925호]. 구체적 예로서, 공유 결합은 TR7-Fc 융합 단백질(본원에 기술됨)중에 함유된 이종성 서열 사이에서 형성된다. 또 다른 구체예에서, 융합 단백질의 공유 결합은, 공유 결합된 다량체, 예를 들어 오스테오프로테제린을 형성할 수 있는 또 다른 TNF 패밀리 리간드/수용체 구성원으로부터의 이종성 폴리펩티드 서열 사이에서 형성된다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 국제 공보 WO 98/49305].

본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체는 당업계에 공지된 화학 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 다량체중에 함유되는 목적하는 단백질은 당업계에 공지된 링커 분자 및 링커 분자 길이 최적화 기술을 사용하여 화학적으로 가교될 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호]. 추가로, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체를 당업계에서 공지된 기술을 사용하여 제조하여, 다량체중에 함유되는 목적하는 단백질의 폴리펩티드 서열 내에 위치하는 시스테인 잔기 사이의 하나 이상의 분자간 가교를 형성시킬 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호]. 추가로, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 단백질은 통상적으로 단백질의 폴리펩티드 서열의 C-말단 또는 N-말단에 시스테인 또는 비오틴을 부가하여 변형시킬 수 있으며, 당업계에 공지된 기술을 하나 이상의 이들 변형된 단백질을 함유하는 다량체를 제조하는데 적용할 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호]. 부가적으 로, 당업계에 공지된 기술은 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체중에 함유되는 목적하는 단백질 성분을 함유하는 리포좀을 제조하는데 적용될 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호].

또는, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체는 당업계에 공지된 유전 공학기술을 사용하여 제조할 수 있다. 일 태양에서, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체중에 함유된 단백질은 본원에 기술되어 있거나 당업계에 공지된 융합 단백질 기술을 사용하여 재조합적으로 생성한다[참조 문헌: 미국 특허 제5,478,925, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다]. 구체적 태양에서, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 동종이량체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 TR7 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 링커 폴리펩티드를 암호화하는 서열에 연결시킨 후 본래의 C 말단에서 N 말단으로의 역 배향으로 해독된 폴리펩티드 생성물(리더 서열이 결여됨)을 암호화하는 합성 폴리뉴클레오티드에 추가로 연결시킴으로써 생성된다[참조 문헌: 미국 특허 제5,478,925호, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다]. 또 다른 태양에서, 본원에 기술되어 있거나 당업계에 공지된 재조합 기술은 막관통(transmembrane) 도메인을 함유하며 막 재구성 기술에 의해 리포좀 내로 혼입될 수 있는 재조합 TR7 폴리펩티드를 제조하는데 적용된다[참조 문헌: 미국 특허 제5,478,925호, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다]. 또 다른 태양에서, 2개 이상의 TR7 폴리펩티드는 합성 링커(예: 펩티드, 탄수화물 또는 가용성 중합체 링커)를 통하여 연결된다. 링커의 예는 문헌[참조: 미국 특허 제5,073,627호, 이는 본원에 참고로 인용된다]에 기술되 어 있는 상기 펩티드 링커를 포함한다. 펩티드 링커에 의해 분리된 다량체 TR7 폴리펩티드를 포함하는 단백질은 통상의 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성할 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 펩티드 링커에 의해 분리된 다량체 TR7 폴리펩티드를 포함하는 단백질에 결합한다.

다량체 TR7 폴리펩티드를 제조하는 또 다른 방법은 류신 지퍼(leucine zipper) 또는 이소류신 폴리펩티드 서열에 융합된 TR7 폴리펩티드의 사용을 포함한다. 류신 지퍼 도메인 및 이소류신 지퍼 도메인은 이들 도메인이 발견되는 단백질의 다량체형성을 촉진하는 폴리펩티드이다. 류신 지퍼는 수개의 DNA-결합 단백질에서 최초로 동정되었으며[참조 문헌: Landschulz et al., Science 240: 1759, (1988)], 이 후 각종 상이한 단백질에서 발견되어 왔다. 공지된 류신 지퍼는 천연 펩티드 및 이량체화 또는 삼량체화된 이의 유도체이다. 가용성 다량체 TR7 단백질을 생성하는데 적합한 류신 지퍼 도메인의 예로는 문헌[참조 : PCT 출원 WO 94/10308, 이는 본원에 참고로 인용된다]에 기재되어 있는 류신 지퍼 도메인이 있다. 용액중에서 이량체화 또는 삼량체화된 펩티드에 융합된 가용성 TR7 폴리펩티드를 포함하는 재조합 융합 단백질은 적당한 숙주 세포내에서 발현되고, 수득한 가용성 다량체 TR7는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 배양물 상층액으로부터 회수한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7-류신 지퍼 융합 단백질 단량체 및/또는 TR7-류신 지퍼 융합 단백질 다량체에 결합한다.

단백질의 TNF 패밀리의 특정 구성원은 삼량체 형태로 존재하는 것으로 여겨진다[참조 문헌: Beutler 및 Huffel, Science 264:667, 1994: Banner et al., Cell 73:431, 1993)]. 따라서, 삼량체 TR7는 생물학적 활성을 증가시키는 잇점을 제공할 수 있다. 바람직한 류신 지퍼 잔기는 우선적으로 삼량체를 형성하는 잔기이다. 일례는 문헌[참조: Hoppe et al., FEBS Letters 344:199, (1994) 및 미국 특허원 제08/446,922호, 이는 본원에 참고로 인용된다]에 기술되어 있는 바와 같은 폐 계면활성 단백질 D(SPD)로부터 유래된 류신 지퍼이다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7-류신 지퍼 융합 단백질 삼량체에 결합한다.

천연의 삼량체 단백질로부터 유래된 다른 펩티드는 삼량체 TR7을 제조하는데 사용될 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7-융합 단백질 단량체 및/또는 TR7 융합 단백질 삼량체에 결합한다.

TR7 수용체 폴리펩티드에 결합하는 본 발명의 항체는 분리된 폴리펩티드로서 또는 천연 상태로서 이들에 결합할 수 있다. '분리된 폴리펩티드'란 이의 천연 환경으로부터 제거된 폴리펩티드를 의미한다. 따라서, 재조합 숙주 세포내에서 생성되고/되거나 함유된 폴리펩티드는 본 발명의 목적상 분리된 것으로 여겨진다. 또한, '분리된 폴리펩티드'는 재

조합 숙주 세포로부터 부분적으로 또는 실질적으로 정제되어진 폴리펩티드를 의미한다. 예를 들면, 재조합적으로 생성된 TR7 폴리펩티드 형은 문헌[Smith 및 Johnson, Gene 67:31-40 (1988)]에 기술된 1-단계 방법에 의해 실질적으로 정제된다. 따라서, 본 발명의 항체는 재조합적으로 생성된 TR7 수용체 폴리펩티드에 결합할 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 세포의 표면상에 발현된 TR7 수용체에 결합하는데, 상기 TR7 폴리펩티드는 이러한 폴리펩티드 발현을 제어하는 조절 서열에 작동가능하게 결합된 서열번호 3의 아미노산 1 내지 411을 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된다.

본 발명의 항체는 ATCC 수탁번호 97920중에 함유된 cDNA에 의해 암호화되거나, 또는 ATCC 수탁번호 97920중에 함유된 뉴클레오티드 서열에 하이브리드화(예를 들면, 엄격한 하이브리드화 조건하에에서)하는 핵산, 또는 이에 대한 상보적 쇄에 의해 암호화되는 서열번호 3중에 함유된 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 폴리펩티드를 포함하는 TR7 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 단편에 결합할 수 있다. 단백질 단편은 '독립적(free-standing)'이거나, 또는 상기 단편이 부분 또는 영역, 가장 바람직하게는 단일 연속 영역으로서 형성하는 보다 큰 폴리펩티드내에 포함될 수 있다. 본 발명의 항체는 폴리펩티드 단편, 예를 들면 하기의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 단편에 결합할 수 있다: 서열번호 3의 1 내지 51, 52 내지 78, 79 내지 91, 92 내지 111, 112 내지 134, 135 내지 151, 152 내지 178, 179 내지 180, 181 내지 208, 209 내지 218, 219 내지 231, 232 내지 251, 252 내지 271, 272 내지 291, 292 내지 311, 312 내지 323, 324 내지 361, 362 내지 391, 392 내지 411. 이와 관련하여, '약'은 특히 언급된 값 보다 한 쪽 말단 또는 양쪽 말단에서 수개(5, 4, 3, 2 또는 1개)의 아미노산 만큼 크거나 작은 값을 포함한다. 또한, 폴리펩티드 단편은 아미노산 길이가 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 또는 150일 수 있다. 이와 관련하여, '약'은 특히 언급된 값 보다 한 쪽 말단 또는 양쪽 말단에서 수개(5, 4, 3, 2 또는 1개)의 아미노산 만큼 크거나 작은 값을 포함한다.

바람직하게는, 본 발명의 폴리펩티드 단편은 다음 그룹으로부터 선택된 구성 원에 결합한다: TR7 수용체 세포외 도메인(서열번호 3의 약 52 내지 약 184의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 2개의 TR7 시스테인 풍부 도메인(서열번호 3의 약 84 내지 약 179의 아미노산 잔기로 이루어진 단백질 단편에서 발견될 수 있는 2개의 도메인)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 서열번호 3의 약 84 내지 약 131의 아미노산 잔기로 이루어진 TR7 시스테인 풍부 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 서열번호 3의 약 132 내지 약 179의 아미노산 잔기로 이루어진 TR7 시스테인 풍부 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 수용체 막관통 도메인(서열번호 3의 약 185 내지 약 208의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 기능 활성(예: 항원성 활성 또는 생물학적 활성)을 갖는 예상된 성숙한 TR7 폴리펩티드의 단편을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 수용체 세포내 도메인(서열번호 3의 약 209 내지 약 411의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 막관통 도메인의 전부 또는 일부가 결실된 TR7 수용체 세포외 및 세포내 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 수용체 사멸 도메인(서열번호 3의 약 324 내지 약 391의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 수용체 단백질 부분을 보유하는 1, 2, 3, 4 또는 그 이상의 에피토프를 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드. 부가적 태양에서, 본 발명의 폴리펩티드 단편은 상기 구성원의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개 전부의 배합을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 상기와 같이, 리더 서열과 함께, TR7 수용체 세포외, 막관통 및 세포내 도메인을 구성하는 아미노산 잔기는 컴퓨터 분석에 의해 예견되어졌다. 따라서, 당업자가 생각하는 바와 같이, 이들 도메인을 구성하는 아미노산 잔기는 각 도메인을 정의하는데 사용되는 기준에 따라, 조금(예를 들면, 약 1 내지 약 15개 아미노산 잔기 만큼) 다를 수 있다. 이들 핵산 분자에 의해 암호화되는 폴리펩티드도 또한 본 발명에 포괄된다.

상기에서 논의된 바와 같이, TR7의 세포외 시스테인 풍부 모티프의 하나 또는 둘 모두가 TR7과 이의 리간드(예: TRAIL) 사이의 상호작용에서 중요하다고 여겨진다. 따라서, 보다 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3의 아미노산 잔기 84 내지 131, 및/또는 132 내지 179를 포함하거나 또는 이로 이루어진 TR7 폴리펩티드 단편에 결합한다. 또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 2개의 세포외 시스테인 풍부 모티프(서열번호 3의 아미노산 잔기 84 내지 179)를 포함하거나 이로 이루어진 TR7 폴리펩티드에 결합한다. 또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7의 세포외 가용성 도메인(서열번호 2의 아미노산 잔기 52 내지 184)을 포함하거나 이로 이루어진 TR7 폴리펩티드에 결합한다. 다른 보다 바람직한 태양에서, TR7의 세포외 가용성 도메인(예: 하나 또는 둘 모두의 시스테인 풍부 도메인)의 전부 또는 일부에 결합하는 본 발명의 항체는 TR7 수용체를 효능화시킨다.

다른 보다 바람직한 태양에서, TR7의 세포외 가용성 도메인(예: 하나 또는 둘 모두의 시스테인 풍부 도메인)의 전부 또는 일부에 결합하는 본 발명의 항체는 TR7 수용체를 발현하는 세포의 세포 사멸을 유도한다.

본 발명의 항체는 또한 TR7의 구조적 또는 기능적 특질물을 포함하거나 또는 이로 이루어진 단편에 결합할 수 있다. 이러한 단편은, TR7의 알파-나선 및 알파-나선 형성 영역('알파-영역'), 베타-시트 및 베타-시트 형성 영역('베타-영역'), 턴(turn) 및 턴-형성 영역('턴-영역'), 코일 및 코일-형성 영역('코일-영역'), 친수성 영역, 소수성 영역, 알파 양극성 영역, 베타 양극성 영역, 표면-형성 영역, 및 고 항원 지수 영역(즉, 제임슨-울프(Jameson-Wolf) 프로그램의 디폴트 파라미터를 사용하여 동정된 바와 같은, 항원 지수가 1.5 이상인 아미노산 잔기로 이루어진 폴리펩티드 영역)을 포함하는 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직한 특정 영역은 표 2에 제시되어 있고, 서열번호 3에 제시된 아미노산 서

열의 분석에 의해 동정된 전술한 유형의 영역을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니며; 이러한 바람직한 영역은, 이들 컴퓨터 프로그램의 디폴트 파라미터를 사용하여 예견되는 바와 같은, 가르니어-랍슨(Garnier-Robson) 예견된 알파 영역, 베타 영역, 턴-영역 및 코일 영역; 초우-파스만(Chou-Fasman) 예견된 알파 영역, 베타 영역 및 턴 영역; 키테-둘리틀(Kyte-Doolittle) 예견된 친수성 영역 및 호프-우드(Hopp-Woods) 예견된 소수성 영역; 아이젠버그(Eisenberg) 알파 및 베타 양극성 영역; 에미니(Emini) 표면 형성 영역; 및 제임슨-울프 고 항원 지수 영역을 포함한다.

상기된 바와 같이, 표 2에 제시된 TR7의 구조적 또는 기능적 특질을 나타내는 데이터를, 디폴트 파라미터로 설정된 DNA *STAR의 다양한 모듈 및 알고리듬을 사용하여 수득하였다. 칼럼 I는 알파 나선 영역의 가르니어-랍슨 분석 결과를 나 타내고; 칼럼 II는 알파 나선 영역의 초우-파스만 분석 결과를 나타내고; 칼럼 III은 베티 시트 영역의 가르니어 랍슨 분석 결과를 나타내고; 칼럼 IV는 베타 시트 영역의 초우-파스만 분석 결과를 나타내고; 칼럼 V는 턴 영역의 가르니어-랍슨 분석 결과를 나타내고; 칼럼 VI는 턴 영역의 초우-파스만 분석 결과를 나타내고, 칼럼 VII는 코일 영역의 가르니어 랍슨 분석 결과를 나타내고; 칼럼 VIII는 키트-둘리틀 친수성 플롯을 나타내고, 칼럼 IX는 호프-우드 소수성 플롯을 나타내고; 칼럼 X는 알파 양극성 영역의 아이젠버그 분석 결과를 나타내고; 칼럼 XI은 베타 양극성 영역의 아이젠버그 분석 결과를 나타내고; 칼럼 XII는 유연성 영역의 카르플러스-슐츠 분석 결과를 나타내고; 칼럼 XIII는 제임슨-울프 항원 지수 스코어를 나타내고; 칼럼 ⅩⅣ는 에미니 표면 가능성 플롯을 나타낸다.

바람직한 태양에서, 표 2의 칼럼 VIII, IX, XIII 및 ⅩⅣ에 나타난 데이터를 사용하여 고도의 항원성 잠재력을 나타내는 TR7의 영역을 결정할 수 있다. 높은 항원성 영역은, 항원 인식이 면역 반응의 개시 과정에서 일어날 수 있는 환경에서 폴리펩티드의 표면상에 노출될 가능성이 있는 폴리펩티드 영역을 나타내는 값을 선택함으로써 칼럼 VIII, IX, XIII 및/또는 ⅩⅣ에 나타난 데이터로부터 결정된다. 표 2의 칼럼은 TR7 단백질 서열의 상이한 분석 결과를 나타낸다.

표 2에 제시된 상기 언급된 바람직한 영역은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열의 분석에 의해 동정된 상기된 유형의 영역을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 표 2에 제시된 바와 같이, 이러한 바람직한 영역은 가르니어-랍슨 알파-영역, 베타-영역, 턴-영역 및 코일-영역, 초우-파스만 알파-영역, 베타-영역 및 턴-영역, 키테-둘리틀 친수성 영역, 아이젠버그 알파- 및 베타- 양극성 영역, 카르플러스-슐츠 유연성 영역, 높은 항원 지수의 제임슨-울프 영역, 및 에미니 표면-형성 영역을 포함한다. 바람직하게, 본 발명의 항체는 상기 및 표 2에 제시된 수 개(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 4개)의 동일하거나 상이한 영역 특징과 같은 여러 구조적 특성을 배합한 TR7 영역을 포함하는 TR7 폴리펩티드 또는 TR7 폴리펩티드 단편 및 변이체에 결합한다.

[표 2a]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met	1	A	.	.	.	.	.	.	1.11	-0.70	.	*	.	1.29	2.18
Glu	2	A	.	.	.	.	.	.	1.50	-0.70	.	*	.	1.63	1.69
Gln	3	A	.	.	.	.	T	.	1.89	-0.73	.	*	.	2.17	2.28
Arg	4	.	.	.	.	T	T	.	1.69	-0.76	.	*	.	2.91	3.71
Gly	5	.	.	.	.	T	T	.	1.87	-0.87	.	*	F	3.40	2.17
Gln	6	.	.	.	.	T	T	.	1.88	-0.44	.	*	F	2.76	1.93
Asn	7	.	.	.	.	.	.	C	1.29	-0.34	.	*	F	1.87	1.00
Ala	8	.	.	.	.	.	.	C	0.99	0.16	.	.	F	1.08	1.02
Pro	9	.	.	.	.	.	.	C	0.53	0.11	.	*	.	0.44	0.79
Ala	10	A	.	.	.	.	.	.	0.29	0.14	.	*	.	-0.10	0.48
Ala	11	A	.	.	.	.	T	.	0.40	0.24	.	.	.	0.10	0.48
Ser	12	A	.	.	.	.	T	.	0.44	-0.26	.	*	F	0.85	0.61
Gly	13	A	.	.	.	.	T	.	1.14	-0.69	.	*	F	1.30	1.22
Ala	14	A	.	.	.	.	T	.	1.32	-1.19	.	*	F	1.30	2.36
Arg	15	A	.	.	.	T	.	.	1.57	-1.19	.	*	F	1.50	2.39
Lys	16	.	.	.	.	T	.	.	1.94	-1.14	.	.	F	1.50	2.39
Arg	17	.	.	.	.	T	.	.	1.90	-1.14	.	*	F	1.80	3.66
His	18	.	.	.	.	.	.	C	2.03	-1.21	*	*	F	1.90	1.85
Gly	19	.	.	.	.	.	T	C	2.73	-0.79	*	*	F	2.40	1.43
Pro	20	.	.	.	.	.	T	C	2.62	-0.79	*	*	F	2.70	1.43
Gly	21	.	.	.	.	.	T	C	1.99	-0.79	*	.	F	3.00	1.82
Pro	22	.	.	.	.	.	T	C	1.99	-0.79	.	*	F	2.70	1.86
Arg	23	.	A	.	.	.	.	C	1.68	-1.21	*	.	F	2.30	2.35
Glu	24	.	A	B	.	.	.	.	1.43	-1.21	*	.	F	2.10	2.35
Ala	25	.	A	.	.	T	.	.	1.76	-1.14	*	.	F	2.50	1.54
Arg	26	.	A	.	.	T	.	.	1.89	-1.57	*	.	F	2.50	1.54
Gly	27	.	.	.	.	T	.	.	1.76	-1.14	*	.	F	3.00	1.37
Ala	28	.	.	.	.	T	.	C	1.43	-0.71	*	*	F	2.70	1.35
Arg	29	.	.	.	.	.	T	C	1.54	-0.79	*	*	F	2.66	1.06
Pro	30	.	.	.	.	.	T	C	1.28	-0.79	*	*	F	2.62	2.10
Gly	31	.	.	.	.	.	T	C	0.96	-0.57	*	*	F	2.58	1.54
Pro	32	.	.	.	.	.	T	C	1.34	-0.64	*	*	F	2.54	1.22
Arg	33	.	.	.	.	.	.	C	1.62	-0.64	*	*	F	2.60	1.58
Val	34	.	.	.	.	.	.	C	0.70	-0.59	*	*	F	2.34	2.30
Pro	35	.	.	B	.	.	.	.	0.06	-0.33	*	*	F	1.58	1.23
Lys	36	.	.	B	B	.	.	.	-0.41	-0.11	*	.	F	0.97	0.46
Thr	37	.	.	B	B	.	.	.	-1.06	0.57	*	*	F	-0.19	0.52
Leu	38	.	.	B	B	.	.	.	-2.02	0.57	*	*	.	-0.60	0.25
Val	39	.	.	B	B	.	.	.	-1.76	0.79	.	.	.	-0.60	0.09
Leu	40	A	.	.	B	.	.	.	-2.13	1.29	.	.	.	-0.60	0.06
Val	41	A	.	.	B	.	.	.	-3.03	1.30	.	.	.	-0.60	0.08
Val	42	A	.	.	B	.	.	.	-3.53	1.26	.	.	.	-0.60	0.08
Ala	43	A	.	.	B	.	.	.	-3.53	1.30	.	.	.	-0.60	0.08
Ala	44	A	.	.	B	.	.	.	-3.49	1.30	.	.	.	-0.60	0.09
Val	45	A	.	.	B	.	.	.	-3.53	1.34	.	.	.	-0.60	0.10
Leu	46	A	.	.	B	.	.	.	-2.98	1.34	.	.	.	-0.60	0.07
Leu	47	A	.	.	B	.	.	.	-2.71	1.23	.	.	.	-0.60	0.09
Leu	48	A	.	.	B	.	.	.	-2.12	1.23	.	.	.	-0.60	0.13
Val	49	A	.	.	B	.	.	.	-1.83	0.59	.	.	.	-0.60	0.27
Ser	50	A	.	.	B	.	.	.	-1.57	0.29	.	*	.	-0.30	0.44

[표 2b]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Ala	51	A	A	.	.	.	.	.	-1.57	0.10	.	.	.	-0.30	0.54
Glu	52	A	A	.	.	.	.	.	-1.64	0.10	.	.	.	-0.30	0.60
Ser	53	A	A	.	B	.	.	.	-1.14	0.14	.	.	.	-0.30	0.31
Ala	54	A	A	.	B	.	.	.	-0.29	0.24	.	.	.	-0.30	0.45
Leu	55	A	A	.	B	.	.	.	0.01	0.14	.	.	.	-0.30	0.45
Ile	56	A	A	.	B	.	.	.	0.60	0.54	.	.	.	-0.60	0.58
Thr	57	A	A	.	B	.	.	.	-0.21	0.16	.	.	F	-0.15	0.96
Gln	58	A	A	.	B	.	.	.	-0.50	0.34	.	.	F	-0.15	0.96
Gln	59	A	A	.	B	.	.	.	-0.12	0.16	.	.	F	0.00	1.38
Asp	60	.	A	.	B	T	.	.	0.69	-0.10	.	.	F	1.00	1.48
Leu	61	.	A	.	.	.	.	C	1.58	-0.19	.	*	F	0.80	1.48
Ala	62	.	A	.	.	.	.	C	2.00	-0.19	.	*	F	0.80	1.48
Pro	63	.	A	.	.	.	.	C	1.41	-0.59	.	*	F	1.10	1.73
Gln	64	.	A	.	.	T	.	.	0.82	-0.09	.	*	F	1.00	2.13
Gln	65	A	A	.	.	.	.	.	0.61	-0.27	.	*	F	0.60	2.13
Arg	66	A	A	.	.	.	.	.	1.42	-0.34	.	*	F	0.60	2.13
Ala	67	A	A	.	.	.	.	.	2.01	-0.37	.	*	F	0.94	2.13
Ala	68	A	A	.	.	.	.	.	2.27	-0.37	*	*	F	1.28	2.13
Pro	69	A	A	.	.	.	.	.	2.38	-0.77	*	*	F	1.92	2.17
Gln	70	.	A	.	.	T	.	.	2.08	-0.77	*	.	F	2.66	4.21
Gln	71	.	.	.	.	T	T	.	1.67	-0.89	*	*	F	3.40	5.58
Lys	72	.	.	.	.	T	T	.	2.04	-1.00	.	.	F	3.06	4.84
Arg	73	.	.	.	.	T	T	.	2.33	-1.00	.	.	F	2.97	4.32
Ser	74	.	.	.	.	.	T	C	2.54	-1.01	.	.	F	2.68	3.34
Ser	75	.	.	.	.	.	T	C	2.20	-1.41	.	.	F	2.59	2.89
Pro	76	.	.	.	.	T	T	.	1.39	-0.99	.	.	F	2.70	1.46
Ser	77	.	.	.	.	T	T	.	0.68	-0.30	.	.	F	2.50	0.90
Glu	78	.	.	.	.	T	T	.	0.36	-0.11	.	*	F	2.25	0.36
Gly	79	.	.	.	.	T	.	.	0.44	-0.07	.	.	F	1.80	0.36
Leu	80	.	.	.	.	T	.	.	0.40	-0.07	.	.	F	1.55	0.42
Cys	81	.	.	.	.	.	.	C	0.58	-0.03	.	.	.	0.95	0.24
Pro	82	.	.	.	.	.	T	C	0.84	0.47	*	.	F	0.15	0.33
Pro	83	.	.	.	.	T	T	.	-0.04	0.54	*	.	F	0.35	0.54
Gly	84	.	.	.	.	T	T	.	0.00	0.54	*	.	.	0.20	0.70
His	85	.	.	.	.	.	T	C	0.81	0.36	*	.	.	0.30	0.61
His	86	.	.	.	.	.	.	C	1.48	-0.07	*	.	.	0.70	0.68
Ile	87	.	.	.	.	.	.	C	1.34	-0.50	*	*	.	1.19	1.15
Ser	88	.	.	.	.	.	.	C	1.67	-0.50	*	*	F	1.53	0.84
Glu	89	.	.	.	.	T	.	.	2.01	-1.00	*	*	F	2.52	1.21
Asp	90	.	.	.	.	T	.	.	1.38	-1.50	*	*	F	2.86	2.88
Gly	91	.	.	.	.	T	T	.	0.52	-1.61	*	*	F	3.40	1.15
Arg	92	.	.	.	.	T	T	.	1.11	-1.31	*	*	F	2.91	0.47
Asp	93	.	.	.	.	T	T	.	0.74	-0.93	.	*	F	2.57	0.37
Cys	94	.	.	.	.	T	T	.	0.79	-0.36	.	*	.	1.78	0.20
Ile	95	.	.	.	.	T	.	.	0.54	-0.79	.	*	.	1.54	0.21
Ser	96	.	.	.	.	T	.	.	0.54	-0.03	.	*	.	1.18	0.19
Cys	97	.	.	.	.	T	T	.	0.43	0.40	.	*	.	0.76	0.36
Lys	98	.	.	.	.	T	T	.	0.43	0.23	.	.	.	1.34	0.88
Tyr	99	.	.	.	.	T	T	.	0.86	-0.46	.	*	F	2.52	1.10
Gly	100	.	.	.	.	T	T	.	1.44	-0.09	.	*	F	2.80	3.22

[표 2c]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Gln	101	.	.	.	.	T	T	.	1.43	-0.27	*	.	F	2.52	2.16
Asp	102	.	.	.	.	T	T	.	2.07	0.21	*	*	F	1.64	1.99
Tyr	103	.	.	.	.	T	T	.	1.73	-0.04	*	*	F	1.96	2.73
Ser	104	.	.	.	.	T	T	.	1.98	0.44	*	.	F	0.78	1.66
Thr	105	.	.	.	.	T	.	.	2.32	0.44	*	.	F	0.30	1.60
His	106	.	.	.	.	T	.	.	1.51	0.44	*	.	.	0.15	1.70
Trp	107	.	.	.	.	T	T	.	0.70	0.37	*	.	.	0.65	1.05
Asn	108	.	.	.	.	T	T	.	-0.24	0.67	.	.	.	0.20	0.60
Asp	109	.	.	.	.	T	T	.	-0.12	0.97	*	.	.	0.20	0.38
Leu	110	A	.	.	.	.	T	.	-0.62	1.04	*	*	.	-0.20	0.19
Leu.	111	.	.	.	B	T	.	.	-0.48	0.81	*	*	.	-0.20	0.10
Phe	112	.	.	.	B	T	.	.	-0.86	0.41	*	*	.	-0.20	0.12
Cys	113	.	.	.	B	T	.	.	-1.17	0.99	*	*	.	-0.20	0.08
Leu	114	.	.	.	B	T	.	.	-1.06	0.79	.	*	.	-0.20	0.13
Arg	115	.	.	.	B	T	.	.	-0.91	0.10	.	*	.	0.10	0.30
Cys	116	.	.	.	B	T	.	.	-0.10	-0.11	.	.	.	0.70	0.30
Thr	117	.	.	.	B	T	.	.	0.30	-0.69	.	*	.	1.00	0.61
Arg	118	.	.	.	B	T	.	.	0.62	-0.99	.	.	F	1.49	0.42
Cys	119	.	.	.	.	T	T	.	1.43	-0.56	*	.	F	2.23	0.77
Asp	120	.	.	.	.	T	T	.	0.47	-1.13	*	.	F	2.57	0.92
Ser	121	.	.	.	.	T	T	.	1.13	-0.97	.	*	F	2.91	0.35
Gly	122	.	.	.	.	T	T	.	0.63	-0.97	.	*	F	3.40	1.13
Glu	123	.	A	.	.	T	.	.	0.22	-0.86	.	*	F	2.51	0.56
Val	124	A	A	.	.	.	.	.	0.68	-0.47	.	*	F	1.47	0.56
Glu	125	.	A	.	.	T	.	.	0.01	-0.43	.	*	.	1.38	0.87
Leu	126	.	A	.	.	T	.	.	0.00	-0.29	.	*	.	1.04	0.27
Ser	127	.	.	.	.	.	T	C	0.03	0.20	.	*	F	0.45	0.52
Pro	128	.	.	.	.	T	T	.	-0.28	0.04	.	*	F	0.93	0.44
Cys	129	.	.	.	.	T	T	.	0.69	0.53	.	*	F	0.91	0.77
Thr	130	.	.	.	.	T	T	.	0.69	-0.16	.	*	F	2.24	1.12
Thr	131	.	.	.	.	T	.	.	1.19	-0.14	.	*	F	2.32	1.16
Thr	132	.	.	.	.	T	T	.	0.63	-0.09	.	*	F	2.80	3.13
Arg	133	.	.	.	.	T	T	.	0.18	-0.01	.	.	F	2.52	1.61
Asn	134	.	.	.	.	T	T	.	0.84	0.07	.	.	F	1.49	0.60
Thr	135	.	.	.	.	T	T	.	0.49	-0.01	.	.	F	1.81	0.72
Val	136	.	.	.	.	T	.	C	0.80	0.07	*	.	.	0.58	0.20
Cys	137	.	A	.	.	T	.	.	1.11	0.07	*	.	.	0.10	0.21
Gln	138	.	A	B	.	.	.	.	0.66	-0.33	*	.	.	0.30	0.25
Cys	139	.	A	.	.	T	.	.	0.34	-0.39	.	.	.	0.70	0.34
Glu	140	A	A	.	.	.	.	.	-0.04	-0.54	*	*	F	0.75	0.91
Glu	141	A	A	.	.	.	.	.	0.92	-0.33	*	*	F	0.45	0.46
Gly	142	.	A	.	.	T	.	.	1.59	-0.73	.	*	F	1.30	1.67
Thr	143	A	A	.	.	.	.	.	1.59	-1.30	.	*	F	0.90	1.67
Phe	144	A	A	.	.	.	.	.	2.26	-1.30	.	*	F	0.90	1.67
Arg	145	A	A	.	.	.	.	.	1.96	-1.30	.	*	F	0.90	2.81
Glu	146	A	A	.	.	.	.	.	1.74	-1.34	.	*	F	0.90	2.61
Glu	147	A	A	.	.	.	.	.	2.09	-1.40	.	*	F	0.90	4.66
Asp	148	A	A	.	.	.	.	.	1.80	-2.19	.	*	F	0.90	4.12
Ser	149	A	.	.	.	.	T	.	1.83	-1.57	.	*	F	1.30	2.35
Pro	150	A	.	.	.	.	T	.	1.83	-1.00	.	.	F	1.15	0.73

[표 2d]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Glu	151	A	.	.	.	.	T	.	1.88	-1.00	*	.	F	1.15	0.85
Met	152	A	.	.	.	.	T	.	1.21	-1.00	*	*	.	1.49	1.28
Cys	153	A	.	.	.	.	T	.	1.32	-0.81	*	*	.	1.68	0.44
Arg	154	A	.	.	.	.	T	.	1.31	-1.24	*	.	.	2.02	0.50
Lys	155	.	.	.	.	T	T	.	1.18	-0.76	*	*	F	2.91	0.73
Cys	156	.	.	.	.	T	T	.	0.51	-0.94	*	.	F	3.40	1.35
Arg	157	.	.	.	.	T	.	.	0.90	-0.94	*	.	F	2.71	0.37
Thr	158	.	.	.	.	T	.	.	1.68	-0.51	*	.	F	2.37	0.28
Gly	159	.	.	.	.	T	.	.	1.22	-0.51	*	.	F	2.43	1.04
Cys	160	.	.	.	.	.	T	C	0.58	-0.66	.	*	F	2.19	0.53
Pro	161	.	.	.	.	T	T	.	0.39	-0.04	.	*	F	2.00	0.36
Arg	162	.	.	.	.	T	T	.	0.32	0.11	.	*	F	1.65	0.27
Gly	163	.	.	.	.	T	T	.	-0.22	-0.31	*	*	.	2.50	1.01
Met	164	.	.	B	B	.	.	.	-0.22	-0.24	*	*	.	1.30	0.48
Val	165	.	.	B	B	.	.	.	0.44	-0.24	*	*	.	1.30	0.24
Lys	166	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	-0.24	*	*	.	1.30	0.41
Val	167	.	.	B	.	.	T	.	-0.43	-0.10	*	*	F	1.85	0.22
Gly	168	.	.	.	.	T	T	.	-0.30	-0.23	.	.	F	2.25	0.44
Asp	169	.	.	.	.	T	T	.	0.01	-0.44	.	.	F	2.50	0.34
Cys	170	.	.	.	.	T	T	.	0.57	0.47	.	*	F	1.35	0.48
Thr	171	.	.	.	.	.	T	C	0.52	0.21	.	*	F	1.20	0.65
Pro	172	.	.	.	.	T	T	.	0.49	-0.21	.	*	F	1.75	0.65
Trp	173	.	.	.	.	T	T	.	0.83	0.47	.	*	F	0.60	0.84
Ser	174	A	.	.	.	.	T	.	0.17	-0.10	.	*	F	1.00	1.01
Asp	175	A	A	.	.	.	.	.	-0.02	-0.01	.	.	F	0.45	0.35
Ile	176	A	A	.	.	.	.	.	0.26	0.20	*	*	.	-0.30	0.25
Glu	177	A	A	.	.	.	.	.	0.51	-0.21	*	.	.	0.30	0.25
Cys	178	A	A	.	.	.	.	.	0.80	-0.60	*	.	.	0.60	0.30
Val	179	A	A	.	.	.	.	.	0.80	-0.60	*	*	.	0.60	0.74
His	180	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.90	.	*	.	0.60	0.58
Lys	181	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.47	*	.	F	0.60	1.06
Glu	182	A	.	.	.	.	T	.	-0.43	-0.36	*	.	F	1.00	1.00
Ser	183	A	.	.	.	.	T	.	-0.66	-0.31	.	.	F	0.85	0.52
Gly	184	A	.	.	.	T	T	.	-0.14	-0.13	.	.	F	1.25	0.18
Ile	185	A	.	.	.	.	T	.	-0.97	0.30	.	.	.	0.10	0.10
Ile	186	.	.	B	B	.	.	.	-1.32	0.94	.	*	.	-0.60	0.06
Ile	187	.	.	B	B	.	.	.	-2.18	1.04	.	.	.	-0.60	0.08
Gly	188	.	.	B	B	.	.	.	-2.47	1.26	.	*	.	-0.60	0.09
Val	189	.	.	B	B	.	.	.	-2.71	1.07	.	.	.	-0.60	0.13
Thr	190	A	.	.	B	.	.	.	-2.68	0.89	.	*	.	-0.60	0.18
Val	191	A	.	.	B	.	.	.	-2.64	0.84	.	.	.	-0.60	0.14
Ala	192	A	.	.	B	.	.	.	-2.57	1.06	.	*	.	-0.60	0.14
Ala	193	A	.	.	B	.	.	.	-3.11	1.10	.	.	.	-0.60	0.08
Val	194	A	.	.	B	.	.	.	-3.11	1.30	.	.	.	-0.60	0.07
Val	195	A	.	.	B	.	.	.	-3.39	1.30	.	.	.	-0.60	0.05
Leu	196	A	.	.	B	.	.	.	-3.39	1.30	.	.	.	-0.60	0.05
Ile	197	A	.	.	B	.	.	.	-3.50	1.44	.	.	.	-0.60	0.05
Val	198	A	.	.	B	.	.	.	-3.77	1.59	.	.	.	-0.60	0.06
Ala	199	A	.	.	B	.	.	.	-3.58	1.59	.	.	.	-0.60	0.06
Val	200	A	.	.	B	.	.	.	-2.68	1.47	.	.	.	-0.60	0.04

[표 2e]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Phe	201	A	.	.	B	.	.	.	-2.17	0.79	.	.	.	-0.60	0.12
Val	202	A	.	.	B	.	.	.	-2.09	0.53	.	.	.	-0.60	0.16
Cys	203	A	.	.	.	.	T	.	-2.04	0.71	.	.	.	-0.20	0.17
Lys	204	A	.	.	.	.	T	.	-1.74	0.76	.	.	.	-0.20	0.17
Ser	205	A	.	.	.	.	T	.	-0.84	0.89	.	.	.	-0.20	0.24
Leu	206	A	.	.	.	.	T	.	-0.10	0.24	.	.	.	0.10	0.88
Leu	207	A	A	.	.	.	.	.	-0.10	-0.33	.	.	.	0.30	0.88
Trp	208	A	A	.	.	.	.	.	-0.24	0.31	.	.	.	-0.30	0.49
Lys	209	A	A	.	.	.	.	.	-0.50	0.61	.	.	.	-0.60	0.49
Lys	210	A	A	.	.	.	.	.	-0.44	0.36	*	.	.	-0.30	0.91
Val	211	A	A	.	.	.	.	.	-0.44	0.43	*	*	.	-0.45	1.36
Leu	212	.	A	B	.	.	.	.	0.41	0.20	*	*	.	-0.30	0.56
Pro	213	.	A	B	.	.	.	.	0.36	0.20	*	.	.	-0.30	0.56
Tyr	214	.	.	.	B	T	.	.	-0.58	0.63	*	.	.	-0.20	0.75
Leu	215	.	.	.	B	T	.	.	-1.29	0.67	*	*	.	-0.20	0.64
Lys	216	.	.	.	B	T	.	.	-0.73	0.56	*	.	.	-0.20	0.22
Gly	217	.	.	B	B	.	.	.	-0.27	0.51	*	.	.	-0.60	0.19
Ile	218	.	.	B	B	.	.	.	-0.40	0.19	*	.	.	-0.30	0.23
Cys	219	.	.	B	.	.	T	.	-0.50	-0.07	*	.	.	0.70	0.11
Ser	220	.	.	.	.	T	T	.	-0.03	0.36	.	*	F	0.65	0.11
Gly	221	.	.	.	.	T	T	.	-0.08	0.36	.	.	F	0.65	0.16
Gly	222	.	.	.	.	T	T	.	0.06	-0.33	.	.	F	1.25	0.49
Gly	223	.	.	.	.	.	.	C	0.94	-0.47	.	.	F	0.85	0.57
Gly	224	.	.	.	.	.	.	C	1.72	-0.86	*	.	F	1.15	0.99
Asp	225	.	.	.	.	.	T	C	1.17	-1.29	.	*	F	1.50	1.97
Pro	226	.	.	.	.	.	T	C	1.51	-1.07	*	.	F	1.84	1.47
Glu	227	.	.	B	.	.	T	.	1.97	-1.50	*	.	F	1.98	2.49
Arg	228	.	.	B	.	.	T	.	2.01	-1.93	*	.	F	2.32	2.92
Val	229	.	.	.	.	T	.	.	2.06	-1.54	*	.	F	2.86	2.53
Asp	230	.	.	.	.	T	T	.	2.06	-1.59	*	.	F	3.40	1.96
Arg	231	.	.	.	.	T	T	.	2.38	-1.19	*	*	F	3.06	1.73
Ser	232	.	.	.	.	T	T	.	2.17	-1.19	*	.	F	2.72	4.57
Ser	233	.	.	.	.	T	T	.	1.71	-1.40	*	*	F	2.72	4.23
Gln	234	.	.	.	.	.	.	C	1.98	-0.97	*	*	F	2.32	2.14
Arg	235	.	.	.	.	.	T	C	1.98	-0.47	*	*	F	2.22	1.61
Pro	236	.	.	.	.	.	T	C	1.87	-0.86	*	*	F	2.86	2.08
Gly	237	.	.	.	.	T	T	.	2.17	-1.24	.	*	F	3.40	2.01
Ala	238	.	.	.	.	.	T	C	1.61	-1.24	.	*	F	2.86	1.65
Glu	239	A	.	.	.	.	.	.	0.80	-0.60	.	*	F	1.97	0.79
Asp	240	A	.	.	.	.	.	.	0.69	-0.34	.	*	F	1.33	0.66
Asn	241	A	.	.	.	.	.	.	0.90	-0.37	*	.	.	0.99	1.05
Val	242	A	.	.	.	.	.	.	0.36	-0.87	*	.	.	0.95	1.05
Leu	243	A	.	.	.	.	.	.	0.09	-0.19	*	.	.	0.50	0.44
Asn	244	A	.	.	B	.	.	.	-0.21	0.46	*	.	.	-0.60	0.20
Glu	245	A	.	.	B	.	.	.	-1.10	0.44	*	.	.	-0.60	0.37
Ile	246	A	.	.	B	.	.	.	-1.91	0.49	*	.	.	-0.60	0.31
Val	247	A	.	.	B	.	.	.	-1.06	0.49	*	.	.	-0.60	0.16
Ser	248	.	.	B	B	.	.	.	-0.46	0.49	*	.	.	-0.60	0.16
Ile	249	.	.	B	B	.	.	.	-0.77	0.91	*	.	.	-0.60	0.35
Leu	250	.	.	.	B	.	.	C	-0.77	0.71	.	.	.	-0.40	0.69

[표 2f]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Gln	251	.	.	.	.	.	T	C	-0.73	0.47	.	.	F	0.15	0.89
Pro	252	.	.	.	.	.	T	C	-0.09	0.73	.	.	F	0.15	0.94
Thr	253	.	.	.	.	.	T	C	0.21	0.47	.	.	F	0.30	1.76
Gln	254	.	.	.	.	.	T	C	1.10	-0.21	.	.	F	1.20	1.76
Val	255	.	A	.	.	.	.	C	1.91	-0.21	.	.	F	0.80	1.97
Pro	256	.	A	.	.	.	.	C	1.31	-0.64	.	.	F	1.10	2.37
Glu	257	A	A	.	.	.	.	.	1.52	-0.51	.	*	F	0.90	1.35
Gln	258	A	A	.	.	.	.	.	0.98	-0.91	.	*	F	0.90	3.16
Glu	259	A	A	.	.	.	.	.	0.98	-0.91	.	*	F	0.90	1.51
Met	260	A	A	.	.	.	.	.	1.83	-0.94	.	*	F	0.90	1.51
Glu	261	A	A	.	.	.	.	.	1.83	-0.94	.	*	.	0.75	1.51
Val	262	A	A	.	.	.	.	.	1.24	-0.91	.	*	F	0.90	1.35
Gln	263	A	A	.	.	.	.	.	1.24	-0.41	.	*	F	0.60	1.38
Glu	264	A	A	.	.	.	.	.	1.03	-1.03	.	*	F	0.90	1.38
Pro	265	A	A	.	.	.	.	.	1.32	-0.60	.	*	F	1.18	2.88
Ala	266	A	A	.	.	.	.	.	0.98	-0.76	.	*	F	1.46	2.40
Glu	267	A	.	.	.	.	T	.	0.98	-0.73	.	*	F	2.14	1.37
Pro	268	A	.	.	.	.	T	.	0.98	-0.09	.	.	F	1.97	0.66
Thr	269	.	.	.	.	T	T	.	0.38	-0.11	.	.	F	2.80	1.05
Gly	270	A	.	.	.	.	T	.	-0.22	0.00	.	.	F	1.37	0.60
Val	271	A	.	.	.	.	.	.	0.07	0.69	.	.	.	0.44	0.32
Asn	272	.	.	B	.	.	.	.	-0.14	0.64	.	.	.	0.16	0.30
Met	273	.	.	B	.	.	.	.	-0.28	0.59	.	.	.	0.18	0.46
Leu	274	.	.	.	.	.	.	C	0.03	0.59	.	.	.	0.40	0.62
Ser	275	.	.	.	.	.	T	C	0.08	-0.06	.	.	F	1.95	0.66
Pro	276	.	.	.	.	.	T	C	0.93	-0.07	.	.	F	2.25	0.90
Gly	277	.	.	.	.	.	T	C	0.90	-0.69	.	.	F	3.00	1.89
Glu	278	A	.	.	.	.	T	.	0.69	-0.87	.	.	F	2.50	1.92
Ser	279	A	A	.	.	.	.	.	0.69	-0.57	.	.	F	1.80	1.02
Glu	280	A	A	.	.	.	.	.	0.99	-0.31	.	.	F	1.05	0.85
His	281	A	A	.	.	.	.	.	0.99	-0.74	.	.	F	1.05	0.85
Leu	282	A	A	.	.	.	.	.	0.74	-0.31	.	.	.	0.30	0.98
Leu	283	A	A	.	.	.	.	.	0.74	-0.20	.	.	.	0.30	0.57
Glu	284	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.20	.	.	F	0.45	0.73
Pro	285	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.20	.	.	F	0.45	0.89
Ala	286	A	A	.	.	.	.	.	0.60	-0.89	.	.	F	0.90	1.88
Glu	287	A	A	.	.	.	.	.	1.11	-1.57	.	.	F	0.90	2.13
Ala	288	A	A	.	.	.	.	.	1.92	-1.19	.	.	F	0.90	1.84
Glu	289	A	A	.	.	.	.	.	2.03	-1.21	*	.	F	0.90	3.16
Arg	290	A	A	.	.	.	.	.	2.36	-1.71	*	.	F	0.90	3.57
Ser	291	A	.	.	.	.	T	.	3.06	-1.71	*	.	F	1.30	6.92
Gln	292	A	.	.	.	.	T	.	2.24	-2.21	*	.	F	1.30	7.83
Arg	293	A	.	.	.	.	T	.	2.02	-1.53	.	.	F	1.30	3.30
Arg	294	A	.	.	.	.	T	.	1.17	-0.84	.	.	F	1.30	2.03
Arg	295	.	.	.	B	T	.	.	0.84	-0.59	.	*	F	1.15	0.87
Leu	296	.	.	B	B	.	.	.	0.56	-0.56	.	*	.	0.60	0.69
Leu	297	.	.	B	B	.	.	.	0.56	-0.06	.	*	.	0.30	0.35
Val	298	.	.	.	B	.	.	C	0.44	0.34	*	*	.	0.20	0.29
Pro	299	.	.	.	.	.	T	C	-0.01	0.34	*	.	.	0.90	0.61
Ala	300	.	.	.	.	.	T	C	-0.12	0.09	*	*	F	1.35	0.73

[표 2g]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Asn	301	.	.	.	.	.	T	C	0.48	-0.60	.	.	F	2.70	1.65
Glu	302	.	.	.	.	.	T	C	0.98	-0.81	.	.	F	3.00	1.65
Gly	303	.	.	.	.	.	.	C	1.83	-0.76	.	.	F	2.50	2.35
Asp	304	.	.	.	.	.	T	C	1.73	-1.26	.	.	F	2.40	2.54
Pro	305	.	.	.	.	.	T	C	1.51	-1.17	.	*	F	2.10	2.11
Thr	306	A	.	.	.	.	T	.	1.62	-0.49	.	*	F	1.30	1.76
Glu	307	A	.	.	.	.	T	.	1.62	-0.91	*	*	F	1.30	2.07
Thr	308	A	.	.	B	.	.	.	1.30	-0.51	*	*	F	0.90	2.31
Leu	309	A	.	.	B	.	.	.	0.60	-0.37	*	*	F	0.45	0.86
Arg	310	A	.	.	B	.	.	.	0.81	-0.07	*	*	.	0.30	0.43
Gln	311	A	.	.	B	.	.	.	1.12	-0.07	*	*	.	0.30	0.50
Cys	312	A	.	.	.	.	T	.	0.42	-0.56	*	*	.	1.15	1.01
Phe	313	A	.	.	.	.	T	.	0.14	-0.46	*	*	.	0.70	0.45
Asp	314	.	.	.	.	T	T	.	0.96	0.04	*	*	.	0.50	0.26
Asp	315	A	.	.	.	.	T	.	0.03	-0.36	*	*	.	0.70	0.81
Phe	316	A	A	.	.	.	.	.	-0.82	-0.24	*	.	.	0.30	0.77
Ala	317	A	A	.	.	.	.	.	-0.37	-0.39	*	.	.	0.30	0.34
Asp	318	A	A	.	.	.	.	.	-0.37	0.04	*	*	.	-0.30	0.32
Leu	319	A	A	.	.	.	.	.	-0.37	0.83	.	.	.	-0.60	0.32
Val	320	.	A	.	.	.	.	C	-0.67	0.04	.	.	.	-0.10	0.52
Pro	321	.	A	.	.	.	.	C	-0.26	-0.07	.	.	.	0.50	0.42
Phe	322	.	.	.	.	T	T	.	0.33	0.84	.	.	.	0.20	0.54
Asp	323	A	.	.	.	.	T	.	0.12	0.16	.	.	.	0.25	1.25
Ser	324	A	.	.	.	.	T	.	0.12	-0.06	.	.	F	1.00	1.25
Trp	325	A	.	.	.	.	T	.	0.38	0.20	*	*	F	0.40	1.19
Glu	326	A	A	.	.	.	.	.	0.70	0.03	*	.	F	-0.15	0.71
Pro	327	A	A	.	.	.	.	.	1.44	0.03	*	.	.	-0.15	1.03
Leu	328	A	A	.	.	.	.	.	0.63	-0.36	*	.	.	0.45	1.96
Met	329	A	A	.	.	.	.	.	0.59	-0.59	*	.	.	0.60	0.93
Arg	330	A	A	.	.	.	.	.	0.07	-0.16	*	.	.	0.30	0.60
Lys	331	A	A	.	.	.	.	.	-0.53	0.10	*	.	.	-0.30	0.60
Leu	332	A	A	.	.	.	.	.	-0.32	0.03	*	.	.	-0.30	0.60
Gly	333	A	A	.	.	.	.	.	0.49	-0.59	*	.	.	0.60	0.51
Leu	334	A	A	.	.	.	.	.	1.09	-0.19	*	.	.	0.30	0.41
Met	335	A	A	.	.	.	.	.	0.09	-0.19	*	*	.	0.30	0.86
Asp	336	A	A	.	.	.	.	.	0.09	-0.19	.	*	F	0.45	0.61
Asn	337	A	A	.	.	.	.	.	0.04	-0.61	*	*	F	0.90	1.48
Glu	338	A	A	.	.	.	.	.	-0.20	-0.66	*	*	F	0.90	1.11
Ile	339	A	A	.	.	.	.	.	0.66	-0.77	*	*	F	0.75	0.67
Lys	340	A	A	.	.	.	.	.	0.67	-0.77	.	*	F	0.75	0.83
Val	341	A	A	.	.	.	.	.	0.67	-0.67	.	*	.	0.60	0.49
Ala	342	A	A	.	.	.	.	.	0.08	-0.67	.	.	.	0.75	1.20
Lys	343	A	A	.	.	.	.	.	-0.51	-0.86	.	*	.	0.60	0.61
Ala	344	A	A	.	.	.	.	.	0.03	-0.36	.	*	.	0.30	0.83
Glu	345	A	A	.	.	.	.	.	-0.04	-0.57	*	.	.	0.60	0.81
Ala	346	A	A	.	.	.	.	.	0.92	-0.57	*	.	.	0.60	0.55
Ala	347	A	A	.	.	.	.	.	1.51	-0.57	.	*	.	0.75	1.07
Gly	348	A	.	.	.	.	.	.	1.16	-1.07	.	*	.	0.95	1.03
His	349	A	.	.	.	.	T	.	0.93	-0.59	.	.	.	1.15	1.47
Arg	350	A	.	.	.	.	T	.	0.69	-0.40	.	.	F	1.00	1.20

[표 2h]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Asp	351	A	.	.	.	.	T	.	0.97	-0.14	.	.	F	1.00	1.90
Thr	352	A	.	.	.	.	T	.	0.96	-0.09	.	.	F	1.00	2.02
Leu	353	A	.	.	B	.	.	.	0.49	0.03	.	.	.	-0.15	1.02
Tyr	354	A	.	.	B	.	.	.	-0.37	0.71	.	*	.	-0.60	0.50
Thr	355	A	.	.	B	.	.	.	-0.43	1.40	.	*	.	-0.60	0.24
Met	356	A	.	.	B	.	.	.	-0.72	0.91	*	.	.	-0.60	0.59
Leu	357	A	.	.	B	.	.	.	-1.27	1.14	*	.	.	-0.60	0.40
Ile	358	A	.	.	B	.	.	.	-0.46	1.03	*	*	.	-0.60	0.20
Lys	359	A	.	.	B	.	.	.	-0.17	0.94	*	*	.	-0.60	0.33
Trp	360	A	.	.	B	.	.	.	-0.17	0.33	*	*	.	0.00	0.81
Val	361	A	.	.	B	.	.	.	0.09	0.13	*	*	.	0.45	1.66
Asn	362	.	.	.	.	.	T	C	1.01	-0.13	*	.	F	1.95	0.82
Lys	363	.	.	.	.	.	T	C	1.90	-0.13	*	*	F	2.40	1.53
Thr	364	.	.	.	.	.	T	C	1.27	-1.04	*	.	F	3.00	3.44
Gly	365	.	.	.	.	.	T	C	1.26	-1.19	*	.	F	2.70	2.16
Arg	366	.	A	.	.	T	.	.	1.26	-1.20	*	.	F	2.20	1.45
Asp	367	.	A	.	.	.	.	C	1.22	-0.56	*	.	F	1.55	0.75
Ala	368	A	A	.	.	.	.	.	0.87	-0.54	.	.	F	1.20	1.03
Ser	369	A	A	.	.	.	.	.	0.37	-0.49	.	.	.	0.30	0.76
Val	370	A	A	.	.	.	.	.	-0.10	0.20	.	*	.	-0.30	0.37
His	371	A	A	.	.	.	.	.	-0.21	0.89	.	*	.	-0.60	0.30
Thr	372	A	A	.	.	.	.	.	-0.80	0.39	*	*	.	-0.30	0.38
Leu	373	A	A	.	.	.	.	.	-1.02	0.50	*	*	.	-0.60	0.52
Leu	374	A	A	.	.	.	.	.	-0.72	0.54	*	.	.	-0.60	0.31
Asp	375	A	A	.	.	.	.	.	-0.18	0.04	*	.	.	-0.30	0.38
Ala	376	A	A	.	.	.	.	.	-0.96	0.04	*	.	.	-0.30	0.66
Leu	377	A	A	.	.	.	.	.	-0.99	0.04	*	.	.	-0.30	0.66
Glu	378	A	A	.	.	.	.	.	-0.18	-0.21	*	.	.	0.30	0.39
Thr	379	A	A	.	.	.	.	.	0.74	-0.21	*	*	F	0.45	0.67
Leu	380	A	A	.	.	.	.	.	-0.07	-0.71	*	.	F	0.90	1.59
Gly	381	A	A	.	.	.	.	.	-0.07	-0.71	*	.	F	0.75	0.76
Glu	382	A	A	.	.	.	.	.	0.79	-0.21	*	.	F	0.45	0.53
Arg	383	A	A	.	.	.	.	.	0.79	-0.70	*	.	F	0.90	1.28
Leu	384	A	A	.	.	.	.	.	1.14	-0.99	*	*	F	0.90	2.24
Ala	385	A	A	.	.	.	.	.	1.07	-1.41	*	*	F	0.90	2.59
Lys	386	A	A	.	.	.	.	.	1.41	-0.73	*	.	F	0.75	0.93
Gln	387	A	A	.	.	.	.	.	1.41	-0.73	*	*	F	0.90	1.95
Lys	388	A	A	.	.	.	.	.	1.27	-1.41	*	*	F	0.90	3.22
Ile	389	A	A	.	.	.	.	.	1.27	-1.41	.	*	F	0.90	2.19
Glu	390	A	A	.	.	.	.	.	1.04	-0.73	*	*	F	0.90	1.04
Asp	391	A	A	.	.	.	.	.	0.70	-0.44	.	*	F	0.45	0.43
His	392	A	A	.	.	.	.	.	0.40	-0.06	*	*	.	0.30	0.82
Leu	393	A	A	.	.	.	.	.	0.01	-0.36	*	*	.	0.30	0.64
Leu	394	A	A	.	.	.	.	.	0.94	0.07	*	*	F	-0.15	0.38
Ser	395	A	.	.	.	.	T	.	0.24	0.07	*	*	F	0.25	0.55
Ser	396	A	.	.	.	.	T	.	-0.36	0.36	*	*	F	0.25	0.58
Gly	397	.	.	.	.	T	T	.	-0.57	0.29	.	.	F	0.65	0.70
Lys	398	A	.	.	.	.	T	.	-0.57	0.36	.	.	F	0.25	0.82
Phe	399	A	A	.	.	.	.	.	0.24	0.66	.	.	.	-0.60	0.50
Met	400	.	A	B	.	.	.	.	0.20	0.27	.	*	.	-0.30	0.88

[표 2i]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Tyr	401	.	A	B	.	.	.	.	0.50	0.27	.	*	.	-0.30	0.44
Leu	402	A	A	.	.	.	.	.	0.26	0.67	.	*	.	-0.60	0.81
Glu	403	A	A	.	.	.	.	.	0.21	0.39	.	*	.	-0.30	0.82
Gly	404	A	.	.	.	.	.	.	0.61	-0.23	.	*	F	0.65	0.88
Asn	405	A	.	.	.	.	T	.	0.62	-0.60	.	*	F	1.30	1.43
Ala	406	A	.	.	.	.	T	.	0.27	-0.79	.	*	F	1.15	0.83
Asp	407	A	.	.	.	.	T	.	0.78	-0.17	.	*	F	0.85	0.83
Ser	408	A	.	.	.	.	T	.	0.39	-0.21	.	*	F	0.85	0.69
Ala	409	A	.	.	.	.	.	.	0.34	-0.19	.	*	.	0.50	0.88
Met	410	A	.	.	.	.	.	.	-0.04	-0.26	.	.	.	0.50	0.67
Ser	411	A	.	.	.	.	.	.	0.16	0.17	.	.	.	-0.10	0.64

또 다른 태양에서, 본 발명은 1개, 2개, 3개, 4개 5개 또는 그 이상의 TR7의 에피토프-보유 부분을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 펩티드 또는 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다. 이러한 폴리펩티드 부분의 에피토프는 본원에서 기술된 폴리펩티드의 면역원성 또는 항원성 에피토프이다. '면역원성 에피토프'는 전체 단백질이 면역원인 경우

항체 반응을 유도하는 단백질 부분으로서 정의된다. 한편, 항체가 결합할 수 있는 단백질 분자의 영역은 '항원성 에피토프'로서 정의된다. 단백질의 면역원성 에피토프의 수는 일반적으로 항원성 에피토프의 수 보다 적다[참조 문헌: Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002(1983)].

항원성 에피토프를 보유하는(즉, 항체가 결합할 수 있는 단백질 분자의 영역을 함유함) 펩티드 또는 폴리펩티드의 선별에 대하여, 단백질 서열의 일부를 모사하는 비교적 짧은 합성 펩티드가 부분적으로 모사된 단백질과 반응하는 항혈청을 통상적으로 유도할 수 있다는 것이 당업계에 익히 공지되어 있다[참조 문헌: J. G. Sutcliffe et al., 'Antibodies That React With Predetermined Sites on Proteins,' Science 219: 660-666 (1983)]. 흔히 단백질의 1차 서열로 나타내는 단백질-반응성 혈청을 유도할 수 있는 펩티드는 일련의 간단한 화학 법칙에 의해 특징이 결정될 수 있고, 온전한 단백질의 면역지배(immunodominant)(즉, 면역원성 에피토프) 또는 아미노 또는 카복실 말단 어느 것으로도 국한되지 않는다.

따라서, 항원성 에피토프-보유 펩티드 및 폴리펩티드는 TR7 폴리펩티드에 결합하는 모노클로날 항체를 포함한 항체를 발생시키는데 유용하다[참조 문헌: Wilson et al., Cell 37:767-778(1984) at 777]. 항원성 에피토프-보유 펩티드 및 폴리펩티드는 서열번호 3의 아미노산 서열내에 함유된 바람직하게는 7개 이상, 보다 바람직하게는 9개 이상 및 가장 바람직하게는 적어도 약 15개 내지 약 30개의 서열을 함유한다.

본 발명의 항체는 다음의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 다음의 아미노산 잔기로 이루어진 폴리펩티드를 포함하나, 그에 한정되지 않는 하나 이상의 항원성 TR7 폴리펩티드 또는 펩티드에 결합할 수 있다: 서열번호 3의 약 62 내지 약 110, 서열번호 3의 약 119 내지 약 164, 서열번호 3의 약 224 내지 약 271, 서열번호 3의 약 275 내지 약 370, 서열번호 3의 약 69 내지 약 80, 서열번호 3의 약 88 내지 약 95, 서열번호 3의 약 99 내지 약 103, 서열번호 3의 약 119 내지 약 123, 서열번호 3의 약 130 내지 약 135, 서열번호 3의 약 152 내지 약 163, 서열번호 3의 약 226 내지 약 238, 서열번호 3의 약 275 내지 약 279, 서열번호 3의 약 301 내지 약 305, 및/또는 서열번호 3의 약 362 내지 약 367. 이와 관련하여, '약'은 특히 언급된 범위 보다 한 쪽 말단 또는 양쪽 말단에서 수 개(5, 4, 3, 2 또는 1개)의 뉴 클레오티드 만큼 크거나 작은 범위를 포함한다. 위에서 지적된 바와 같이, 본원의 발명자들은, 상기 폴리펩티드 단편이 TR7 수용체 단백질의 항원성 영역임을 결정하였다.

에피토프-보유 TR7 펩티드 및 폴리펩티드는 임의의 통상적 수단에 의해 생성될 수 있다. 참조 문헌[Houghten, R.A., 'General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual 아미노 acids,' Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:5131-5135 (1985)]. 이러한 '동시적 다중 펩티드 합성(SMPS: Simultaneous Multiple Peptide Synthesis)' 과정은 문헌[참조: 미국 특허 제4,631,211호, Houghten et al.(1986)]에 추가로 기술되어 있다.

당업자가 인지하는 바와 같이, 본원에 기술된 TR7 수용체 폴리펩티드 및 이의 에피토프-보유 단편(예를 들면, 서열번호 3의 아미노산 잔기 52 내지 184와 같은 세포외 도메인 부분에 상응함)을 면역글로불린(IgG)의 불변 도메인의 부분과 배합시켜, 키메라 폴리펩티드를 생성시킬 수 있다. 이러한 융합 단백질은 정제를 용이하게 하고, 증가된 생체내 반감기를 나타낸다. 이는, 예를 들면, 사람 CD4-폴리펩티드의 처음 2개의 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변 영역의 각종 도메인으로 이루어진 키메라 단백질에 대해 밝혀졌다[참조: EP A 394,827; Traunecker et al., Nature 331:84-86 (1988)]. 또한 IgG 부분으로 인해 디설파이드-연결된 이량체 구조를 갖는 융합 단백질은 단량체성 TR7 단백질 또는 단백질 단편 단독 보다 다른 분자를 결합시키고 중화시키는데 보다 효과적 일 수 있다[참조 문헌: Fountoulakis et al., J. Biochem., 270:3958-3964 (1995)]. TR7 융합 단백질은 항-TR7 항체를 유도하는 면역원으로서 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 항체는 TR7 폴리펩티드의 전부 또는 일부를 포함하는 융합 단백질의 TR7 일부분에 결합할 수 있다.

당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여, 단일 또는 다중 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 신규한 돌연변이 단백질 또는 '뮤테인(mutein)'을 제조할 수 있다. 이러한 변형된 폴리펩티드는, 예를 들면, 증진된 활성 또는 증가된 안정성을 나타낼 수 있다. 추가로, 이들은 적어도 특정 정제 조건 및 저장 조건하에서 상응하는 천연 폴리펩티드보다 고수율로 정제될 수 있고 보다 우수한 용해도를 나타낼 수 있다. 본 발명의 항체는 또한 이러한 변형된 TR7 폴리펩티드 또는 TR7 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 결합할 수 있다.

예를 들면, 막 결합된 단백질의 세포외 도메인 또는 분비된 단백질의 성숙한 형태(들)을 포함하는 다수의 단백질에 있어서, 하나 이상의 아미노산이 생물학적 기능의 실질적인 손실 또는 특정 항체에 결합되는 능력의 손실 없이 N-말단 또는 C-말단으로부터 결실될 수 있다는 것은 당업계에 공지되어 있다. 그러나, 단백질의 N-말단 또는 C-말단으로부터의 하나 이상의 아미노산의 결실이 단백질의 하나 이상의 생물학적 기능을 변형시키거나 상실시킬지라도, 다른 TR7 기능적 활성은 여전히 보유될 수 있다. 예를 들면, 많은 경우에, TR7(바람직하게 TR7에 특이적으로 결합하는 항체)을 인식하는 항체를 유도하고/하거나 이에 결합할 수 있는 단축된 단백질의 능력은 결실의 크기 또는 위치에 관계없이 보유될 것이다. 사실, 6개의 TR7 아미노산 잔기만으로 구성된 폴리펩티드는 종종 면역 반응을 일으킬 수 있다. 완전한 단백질의 N-말단 및/또는 C-말단 잔기가 결여된 특정 폴리펩티드가 이러한 면역학적 활성을 보유하는지는 본원에 기술된 통상의 방법 및 당업계에 공지된 그 밖의 방법에 의해 쉽게 결정될 수 있다.

상기 언급된 바와 같이, 단백질의 N-말단으로부터의 하나 이상의 아미노산의 결실이 단백질의 하나 이상의 생물학적 기능을 변형시키거나 상실시킬지라도, 다른 기능적 활성(예: 생물학적 활성, 다량체형성 능력, TR7 리간드에 결합하는 능력)은 여전히 보유될 수 있다. 예를 들면, 상기 폴리펩티드의 완전한 또는 성숙한 형을 인식하는 항체를 유도하고/하거나 이에 결합할 수 있는 단축된 TR7 폴리펩티드의 능력은, 완전한 또는 성숙한 폴리펩티드의 잔기의 많은 부분이 N-말단으로부터 제거되는 경우에도, 보유될 것이다. 완전한 폴리펩티드의 N-말단 잔기가 결여된 특정 폴리펩티드가 이러한 면역학적 활성을 보유하는지는 본원에 기술된 통상의 방법 및 당업계에 공지된 그 밖의 방법에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 다수의 결실된 N-말단 아미노산 잔기를 가진 TR7 폴리펩티드는 일부 생물학적 또는 면역원성 활성을 보유할 수 있을 것이다.

따라서, 본 발명은 406번 위치에 있는 알라닌 잔기까지 서열번호 3의 TR7의 아미노산 서열의 아미노 말단으로부터 하나 이상의 잔기가 결실된 폴리펩티드 및 이러한 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 결합하는 항체를 추가로 제공한다. 특히, 본 발명은 서열번호 3의 잔기 n^{5}-411(여기서, n^{5}는 서열 번호 3중의 아미노산 잔기의 위치에 상응하는 2 내지 406의 정수이다)의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다.

보다 특히, 본 발명은 서열번호 3의 TR7 서열의 다음 잔기의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다: E-2 내지 S-411; Q-3 내지 S-411; R-4 내지 S-411; G-5 내지 S-411; Q-6 내지 S-411; N-7 내지 S-411; A-8 내지 S-411; P-9 내지 S-411; A-10 내지 S-411; A-11 내지 S-411; S-12 내지 S-411; G-13 내지 S-411; A-14 내지 S-411; R-15 내지 S-411; K-16 내지 S-411; R-17 내지 S-411; H-18 내지 S-411; G-19 내지 S-411; P-20 내지 S-411; G-21 내지 S-411; P-22 내지 S-411; R-23 내지 S-411; E-24 내지 S-411; A-25 내지 S-411; R-26 내지 S-411; G-27 내지 S-411; A-28 내지 S-411; R-29 내지 S-411; P-30 내지 S-411; G-31 내지 S-411; P-32 내지 S-411; R-33 내지 S-411; V-34 내지 S-411; P-35 내지 S-411; K-36 내지 S-411; T-37 내지 S-411; L-38 내지 S-411; V-39 내지 S-411; L-40 내지 S-411; V-41 내지 S-411; V-42 내지 S-411; A-43 내지 S-411; A-44 내지 S-411; V-45 내지 S-411; L-46 내지 S-411; L-47 내지 S-411; L-48 내지 S-411; V-49 내지 S-411; S-50 내지 S-411; A-51 내지 S-411; E-52 내지 S-411; S-53 내지 S-411; A-54 내지 S-411; L-55 내지 S-411; I-56 내지 S-411; T-57 내지 S-411; Q-58 내지 S-411; Q-59 내지 S-411; D-60 내지 S-411; L-61 내지 S-411; A-62 내지 S-411; P-63 내지 S-411; Q-64 내지 S-411; Q-65 내지 S-411; R-66 내지 S-411; A-67 내지 S-411; A-68 내지 S-411; P-69 내지 S-411; Q-70 내지 S-411; Q-71 내지 S-411; K-72 내지 S-411; R-73 내지 S-411; S-74 내지 S- 411; S-75 내지 S-411; P-76 내지 S-411; S-77 내지 S-411; E-78 내지 S-411; G-79 내지 S-411; L-80 내지 S-411; C-81 내지 S-411; P-82 내지 S-411; P-83 내지 S-411; G-84 내지 S-411; H-85 내지 S-411; H-86 내지 S-411; I-87 내지 S-411; S-88 내지 S-411; E-89 내지 S-411; D-90 내지 S-411; G-91 내지 S-411; R-92 내지 S-411; D-93 내지 S-411; C-94 내지 S-411; I-95 내지 S-411; S-96 내지 S-411; C-97 내지 S-411; K-98 내지 S-411; Y-99 내지 S-411; G-100 내지 S-411; Q-101 내지 S-411; D-102 내지 S-411; Y-103 내지 S-411; S-104 내지 S-411; T-105 내지 S-411; H-106 내지 S-411; W-107 내지 S-411; N-108 내지 S-411; D-109 내지 S-411; L-110 내지 S-411; L-111 내지 S-411; F-112 내지 S-411; C-113 내지 S-411; L-114 내지 S-411; R-115 내지 S-411; C-116 내지 S-411; T-117 내지 S-411; R-118 내지 S-411; C-119 내지 S-411; D-120 내지 S-411; S-121 내지 S-411; G-122 내지 S-411; E-123 내지 S-411; V-124 내지 S-411; E-125 내지 S-411; L-126 내지 S-411; S-127 내지 S-411; P-128 내지 S-411; C-129 내지 S-411; T-130 내지 S-411; T-131 내지 S-411; T-132 내지 S-411; R-133 내지 S-411; N-134 내지 S-411; T-135 내지 S-411; V-136 내지 S-411; C-137 내지 S-411; Q-138 내지 S-411; C-139 내지 S-411; E-140 내지 S-411; E-141 내지 S-411; G-142 내지 S-411; T-143 내지 S-411; F-144 내지 S-411; R-145 내지 S-411; E-146 내지 S-411; E-147 내지 S-411; D-148 내지 S-411; S-149 내지 S-411; P-150 내지 S-411; E-151 내지 S-411; M-152 내지 S-411; C-153 내지 S-411; R-154 내지 S-411; K-155 내지 S-411; C-156 내지 S-411; R-157 내지 S-411; T-158 내지 S-411; G-159 내지 S-411; C-160 내지 S-411; P-161 내지 S-411; R-162 내지 S-411; G-163 내지 S-411; M-164 내지 S-411; V-165 내지 S-411; K-166 내지 S-411; V-167 내지 S-411; G-168 내지 S-411; D-169 내지 S-411; C-170 내지 S-411; T-171 내지 S-411; P-172 내지 S-411; W-173 내지 S-411; S-174 내지 S-411; D-175 내지 S-411; I-176 내지 S-411; E-177 내지 S-411; C-178 내지 S-411; V-179 내지 S-411; H-180 내지 S-411; K-181 내지 S-411; E-182 내지 S-411; S-183 내지 S-411; G-184 내지 S-411; I-185 내지 S-411; I-186 내지 S-411; I-187 내지 S-411; G-188 내지 S-411; V-189 내지 S-411; T-190 내지 S-411; V-191 내지 S-411; A-192 내지 S-411; A-193 내지 S-411; V-194 내지 S-411; V-195 내지 S-411; L-196 내지 S-411; I-197 내지 S-411; V-198 내지 S-411; A-199 내지 S-411; V-200 내지 S-411; F-201 내지 S-411; V-202 내지 S-411; C-203 내지 S-411; K-204 내지 S-411; S-205 내지 S-411; L-206 내지 S-411; L-207 내지 S-411; W-208 내지 S-411; K-209 내지 S-411; K-210 내지 S-411; V-211 내지 S-411; L-212 내지 S-411; P-213 내지 S-411; Y-214 내지 S-411; L-215 내지 S-411; K-216 내지 S-411; G-217 내지 S-411; I-218 내지 S-411; C-219 내지 S-411; S-220 내지 S-411; G-221 내지 S-411; G-222 내지 S-411; G-223 내지 S-411; G-224 내지 S-411; D-225 내지 S-411; P-226 내지 S-411; E-227 내지 S-411; R-228 내지 S-411; V-229 내지 S-411; D-230 내지 S-411; R-231 내지 S-411; S-232 내지 S-411; S-233 내지 S-411; Q-234 내지 S-411; R-235 내지 S-411; P-236 내지 S-411; G-237 내지 S-411; A-238 내지 S-411; E-239 내지 S-411; D-240 내지 S-411; N-241 내지 S-411; V-242 내지 S-411; L-243 내지 S-411; N-244 내지 S-411; E-245 내지 S-411; I-246 내지 S-411; V-247 내지 S-411; S-248 내지

S-411; I-249 내지 S-411; L-250 내지 S-411; Q-251 내지 S-411; P-252 내지 S-411; T-253 내지 S-411; Q-254 내지 S-411; V-255 내지 S-411; P-256 내지 S-411; E-257 내지 S-411; Q-258 내지 S-411; E-259 내지 S-411; M-260 내지 S-411; E-261 내지 S-411; V-262 내지 S-411; Q-263 내지 S-411; E-264 내지 S-411; P-265 내지 S-411; A-266 내지 S-411; E-267 내지 S-411; P-268 내지 S-411; T-269 내지 S-411; G-270 내지 S-411; V-271 내지 S-411; N-272 내지 S-411; M-273 내지 S-411; L-274 내지 S-411; S-275 내지 S-411; P-276 내지 S-411; G-277 내지 S-411; E-278 내지 S-411; S-279 내지 S-411; E-280 내지 S-411; H-281 내지 S-411; L-282 내지 S-411; L-283 내지 S-411; E-284 내지 S-411; P-285 내지 S-411; A-286 내지 S-411; E-287 내지 S-411; A-288 내지 S-411; E-289 내지 S-411; R-290 내지 S-411; S-291 내지 S-411; Q-292 내지 S-411; R-293 내지 S-411; R-294 내지 S-411; R-295 내지 S-411; L-296 내지 S-411; L-297 내지 S-411; V-298 내지 S-411; P-299 내지 S-411; A-300 내지 S-411; N-301 내지 S-411; E-302 내지 S-411; G-303 내지 S-411; D-304 내지 S-411; P-305 내지 S-411; T-306 내지 S-411; E-307 내지 S-411; T-308 내지 S-411; L-309 내지 S-411; R-310 내지 S-411; Q-311 내지 S-411; C-312 내지 S-411; F-313 내지 S-411; D-314 내지 S-411; D-315 내지 S-411; F-316 내지 S-411; A-317 내지 S-411; D-318 내지 S-411; L-319 내지 S-411; V-320 내지 S-411; P-321 내지 S-411; F-322 내지 S-411; D-323 내지 S-411; S-324 내지 S-411; W-325 내지 S-411; E-326 내지 S-411; P-327 내지 S-411; L-328 내지 S-411; M-329 내지 S-411; R-330 내지 S-411; K-331 내지 S-411; L-332 내지 S-411; G-333 내지 S-411; L-334 내지 S-411; M-335 내지 S-411; D-336 내지 S-411; N-337 내지 S-411; E-338 내지 S-411; I-339 내지 S-411; K-340 내지 S-411; V-341 내지 S-411; A-342 내지 S-411; K-343 내지 S-411; A-344 내지 S-411; E-345 내지 S-411; A-346 내지 S-411; A-347 내지 S-411; G-348 내지 S-411; H-349 내지 S-411; R-350 내지 S-411; D-351 내지 S-411; T-352 내지 S-411; L-353 내지 S-411; Y-354 내지 S-411; T-355 내지 S-411; M-356 내지 S-411; L-357 내지 S-411; I-358 내지 S-411; K-359 내지 S-411; W-360 내지 S-411; V-361 내지 S-411; N-362 내지 S-411; K-363 내지 S-411; T-364 내지 S-411; G-365 내지 S-411; R-366 내지 S-411; D-367 내지 S-411; A-368 내지 S-411; S-369 내지 S-411; V-370 내지 S-411; H-371 내지 S-411; T-372 내지 S-411; L-373 내지 S-411; L-374 내지 S-411; D-375 내지 S-411; A-376 내지 S-411; L-377 내지 S-411; E-378 내지 S-411; T-379 내지 S-411; L-380 내지 S-411; G-381 내지 S-411; E-382 내지 S-411; R-383 내지 S-411; L-384 내지 S-411; A-385 내지 S-411; K-386 내지 S-411; Q-387 내지 S-411; K-388 내지 S-411; I-389 내지 S-411; E-390 내지 S-411; D-391 내지 S-411; H-392 내지 S-411; L-393 내지 S-411; L-394 내지 S-411; S-395 내지 S-411; S-396 내지 S-411; G-397 내지 S-411; K-398 내지 S-411; F-399 내지 S-411; M-400 내지 S-411; Y-401 내지 S-411; L-402 내지 S-411; E-403 내지 S-411; G-404 내지 S-411; N-405 내지 S-411; 및/또는 A-406 내지 S-411.

또 다른 태양에서, TR7 폴리펩티드의 N-말단 결실체는 일반식 n^{6} 내지 184(여기서, n^{6} 은 서열번호 3에서 확인된 아미노산 서열에 상응하는 1 내지 179의 수이다)으로 기술될 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3의 TR7 세포외 도메인 서열의 다음 잔기의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 TR7의 N-말단 결실체에 결합한다: E-2 내지 G-184; Q-3 내지 G-184; R-4 내지 G-184; G-5 내지 G-184; Q-6 내지 G-184; N-7 내지 G-184; A-8 내지 G-184; P-9 내지 G-184; A-10 내지 G-184; A-11 내지 G-184; S-12 내지 G-184; G-13 내지 G-184; A-14 내지 G-184; R-15 내지 G-184; K-16 내지 G-184; R-17 내지 G-184; H-18 내지 G-184; G-19 내지 G-184; P-20 내지 G-184; G-21 내지 G-184; P-22 내지 G-184; R-23 내지 G-184; E-24 내지 G-184; A-25 내지 G-184; R-26 내지 G-184; G-27 내지 G-184; A-28 내지 G-184; R-29 내지 G-184; P-30 내지 G-184; G-31 내지 G-184; P-32 내지 G-184; R-33 내지 G-184; V-34 내지 G-184; P-35 내지 G-184; K-36 내지 G-184; T-37 내지 G-184; L-38 내지 G-184; V-39 내지 G-184; L-40 내지 G-184; V-41 내지 G-184; V-42 내지 G-184; A-43 내지 G-184; A-44 내지 G-184; V-45 내지 G-184; L-46 내지 G-184; L-47 내지 G-184; L-48 내지 G-184; V-49 내지 G-184; S-50 내지 G-184; A-51 내지 G-184; E-52 내지 G-184; S-53 내지 G-184; A-54 내지 G-184; L-55 내지 G-184; I-56 내지 G-184; T-57 내지 G-184; Q-58 내지 G-184; Q-59 내지 G-184; D-60 내지 G-184; L-61 내지 G-184; A-62 내지 G-184; P-63 내지 G-184; Q-64 내지 G-184; Q-65 내지 G-184; R-66 내지 G-184; A-67 내지 G-184; A-68 내지 G-184; P-69 내지 G-184; Q-70 내지 G-184; Q-71 내지 G-184; K-72 내지 G-184; R-73 내지 G-184; S-74 내지 G-184; S-75 내지 G-184; P-76 내지 G-184; S-77 내지 G-184; E-78 내지 G-184; G-79 내지 G-184; L-80 내지 G-184; C-81 내지 G-184; P-82 내지 G-184; P-83 내지 G-184; G-84 내지 G-184; H-85 내지 G-184; H-86 내지 G-184; I-87 내지 G-184; S-88 내지 G-184; E-89 내지 G-184; D-90 내지 G-184; G-91 내지 G-184; R-92 내지 G-184; D-93 내지 G-184; C-94 내지 G-184; I-95 내지 G-184; S-96 내지 G-184; C-97 내지 G-184; K-98 내지 G-184; Y-99 내지 G-184; G-100 내지 G-184; Q-101 내지 G-184; D-102 내지 G-184; Y-103 내지 G-184; S-104 내지 G-184; T-105 내지 G-184; H-106 내지 G-184; W-107 내지 G-184; N-108 내지 G-184; D-109 내지 G-184; L-110 내지 G-184; L-111 내지 G-184; F-112 내지 G-184; C-113 내지 G-184; L-114 내지 G-184; R-115 내지 G-184; C-116 내지 G-184; T-117 내지 G-184; R-118 내지 G-184; C-119 내지 G-184; D-120 내지 G-184; S-121 내지 G-184; G-122 내지 G-184; E-123 내지 G-184; V-124 내지 G-184; E-125 내지 G-184; L-126 내지 G-184; S-127 내지 G-184; P-128 내지 G-184; C-129 내지 G-184; T-130 내지 G-184; T-131 내지 G-184; T-132 내지 G-184; R-133 내지 G-184; N-134 내지 G-184; T-135 내지 G-184; V-136 내지 G-184; C-137 내지 G-184; Q-138 내지 G-184; C-139 내지 G-184; E-140 내지 G-184; E-141 내지 G-184; G-142 내지 G-184; T-143 내지 G-184; F-144 내지 G-184; R-145 내지 G-184; E-146 내지 G-184; E-147 내지 G-184; D-148

내지 G-184; S-149 내지 G-184; P-150 내지 G-184; E-151 내지 G-184; M-152 내지 G-184; C-153 내지 G-184; R-154 내지 G-184; K-155 내지 G-184; C-156 내지 G-184; R-157 내지 G-184; T-158 내지 G-184; G-159 내지 G-184; C-160 내지 G-184; P-161 내지 G-184; R-162 내지 G-184; G-163 내지 G-184; M-164 내지 G-184; V-165 내지 G-184; K-166 내지 G-184; V-167 내지 G-184; G-168 내지 G-184; D-169 내지 G-184; C-170 내지 G-184; T-171 내지 G-184; P-172 내지 G-184; W-173 내지 G-184; S-174 내지 G-184; D-175 내지 G-184; I-176 내지 G-184; E-177 내지 G-184; C-178 내지 G-184; 및/또는 V-179 내지 G-184.

또한 상기 언급한 바와 같이, 단백질의 C-말단으로부터의 하나 이상의 아미노산의 결실이 단백질의 하나 이상의 생물학적 기능을 변형시키거나 상실시킬지라도, 다른 기능적 활성(예: 생물학적 활성, 다량체형성 능력, TR7 리간드(예: TRAIL)에 결합하는 능력)은 여전히 보유될 수 있다. 예를 들면, 폴리펩티드의 완전한 또는 성숙한 형을 인식하는 항체를 유도하고/하거나 이에 결합할 수 있는 단축된 TR7 폴리펩티드의 능력은, 완전한 또는 성숙한 폴리펩티드의 잔기의 많은 부분이 C-말단으로부터 제거되는 경우에도, 보유될 것이다. 완전한 폴리펩티드의 C-말단 잔기가 결여된 특정 폴리펩티드가 이러한 면역학적 활성을 보유하는지는 본원에 기술된 통상의 방법 및 당업계에 공지된 그 밖의 방법에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 다수의 결실된 C-말단 아미노산 잔기를 가진 TR7 폴리펩티드는 일부 생물학적 또는 면역원성 활성을 보유할 수 있을 것이다. 실제로, 6개와 같이 적은 TR7 아미노산 잔기로 구성된 펩티드는 종종 면역반응을 일으킬 수 있다.

따라서, 본 발명은 52번 위치에 있는 글루탐산 잔기 이하까지 서열번호 3의 TR7 폴리펩티드의 아미노산 서열의 카복시 말단으로부터 하나 이상의 잔기가 결실 된 폴리펩티드와 결합하는 항체를 추가로 제공한다. 특히, 본 발명은 서열번호 3의 잔기 52-m^5 (여기서, m^5 는 서열 번호 3중의 아미노산 잔기의 위치에 상응하는 57 내지 410의 정수이다)의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다.

보다 특히, 본 발명은 서열번호 3의 TR7 서열의 다음 잔기의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다: E-52 내지 M-410; E-52 내지 A-409; E-52 내지 S-408; E-52 내지 D-407; E-52 내지 A-406; E-52 내지 N-405; E-52 내지 G-404; E-52 내지 E-403; E-52 내지 L-402; E-52 내지 Y-401; E-52 내지 M-400; E-52 내지 F-399; E-52 내지 K-398; E-52 내지 G-397; E-52 내지 S-396; E-52 내지 S-395; E-52 내지 L-394; E-52 내지 L-393; E-52 내지 H-392; E-52 내지 D-391; E-52 내지 E-390; E-52 내지 I-389; E-52 내지 K-388; E-52 내지 Q-387; E-52 내지 K-386; E-52 내지 A-385; E-52 내지 L-384; E-52 내지 R-383; E-52 내지 E-382; E-52 내지 G-381; E-52 내지 L-380; E-52 내지 T-379; E-52 내지 E-378; E-52 내지 L-377; E-52 내지 A-376; E-52 내지 D-375; E-52 내지 L-374; E-52 내지 L-373; E-52 내지 T-372; E-52 내지 H-371; E-52 내지 V-370; E-52 내지 S-369; E-52 내지 A-368; E-52 내지 D-367; E-52 내지 R-366; E-52 내지 G-365; E-52 내지 T-364; E-52 내지 K-363; E-52 내지 N-362; E-52 내지 V-361; E-52 내지 W-360; E-52 내지 K-359; E-52 내지 I-358; E-52 내지 L-357; E-52 내지 M-356; E-52 내지 T-355; E-52 내지 Y-354; E-52 내지 L-353; E-52 내지 T-352; E-52 내지 D-351; E-52 내지 R-350; E-52 내지 H-349; E-52 내지 G-348; E-52 내지 A-347; E-52 내지 A-346; E-52 내지 E-345; E-52 내지 A-344; E-52 내지 K-343; E-52 내지 A-342; E-52 내지 V-341; E-52 내지 K-340; E-52 내지 I-339; E-52 내지 E-338; E-52 내지 N-337; E-52 내지 D-336; E-52 내지 M-335; E-52 내지 L-334; E-52 내지 G-333; E-52 내지 L-332; E-52 내지 K-331; E-52 내지 R-330; E-52 내지 M-329; E-52 내지 L-328; E-52 내지 P-327; E-52 내지 E-326; E-52 내지 W-325; E-52 내지 S-324; E-52 내지 D-323; E-52 내지 F-322; E-52 내지 P-321; E-52 내지 V-320; E-52 내지 L-319; E-52 내지 D-318; E-52 내지 A-317; E-52 내지 F-316; E-52 내지 D-315; E-52 내지 D-314; E-52 내지 F-313; E-52 내지 C-312; E-52 내지 Q-311; E-52 내지 R-310; E-52 내지 L-309; E-52 내지 T-308; E-52 내지 E-307; E-52 내지 T-306; E-52 내지 P-305; E-52 내지 D-304; E-52 내지 G-303; E-52 내지 E-302; E-52 내지 N-301; E-52 내지 A-300; E-52 내지 P-299; E-52 내지 V-298; E-52 내지 L-297; E-52 내지 L-296; E-52 내지 R-295; E-52 내지 R-294; E-52 내지 R-293; E-52 내지 Q-292; E-52 내지 S-291; E-52 내지 R-290; E-52 내지 E-289; E-52 내지 A-288; E-52 내지 E-287; E-52 내지 A-286; E-52 내지 P-285; E-52 내지 E-284; E-52 내지 L-283; E-52 내지 L-282; E-52 내지 H-281; E-52 내지 E-280; E-52 내지 S-279; E-52 내지 E-278; E-52 내지 G-277; E-52 내지 P-276; E-52 내지 S-275; E-52 내지 L-274; E-52 내지 M-273; E-52 내지 N-272; E-52 내지 V-271; E-52 내지 G-270; E-52 내지 T-269; E-52 내지 P-268; E-52 내지 E-267; E-52 내지 A-266; E-52 내지 P-265; E-52 내지 E-264; E-52 내지 Q-263; E-52 내지 V-262; E-52 내지 E-261; E-52 내지 M-260; E-52 내지 E-259; E-52 내지 Q-258; E-52 내지 E-257; E-52 내지 P-256; E-52 내지 V-255; E-52 내지 Q-254; E-52 내지 T-253; E-52 내지 P-252; E-52 내지 Q-251; E-52 내지 L-250; E-52 내지 I-249; E-52 내지 S-248; E-52 내지 V-247; E-52 내지 I-246; E-52 내지 E-245; E-52 내지 N-244; E-52 내지 L-243; E-52 내지 V-242; E-52 내지 N-241; E-52 내지 D-240; E-52 내지 E-239; E-52 내지 A-238; E-52 내지 G-237; E-52 내지 P-236; E-52 내지 R-235; E-52 내지 Q-234; E-52 내지 S-233; E-52 내지 S-232; E-52 내지 R-231; E-52 내지 D-230; E-52 내지 V-229; E-52 내지 R-228; E-52 내지 E-227; E-52 내지 P-226; E-52 내지 D-225; E-52 내지 G-224; E-52 내지 G-223; E-52 내지 G-222; E-52 내지 G-221; E-52 내지 S-220; E-52 내지 C-219; E-52 내지 I-218; E-52 내지 G-217; E-52 내지 K-216; E-52 내지 L-215; E-52 내지 Y-214; E-52 내지 P-213; E-52 내지 L-212; E-52 내지 V-211; E-52 내지 K-210; E-52 내지 K-209; E-52 내지 W-208; E-52 내지 L-207; E-52 내지 L-206; E-52 내지 S-205; E-52 내지 K-204; E

-52 내지 C-203; E-52 내지 V-202; E-52 내지 F-201; E-52 내지 V-200; E-52 내지 A-199; E-52 내지 V-198; E-52 내지 I-197; E-52 내지 L-196; E-52 내지 V-195; E-52 내지 V-194; E-52 내지 A-193; E-52 내지 A-192; E-52 내지 V-191; E-52 내지 T-190; E-52 내지 V-189; E-52 내지 G-188; E-52 내지 I-187; E-52 내지 I-186; E-52 내지 I-185; E-52 내지 G-184; E-52 내지 S-183; E-52 내지 E-182; E-52 내지 K-181; E-52 내지 H-180; E-52 내지 V-179; E-52 내지 C-178; E-52 내지 E-177; E-52 내지 I-176; E-52 내지 D-175; E-52 내지 S-174; E-52 내지 W-173; E-52 내지 P-172; E-52 내지 T-171; E-52 내지 C-170; E-52 내지 D-169; E-52 내지 G-168; E-52 내지 V-167; E-52 내지 K-166; E-52 내지 V-165; E-52 내지 M-164; E-52 내지 G-163; E-52 내지 R-162; E-52 내지 P-161; E-52 내지 C-160; E-52 내지 G-159; E-52 내지 T-158; E-52 내지 R-157; E-52 내지 C-156; E-52 내지 K-155; E-52 내지 R-154; E-52 내지 C-153; E-52 내지 M-152; E-52 내지 E-151; E-52 내지 P-150; E-52 내지 S-149; E-52 내지 D-148; E-52 내지 E-147; E-52 내지 E-146; E-52 내지 R-145; E-52 내지 F-144; E-52 내지 T-143; E-52 내지 G-142; E-52 내지 E-141; E-52 내지 E-140; E-52 내지 C-139; E-52 내지 Q-138; E-52 내지 C-137; E-52 내지 V-136; E-52 내지 T-135; E-52 내지 N-134; E-52 내지 R-133; E-52 내지 T-132; E-52 내지 T-131; E-52 내지 T-130; E-52 내지 C-129; E-52 내지 P-128; E-52 내지 S-127; E-52 내지 L-126; E-52 내지 E-125; E-52 내지 V-124; E-52 내지 E-123; E-52 내지 G-122; E-52 내지 S-121; E-52 내지 D-120; E-52 내지 C-119; E-52 내지 R-118; E-52 내지 T-117; E-52 내지 C-116; E-52 내지 R-115; E-52 내지 L-114; E-52 내지 C-113; E-52 내지 F-112; E-52 내지 L-111; E-52 내지 L-110; E-52 내지 D-109; E-52 내지 N-108; E-52 내지 W-107; E-52 내지 H-106; E-52 내지 T-105; E-52 내지 S-104; E-52 내지 Y-103; E-52 내지 D-102; E-52 내지 Q-101; E-52 내지 G-100; E-52 내지 Y-99; E-52 내지 K-98; E-52 내지 C-97; E-52 내지 S-96; E-52 내지 I-95; E-52 내지 C-94; E-52 내지 D-93; E-52 내지 R-92; E-52 내지 G-91; E-52 내지 D-90; E-52 내지 E-89; E-52 내지 S-88; E-52 내지 I-87; E-52 내지 H-86; E-52 내지 H-85; E-52 내지 G-84; E-52 내지 P-83; E-52 내지 P-82; E-52 내지 C- 81; E-52 내지 L-80; E-52 내지 G-79; E-52 내지 E-78; E-52 내지 S-77; E-52 내지 P-76; E-52 내지 S-75; E-52 내지 S-74; E-52 내지 R-73; E-52 내지 K-72; E-52 내지 Q-71; E-52 내지 Q-70; E-52 내지 P-69; E-52 내지 A-68; E-52 내지 A-67; E-52 내지 R-66; E-52 내지 Q-65; E-52 내지 Q-64; E-52 내지 P-63; E-52 내지 A-62; E-52 내지 L-61; E-52 내지 D-60; E-52 내지 Q-59; E-52 내지 Q-58; 및/또는 E-52 내지 T-57.

또 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 일반식 52-m^6 (여기서, m^6 은 서열 번호 3의 아미노산 서열에 상응하는 57 내지 183의 수이다)으로 기술될 수 있는 TR7 폴리펩티드의 C-말단 결실체에 결합한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 서열번호 3의 TR7 세포외 도메인 서열의 다음 잔기의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 TR7 폴리펩티드의 C 말단 결실체에 결합한다: E-52 내지 S-183; E-52 내지 E-182; E-52 내지 K-181; E-52 내지 H-180; E-52 내지 V-179; E-52 내지 C-178; E-52 내지 E-177; E-52 내지 I-176; E-52 내지 D-175; E-52 내지 S-174; E-52 내지 W-173; E-52 내지 P-172; E-52 내지 T-171; E-52 내지 C-170; E-52 내지 D-169; E-52 내지 G-168; E-52 내지 V-167; E-52 내지 K-166; E-52 내지 V-165; E-52 내지 M-164; E-52 내지 G-163; E-52 내지 R-162; E-52 내지 P-161; E-52 내지 C-160; E-52 내지 G-159; E-52 내지 T-158; E-52 내지 R-157; E-52 내지 C-156; E-52 내지 K-155; E-52 내지 R-154; E-52 내지 C-153; E-52 내지 M-152; E-52 내지 E-151; E-52 내지 P-150; E-52 내지 S-149; E-52 내지 D-148; E-52 내지 E-147; E- 52 내지 E-146; E-52 내지 R-145; E-52 내지 F-144; E-52 내지 T-143; E-52 내지 G-142; E-52 내지 E-141; E-52 내지 E-140; E-52 내지 C-139; E-52 내지 Q-138; E-52 내지 C-137; E-52 내지 V-136; E-52 내지 T-135; E-52 내지 N-134; E-52 내지 R-133; E-52 내지 T-132; E-52 내지 T-131; E-52 내지 T-130; E-52 내지 C-129; E-52 내지 P-128; E-52 내지 S-127; E-52 내지 L-126; E-52 내지 E-125; E-52 내지 V-124; E-52 내지 E-123; E-52 내지 G-122; E-52 내지 S-121; E-52 내지 D-120; E-52 내지 C-119; E-52 내지 R-118; E-52 내지 T-117; E-52 내지 C-116; E-52 내지 R-115; E-52 내지 L-114; E-52 내지 C-113; E-52 내지 F-112; E-52 내지 L-111; E-52 내지 L-110; E-52 내지 D-109; E-52 내지 N-108; E-52 내지 W-107; E-52 내지 H-106; E-52 내지 T-105; E-52 내지 S-104; E-52 내지 Y-103; E-52 내지 D-102; E-52 내지 Q-101; E-52 내지 G-100; E-52 내지 Y-99; E-52 내지 K-98; E-52 내지 C-97; E-52 내지 S-96; E-52 내지 I-95; E-52 내지 C-94; E-52 내지 D-93; E-52 내지 R-92; E-52 내지 G-91; E-52 내지 D-90; E-52 내지 E-89; E-52 내지 S-88; E-52 내지 I-87; E-52 내지 H-86; E-52 내지 H-85; E-52 내지 G-84; E-52 내지 P-83; E-52 내지 P-82; E-52 내지 C-81; E-52 내지 L-80; E-52 내지 G-79; E-52 내지 E-78; E-52 내지 S-77; E-52 내지 P-76; E-52 내지 S-75; E-52 내지 S-74; E-52 내지 R-73; E-52 내지 K-72; E-52 내지 Q-71; E-52 내지 Q-70; E-52 내지 P-69; E-52 내지 A-68; E-52 내지 A-67; E-52 내지 R-66; E-52 내지 Q-65; E-52 내지 Q-64; E-52 내지 P-63; E-52 내지 A-62; E-52 내지 L-61; E-52 내지 D-60; E-52 내지 Q-59; E-52 내지 Q-58; 및/또는 E-52 내지 T-57.

또한 본 발명은 서열번호 3의 잔기 n^5 -m^5 및/또는 n^6 -m^6 (여기서, n^5 , n^6 , m^5 및 m^6 은 상기한 바와 같은 정수이다)를 갖는 것으로 일반적으로 기술될 수 있는, TR7 폴리펩티드의 아미노 및 카복시 말단 모두로부터 하나 이상의 아미노산이 결실된 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다.

또한 ATCC 수탁번호 제97920호에 함유된 cDNA 클론에 의해 암호화된 완전한 TR7 아미노산 서열의 부분으로 이루어진 폴리펩티드에 결합하는 항체가 포함되고, 이때 상기 부분은 ATCC 수탁번호 제97920호에 함유된 cDNA 클론에 의해 암호화된 완전한 아미노산 서열의 아미노 말단으로부터의 1 내지 약 78개의 아미노산을 배제하거나, 카복

시 말단으로부터의 1 내지 약 233개의 아미노산을 배제하거나, 또는 ATCC 수탁번호 제97920호에 함유된 cDNA 클론에 의해 암호화된 완전한 아미노산 서열의 상기 아미노 말단 및 카복시 말단 결실체의 임의의 배합을 배제한다.

바람직하게는, 본 발명의 항체는 세포외 도메인, 즉 서열번호 3의 잔기 52 내지 184 내(이 범위내의 임의의 부분은 가용성인 것으로 예상된다) 부분만을 포함하는 N- 및 C-말단 결실 돌연변이체에 결합한다.

TR7의 일부 아미노산 서열이 단백질이 구조나 기능에 현저한 영향을 주지 않으면서 변화될 수 있다는 것이 당업계에 인식될 것이다. 이러한 서열의 차이를 고려한다면, 활성을 결정하는 단백질상의 중요 영역이 존재할 것이라는 것을 기억해야 한다. 통상적으로, 이러한 영역은 리간드 결합 부위 또는 사멸 도메인을 구성하는 잔기 또는 이들 도메인에 영향을 주는 3차 구조를 형성하는 잔기를 포함할 것 이다.

따라서, 본 발명은 추가로 실질적 TR7 단백질 활성을 나타내거나, 또는 후술되는 단백질 부분과 같은 TR7의 영역을 포함하는 TR7 단백질의 변이체에 결합하는 항체를 포함한다. 이러한 돌연변이체는 결실, 삽입, 역위, 반복, 및 유형 치환을 포함한다. 아미노산의 변화가 표현형상으로 침묵(silent)일 것이라는 것에 관한 지침을 문헌[Bowie, J.U. et al., Science 247:1306-1310 (1990)]에서 찾아 볼 수 있다.

따라서, 본 발명의 항체는 서열번호 3의 폴리펩티드의 단편, 유도체 또는 동족체, 또는 ATCC 수탁번호 제97920호의 cDNA에 의해 암호화된 폴리펩티드의 단편, 유도체 또는 동족체에 결합할 수 있다. 이러한 단편, 변이체 또는 유도체는 (i) 적어도 하나 이상의 아미노산 잔기가 보존성 또는 비보존성 아미노산 잔기(바람직하게는 보존성 아미노산 잔기(들), 및 보다 바람직하게는 1 내지 10 미만의 보존성 아미노산 잔기)로 치환되고, 이러한 치환된 아미노산 잔기가 유전 암호에 의해 암호화된 것이거나 아닐 수 있는 것, (ii) 하나 이상의 아미노산 잔기가 치환 그룹을 포함하는 것, (iii) 성숙한 폴리펩티드가 또 다른 화합물, 예를 들어 폴리펩티드의 반감기를 증가시키는 화합물(예: 폴리에틸렌 글리콜)과 융합된 폴리펩티드, 또는 (iv) 추가적 아미노산이 성숙한 폴리펩티드, 예를 들어 IgG Fc 융합 영역 펩티드 또는 리더 서열 또는 분비 서열, 또는 성숙한 폴리펩티드 또는 프로단백질 서열의 정제를 위해 사용되는 서열과 융합된 것일 수 있다. 이러한 단편, 유도체 및 동족체는 본원의 교시로부터 당업자의 범위내에 있는 것으로 간주된다.

특히 흥미로운 것은 하전된 아미노산을, 또 다른 하전된 아미노산 및 중성 또는 음성으로 하전된 아미노산으로 치환하는 것이다. 후자의 결과로, 양전하가 감소되어 TR7 단백질의 특징이 개선된 단백질이 생성된다. 집괴의 방지가 매우 바람직하다. 단백질의 집괴는 활성의 상실을 초래할 뿐 아니라, 약제학적 제형을 제조하는 경우에 또한 문제가 될 수 있는데, 그 이유는 이들이 면역원성일 수 있기 때문이다[참조 문헌: Pinckard et al., Clin. Exp. Immunol. 2:331-340 (1967); Robbins et al., Diabetes 36:838-845 (1987); Cleland et al., Crit. Rev. Theapeutic Drug Carrier Systems 10:307-377 (1993)].

또한, 아미노산의 교체는 세포 표면 수용체에 대한 결합의 선택도를 변화시킬 수 있다. 문헌[Ostade et al., Nature 361:266-268 (1993)]은 2개의 공지된 유형의 TNFR 수용체 중 하나에만 TNF-α의 선택적인 결합을 초래하는 특정 돌연변이를 기술한다. 따라서, 본 발명의 항체는 천연 돌연변이 또는 사람의 조작에 의한 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 함유하는 TR7 수용체에 결합할 수 있다.

지적된 바와 같이, 변화는 바람직하게는, 단백질의 폴딩 또는 활성에 현저한 영향을 미치지 않는 보존성 아미노산 치환과 같이 중요하지 않은 성질의 것이다(표 3 참조).

[표 3]

방향족	페닐알라닌 트립토판 타이로신
소수성	류신 이소류신 발린
극성	글루타민 아스파라긴
염기성	아르기닌 라이신 히스티딘

산성	아스파르트산 글루탐산
소형	알라닌 세린 트레오닌 메티오닌 글라이신

구체적 태양에서, 서열번호 3의 아미노산 서열 및/또는 본원에 기술된 임의의 폴리펩티드 단편(예: 세포외 도메인)에서의 치환, 부가 또는 결실의 수는 75, 70, 60, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 또는 30-20, 20-15, 20-10, 15-10, 10-1, 5-10, 1-5, 1-3 또는 1-2이다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는, TR7중에 하나 이상의 임의의 다음의 보존성 돌연변이를 함유하는, TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체(특히 TR7의 세포외 가용성 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 단편)에 결합한다: 서열번호 3에서, M1은 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; E2는 D로 대체됨; Q3은 N으로 대체됨; R4는 H, 또는 K로 대체됨; G5는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; Q6은 N으로 대체됨; N7은 Q로 대체됨; A8은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A10은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A11은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S12는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; G13은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A14는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R15는 H, 또는 K로 대체됨; K16은 H, 또는 R로 대체됨; R17은 H, 또는 K로 대체됨; H18은 K, 또는 R로 대체됨; G19는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G21은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R23은 H, 또는 K로 대체됨; E24는 D로 대체됨; A25는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R26은 H, 또는 K로 대체됨; G27은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A28은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R29는 H, 또는 K로 대체됨; G31은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R33은 H, 또는 K로 대체됨; V34는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; K36은 H, 또는 R로 대체됨; T37은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; L38은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V39는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; L40은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V41은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; V42는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; A43은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A44는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V45는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; L46은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L47은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L48은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V49는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; S50은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; A51은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E52는 D로 대체됨; S53은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; A54는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L55는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; I56은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; T57은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; Q58은 N으로 대체됨; Q59는 N으로 대체됨; D60은 E로 대체됨; L61은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A62는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; Q64는 N으로 대체됨; Q65는 N으로 대체됨; R66은 H, 또는 K로 대체됨; A67은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A68은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; Q70은 N으로 대체됨; Q71은 N으로 대체됨; K72는 H, 또는 R로 대체됨; R73은 H, 또는 K로 대체됨; S74는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; S75는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; S77은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; E78은 D로 대체됨; G79는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L80은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G84는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; H85는 K, 또는 R로 대체됨; H86은 K, 또는 R로 대체됨; I87은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S88은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; E89는 D로 대체됨; D90은 E로 대체됨; G91은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R92는 H, 또는 K로 대체됨; D93은 E로 대체됨; I95는 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S96은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; K98은 H, 또는 R로 대체됨; Y99는 F, 또는 W로 대체됨; G100은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; Q101은 N으로 대체됨; D102는 E로 대체됨; Y103은 F, 또는 W로 대체됨; S104는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; T105는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; H106은 K, 또는 R로 대체됨; W107은 F, 또는 Y로 대체됨; N108은 Q로 대체됨; D109는 E로 대체됨; L110은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L111은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; F112는 W, 또는 Y로 대체됨; L114는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R115는 H, 또는 K로 대체됨; T117은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; R118은 H, 또는 K로 대체됨; D120은 E로 대체됨; S121은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; G122는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E123은 D로 대체됨; V124는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; E125는 D로 대체됨; L126은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S127은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; T130은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; T131은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; T132는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; R133은 H, 또는 K로 대체됨; N134는 Q로 대체됨; T135는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; V136은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; Q138은 N으로 대체됨; E140은 D로 대체됨; E141은 D로 대체됨; G142는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; T143은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; F144는 W, 또는 Y로 대체됨; R145는 H, 또는 K로 대체됨; E146은 D로 대체됨; E147은 D로 대체됨; D148은 E로 대체됨; S149는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; E151은 D로 대체됨; M152는 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; R154는 H, 또는 K로 대체됨; K155는 H, 또는 R로 대체됨; R157은 H, 또는 K로 대체됨; T158은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; G159는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R162는 H, 또는 K로 대체됨; G163은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; M164는 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; V165는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; K166은 H, 또는 R로 대체됨; V167은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; G168은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; D169는 E로 대체됨; T171은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; W173은 F, 또는 Y로 대체됨; S174는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; D175는 E로 대체됨; I176은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E177은 D로 대체됨; V179는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; H180은 K, 또는 R로 대체됨; K181은 H, 또는 R로 대체됨; E182는 D로 대체됨; S183은 A, G, I, L, T, M, 또 는 V로 대체됨; G184는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; I185는 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; I186은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; I187은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G188은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V189는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; T190은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; V191은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; A192는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A193은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V194는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; V195는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; L196은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; I197은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V198은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; A199는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V200은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; F201은 W, 또는 Y로 대체됨; V202는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; K204는 H, 또는 R로 대체됨; S205는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; L206은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L207은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; W208은 F, 또는 Y로 대체됨; K209는 H, 또는 R로 대체됨; K210은 H, 또는 R로 대체됨; V211은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; L212는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; Y214는 F, 또는 W로 대체됨; L215는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; K216은 H, 또는 R로 대체됨; G217은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; I218은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S220은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; G221은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G222는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G223은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G224는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; D225는 E로 대체됨; E227은 D로 대체됨; R228은 H, 또는 K로 대체됨; V229는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; D230은 E로 대체됨; R231은 H, 또는 K로 대체됨; S232는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; S233은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; Q234는 N으로 대체됨; R235는 H, 또는 K로 대체됨; G237은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A238은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E239는 D로 대체됨; D240은 E로 대체됨; N241은 Q로 대체됨; V242는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; L243은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; N244는 Q로 대체됨; E245는 D로 대체됨; I246은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V247은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; S248은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; I249는 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L250은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; Q251은 N으로 대체됨; T253은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; Q254는 N으로 대체됨; V255는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; E257은 D로 대체됨; Q258은 N으로 대체됨; E259는 D로 대체됨; M260은 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; E261은 D로 대체됨; V262는 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; Q263은 N으로 대체됨; E264는 D로 대체됨; A266은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E267은 D로 대체됨; T269는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; G270은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V271은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; N272는 Q로 대체됨; M273은 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; L274는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S275는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; G277은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E278은 D로 대체됨; S279는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; E280은 D 로 대체됨; H281은 K, 또는 R로 대체됨; L282는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L283은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E284는 D로 대체됨; A286은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E287은 D로 대체됨; A288은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E289는 D로 대체됨; R290은 H, 또는 K로 대체됨; S291은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; Q292는 N으로 대체됨; R293은 H, 또는 K로 대체됨; R294는 H, 또는 K로 대체됨; R295는 H, 또는 K로 대체됨; L296은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L297은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V298은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; A300은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; N301은 Q로 대체됨; E302는 D로 대체됨; G303은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; D304는 E로 대체됨; T306은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; E307은 D로 대체됨; T308은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; L309는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R310은 H, 또는 K로 대체됨; Q311은 N으로 대체됨; F313은 W, 또는 Y로 대체됨; D314는 E로 대체됨; D315는 E로 대체됨; F316은 W, 또는 Y로 대체됨; A317은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; D318은 E로 대체됨; L319는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; V320은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; F322는 W, 또는 Y로 대체됨; D323은 E로 대체됨; S324는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; W325는 F, 또는 Y로 대체됨; E326은 D로 대체됨; L328은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; M329는 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; R330은 H, 또는 K로 대체됨; K331은 H, 또는 R로 대체됨; L332는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G333은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L334는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; M335는 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; D336은 E로 대체됨; N337은 Q로 대체됨; E338은 D로 대체됨; I339는 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; K340은 H, 또는 R로 대체됨; V341은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; A342는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; K343은 H, 또는 R로 대체됨; A344는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E345는 D로 대체됨; A346은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A347은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G348은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; H349는 K, 또는 R로 대체됨; R350은 H, 또는 K로 대체됨; D351은 E로 대체됨; T352는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; L353은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; Y354는 F, 또는 W로 대체됨; T355는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; M356은 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; L357은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; I358은 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; K359는 H, 또는 R로 대체됨; W360은 F, 또는 Y로 대체됨; V361은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; N362는 Q로 대체됨; K363은 H, 또는 R로 대체됨; T364는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; G365는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; R366은 H, 또는 K로 대체됨; D367은 E로 대체됨; A368은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S369는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; V370은 A, G, I, L, S, T, 또는 M으로 대체됨; H371은 K, 또는 R로 대체됨; T372는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; L373은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L374는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; D375는 E로 대체됨; A376은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L377은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E378은 D로 대체됨; T379는 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; L380은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G381은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E382는 D로 대체됨; R383은 H, 또는 K로 대체됨; L384는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; A385는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; K386은 H, 또는 R로 대체됨; Q387은 N으로 대체됨; K388은 H, 또는 R로 대체됨; I389는 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E390은 D로 대체됨; D391은 E로 대체됨; H392는 K, 또는 R로 대체됨; L393은 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; L394는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; S395는 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; S396은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; G397은 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; K398은 H, 또는 R로 대체됨; F399는 W, 또는 Y로 대체됨; M400은 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; Y401은 F, 또는 W로 대체됨; L402는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; E403은 D로 대체됨; G404는 A, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; N405는 Q로 대체됨; A406은 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; D407은 E로 대체됨; S408은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨; A409는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; M410은 A, G, I, L, S, T, 또는 V로 대체됨; 및/또는 S411은 A, G, I, L, T, M, 또는 V로 대체됨.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는, TR7중에 하나 이상의 임의의 다음의 비-보존성 돌연변이를 함유하는, TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체(특히 TR7의 세포외 가용성 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 단편)에 결합한다: 서열번호 3에서, M1은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E2는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q3은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R4는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G5는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q6은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N7은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A8은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P9는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; A10은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A11은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S12는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G13은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A14는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R15는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K16은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R17은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H18은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G19는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P20은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; G21은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P22는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; R23은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E24는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A25는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R26은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G27은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A28은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R29는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P30은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; G31은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P32는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; R33은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V34는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P35는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; K36은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T37은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L38은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V39는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L40은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V41은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V42는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A43은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A44는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V45는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L46은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L47은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L48은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V49는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S50은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A51은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C 로 대체됨; E52는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S53은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A54는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L55는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I56은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T57은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q58은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q59는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D60은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L61은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A62는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P63은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; Q64는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q65는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R66은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A67은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A68은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P69는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; Q70은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q71은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K72는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R73은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S74는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S75 는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P76은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; S77은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E78은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G79는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L80은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C81은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; P82는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; P83은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; G84는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H85는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H86은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I87은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S88은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E89는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D90은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G91은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R92는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D93은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C94는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; I95는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S96은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C97은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; K98은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Y99는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; G100은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q101은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D102는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Y103은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; S104는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T105는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H106은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; W107은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; N108은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D109는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L110은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L111은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; F112는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; C113은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; L114는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R115는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C116은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; T117은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R118은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C119는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; D120은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S121은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G122는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E123은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V124는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E125는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L126은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S127은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P128은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; C129는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; T130은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T131은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T132는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R133은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N134는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T135는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V136은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C137은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; Q138은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C139는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; E140은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E141은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G142는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T143은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; F144는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; R145는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E146은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E147은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D148은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S149는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P150은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; E151은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M152는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C153은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; R154는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K155는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C156은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; R157은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T158은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G159는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C160은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; P161은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; R162는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G163은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M164는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V165는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K166은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V167은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G168은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D169는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C170은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; T171은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P172는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; W173은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; S174는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D175는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I176은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E177은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C178은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; V179는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H180은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K181은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E182는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S183은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G184는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I185는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I186은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I187은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G188은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V189는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T190은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V191은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A192는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A193은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V194는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V195는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L196은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I197은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V198은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A199는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V200은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; F201은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; V202는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C203은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; K204는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S205는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L206은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L207은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; W208은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; K209는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K210은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V211은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L212는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P213은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; Y214는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체 됨; L215는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K216은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G217은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I218은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C219는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; S220은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G221은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G222는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G223은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G224는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D225는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P226은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; E227은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R228은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V229는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D230은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R231은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S232는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S233은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q234는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R235는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P236은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; G237은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A238은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E239는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D240은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N241은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V242는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L243은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N244는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E245는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I246은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V247은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S248은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I249는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L250은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q251은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P252는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; T253은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q254는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V255는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P256은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; E257은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q258은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E259는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M260은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E261은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V262는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q263은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E264는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P265는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; A266은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E267은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P268은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; T269는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G270은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V271은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N272는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M273은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L274는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S275는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P276은 D, E, H, K, R, A, G, I, L

, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; G277은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E278은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S279는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E280은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H281은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L282는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L283은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E284는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대 체됨; P285는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; A286은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E287은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A288은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E289는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R290은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S291은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q292는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R293은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R294는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R295는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L296은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L297은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V298은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P299는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; A300은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N301은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E302는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G303은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D304는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P305는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; T306은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E307은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T308은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L309는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R310은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q311은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; C312는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 P로 대체됨; F313은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; D314는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D315는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; F316은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; A317은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D318은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L319는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V320은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P321은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; F322는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; D323은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S324는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; W325는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; E326은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; P327은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, 또는 C로 대체됨; L328은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M329는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R330은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K331은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L332는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G333은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L334는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M335는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D336은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N337은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E338은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I339는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K340은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V341은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A342는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K343은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A344는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E345는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A346은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A347은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G348은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H349는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R350은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D351은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T352는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L353은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Y354는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; T355는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M356은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L357은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I358은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K359는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; W360은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; V361은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N362는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K363은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T364는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G365는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R366은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D367은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A368은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S369는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; V370은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H371은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T372는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L373은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L374는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D375는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A376은 D, E, H, K, R, N, Q, F

, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L377은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E378은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; T379는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L380은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G381은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E382는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; R383은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L384는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A385는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K386은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Q387은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K388은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; I389는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E390은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D391은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; H392는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L393은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; L394는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S395는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S396은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G397은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; K398은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; F399는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; M400은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; Y401은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, 또는 C로 대체됨; L402는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; E403은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; G404는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; N405는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A406은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; D407은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; S408은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; A409는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; M410은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨; 및/또는 S411은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, 또는 C로 대체됨.

기능에 필수적인 본 발명의 TR7 단백질에서 아미노산은, 부위 지시된 돌연변이유발 또는 알라닌-스캐닝 돌연변이유발과 같은 당업계에 공지된 방법에 의해 동정될 수 있다[참조 문헌: Cunningham and Wells, Science 244:1081-1085(1989)]. 후자 방법은 분자내 모든 잔기에 단일 알라닌 돌연변이를 도입하는 것이다. 이후, 생성된 돌연변이 분자를 수용체 결합과 같은 생물학적 활성 또는 시험관내 또는 생체내 증식 활성에 대해 시험한다. 또한, 리간드-수용체 결합을 위해 중요한 부위는 결정화, 핵 자기 공명 또는 광친화성 표지화와 같은 구조 분석에 의해 결정될 수 있다[참조 문헌: Smith et al., J. Mol. Biol. 224:899-904(1992) and de Vos et al. Science 255:306-312(1992)]. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 기능에 필수적인 TR7의 영역에 결합한다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 기능에 필수적인 TR7의 영역에 결합하여 TR7 기능을 억제하거나 제거한다. 또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 기능에 필수적인 TR7 영역 에 결합하여 TR7 기능을 증진시킨다.

추가로, 단백질 공학을 사용하여 TR7 폴리펩티드의 특징을 개선하거나 변경할 수 있다. 당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여, 단일 또는 다중 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 신규한 돌연변이 단백질 또는 폴리펩티드를 제조할 수 있다. 이러한 변형된 폴리펩티드는, 예를 들면, 증진된 활성 또는 증가된 안정성을 나타낼 수 있다. 추가로, 이들은 적어도 특정 정제 조건 및 저장 조건하에서 상응하는 천연 폴리펩티드보다 고수율로 정제될 수 있고 보다 우수한 용해도를 나타낼 수 있다. 본 발명의 항체는 이러한 변형된 TR7 폴리펩티드에 결합할 수 있다.

본 발명의 항체에 의해 결합될 수 있는 비-천연 TR7 변이체는 당업계에 공지된 돌연변이유발 기술로 작제할 수 있으며, 이러한 공지된 기술에는 올리고뉴클레오티드-매개된 돌연변이유발, 알라닌 스캐닝, PCR 돌연변이유발, 부위-지시된 돌연변이유발[참조 문헌: Carter et al., Nucl. Acids Res 13:4331 (1986); 및 Zoller et al., Nucl. Acids Res. 10:6487 (1982)], 카세트 돌연변이유발[참조 문헌: Wells et al., Gene 34: 315 (1985)], 제한 선별 돌연변이유발[참조 문헌: Well et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA 317: 415 (1986)]이 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다.

따라서, 본 발명은 또한 선택된 숙주에서의 발현, 축적 등에 보다 적합한 TR7 폴리펩티드가 생성될 수 있도록 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실, 부가 또는 치환된 TR7 유도체 및 동족체에 결합하는 항체를 포괄한다. 예를 들면, 디설피드 브릿지가 제거되도록 시스테인 잔기가 결실되거나 또 다른 아미노산 잔기로 치환될 수 있으며; N-연결된 글리코실화 부위가 변형되거나 제거됨으로써, 예를 들면, 과글리코실화 N-연결된 부위로 공지된 효모 숙주로부터 보다 용이하게 회수되어 정제된 균일한 생성물이 발현될 수 있다. 이러한 목적을 위해, TR7 폴리펩티드중의 하나 이상의 임의의 글리코실화 인식 서열상의 제1 또는 제3 아미노산 위치중 하나 또는 둘 모두에서 다양한 아미노산 치환, 및/또는 하나 이상의 임의의 상기 인식 서열의 제2 위치의 아미노산의 결실은, 변형된 트리펩티드 서열에서의 TR7의 글리코실화를 방지할 것이다[참조 문헌: Miyajimo et al., EMBO J 5(6): 1193-97]. 또한, TR7 폴리펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기(예: 아르기닌 및 리신 잔기)가 결실되거나 또 다른 잔기로 치환됨으로써, 예를 들면 퓨린(furin) 또는 켁신(kexin)과 같은 프로테아제에 의한 목적하지 않은 프로세싱이 제거될 수 있다.

또한, 본 발명의 항체는 다음의 폴리펩티드에 결합하는 항체를 포함하고, 이러한 폴리펩티드의 30개 이상 아미노산 및 보다 바람직하게는 50개 이상의 아미노산을 가진 부분을 포함한다: 리더를 포함한 기탁된 cDNA(ATCC 수탁번호

제97920호의 기탁물)에 의해 암호화된 폴리펩티드를 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 리더가 결여된 기탁된 cDNA에 의해 암호화된 성숙한 폴리펩티드(즉, 성숙한 단백질); 서열번호 3의 약 1 내지 약 411의 아미노산을 포함하거나, 이로 이루어진 폴리펩티드; 서열번호 3의 약 2 내지 약 411의 아미노산을 포함하거나, 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 세포외 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 시스테인 풍부 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 막관통 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 세포내 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 막관통 도메인의 전부 또는 일부가 결여된 세포외 및 세포내 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR7 사멸 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드: 및 상기한 폴리펩티드와 80% 이상 동일한, 보다 바람직하게는 90% 이상 또는 95% 동일한, 더욱 보다 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩티드.

예를 들면, TR7 폴리펩티드의 참조 아미노산 서열과 95% 이상 '동일한' 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드는, 당해 폴리펩티드 서열이 TR7 폴리펩티드의 참조 아미노산의 각 100개의 아미노산당 5개 이하의 아미노산이 변경된 것을 제외하고는 폴리펩티드의 아미노산 서열이 참조 서열과 동일함을 의미한다. 환언하면, 참조 아미노산 서열과 95% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 수득하기 위해서는, 참조 서열중에 5% 이하의 아미노산 잔기가 결실되거나 또 다른 아미노산으로 치환될 수 있거나, 참조 서열중의 총 아미노산 잔기중 5% 이하의 다수의 아미노산이 참조 서열로 삽입될 수 있다. 참조 서열의 이러한 변형은 참조 아미노산 서열의 아미노 또는 카복시 말단 위치에서, 또는 이들 말단 위치 사이의 어느 위치에서도 일어날 수 있으며, 참조 서열의 잔기 중에 개별적으로 산재되거나 참조 서열내에 하나 이상의 연속 그룹으로 배치된다.

실제적인 과제로서, 임의의 특정 폴리펩티드가, 예를 들어, 도 1A 내지 B(서열번호 3)에 제시된 아미노산 서열, 기탁된 cDNA 클론 또는 이의 단편에 의해 암호화된 아미노산 서열과 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한지의 여부는 베스트피트 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)과 같은 공지된 컴퓨터 프로그램을 사용하여 통상적으로 결정될 수 있다. 특정 서열이, 예를 들어, 본 발명에 따른 참조 서열과 95% 동일한지의 여부를 결정하기 위해 베스트피트 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 사용하는 경우, 동일성 %가 참조 아미노산 서열의 전체 길이에 대해 계산되고 참조 서열의 총 아미노산 잔기의 전체 수의 5% 이하의 상동성 차이가 허용되도록 파라미터가 설정된다.

구체적 태양에서, 전체적 서열 정렬(global sequence alignment)로서도 언급되는, 참조(조회) 서열(본 발명의 서열)과 대상 서열 사이의 동일성은, 문헌[참조: Brutlag et al. Comp. App. Biosci. 6:237-245(1990)]의 알고리듬을 기초로 하는 FASTDB 컴퓨터 프로그램을 사용하여 결정한다. FASTDB 아미노산 정렬에 사용되는 바람직한 파라미터는 다음과 같다: 매트릭스 = PAM 0, k-터플(tuple) = 2, 불일치 페널티 = 1, 연결 페널티 = 20, 무작위 그룹 길이 = 0, 컷오프 스코어 = 1, 윈도우 크기 = 서열 길이, 갭 페널티 = 5, 갭 사이즈 페널티 = 0.05, 윈도우 크기 = 500 또는 더 짧다 하더라도 대상 아미노산 서열의 길이. 당해 태양에 따르면, 대상 서열이 내부 결실 때문이 아니라 N- 또는 C-말단 결실로 인해 조회 서열 보다 짧은 경우, FASTDB 프로그램은 전체적 동일성 %를 계산할 때 대상 서열의 N- 및 C-말단 절두를 고려하지 않는다는 사실을 염두에 두고 수동으로 교정하여 결과를 산출한다. 조회 서열과 상대적으로 N- 및 C-말단에서 절두된 대상 서열에 대해, 동일성 %는 조회 서열 총 염기의 %로서 상응하는 대상 잔기와 일치/정렬되지 않는 대상 서열의 N- 및 C-말단인 조회 서열의 잔기의 수를 계산하여 교정한다. 잔기가 일치하는지/정렬되는지의 결정은 FASTDB 서열 정렬에 대한 결과로써 결정한다. 이어서, 당해 %를 특정 파라미터를 사용하는 상기 FASTDB 프로그램에 의해 계산된 동일성 %로부터 공제하여, 최종 동일성 % 스코어에 도달한다. 이러한 최종 동일성 % 스코어는 상기 태양을 목적으로 사용되는 것이다. 수동적으로 동일성 % 스코어를 조정할 목적으로, 조회 서열과 일치/정렬되지 않는, 대상 서열의 N- 및 C-말단에 대한 잔기만을 고려한다. 즉, 조회 잔기만이 대상 서열의 가장 멀리 있는 N-말단 및 C-말단 잔기를 벗어나 위치해 있다. 예를 들면, 90개의 아미노산 잔기 대상 서열을 100개의 잔기 조회 서열과 정렬시켜 동일성 %를 결정한다. 대상 서열의 N 말단이 결실됨에 따라서, FASTDB 정렬은 N-말단에서 처음 10개의 잔기와 일치/정렬되지 않음을 보여준다. 10개의 쌍을 이루지 않은 잔기가 서열의 10%(일치되지 않는 N- 및 C-말단 잔기 수/조회 서열내 총 잔기 수)를 차지하므로, 10%를 FASTDB 프로그램에 의해 계산된 동일성 % 스코어로부터 공제한다. 잔여 90개의 잔기가 완전히 일치하는 경우 최종 동일성 %는 90%가 될 것이다. 또 다른 예에서, 90개의 잔기 대상 서열을 100개의 잔기 조회 서열과 비교한다. 이 때의 결실은 내부 결실이므로, 대상 서열의 N- 또는 C-말단에 있는 잔기 모두가 조회 잔기와 일치/정렬된다. 이 경우에서, FASTDB에 의해 계산된 동일성 %가 수동적으로 교정되지 않는다. FASTDB 정렬에서 나타나는 바와 같이, 조회 서열과 일치/정렬되지 않는 대상 서열의 N- 및 C-말단을 벗어난 위치의 잔기만이 재차 수동적으로 교정된다. 상기 태양의 목적을 위해 어떠한 다른 수동적 교정을 하지 않는다.

본 발명의 폴리펩티드는, 당업자에게 익히 공지된 방법을 사용하여서, SDS-PAGE 겔 또는 분자 체 겔 여과 칼럼상에 분자량 표지 및 TR7 폴리펩티드에 결합하는 항체를 생성시키는 원천으로서 사용될 수 있다.

또한, 본 출원은 n^5-m^5 및/또는 n^6-m^6 으로서 본원에 제시된 TR7 폴리펩티드 서열과 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한 폴리펩티드를 함유하는 단백질에 결합하는 항체에 관한 것이다. 바람직한 태양에서, 본 출원은 본원에서 언급된 특정 TR7 N- 및 C-말단 결실의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티

드와 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한 폴리펩티드를 함유하는 단백질에 결합하는 항체에 관한 것이다.

특정 바람직한 태양에서, 본 발명의 TR7 단백질에 결합하는 본 발명의 항체는 상기한 바와 같은 융합 단백질을 포함하고, 이때 TR7 폴리펩티드는 본원에서 n^5-m^5 및/또는 n^6-m^6 로서 기술된 것이다.

TR4 폴리펩티드

본 발명의 특정 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4 폴리펩티드, 이의 단편 또는 변이체에 결합한다. 하기 섹션은 본 발명의 항체에 의해 결합될 수 있는 TR4 폴리펩티드, 단편 및 변이체를 보다 상세히 기술한다. 또한 본 발명의 항체에 의해 결합될 수 있는 TR4 폴리펩티드, 단편 및 변이체는, 예를 들면, 참조로 전문이 인용된 국제공보 제WO98/32856호 및 제WO00/67793호에 기술되어 있다.

특정 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합한다. TR4에 면역특이적으로 결합하는 항체는, 일부 태양에서, TR4의 단편, 변이체(TR4의 종 오토로그를 포함), 다량체 또는 변형된 형태에 결합한다. 예를 들면, TR4에 면역특이적인 항체는 TR4의 전부 또는 일부를 포함하는 융합 단백질의 TR4 잔기에 결합할 수 있다.

TR4 단백질은 단량체 또는 다량체(즉, 이량체, 삼량체, 사량체 및 보다 고도의 다량체)로서 발견될 수 있다. 따라서, 본 발명은 단량체로서 또는 다량체의 일부로서 발견된 TR4 단백질에 결합하는 항체에 관한 것이다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4 단량체, 이량체, 삼량체 또는 사량체에 결합한다. 부가적 태양에서, 본 발명의 항체는 하나 이상의 TR4 폴리펩티드를 함유한 이량체 이상, 삼량체 이상, 또는 사량체 이상에 결합한다.

본 발명의 항체는 TR4 동종체 또는 이종체에 결합할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 동종체는 본 발명의 TR4 단백질(본원에서 기술된 TR4 단편, 변이체 및 융합 단백질 포함)만을 함유하는 다량체를 의미한다. 이들 동종체는 동일하거나 상이한 폴리펩티드 서열을 가진 TR4 단백질을 함유할 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 동종체는 동일한 폴리펩티드 서열을 가진 TR4 단백질만을 함유하는 다량체이다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 상이한 폴리펩티드 서열을 가진 TR4 단백질을 함유하는 TR4 동종체에 결합한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4 동종이량체(예를 들면, 동일하거나 상이한 폴리펩티드 서열 을 가진 TR4 단백질 함유) 또는 동종삼량체(예를 들면, 동일하거나 상이한 폴리펩티드 서열을 가진 TR4 단백질 함유)에 결합한다. 부가적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4의 적어도 동종이량체, 적어도 동종삼량체, 또는 적어도 동종사량체에 결합한다.

본원에 사용된 바와 같이, 용어 이종체는 본 발명의 TR4 단백질에 부가하여 이종성 단백질(즉, TR4 유전자에 의해 암호화된 폴리펩티드 서열에 상응하지 않는 폴리펩티드 서열을 함유하는 단백질)을 함유하는 다량체를 의미한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 이종이량체, 이종삼량체 또는 이종사량체에 결합한다. 부가적 태양에서, 본 발명의 항체는 하나 이상의 TR4 폴리펩티드를 함유하는 적어도 동종이량체, 적어도 동종삼량체, 또는 적어도 동종사량체에 결합한다.

본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 다량체는 소수성, 친수성, 이온 및/또는 공유 결합의 산물이고/이거나, 간접적으로 예를 들면 리포좀 형성에 의해 연결될 수 있다. 따라서, 일 태양에서, TR4 단백질이 용액중에서 서로 접촉하는 경우, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 다량체, 예를 들면 동종이량체 또는 동종삼량체가 형성된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 단백질이 용액중에서 TR4 폴리펩티드에 대한 항체(융합 단백질중의 이종성 폴리펩티드 서열에 대한 항체 포함)와 접촉하는 경우, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 이종다량체, 예를 들어 이종삼량체 또는 이종사량체가 형성된다. 다른 태양에서, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합된 다량체는 본 발명의 TR4 단백질과 및/또는 사이의 공유 결합에 의해 형성된다. 이러한 공유 결합은 단백질의 폴리펩티드 서열(예를 들면, 서열번호 1에 제시된 폴리펩티드 서열 또는 ATCC 기탁 97853의 기탁된 cDNA 클론에 의해 암호화된 폴리펩티드)중에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기와 관련이 있을 수 있다. 일례에서, 공유 결합은 고유(즉, 천연의) 폴리펩티드에서 상호작용하는 단백질의 폴리펩티드 서열내에 위치하는 시스테인 잔기 사이의 가교이다. 또 다른 일례에서, 공유 결합은 화학적 또는 재조합 조작의 결과이다. 달리, 이러한 공유 결합은 TR4 융합 단백질의 이종성 폴리펩티드 서열중에 함유된 하나 이상의 아미노산 잔기와 관련이 있을 수 있다. 일례에서, 공유 결합은 융합 단백질중에 함유된 이종성 서열 사이에서 형성된다[참조: 미국 특허 제5,478,925호]. 구체적 예로서, 공유 결합은 TR4-Fc 융합 단백질(본원에 기술됨)중에 함유된 이종성 서열 사이에서 형성된다. 또 다른 구체적 예에서, 융합 단백질의 공유 결합은, 공유 결합된 다량체, 예를 들어 오스테오프로테제린을 형성할 수 있는 또 다른 TNF 패밀리 리간드/수용체 구성원으로부터의 이종성 폴리펩티드 서열 사이에서 형성된다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 국제 공보 WO 98/49305].

본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체는 당업계에 공지된 화학 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 다량체중에 함유되는 것을 목적하는 단백질은 당업계에 공지된 링커 분자 및 링커 분자 길이 최적화 기술을 사용하여 화학적으로 가교될 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호]. 추가로, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체를 당업계에서 공지된 기술을 사용하여 제조하

여, 다량체중에 함유되는 것을 목적하는 단백질의 폴리펩티드 서열 내에 위치하는 시스테인 잔 기 사이의 하나 이상의 분자간 가교를 형성시킬 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호]. 추가로, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 단백질은 통상적으로 단백질의 폴리펩티드 서열의 C-말단 또는 N-말단에 시스테인 또는 비오틴을 부가하여 변형시킬 수 있으며, 당업계에 공지된 기술을 하나 이상의 이들 변형된 단백질을 함유하는 다량체를 제조하는데 적용할 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호]. 부가적으로, 당업계에 공지된 기술은 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체중에 함유되는 것을 목적하는 단백질 성분을 함유하는 리포좀을 제조하는데 적용될 수 있다[참조: 본원에 이의 전문이 참조로 인용된 미국 특허 제5,478,925호].

달리, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체는 당업계에 공지된 유전 공학기술을 사용하여 제조할 수 있다. 일 태양에서, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 다량체중에 함유된 단백질은 본원에 기술되어 있거나 당업계에 공지된 융합 단백질 기술을 사용하여 재조합적으로 제조된다[참조 문헌: 미국 특허 제5,478,925호, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다]. 구체적 태양에서, 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합될 수 있는 동종이량체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는, TR4 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 링커 폴리펩티드를 암호화하는 서열에 연결시킨 후, 본래의 C 말단에서 N 말단으로의 역 배향으로 해독된 폴리펩티드 생성물(리더 서열이 결여됨)을 암호화하는 합성 폴리뉴클레오티드에 추가로 연결시킴으로써 생성된다[참조 문헌: 미국 특허 제 5,478,925호, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다]. 또 다른 태양에서, 본원에 기술되어 있거나 기타 당업계에 공지된 재조합 기술은 막관통 도메인을 함유하며 막 재구성 기술에 의해 리포좀내로 혼입될 수 있는 재조합 TR4 폴리펩티드를 제조하는데 적용된다[참조 문헌: 미국 특허 제5,478,925호, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다]. 또 다른 태양에서, 2개 이상의 TR4 폴리펩티드는 합성 링커(예: 펩티드, 탄수화물 또는 가용성 중합체 링커)를 통하여 연결된다. 링커의 예는 문헌[참조: 미국 특허 제5,073,627호, 이는 본원에 참고로 인용된다]에 기술되어 있는 상기 펩티드 링커를 포함한다. 펩티드 링커에 의해 분리된 다량체 TR4 폴리펩티드를 포함하는 단백질은 통상의 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 펩티드 링커에 의해 분리된 다량체 TR4 폴리펩티드를 포함하는 단백질에 결합한다.

다량체 TR4 폴리펩티드를 제조하는 또 다른 방법은 류신 지퍼 또는 이소류신 폴리펩티드 서열에 융합된 TR4 폴리펩티드의 사용을 포함한다. 류신 지퍼 도메인 및 이소류신 지퍼 도메인은 이들 도메인이 발견되는 단백질의 다량체형성을 촉진하는 폴리펩티드이다. 류신 지퍼는 수개의 DNA-결합 단백질에서 최초로 동정되었으며[참조 문헌: Landschylz et al., Science 240: 1759, (1998)], 이 후 각종 상이한 단백질에서 발견되었다. 공지된 류신 지퍼는 천연 펩티드 및 이량체화 또는 삼량체화된 이의 유도체이다. 가용성 다량체 TR4 단백질을 생성하는데 적합한 류신 지퍼 도메인의 예로는 문헌[참조 : PCT 출원 WO 94/10308, 이는 본원에 참고로 인용된다]에 기재되어 있는 류신 지퍼 도메인이 있다. 용액중에서 이량체화 또는 삼 량체화된 펩티드에 융합된 가용성 TR4 폴리펩티드를 포함하는 재조합 융합 단백질은 적당한 숙주 세포내에서 발현되고, 수득한 가용성 다량체 TR4는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 배양물 상층액으로부터 회수된다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4-류신 지퍼 융합 단백질 단량체 및/또는 TR4-류신 지퍼 융합 단백질 다량체에 결합한다.

단백질의 TNF 패밀리의 특정 구성원은 삼량체 형태로 존재하는 것으로 여겨진다[참조 문헌: Beutler 및 Huffel, Science 264:667, 1994: Banner et al., Cell 73:431, 1993)]. 따라서, 삼량체 TR4는 생물학적 활성을 증가시키는 잇점을 제공할 수 있다. 바람직한 류신 지퍼 잔기는 우선적으로 삼량체를 형성하는 잔기이다. 일례는 문헌[참조: Hoppe et al., FEBS Letters 344:199, (1994) 및 미국 특허원 제08/446,922호, 이는 본원에 참고로 인용된다]에 기술되어 있는 바와 같은 폐 계면활성 단백질 D(SPD)로부터 유래된 류신 지퍼이다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4-류신 지퍼 융합 단백질 삼량체에 결합한다.

천연의 삼량체 단백질로부터 유래된 다른 펩티드는 삼량체 TR4를 제조하는데 사용될 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4-융합 단백질 단량체 및/또는 TR4 융합 단백질 삼량체에 결합한다.

TR4 수용체 폴리펩티드에 결합하는 항체는 분리된 폴리펩티드로서 또는 천연 상태로서 이들에 결합할 수 있다. '분리된 폴리펩티드'란 이의 천연 환경으로부터 제거된 폴리펩티드를 의미한다. 따라서, 재조합 숙주 세포내에서 제조되고/되거나 함유된 폴리펩티드는 본 발명의 목적상 분리된 것으로 여겨진다. 또한, '분리된 폴리펩티드'는 재조합 숙주 세포로부터 부분적으로 또는 실질적으로 정제되어진 폴리펩티드를 의미한다. 예를 들면, 재조합적으로 제조된 TR4 폴리펩티드 형은 문헌[참고: Smith 및 Johnson, Gene 67:31-40 (1988)]에 기술된 1-단계 방법에 의해 실질적으로 정제된다. 따라서, 본 발명의 항체는 재조합적으로 생성된 TR4 수용체 폴리펩티드에 결합할 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는, 유전자 발현을 제어하는 조절 서열에 작동가능하게 결합된 서열번호 1의 아미노산 1 내지 468을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포의 표면상에 발현된 TR4 수용체에 결합한다.

본 발명의 항체는 ATCC 수탁번호 97853중에 함유된 cDNA에 의해 암호화되거나, 또는 ATCC 수탁번호 97853중에 함유된 뉴클레오티드 서열에 하이브리드화(예를 들면, 엄격한 하이브리드화 조건하에서)하는 핵산, 또는 이에 대한 상보적 쇄에 암호화되는 서열번호 1중에 함유된 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 TR4 폴리펩티드 단편에 결합할 수 있다. 단백질 단편은 '독립적(free-standing)'이거나, 또는 상기 단편이 부분 또는 영역을 형성하고,

가장 바람직하게는 단일 연속 영역으로서 존재하는 보다 큰 폴리펩티드내에 포함될 수 있다. 본 발명의 항체는, 예를 들면, 대략 아래의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 단편을 포함하는 폴리펩티드 단편에 결합할 수 있다: 서열번호 1의 1 내지 23, 24 내지 43, 44 내지 63, 64 내지 83, 84 내지 103, 104 내지 123, 124 내지 143, 144 내지 163, 164 내지 183, 184 내지 203, 204 내지 223, 224 내지 238, 239 내지 264, 265 내지 284, 285 내지 304, 305 내지 324, 325 내지 345, 346 내 지 366, 367 내지 387, 388 내지 418, 419 내지 439, 및/또는 440 내지 468. 이와 관련하여, '약'은 특히 언급된 값 보다 한 쪽 말단 또는 양쪽 말단에서 수 개(5, 4, 3, 2 또는 1개)의 아미노산 만큼 크거나 작은 값을 포함한다. 또한, 본 발명의 항체에 의해 결합된 폴리펩티드 단편은 아미노산 길이가 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 175 또는 200일 수 있다. 이와 관련하여, '약'은 특히 언급된 값 보다 한 쪽 말단 또는 양쪽 말단에서 수 개(5, 4, 3, 2 또는 1개)의 아미노산 만큼 크거나 작은 값을 포함한다.

바람직하게, 본 발명의 항체는 다음 그룹으로부터 선택된 폴리펩티드 단편에 결합한다: TR4 수용체 세포외 도메인(서열번호 1의 약 24 내지 약 238의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 2개의 TR4 시스테인 풍부 도메인(서열번호 1의 약 131 내지 약 229의 아미노산 잔기로 이루어진 단백질 단편에서 발견될 수 있는 2개의 도메인)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 서열번호 1의 약 131 내지 약 183의 아미노산 잔기로 이루어진 TR4 시스테인 풍부 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 서열번호 1의 약 184 내지 약 229의 아미노산 잔기로 이루어진 TR4 시스테인 풍부 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 수용체 막관통 도메인(서열번호 1의 약 239 내지 약 264의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 기능 활성(예: 항원성 활성 또는 생물학적 활성)을 갖는 예상된 성숙한 TR4 폴리펩티드의 단편을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 수용체 세포내 도메인(서열번호 1의 약 265 내지 약 468의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 막관통 도메인의 전부 또는 일부가 결실된 TR4 수용체 세포외 및 세포내 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 수용체 사멸 도메인(서열번호 1의 약 379 내지 약 422의 아미노산 잔기를 구성하는 것으로 예상됨)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 1, 2, 3, 4 또는 그 이상의 TR4 수용체 단백질 부분의 에피토프 보유 부분을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드. 부가적 태양에서, 본 발명의 폴리펩티드 단편은 상기 구성원의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8 전부의 배합을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. TR4 수용체 세포외, 막관통 및 세포내 도메인을 구성하는 아미노산 잔기는 컴퓨터 분석에 의해 예견되어졌다. 따라서, 당업자가 생각하는 바와 같이, 이들 도메인을 구성하는 아미노산 잔기는, 각 도메인을 정의하는데 사용되는 기준에 따라, 조금(예를 들면, 약 1 내지 약 15개 아미노산 잔기 만큼) 다를 수 있다. 이들 핵산 분자에 의해 암호화하는 폴리뉴클레오티드도 또한 본 발명에 포괄된다.

TR4의 세포외 시스테인 풍부 모티프의 하나 또는 둘 모두가 TR4와 이의 리간드(예: TRAIL) 사이의 상호작용에서 중요하다고 여겨진다. 따라서, 보다 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 서열번호 1의 아미노산 잔기 131 내지 183, 및/또는 184 내지 229를 포함하거나 또는 이로 이루어진 TR4 폴리펩티드 단편에 결합한다. 또 다른 매우 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 2개의 세포외 시스테인 풍부 모티프(서열번호 1의 아미노산 잔기 131 내지 229)를 포함하거나 이로 이루어진 TR4 폴리펩티드에 결합한다. 또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4의 세포외 가용성 도메인(서열번호 1의 아미노산 잔기 24 내지 238)을 포함하거나 이로 이루어진 TR4 폴리펩티드에 결합한다. 매우 바람직한 태양에서, TR4의 세포되 가용성 도메인(예: 하나 또는 둘 모두의 시스테인 풍부 도메인)의 전부 또는 일부에 결합하는 본 발명의 항체는 TRAIL 리간드가 TR4에 결합하는 것을 방해한다. 다른 매우 바람직한 태양에서, TR4의 세포외 가용성 도메인(예: 하나 또는 둘 모두의 시스테인 풍부 도메인)의 전부 또는 일부에 결합하는 본 발명의 항체는 TR4 수용체를 효능화시킨다. 다른 매우 바람직한 태양에서, TR4의 세포외 가용성 도메인(예: 하나 또는 둘 모두의 시스테인 풍부 도메인)의 전부 또는 일부에 결합하는 본 발명의 항체는 TR4 수용체를 발현하는 세포의 세포 사멸을 유도한다.

본 발명의 항체는 또한 TR4의 구조적 또는 기능적 특질물을 포함하거나 또는 이로 이루어진 단편에 결합할 수 있다. 이러한 단편은 완전한(즉, 전장) TR4의 알파-나선 및 알파-나선 형성 영역('알파-영역'), 베타-시트 및 베타-시트 형성 영역('베타-영역'), 턴(turn) 및 턴-형성 영역('턴-영역'), 코일 및 코일-형성 영역('코일-영역'), 친수성 영역, 소수성 영역, 알파 양극성 영역, 베타 양극성 영역, 표면-형성 영역, 및 고 항원 지수 영역(즉, 제임슨-울프 프로그램의 디폴트 파라미터를 사용하여 동정된 바와 같은, 항원 지수가 1.5 이상인 4개 이상의 연속하는 아미노산 잔기를 함유함)을 포함하는 아미노산 잔기를 포함한다. 바람직한 특정 영역은 표 4에 제시되어 있고, 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열의 분석에 의해 동정된 전술한 유형의 영역을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니며; 이러한 바람직한 영역은, 이들 컴퓨터 프로그램의 디폴트 파라미터를 사용하여 예견되는 바와 같은, 가르니어-랍슨(Garnier-Robson) 예견된 알파 영역, 베타 영역, 턴-영역 및 코일 영역, 초우-파스만(Chou-Fasman) 예견된 알파 영역, 베타 영역 및 턴 영역, 키테-둘리틀(Kyte-Doolittle) 예견된 친수성 영역, 아이젠버그(Eisenberg) 알파 및 베타 양극성 영역; 에미니(Emini) 표면-형성 영역; 및 제임슨-울프 고 항원 지수 영역을 포함한다.

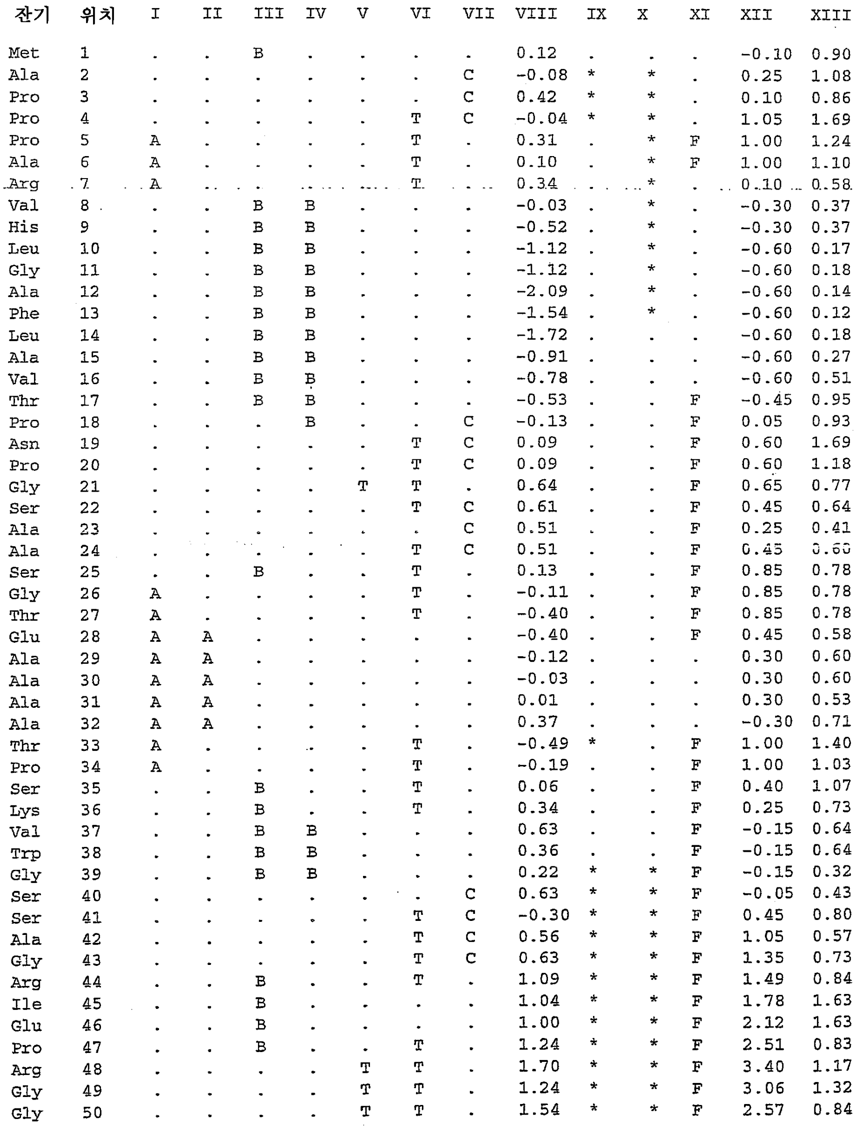
상기된 바와 같은 표 4에 제시된 TR4의 구조적 또는 기능적 특질을 나타내는 데이터를, 디폴트 파라미터로 설정된 DNA *STAR의 다양한 모듈 및 알고리듬을 사용하여 수득하였다. 칼럼 I는 알파 나선 영역의 가르니어-랍슨 분석 결과를 나타내고, 칼럼 II는 알파 나선 영역의 초우-파스만 분석 결과를 나타내고, 칼럼 III은 베타 시트 영역의 가르니어

랍슨 분석 결과를 나타내고, 칼럼 IV는 베타 시트 영역의 초우-파스만 분석 결과를 나타내고, 칼럼 V는 턴 영역의 가르니어-랍슨 분석 결과를 나타내고, 칼럼 VI는 턴 영역의 초우-파스만 분석 결과를 나타내고, 칼럼 VII는 코일 영역의 가르니어-랍슨 분석 결과를 나타내고, 칼럼 VIII는 키트-둘리틀 친수성 플롯을 나타내고, 칼럼, 칼럼 IX는 알파 양극성 영역의 아이젠버그 분석 결과를 나타내고, 칼럼 X은 베타 양극성 영역의 아이젠버그 분석 결과를 나타내고, 칼럼 XI은 유연성 영역의 카르플러스-슐츠 분석 결과를 나타내고, 칼럼 XII는 제임슨-울프 항원 지수 스코어를 나타내고, 칼럼 XIII는 에미니 표면 가능성 플롯을 나타낸다.

바람직한 태양에서, 표 4의 칼럼 VIII, XII 및 XIII에 제공된 데이터를 사용하여 고도의 항원성 잠재력을 나타내는 TR4의 영역을 결정할 수 있다. 높은 항원 성 영역은 항원 인식이 면역 반응의 개시 과정에서 일어날 수 있는 환경에서 폴리펩티드의 표면에 노출될 가능성이 있는 폴리펩티드 영역을 나타내는 값을 선택하는 방법으로 칼럼 VIII, XII 및/또는 XIII에 제시된 데이터로부터 결정된다.

표 4에 제시된 상기 언급된 바람직한 영역은 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열의 분석에 의해 동정된 전술된 유형의 영역을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 표 4에 제시된 바와 같이, 이러한 바람직한 영역은 가르니어-랍슨 알파-영역, 베타-영역, 턴-영역 및 코일-영역, 초우-파스만 알파-영역, 베타-영역 및 턴-영역, 키테-둘리틀 친수성 영역, 아이젠버그 알파- 및 베타- 양극성 영역, 카르플러스-슐츠 유연성 영역, 높은 항원 지수의 제임슨-울프 영역, 및 에미니 표면-형성 영역을 포함한다. 바람직하게는, 상기 및 표 4에 제시된 수 개(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 4개)의 동일하거나 상이한 영역 특징과 같은 여러 구조적 특성을 배합한 TR4 영역을 포함하는 폴리펩티드 단편은 본 발명의 하나 이상의 항체에 의해 결합되는 바람직한 폴리펩티드 단편중에 있다.

[표 4a]



잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Met	1	.	.	B	.	.	.	.	0.12	.	.	.	-0.10	0.90
Ala	2	.	.	.	.	.	.	C	-0.08	*	*	.	0.25	1.08
Pro	3	.	.	.	.	.	.	C	0.42	*	*	.	0.10	0.86
Pro	4	.	.	.	.	.	T	C	-0.04	*	*	.	1.05	1.69
Pro	5	A	.	.	.	.	T	.	0.31	.	*	F	1.00	1.24
Ala	6	A	.	.	.	.	T	.	0.10	.	*	F	1.00	1.10
Arg	7	A	.	.	.	.	T	.	0.34	.	*	.	0.10	0.58
Val	8	.	.	B	B	.	.	.	-0.03	.	*	.	-0.30	0.37
His	9	.	.	B	B	.	.	.	-0.52	.	*	.	-0.30	0.37
Leu	10	.	.	B	B	.	.	.	-1.12	.	*	.	-0.60	0.17
Gly	11	.	.	B	B	.	.	.	-1.12	.	*	.	-0.60	0.18
Ala	12	.	.	B	B	.	.	.	-2.09	.	*	.	-0.60	0.14
Phe	13	.	.	B	B	.	.	.	-1.54	.	*	.	-0.60	0.12
Leu	14	.	.	B	B	.	.	.	-1.72	.	.	.	-0.60	0.18
Ala	15	.	.	B	B	.	.	.	-0.91	.	.	.	-0.60	0.27
Val	16	.	.	B	B	.	.	.	-0.78	.	.	.	-0.60	0.51
Thr	17	.	.	B	B	.	.	.	-0.53	.	.	F	-0.45	0.95
Pro	18	.	.	.	B	.	.	C	-0.13	.	.	F	0.05	0.93
Asn	19	.	.	.	.	.	T	C	0.09	.	.	F	0.60	1.69
Pro	20	.	.	.	.	.	T	C	0.09	.	.	F	0.60	1.18
Gly	21	.	.	.	.	T	T	.	0.64	.	.	F	0.65	0.77
Ser	22	.	.	.	.	.	T	C	0.61	.	.	F	0.45	0.64
Ala	23	.	.	.	.	.	.	C	0.51	.	.	F	0.25	0.41
Ala	24	.	.	.	.	.	T	C	0.51	.	.	F	0.45	0.60
Ser	25	.	.	B	.	.	T	.	0.13	.	.	F	0.85	0.78
Gly	26	A	.	.	.	.	T	.	-0.11	.	.	F	0.85	0.78
Thr	27	A	.	.	.	.	T	.	-0.40	.	.	F	0.85	0.78
Glu	28	A	A	.	.	.	.	.	-0.40	.	.	F	0.45	0.58
Ala	29	A	A	.	.	.	.	.	-0.12	.	.	.	0.30	0.60
Ala	30	A	A	.	.	.	.	.	-0.03	.	.	.	0.30	0.60
Ala	31	A	A	.	.	.	.	.	0.01	.	.	.	0.30	0.53
Ala	32	A	A	.	.	.	.	.	0.37	.	.	.	-0.30	0.71
Thr	33	A	.	.	.	.	T	.	-0.49	*	.	F	1.00	1.40
Pro	34	A	.	.	.	.	T	.	-0.19	.	.	F	1.00	1.03
Ser	35	.	.	B	.	.	T	.	0.06	.	.	F	0.40	1.07
Lys	36	.	.	B	.	.	T	.	0.34	.	.	F	0.25	0.73
Val	37	.	.	B	B	.	.	.	0.63	.	.	F	-0.15	0.64
Trp	38	.	.	B	B	.	.	.	0.36	.	.	F	-0.15	0.64
Gly	39	.	.	B	B	.	.	.	0.22	*	*	F	-0.15	0.32
Ser	40	.	.	.	.	.	.	C	0.63	*	*	F	-0.05	0.43
Ser	41	.	.	.	.	.	T	C	-0.30	*	*	F	0.45	0.80
Ala	42	.	.	.	.	.	T	C	0.56	*	*	F	1.05	0.57
Gly	43	.	.	.	.	.	T	C	0.63	*	*	F	1.35	0.73
Arg	44	.	.	B	.	.	T	.	1.09	*	*	F	1.49	0.84
Ile	45	.	.	B	.	.	.	.	1.04	*	*	F	1.78	1.63
Glu	46	.	.	B	.	.	.	.	1.00	*	*	F	2.12	1.63
Pro	47	.	.	B	.	.	T	.	1.24	*	*	F	2.51	0.83
Arg	48	.	.	.	.	T	T	.	1.70	*	*	F	3.40	1.17
Gly	49	.	.	.	.	T	T	.	1.24	*	*	F	3.06	1.32
Gly	50	.	.	.	.	T	T	.	1.54	*	*	F	2.57	0.84

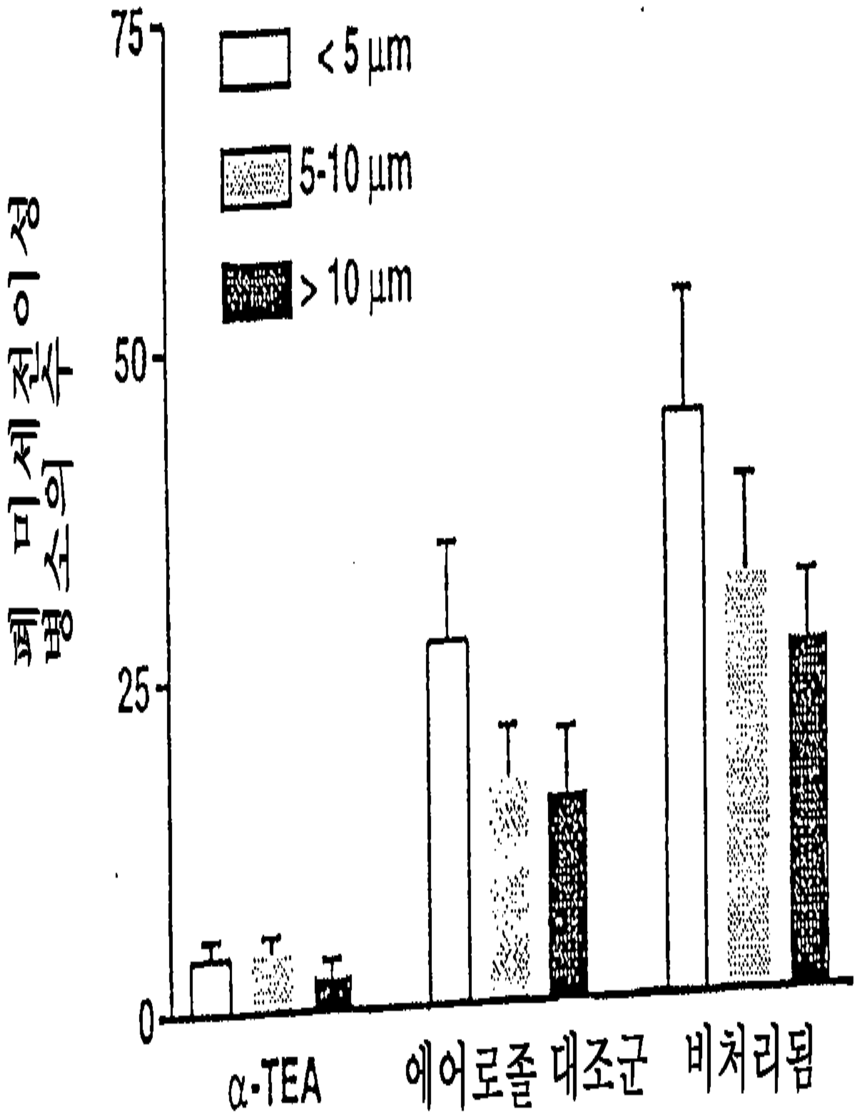
[표 4b]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Gly	51	.	.	.	.	.	T	C	0.73	*	*	F	2.03	0.44
Arg	52	.	.	.	.	.	T	C	0.73	*	*	F	1.39	0.36
Gly	53	.	.	B	.	.	T	.	0.31	*	*	F	0.85	0.57
Ala	54	.	.	B	.	.	T	.	0.36	.	*	F	0.85	0.83
Leu	55	.	.	B	.	.	.	.	0.10	.	*	F	0.65	0.57
Pro	56	.	.	B	.	.	.	.	0.10	.	*	F	-0.25	0.57
Thr	57	.	.	B	.	.	.	.	-0.01	.	*	F	-0.25	0.55
Ser	58	.	.	B	.	.	T	.	0.30	.	.	F	0.10	1.16
Met	59	.	.	B	.	.	T	.	0.54	.	.	F	0.40	1.02
Gly	60	.	.	B	.	.	T	.	1.14	.	.	F	0.25	0.70
Gln	61	.	.	.	.	T	T	.	1.06	.	.	F	0.65	0.81
His	62	.	.	.	.	.	.	C	0.78	.	*	F	0.40	1.10
Gly	63	.	.	.	.	.	T	C	1.19	.	*	F	0.60	1.12
Pro	64	.	.	.	.	.	T	C	1.20	.	*	F	1.20	1.27
Ser	65	.	.	.	.	.	T	C	1.66	.	*	F	1.05	0.94
Ala	66	.	.	B	.	.	T	.	1.07	.	*	F	1.30	1.86
Arg	67	.	.	B	.	.	.	.	0.76	*	*	.	1.29	1.22
Ala	68	.	.	B	.	.	.	.	1.21	*	*	.	1.48	0.90
Arg	69	.	.	B	.	.	T	.	0.83	.	*	.	2.17	1.74
Ala	70	.	.	B	.	.	T	.	0.92	.	*	F	2.51	0.90
Gly	71	.	.	.	.	T	T	.	1.17	.	*	F	3.40	1.37
Arg	72	.	.	.	.	.	T	C	0.84	.	*	F	2.71	0.69
Ala	73	.	.	.	.	.	T	C	1.54	*	.	F	2.48	1.06
Pro	74	.	.	.	.	.	T	C	1.22	*	.	F	2.70	2.10
Gly	75	.	.	.	.	.	T	C	1.22	*	.	F	2.62	1.66
Pro	76	.	.	.	.	.	T	C	1.68	*	*	F	2.24	1.66
Arg	77	.	.	.	.	.	.	C	1.57	*	.	F	2.60	2.10
Pro	78	.	A	B	.	.	.	.	1.57	*	.	F	1.94	3.68
Ala	79	.	A	B	.	.	.	.	1.48	*	.	F	1.68	2.40
Arg	80	.	A	B	.	.	.	.	1.61	*	*	F	1.42	1.64
Glu	81	.	A	B	.	.	.	.	1.93	*	*	F	1.16	1.64
Ala	82	A	A	.	.	.	.	.	1.01	*	*	F	0.90	3.19
Ser	83	A	.	.	.	.	T	.	1.33	*	*	F	1.30	1.34
Pro	84	A	.	.	.	.	T	.	1.07	*	*	F	1.30	1.52
Arg	85	A	.	.	.	.	T	.	0.92	*	*	F	1.00	1.12
Leu	86	A	.	.	.	.	T	.	0.97	.	*	.	0.85	1.13
Arg	87	A	.	.	B	.	.	.	1.24	.	*	.	0.75	1.46
Val	88	A	.	.	B	.	.	.	0.84	*	*	.	0.75	1.08
His	89	A	.	.	B	.	.	.	1.10	.	*	.	-0.15	1.13
Lys	90	A	.	.	B	.	.	.	0.29	*	*	F	0.90	1.16
Thr	91	.	.	B	B	.	.	.	0.24	*	*	F	0.00	1.35
Phe	92	.	.	B	B	.	.	.	-0.72	*	*	.	-0.30	0.74
Lys	93	.	.	B	B	.	.	.	-0.72	*	*	.	-0.30	0.27
Phe	94	.	.	B	B	.	.	.	-1.03	*	.	.	-0.60	0.14
Val	95	.	.	B	B	.	.	.	-1.93	*	.	.	-0.60	0.16
Val	96	.	.	B	B	.	.	.	-2.43	.	*	.	-0.60	0.06
Val	97	.	.	B	B	.	.	.	-2.54	.	*	.	-0.60	0.06
Gly	98	.	.	B	B	.	.	.	-2.59	.	*	.	-0.60	0.06
Val	99	.	.	B	B	.	.	.	-2.74	.	.	.	-0.60	0.15
Leu	100	.	.	B	B	.	.	.	-2.74	*	.	.	-0.60	0.15

[표 4c]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Leu	101	.	.	B	B	.	.	.	-2.10	*	.	.	-0.60	0.11
Gln	102	.	.	B	B	.	.	.	-1.54	*	.	.	-0.60	0.23
Val	103	.	.	B	B	.	.	.	-1.50	.	.	.	-0.60	0.37
Val	104	.	.	B	.	.	T	.	-1.23	.	.	.	-0.20	0.61
Pro	105	.	.	B	.	.	T	.	-1.01	*	.	F	0.25	0.35
Ser	106	A	.	.	.	.	T	.	-0.51	*	.	F	-0.05	0.48
Ser	107	A	.	.	.	.	T	.	-1.40	*	*	F	0.25	0.94
Ala	108	A	.	.	.	.	.	.	-0.50	.	*	F	0.05	0.43
Ala	109	A	.	.	.	.	.	.	-0.46	.	*	.	0.50	0.63
Thr	110	A	.	.	.	.	.	.	-0.28	.	*	.	-0.10	0.39
Ile	111	A	.	.	.	.	.	.	0.02	.	*	.	-0.10	0.53
Lys	112	.	.	B	.	.	.	.	0.32	.	*	.	0.50	0.87
Leu	113	.	.	B	.	.	.	.	0.61	.	*	F	1.05	1.04
His	114	.	.	B	.	.	.	.	0.31	.	*	F	1.30	1.99
Asp	115	.	.	.	.	.	T	C	0.28	*	*	F	1.80	0.70
Gln	116	.	.	.	.	T	T	.	0.86	.	*	F	1.65	0.84
Ser	117	.	.	.	.	T	T	.	0.81	.	.	F	2.50	0.89
Ile	118	.	.	.	.	T	T	.	1.62	.	.	F	2.25	0.92
Gly	119	.	.	.	.	.	.	C	1.37	.	.	F	1.00	0.92
Thr	120	.	.	.	.	.	.	C	1.37	.	.	F	0.45	0.72
Gln	121	.	.	B	.	.	.	C	1.33	.	.	F	0.65	1.79
Gln	122	.	.	B	.	.	.	.	1.33	.	.	F	0.20	2.46
Trp	123	.	.	B	.	.	.	.	2.01	.	.	.	0.05	2.28
Glu	124	.	.	.	.	.	.	C	1.54	.	.	.	0.25	2.04
His	125	.	.	.	.	.	.	C	1.51	.	.	.	0.10	0.97
Ser	126	.	.	.	.	.	T	C	1.51	.	.	F	0.45	0.91
Pro	127	.	.	.	.	T	T	.	0.70	.	.	F	1.55	0.91
Leu	128	.	.	.	.	T	T	.	0.32	.	.	F	0.65	0.55
Gly	129	.	.	.	.	T	T	.	0.11	.	.	F	0.65	0.22
Glu	130	.	.	.	.	T	.	.	-0.07	.	.	F	0.45	0.22
Leu	131	.	.	B	.	.	.	.	-0.11	*	.	.	0.18	0.42
Cys	132	.	.	B	.	.	.	.	-0.20	*	.	F	1.21	0.42
Pro	133	.	.	B	.	.	T	.	0.58	*	*	F	1.69	0.32
Pro	134	.	.	.	.	T	T	.	1.03	.	*	F	1.47	0.53
Gly	135	.	.	.	.	T	T	.	0.73	.	*	F	2.80	1.94
Ser	136	.	.	.	.	.	T	C	1.54	*	.	F	2.32	1.68
His	137	.	.	.	.	.	.	C	2.32	*	.	F	2.48	1.88
Arg	138	.	.	B	.	.	.	.	2.32	*	.	F	2.34	3.72
Ser	139	.	.	B	.	.	.	.	2.19	*	.	F	2.40	4.29
Glu	140	.	.	.	.	T	.	.	1.94	*	.	F	2.86	3.12
Arg	141	.	.	.	.	T	T	.	1.58	*	.	F	3.40	1.61
Pro	142	.	.	.	.	T	T	.	1.61	.	*	F	2.91	0.64
Gly	143	.	.	.	.	T	T	.	1.61	.	*	F	2.57	0.60
Ala	144	.	.	.	.	T	T	.	1.24	.	*	.	2.08	0.60
Cys	145	.	.	.	.	T	.	.	0.93	.	*	.	1.41	0.21
Asn	146	.	.	B	.	.	.	.	0.82	.	*	.	0.84	0.30
Arg	147	.	.	B	.	.	.	.	0.69	*	.	.	1.01	0.52
Cys	148	.	.	B	.	.	T	.	0.18	*	.	F	1.83	0.96
Thr	149	.	.	B	.	.	T	.	0.42	*	.	F	1.70	0.44
Glu	150	.	.	B	.	.	T	.	0.84	*	.	F	1.53	0.22

[표 4d]



[표 4e]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Ala	201	A	.	.	.	.	.	.	1.46	.	*	.	1.14	0.46
Glu	202	A	.	.	.	.	.	.	1.50	*	.	.	0.80	0.56
Met	203	A	.	.	.	.	.	.	0.83	*	.	.	1.11	0.83
Cys	204	A	.	.	.	.	T	.	0.53	*	.	.	1.62	0.44
Arg	205	.	.	.	.	T	T	.	0.52	*	.	.	2.33	0.34
Lys	206	.	.	.	.	T	T	.	0.77	*	.	F	2.49	0.50
Cys	207	.	.	.	.	T	T	.	0.10	*	.	F	3.10	0.92
Ser	208	.	.	.	.	T	.	.	0.49	*	*	F	2.59	0.25
Thr	209	.	.	.	.	T	.	.	1.27	*	*	F	1.98	0.19
Gly	210	.	.	.	.	T	.	.	0.81	*	.	F	1.67	0.71
Cys	211	.	.	B	.	.	T	.	0.17	*	*	F	1.16	0.53
Pro	212	.	.	.	.	T	T	.	-0.02	*	*	F	1.25	0.36
Arg	213	.	.	.	.	T	T	.	0.32	*	*	F	0.65	0.27
Gly	214	.	.	B	.	.	T	.	-0.22	*	*	.	0.85	1.01
Met	215	.	.	B	B	.	.	.	0.17	*	*	.	0.30	0.48
Val	216	.	.	B	B	.	.	.	0.83	*	*	.	0.79	0.49
Lys	217	.	.	B	B	.	.	.	0.38	*	*	.	0.98	0.83
Val	218	.	.	B	B	.	.	.	-0.04	*	*	F	1.32	0.45
Lys	219	.	.	B	B	.	.	.	0.09	.	*	F	1.51	0.88
Asp	220	.	.	B	.	.	.	.	0.40	.	*	F	1.90	0.68
Cys	221	.	.	B	.	.	.	.	0.96	.	*	F	0.81	0.96
Thr	222	.	.	.	.	.	T	C	0.91	.	*	F	1.62	0.65
Pro	223	.	.	.	.	T	T	.	0.88	.	*	F	1.63	0.65
Trp	224	.	.	.	.	T	T	.	0.83	.	*	F	0.54	0.84
Ser	225	A	.	.	.	.	T	.	0.17	.	.	F	1.00	1.01
Asp	226	A	A	.	.	.	.	.	-0.02	.	.	F	0.45	0.35
Ile	227	A	A	.	.	.	.	.	0.26	*	.	.	-0.30	0.25
Glu	228	A	A	.	.	.	.	.	0.51	*	.	.	0.30	0.25
Cys	229	.	A	B	.	.	.	.	0.80	*	.	.	0.60	0.30
Val	230	A	A	.	.	.	.	.	0.80	*	*	.	0.60	0.74
His	231	A	A	.	.	.	.	.	0.46	*	*	.	0.60	0.58
Lys	232	A	A	.	.	.	.	.	1.34	*	.	F	0.60	1.06
Glu	233	.	A	.	.	T	.	.	1.00	*	.	F	1.30	2.30
Ser	234	.	.	.	.	T	T	.	1.63	*	.	F	1.70	1.68
Gly	235	.	.	.	.	T	T	.	2.49	*	.	F	1.70	1.14
Asn	236	.	.	.	.	T	T	.	1.63	*	.	F	1.40	1.06
Gly	237	.	.	.	.	.	T	C	1.30	*	.	F	0.45	0.55
His	238	.	.	.	B	.	.	C	0.44	.	.	.	-0.40	0.59
Asn	239	.	.	.	B	.	.	C	-0.14	.	.	.	-0.40	0.27
Ile	240	.	.	B	B	.	.	.	-0.61	.	.	.	-0.60	0.19
Trp	241	.	.	B	B	.	.	.	-1.47	.	.	.	-0.60	0.12
Val	242	.	.	B	B	.	.	.	-1.98	.	.	.	-0.60	0.05
Ile	243	.	.	B	B	.	.	.	-2.26	.	.	.	-0.60	0.06
Leu	244	.	.	B	B	.	.	.	-3.07	.	.	.	-0.60	0.08
Val	245	.	.	B	B	.	.	.	-3.03	.	.	.	-0.60	0.09
Val	246	.	.	B	B	.	.	.	-3.60	.	.	.	-0.60	0.09
Thr	247	.	.	B	B	.	.	.	-2.96	.	.	.	-0.60	0.08
Leu	248	.	.	B	B	.	.	.	-2.88	.	.	.	-0.60	0.17
Val	249	.	.	B	B	.	.	.	-2.88	.	*	.	-0.60	0.19
Val	250	.	.	B	B	.	.	.	-2.83	.	.	.	-0.60	0.11

[표 4f]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Pro	251	.	.	B	B	.	.	.	-2.83	.	.	.	-0.60	0.11
Leu	252	.	.	B	B	.	.	.	-3.11	.	.	.	-0.60	0.11
Leu	253	A	.	.	B	.	.	.	-3.16	.	.	.	-0.60	0.15
Leu	254	A	.	.	B	.	.	.	-3.11	.	.	.	-0.60	0.07
Val	255	A	.	.	B	.	.	.	-3.14	.	.	.	-0.60	0.07
Ala	256	A	.	.	B	.	.	.	-3.79	.	.	.	-0.60	0.06
Val	257	.	.	B	B	.	.	.	-3.64	.	.	.	-0.60	0.05
Leu	258	.	.	B	B	.	.	.	-3.50	.	.	.	-0.60	0.04
Ile	259	.	.	B	B	.	.	.	-3.36	.	.	.	-0.60	0.02
Val	260	.	.	B	B	.	.	.	-3.39	.	.	.	-0.60	0.02
Cys	261	.	.	B	B	.	.	.	-3.14	.	.	.	-0.60	0.01
Cys	262	.	.	B	B	.	.	.	-2.59	.	.	.	-0.60	0.02
Cys	263	.	.	B	B	.	.	.	-2.12	.	.	.	-0.60	0.03
Ile	264	.	.	B	B	.	.	.	-1.90	.	.	.	-0.60	0.06
Gly	265	.	.	.	.	T	T	.	-1.39	.	.	F	0.35	0.06
Ser	266	.	.	.	.	T	T	.	-1.07	.	.	F	0.35	0.11
Gly	267	.	.	.	.	T	T	.	-0.40	.	.	F	0.65	0.16
Cys	268	.	.	.	.	T	T	.	0.06	.	.	F	1.25	0.27
Gly	269	.	.	.	.	T	.	.	0.99	.	*	F	1.39	0.31
Gly	270	.	.	.	.	T	.	.	0.67	.	.	F	2.03	0.62
Asp	271	.	.	.	.	.	T	C	0.37	.	.	F	2.37	0.62
Pro	272	.	.	.	.	T	T	.	0.71	*	*	F	2.91	0.62
Lys	273	.	.	.	.	T	T	.	1.49	*	*	F	3.40	1.05
Cys	274	.	.	B	.	.	T	.	0.98	*	*	.	2.51	1.23
Met	275	.	.	B	B	.	.	.	0.66	*	*	.	1.62	0.59
Asp	276	.	.	B	B	.	.	.	-0.04	*	*	.	1.28	0.16
Arg	277	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	.	*	.	0.04	0.26
Val	278	.	.	B	B	.	.	.	-0.06	.	*	.	-0.60	0.27
Cys	279	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	.	.	.	0.30	0.32
Phe	280	.	.	B	B	.	.	.	0.06	.	*	.	-0.60	0.13
Trp	281	.	.	B	B	.	.	.	-0.76	.	.	.	-0.60	0.18
Arg	282	.	.	B	B	.	.	.	-1.68	.	.	.	-0.60	0.28
Leu	283	.	.	B	B	.	.	.	-0.71	.	.	.	-0.60	0.26
Gly	284	.	.	.	B	T	.	.	-0.39	.	*	.	-0.20	0.49
Leu	285	.	.	.	B	.	.	C	0.10	.	*	.	0.50	0.25
Leu	286	.	.	.	B	.	.	C	0.04	.	*	.	0.20	0.46
Arg	287	.	.	.	B	.	.	C	-0.66	.	.	F	0.65	0.46
Gly	288	.	.	.	.	.	T	C	0.16	.	.	F	1.35	0.57
Pro	289	.	.	.	.	.	T	C	0.50	.	*	F	2.70	1.19
Gly	290	.	.	.	.	.	T	C	1.31	*	*	F	3.00	1.01
Ala	291	A	.	.	.	.	T	.	1.53	.	*	F	2.50	1.65
Glu	292	A	.	.	.	.	.	.	1.39	.	.	F	2.00	1.08
Asp	293	A	.	.	.	.	.	.	1.73	.	.	F	1.70	1.48
Asn	294	A	.	.	.	.	T	.	1.94	.	*	.	1.45	2.36
Ala	295	A	.	.	.	.	T	.	1.40	.	.	.	1.15	2.36
His	296	A	.	.	.	.	T	.	1.18	*	.	.	1.00	0.99
Asn	297	A	.	.	.	.	T	.	0.88	.	.	.	0.10	0.51
Glu	298	A	.	.	.	.	.	.	0.88	*	.	.	-0.10	0.67
Ile	299	A	.	.	.	.	.	.	0.29	*	*	.	-0.10	0.80
Leu	300	A	.	.	.	.	.	.	0.88	*	*	.	-0.10	0.50

[표 4g]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Ser	301	A	.	.	.	.	.	.	0.61	*	.	F	0.65	0.48
Asn	302	A	.	.	.	.	T	.	-0.20	*	.	F	0.25	0.92
Ala	303	A	.	.	.	.	T	.	-0.50	*	.	F	0.25	0.92
Asp	304	A	.	.	.	.	T	.	0.08	*	.	F	0.85	0.92
Ser	305	.	.	.	.	.	T	C	0.19	*	.	F	1.05	0.83
Leu	306	.	.	.	B	.	.	C	-0.37	*	.	F	0.05	0.71
Ser	307	.	.	B	B	.	.	.	-0.67	*	.	F	-0.15	0.31
Thr	308	.	.	B	B	.	.	.	-0.08	*	.	.	-0.60	0.31
Phe	309	.	.	B	B	.	.	.	-0.08	*	.	.	-0.30	0.66
Val	310	A	.	.	B	.	.	.	0.22	.	.	F	-0.15	0.85
Ser	311	A	A	.	.	.	.	.	0.43	.	.	F	0.00	1.03
Glu	312	A	A	.	.	.	.	.	0.73	.	.	F	0.00	1.17
Gln	313	A	A	.	.	.	.	.	0.74	.	.	F	0.90	2.73
Gln	314	A	A	.	.	.	.	.	1.44	.	.	F	0.90	2.73
Met	315	A	A	.	.	.	.	.	2.30	.	.	F	0.90	2.73
Glu	316	A	A	.	.	.	.	.	2.39	.	.	F	0.90	2.73
Ser	317	A	A	.	.	.	.	.	1.80	.	*	F	0.90	2.44
Gln	318	A	A	.	.	.	.	.	1.80	.	*	F	0.90	2.49
Glu	319	A	A	.	.	.	.	.	0.99	.	*	F	0.90	2.40
Pro	320	A	A	.	.	.	.	.	1.28	.	*	F	0.90	1.48
Ala	321	A	A	.	.	.	.	.	0.93	.	.	F	0.60	1.23
Asp	322	A	A	.	B	.	.	.	0.38	.	.	F	0.45	0.70
Leu	323	A	A	.	B	.	.	.	0.07	.	.	F	-0.15	0.34
Thr	324	.	A	B	B	.	.	.	-0.79	.	.	F	-0.15	0.48
Gly	325	.	A	B	B	.	.	.	-0.58	.	.	.	-0.30	0.21
Val	326	.	.	B	B	.	.	.	-0.29	.	.	.	-0.60	0.45
Thr	327	.	.	B	B	.	.	.	-0.50	.	.	.	-0.60	0.42
Val	328	.	.	B	B	.	.	.	-0.03	.	*	F	-0.17	0.65
Gln	329	.	.	B	B	.	.	.	0.28	.	*	F	0.11	0.87
Ser	330	.	.	.	.	.	T	C	0.03	.	*	F	2.04	1.05
Pro	331	.	.	.	.	.	T	C	0.89	.	*	F	2.32	1.42
Gly	332	.	.	.	.	T	T	.	0.53	.	*	F	2.80	1.42
Glu	333	A	.	.	.	.	T	.	0.58	.	*	F	1.97	0.57
Ala	334	.	.	B	.	.	.	.	-0.23	.	*	.	0.74	0.30
Gln	335	.	.	B	.	.	.	.	-0.28	.	.	.	0.46	0.25
Cys	336	.	.	B	.	.	.	.	-0.28	.	.	.	0.18	0.14
Leu	337	.	.	B	.	.	.	.	-0.52	.	*	.	-0.40	0.22
Leu	338	.	.	B	.	.	.	.	-0.52	.	*	.	-0.40	0.13
Gly	339	.	A	.	.	.	.	C	-0.52	.	*	F	0.05	0.42
Pro	340	A	A	.	.	.	.	.	-0.52	.	*	F	-0.15	0.51
Ala	341	A	A	.	.	.	.	.	-0.20	.	*	F	0.60	1.07
Glu	342	A	A	.	.	.	.	.	0.31	.	*	F	0.90	1.07
Ala	343	A	A	.	.	.	.	.	1.12	*	*	F	0.75	0.93
Glu	344	A	A	.	.	.	.	.	1.58	.	*	F	0.90	1.60
Gly	345	A	A	.	.	.	.	.	1.90	.	*	F	0.90	1.80
Ser	346	A	.	.	.	.	T	.	2.60	.	*	F	1.30	3.50
Gln	347	A	.	.	.	.	T	.	1.79	.	*	F	1.30	3.96
Arg	348	A	.	.	.	.	T	.	1.57	.	*	F	1.30	3.30
Arg	349	.	.	B	.	.	T	.	0.71	.	*	F	1.30	2.03
Arg	350	.	.	B	B	.	.	.	0.84	.	*	F	0.75	0.87

[표 4h]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Leu	351	.	.	B	B	.	.	.	0.56	.	*	.	0.60	0.69
Leu	352	.	.	B	B	.	.	.	0.56	.	*	.	0.30	0.35
Val	353	.	.	B	B	.	.	.	0.10	*	*	.	-0.30	0.29
Pro	354	.	.	B	.	.	T	.	-0.60	*	.	.	-0.20	0.35
Ala	355	.	.	.	.	T	T	.	-0.71	.	*	.	0.50	0.43
Asn	356	.	.	.	.	.	T	C	-0.11	.	.	F	1.65	0.96
Gly	357	.	.	.	.	.	T	C	0.39	.	.	F	1.95	0.96
Ala	358	.	.	.	.	.	.	C	1.24	.	.	F	2.20	1.37
Asp	359	.	.	.	.	.	T	C	1.14	.	.	F	3.00	1.48
Pro	360	A	.	.	.	.	T	.	0.92	*	.	F	2.50	2.16
Thr	361	A	.	.	.	.	T	.	0.32	.	.	F	1.90	1.76
Glu	362	A	.	.	.	.	T	.	-0.14	.	.	F	1.60	1.04
Thr	363	A	.	.	B	.	.	.	-0.26	.	.	F	0.15	0.56
Leu	364	A	.	.	B	.	.	.	-0.96	*	.	.	-0.60	0.33
Met	365	A	.	.	B	.	.	.	-0.74	*	.	.	-0.60	0.17
Leu	366	A	.	.	B	.	.	.	-0.39	*	.	.	-0.60	0.19
Phe	367	A	.	.	B	.	.	.	-1.09	*	.	.	-0.60	0.47
Phe	368	A	.	.	B	.	.	.	-1.37	*	.	.	-0.60	0.41
Asp	369	A	.	.	B	.	.	.	-0.56	*	.	.	-0.60	0.50
Lys	370	A	A	.	.	.	.	.	-0.84	*	.	.	-0.30	0.93
Phe	371	A	A	.	B	.	.	.	-0.89	*	.	.	-0.30	0.75
Ala	372	A	A	.	B	.	.	.	-0.40	*	.	.	-0.30	0.34
Asn	373	.	A	B	B	.	.	.	-0.40	*	.	.	-0.60	0.26
Ile	374	.	A	B	B	.	.	.	-0.40	*	.	.	-0.60	0.25
Val	375	.	A	B	B	.	.	.	-0.74	.	.	.	-0.60	0.43
Pro	376	.	A	.	B	.	.	C	-0.33	.	.	.	-0.10	0.36
Phe	377	.	.	.	.	T	T	.	0.26	.	.	.	0.20	0.54
Asp	378	.	.	.	.	T	T	.	0.26	.	.	F	0.80	1.21
Ser	379	.	.	.	.	T	T	.	0.33	.	.	F	1.40	1.35
Trp	380	A	.	.	.	.	T	.	0.59	*	*	F	0.40	1.29
Asp	381	A	A	.	.	.	.	.	0.91	*	.	F	-0.15	0.76
Gln	382	A	A	.	.	.	.	.	1.61	*	.	.	-0.15	1.11
Leu	383	A	A	.	.	.	.	.	0.80	*	.	.	-0.15	1.84
Met	384	A	A	.	.	.	.	.	1.10	*	.	.	0.30	0.91
Arg	385	A	A	.	.	.	.	.	0.58	*	.	.	0.30	0.87
Gln	386	A	A	.	.	.	.	.	0.27	*	.	.	-0.30	0.87
Leu	387	A	A	.	.	.	.	.	0.31	*	.	.	0.45	1.27
Asp	388	A	A	.	.	.	.	.	1.12	*	.	.	0.75	1.30
Leu	389	A	A	.	.	.	.	.	1.72	*	.	F	0.60	1.21
Thr	390	A	.	.	.	.	T	.	0.72	*	.	F	1.30	2.54
Lys	391	A	.	.	.	.	T	.	0.72	.	*	F	1.30	1.07
Asn	392	A	.	.	.	.	T	.	0.68	*	*	F	1.30	2.16
Glu	393	A	.	.	.	.	T	.	-0.18	*	.	F	1.30	1.11
Ile	394	.	.	B	B	.	.	.	0.74	*	.	F	0.75	0.41
Asp	395	.	.	B	B	.	.	.	0.47	*	*	.	0.60	0.50
Val	396	.	.	B	B	.	.	.	0.08	*	*	.	0.60	0.29
Val	397	.	.	B	B	.	.	.	-0.23	.	.	.	0.51	0.41
Arg	398	.	.	B	.	.	T	.	-0.82	*	.	.	1.12	0.36
Ala	399	.	.	B	.	.	T	.	-0.28	*	.	.	0.73	0.49
Gly	400	.	.	.	.	T	T	.	-0.49	*	.	F	2.09	0.65

[표 4i]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Thr	401	.	.	.	.	.	T	C	0.02	*	*	F	2.10	0.51
Ala	402	.	.	.	.	.	.	C	0.88	*	*	F	1.09	0.50
Gly	403	.	.	.	.	.	T	C	0.18	*	*	F	1.68	0.85
Pro	404	.	.	.	.	.	T	C	-0.04	.	.	F	1.47	0.59
Gly	405	.	.	.	.	.	T	C	0.06	.	.	F	1.26	0.48
Asp	406	A	.	.	.	.	T	.	-0.22	.	.	F	0.25	0.76
Ala	407	A	A	.	.	.	.	.	-0.23	.	.	.	-0.30	0.50
Leu	408	A	A	.	.	.	.	.	-0.70	.	.	.	-0.60	0.50
Tyr	409	A	A	.	.	.	.	.	-1.09	*	.	.	-0.60	0.25
Ala	410	A	A	.	.	.	.	.	-0.70	*	.	.	-0.60	0.24
Met	411	A	A	.	.	.	.	.	-0.99	*	.	.	-0.60	0.59
Leu	412	A	A	.	.	.	.	.	-1.26	*	.	.	-0.60	0.39
Met	413	A	A	.	.	.	.	.	-0.44	*	.	.	-0.60	0.29
Lys	414	A	A	.	B	.	.	.	-0.16	*	.	.	-0.60	0.47
Trp	415	A	A	.	B	.	.	.	0.12	*	.	.	0.15	1.14
Val	416	A	A	.	B	.	.	.	0.38	*	*	.	0.45	1.66
Asn	417	A	.	.	.	.	T	.	1.30	*	.	F	1.75	0.82
Lys	418	A	.	.	.	.	T	.	1.90	*	.	F	2.20	1.53
Thr	419	.	.	.	.	.	T	C	1.27	*	.	F	3.00	3.32
Gly	420	.	.	.	.	.	T	C	1.26	*	.	F	2.70	2.08
Arg	421	.	.	.	.	T	.	.	1.22	*	.	F	2.40	1.40
Asn	422	.	.	.	.	.	T	C	1.19	*	.	F	1.65	0.68
Ala	423	.	.	B	.	.	T	.	0.83	.	.	.	1.00	0.93
Ser	424	.	.	B	.	.	T	.	0.33	.	.	.	0.70	0.69
Ile	425	.	.	B	.	.	T	.	-0.13	.	*	.	-0.20	0.35
His	426	.	A	B	.	.	.	.	-0.24	.	*	.	-0.60	0.29
Thr	427	.	A	B	.	.	.	.	-0.83	*	*	.	-0.60	0.36
Leu	428	A	A	.	.	.	.	.	-1.06	*	*	.	-0.60	0.52
Leu	429	A	A	.	.	.	.	.	-0.76	*	*	.	-0.60	0.31
Asp	430	A	A	.	.	.	.	.	0.24	*	*	.	-0.30	0.38
Ala	431	A	A	.	.	.	.	.	-0.32	*	*	.	0.30	0.89
Leu	432	A	A	.	.	.	.	.	-0.01	*	*	.	0.75	1.07
Glu	433	A	A	.	.	.	.	.	0.80	*	*	.	0.75	1.11
Arg	434	A	A	.	.	.	.	.	1.72	*	*	F	0.90	1.90
Met	435	A	A	.	.	.	.	.	1.69	*	*	F	0.90	4.52
Glu	436	A	A	.	.	.	.	.	1.69	*	*	F	0.90	3.55
Glu	437	A	A	.	.	.	.	.	2.54	*	.	F	0.90	1.83
Arg	438	A	A	.	.	.	.	.	2.54	*	*	F	0.90	3.70
His	439	A	A	.	.	.	.	.	2.48	*	*	F	0.90	3.70
Ala	440	A	A	.	.	.	.	.	2.19	*	*	F	0.90	4.28
Lys	441	A	A	.	.	.	.	.	2.19	*	*	F	0.90	1.53
Glu	442	A	A	.	.	.	.	.	2.19	*	.	F	0.90	1.95
Lys	443	A	A	.	.	.	.	.	1.27	*	*	F	0.90	3.22
Ile	444	A	A	.	.	.	.	.	0.49	*	*	F	0.90	1.33
Gln	445	A	A	.	.	.	.	.	0.22	*	*	F	0.75	0.63
Asp	446	A	A	.	.	.	.	.	0.18	*	*	F	-0.15	0.23
Leu	447	A	A	.	.	.	.	.	-0.12	*	.	.	-0.30	0.56
Leu	448	A	A	.	.	.	.	.	-0.51	*	.	.	0.55	0.43
Val	449	A	A	.	.	.	.	.	0.42	*	.	F	0.95	0.26
Asp	450	A	.	.	.	.	T	.	-0.28	*	.	F	1.60	0.62

[표 4j]

잔기	위치	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Ser	451	.	.	.	.	T	T	.	-1.17	*	.	F	2.25	0.65
Gly	452	.	.	.	.	T	T	.	-0.60	*	.	F	2.50	0.62
Lys	453	.	.	B	.	.	T	.	-0.60	.	.	F	1.25	0.58
Phe	454	.	A	B	.	.	.	.	0.26	.	.	.	0.15	0.36
Ile	455	.	A	B	.	.	.	.	0.26	.	.	.	0.20	0.62
Tyr	456	.	A	B	.	.	.	.	0.21	.	.	.	0.55	0.52
Leu	457	.	A	B	.	.	.	.	0.24	.	.	.	-0.03	0.59
Glu	458	.	A	B	.	.	.	.	-0.14	.	.	F	0.54	1.22
Asp	459	.	A	.	.	T	.	.	0.26	.	.	F	1.66	0.77
Gly	460	.	.	.	.	T	T	.	0.56	.	.	F	2.78	1.26
Thr	461	.	.	.	.	.	T	C	-0.06	*	.	F	2.70	0.73
Gly	462	.	.	.	.	.	T	C	0.46	*	.	F	2.13	0.33
Ser	463	.	.	.	.	.	T	C	-0.36	.	.	F	1.26	0.44
Ala	464	A	.	.	.	.	.	.	-0.36	.	.	.	0.14	0.25
Val	465	.	.	B	.	.	.	.	-0.40	.	.	.	0.17	0.44
Ser	466	.	.	B	.	.	.	.	-0.48	.	.	.	-0.10	0.42
Leu	467	.	.	B	.	.	.	.	-0.52	.	.	.	-0.10	0.53
Glu	468	A	.	.	.	.	.	.	-0.61	.	.	.	0.50	0.92

또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기술된 폴리펩티드의 에피토프-보유 부분을 포함하는 펩티드 또는 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다. 이러한 폴리펩티드 부분의 에피토프는 본 발명의 폴리펩티드의 면역원성 또는 항원성 에피토프이다. '면역원성 에피토프'는 전체 단백질이 면역원인 경우 항체 반응을 유도하는 단백질 부분으로서 정의된다. 한편, 항체가 결합할 수 있는 단백질 분자의 영역은 '항원성 에피토프'로서 정의된다. 단백질의 면역원성 에피토프의 수는 일반적으로 항원성 에피토프의 수 보다 더 적다[참조 문헌: Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002(1983)].

항원성 에피토프를 보유하는(즉, 항체가 결합할 수 있는 단백질 분자의 영역을 함유하는) 펩티드 또는 폴리펩티드의 선별에 대하여, 단백질 서열의 일부를 모 사하는 비교적 짧은 합성 펩티드가 부분적으로 모사된 단백질과 반응하는 항혈청을 통상적으로 유도할 수 있다는 것이 당업계에 익히 공지되어 있다[참조 문헌: Sutcliffe, J.G., Shinnick, T.M., Green, N. 및 Learner, R.A. (1983) Antibodies That React With Predetermined Sites on Proteins, Science 219: 660-666]. 흔히 단백질의 1차 서열로 나타내는 단백질-반응성 혈청을 유도할 수 있는 펩티드는 일련의 간단한 화학 법칙에 의해 특징이 결정될 수 있고, 온전한 단백질의 면역지배(immunodominant) 영역(즉, 면역원성 에피토프) 또는 아미노 또는 카복실 말단 어느 것으로도 국한되지 않는다.

따라서, 항원성 에피토프-보유 펩티드 및 폴리펩티드는 본 발명의 TR4 폴리펩티드에 결합하는 모노클로날 항체를 포함한 항체를 발생시키는데 유용하다[참조 문헌: Wilson et al., Cell 37:767-778(1984) at 777]. 항원성 에피토프-보유 펩티드 및 폴리펩티드는 서열번호 1의 아미노산 서열내에 함유된 바람직하게는 7개 이상, 보다 바람직하게는 9개 이상 및 가장 바람직하게는 적어도 약 15개 내지 약 30개의 아미노산의 서열을 함유한다.

본 발명의 항체는 다음의 아미노산 잔기를 포함하는 폴리펩티드를 포함하나, 그에 한정되지 않는 하나 이상의 항원성 TR4 폴리펩티드 또는 펩티드에 결합할 수 있다: 서열번호 1의 약 35 내지 약 92의 아미노산 잔기; 서열번호 1의 약 114 내지 약 160의 아미노산 잔기; 서열번호 1의 약 169 내지 약 240의 아미노산 잔기; 서열번호 1의 약 267 내지 약 298의 아미노산 잔기; 서열번호 1의 약 330 내지 약 364의 아미노산 잔기; 서열번호 1의 약 391 내지 약 404의 아미노산 잔기; 및/또는 서 열번호 1의 약 418 내지 약 465의 아미노산 잔기. 이와 관련하여, '약'은 특히 언급된 범위 보다 한 쪽 말단 또는 양쪽 말단에서 수 개(5, 4, 3, 2 또는 1개)의 아미노산 만큼 크거나 작은 범위를 포함한다. 위에서 지적된 바와 같이, 본원의 발명자들은 상기 폴리펩티드 단편이 TR4 단백질의 항원성 영역임을 결정하였다. 에피토프-보유 TR4 펩티드 및 폴리펩티드는 임의의 통상적 수단에 의해 생성될 수 있다. 참조 문헌[Houghten, R.A., 'General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids,' Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:5131-5135 (1985)]. 이러한 '동시적 다중 펩티드 합성(SMPS)' 과정은 문헌[참조: 미국 특허 제4,631,211호, Houghten et al.(1986)]에 추가로 기술되어 있다.

당업자가 인지하는 바와 같이, 본원에 기술된 TR4 폴리펩티드 및 이의 에피토프-보유 단편(예를 들면, 서열번호 1의 아미노산 잔기 1 내지 240과 같은 세포외 도메인 부분에 상응함)을 면역글로불린(IgG)의 불변 도메인의 부분과 배합시켜, 키메라 폴리펩티드를 생성시킬 수 있다. 이러한 융합 단백질은 정제를 용이하게 할 수 있고, 증가된 생체내 반감기를 나타낸다. 이는, 예를 들면, 사람 CD4-폴리펩티드의 처음 2개의 도메인과 포유동물 면역글로불린의 중쇄 또는 경쇄의 불변 영역의 각종 도메인으로 이루어진 키메라 단백질에 대해 밝혀졌다[참조: EP A 394,827; Traunecker et al., Nature 331:84-86 (1988)]. IgG 부분으로 인해 디설파이드-연결된 이량체 구조를 갖는 융합 단백질은 단량체성 TR4 단백질 또는 단백질 단편 단 독 보다 다른 분자를 결합시키고 중화시키는데 보다 효과적일 수 있다[참조 문헌: Fountoulakis et al., J. Biochem., 270:3958-3964 (1995)]. 따라서, 본 발명의 항체는 TR4와 같은 TR4 폴리펩티드의 전부 또는 일부를 포함하는 융합 단백질에 결합할 수 있다.

당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여, 단일 또는 다중 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 신규한 돌연변이 단백질 또는 '뮤테인'을 제조할 수 있다. 이러한 변형된 폴리펩티드는, 예를 들면, 증진된 활성 또는 증가된 안정성을 나타낼 수 있다. 부가적으로, 이들은 적어도 특정 정제 조건 및 저장 조건하에서 상응하는 천연 폴리펩티드보다 고수율로 정제될 수 있고 보다 우수한 용해도를 나타낼 수 있다. 본 발명의 항체는 또한 이러한 변형된 TR4 폴리펩티드 또는 TR4 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 결합할 수 있다.

예를 들어, 막 결합된 단백질의 세포외 도메인 또는 분비된 단백질의 성숙한 형태(들)을 포함하는 다수의 단백질에 있어서, 하나 이상의 아미노산이 생물학적 기능의 실질적인 손실, 또는 특정 항체에 의해 결합되는 능력의 손실 없이 N-말단 또는 C-말단으로부터 결실될 수 있다는 것은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌[참조: Ron et al., J Biol. Chem., 268: 2984-2988 (1993)]에서 비록 3, 8 또는 27개의 아미노-말단 아미노산 잔기가 생략되었더라도 헤파린 결합 활성을 가진 변형된 KGF 단백질에 대해 보고되었다. 본 발명의 경우에, TR4가 사멸 도메인 함유 수용체(DDCR) 폴리펩티드 패밀리의 구성원이기 때문에, 서열번호 1중의 109 위치에서 시스테인 잔기까지 N-말단 아미노산의 결실체는 아폽토시스를 유도하는 능 력과 같은 일부 생물학적 활성을 보유할 수 있다. 서열번호 1중의 위치 109에서의 시스테인 잔기(C-109)을 포함하는 추가적 N-말단 결실체를 가진 폴리펩티드는 이러한 생물학적 활성을 보유하리라 기대되지 않는데, 그 이유는 이러한 잔기가 패밀리 구성원중에서 보존되고, 리간드 결합에 필요한 구조적 안정성을 제공하는 디설파이드 브릿지를 형성하는데 요구될 수 있기 때문이다.

그러나, 단백질의 N-말단으로부터의 하나 이상의 아미노산의 결실이 단백질의 하나 이상의 생물학적 기능을 변형시키거나 상실시킬지라도, 다른 기능적 활성(예: 생물학적 활성, 다량체형성 능력, TR4 리간드(예: TRAIL)에 결합하는 능력)은 여전히 보유될 수 있다. 예를 들면, TR4 폴리펩티드의 완전한 또는 성숙한 형을 인식하는 항체를 유도하고/하거나 이에 결합할 수 있는 단축된 TR4 폴리펩티드의 능력은, 완전한 또는 성숙한 폴리펩티드의 잔기의 많은 부분이 N-말단으로부터 제거되는 경우에도, 일반적으로 보유될 것이다. 완전한 폴리펩티드의 N-말단 잔기가 결여된 특정 폴리펩티드가 이러한 면역학적 활성을 보유하는지는 본원에 기술된 통상의 방법 및 당업계에 공지된 그 밖의 방법에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 다수의 결실된 N-말단 아미노산 잔기를 가진 TR4 폴리펩티드는 일부 생물학적 또는 면역원성 활성을 보유할 수 있을 것이다. 실제로, 6개와 같이 적은 TR4 아미노산 잔기로 구성된 펩티드는 종종 면역 반응을 일으킬 수 있다.

따라서, 본 발명은 463번 위치에 있는 세린 잔기 이하 미만까지 서열번호 1의 TR4의 아미노산 서열의 아미노 말단으로부터 하나 이상의 잔기가 결실된 폴리펩티드 및 이러한 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 결합하는 항체를 추 가로 제공한다. 특히, 본 발명은 서열번호 1의 잔기 n^1-468(여기서, n^1은 서열 번호 1중의 아미노산 잔기의 위치에 상응하는 2 내지 463의 정수이다)의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다.

보다 특히, 본 발명은 서열번호 1의 TR4 서열의 다음 잔기의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다: A-2 내지 E-468; P-3 내지 E-468; P-4 내지 E-468; P-5 내지 E-468; A-6 내지 E-468; R-7 내지 E-468; V-8 내지 E-468; H-9 내지 E-468; L-10 내지 E-468; G-11 내지 E-468; A-12 내지 E-468; F-13 내지 E-468; L-14 내지 E-468; A-15 내지 E-468; V-16 내지 E-468; T-17 내지 E-468; P-18 내지 E-468; N-19 내지 E-468; P-20 내지 E-468; G-21 내지 E-468; S-22 내지 E-468; A-23 내지 E-468; A-24 내지 E-468; S-25 내지 E-468; G-26 내지 E-468; T-27 내지 E-468; E-28 내지 E-468; A-29 내지 E-468; A-30 내지 E-468; A-31 내지 E-468; A-32 내지 E-468; T-33 내지 E-468; P-34 내지 E-468; S-35 내지 E-468; K-36 내지 E-468; V-37 내지 E 468; W-38 내지 E-468; G-39 내지 E-468; S-40 내지 E-468; S-41 내지 E-468; A-42 내지 E-468; G-43 내지 E-468; R-44 내지 E-468; I-45 내지 E-468; E-46 내지 E-468; P-47 내지 E-468; R-48 내지 E-468; G-49 내지 E-468; G-50 내지 E-468; G-51 내지 E-468; R-52 내지 E-468; G-53 내지 E-468; A-54 내지 E-468; L-55 내지 E-468; P-56 내지 E-468; T-57 내지 E-468; S-58 내지 E-468; M-59 내지 E-468; G-60 내지 E-468; Q-61 내지 E-468; H-62 내지 E-468; G-63 내지 E-468; P-64 내지 E-468; S-65 내지 E- 468; A-66 내지 E-468; R-67 내지 E-468; A-68 내지 E-468; R-69 내지 E-468; A-70 내지 E-468; G-71 내지 E-468; R-72 내지 E-468; A-73 내지 E-468; P-74 내지 E-468; G-75 내지 E-468; P-76 내지 E-468; R-77 내지 E-468; P-78 내지 E-468; A-79 내지 E-468; R-80 내지 E-468; E-81 내지 E-468; A-82 내지 E-468; S-83 내지 E-468; P-84 내지 E-468; R-85 내지 E-468; L-86 내지 E-468; R-87 내지 E-468; V-88 내지 E-468; H-89 내지 E-468; K-90 내지 E-468; T-91 내지 E-468; F-92 내지 E-468; K-93 내지 E-468; F-94 내지 E-468; V-95 내지 E-468; V-96 내지 E-468; V-97 내지 E-468; G-98 내지 E-468; V-99 내지 E-468; L-100 내지 E-468; L-101 내지 E-468; Q-102 내지 E-468; V-103 내지 E-468; V-104 내지 E-468; P-105 내지 E-468; S-106 내지 E-468; S-107 내지 E-468; A-108 내지 E-468; A-109 내지 E-468; T-110 내지 E-468; I-111 내지 E-468; K-112 내지 E-468; L-113 내지 E-468; H-114 내지 E-468; D-115 내지 E-468; Q-116 내지 E-468; S-117 내지 E-468; I-118 내지 E-468; G-119 내지 E-468; T-120 내지 E-468; Q-121 내지 E-468; Q-122 내지 E-468; W-123 내지 E-468; E-124 내지 E-468; H-125 내지 E-468; S-126 내지 E-468; P-127 내지 E-468; L-128 내지 E-468; G-129 내지 E-468; E-130 내지 E-468; L-131 내지 E-468; C-132 내지 E-468; P-133 내지 E-468; P-134 내지 E-468; G-135 내지 E-468; S-136 내지 E-468; H-137 내지 E-468; R-138 내지 E-468; S-139 내지 E-468; E-140 내지 E-468; R-141 내지 E-468; P-142 내지 E-468; G-143 내지 E-468; A-144 내지 E-468; C-145 내지 E-468; N-146 내지 E-468; R-147 내지 E-468; C-148 내지 E-468; T-149 내지 E-468; E-150 내지 E-468; G-151 내지 E-468; V-152 내지 E- 468; G-153 내지 E-468; Y-154 내지 E-468; T-155 내지 E-468; N-156 내지 E-468; A-157 내지 E-468; S-158 내지 E-468; N-159 내지 E-468; N-160 내지 E-468; L-161 내지 E-468; F-162 내지 E-468; A-163 내지 E-468; C-164 내지 E-468; L-165 내지 E-468; P-166 내지 E-468; C-167 내지 E-468; T-168 내지 E-468; A-169 내지 E-468; C-170 내지 E-468; K-171 내지 E-468; S-172 내지 E-468; D-173 내지 E-468; E-174 내지 E-468; E-175 내지 E-468; E-176 내지 E-468; R-177 내지 E-468; S-178 내지 E-468; P-179 내지 E-468; C-180 내지 E-468; T-181 내지 E-468; T-182 내지 E-468; T-183 내지 E-468; R-184 내지 E-468; N-185 내지 E-468; T-186 내지 E-468; A-187 내지 E-468; C-188 내지 E-468; Q-189 내지 E-468; C-190 내지 E-468; K-191 내지 E-468; P-192 내지 E-468; G-193 내지 E-468; T-194 내지 E-468; F-195 내지 E-468; R-196 내지 E-468; N-197 내지 E-468; D-198 내지 E-468; N-199 내지 E-468; S-200 내지 E-468; A-201 내지 E-468; E-202 내지 E-468; M-203 내지 E-468; C-204 내지 E-468; R-205 내지 E-468; K-206 내지 E-468; C-207 내지 E-468; S-208 내지 E-468; T-209 내지 E-468; G-210 내지 E-468; C-211 내지 E-468; P-212 내지 E-468; R-213 내지 E-468; G-214 내지 E-468; M-215 내지 E-468; V-216 내지 E-468; K-217 내지 E-468; V-218 내지 E-468; K-219 내지 E-468; D-220 내지 E-468; C-221 내지 E-468; T-222 내지 E-468; P-223 내지 E-468; W-224 내지 E-468; S-225 내지 E-468; D-226 내지 E-468; I-227 내지 E-468; E-228 내지 E-468; C-229 내지 E-468; V-230 내지 E-468; H-231 내지 E-468; K-232 내지 E-468; E-233 내지 E-468; S-234 내지 E-468; G-235 내지 E-468; N-236 내지 E-468; G-237 내지 E- 468; H-238 내지 E-468; N-239 내지 E-468; I-240 내지 E-46

8; W-241 내지 E-468; V-242 내지 E-468; I-243 내지 E-468; L-244 내지 E-468; V-245 내지 E-468; V-246 내지 E-468; T-247 내지 E-468; L-248 내지 E-468; V-249 내지 E-468; V-250 내지 E-468; P-251 내지 E-468; L-252 내지 E-468; L-253 내지 E-468; L-254 내지 E-468; V-255 내지 E-468; A-256 내지 E-468; V-257 내지 E-468; L-258 내지 E-468; I-259 내지 E-468; V-260 내지 E-468; C-261 내지 E-468; C-262 내지 E-468; C-263 내지 E-468; I-264 내지 E-468; G-265 내지 E-468; S-266 내지 E-468; G-267 내지 E-468; C-268 내지 E-468; G-269 내지 E-468; G-270 내지 E-468; D-271 내지 E-468; P-272 내지 E-468; K-273 내지 E-468; C-274 내지 E-468; M-275 내지 E-468; D-276 내지 E-468; R-277 내지 E-468; V-278 내지 E-468; C-279 내지 E-468; F-280 내지 E-468; W-281 내지 E-468; R-282 내지 E-468; L-283 내지 E-468; G-284 내지 E-468; L-285 내지 E-468; L-286 내지 E-468; R-287 내지 E-468; G-288 내지 E-468; P-289 내지 E-468; G-290 내지 E-468; A-291 내지 E-468; E-292 내지 E-468; D-293 내지 E-468; N-294 내지 E-468; A-295 내지 E-468; H-296 내지 E-468; N-297 내지 E-468; E-298 내지 E-468; I-299 내지 E-468; L-300 내지 E-468; S-301 내지 E-468; N-302 내지 E-468; A-303 내지 E-468; D-304 내지 E-468; S-305 내지 E-468; L-306 내지 E-468; S-307 내지 E-468; T-308 내지 E-468; F-309 내지 E-468; V-310 내지 E-468; S-311 내지 E-468; E-312 내지 E-468; Q-313 내지 E-468; Q-314 내지 E-468; M-315 내지 E-468; E-316 내지 E-468; S-317 내지 E-468; Q-318 내지 E-468; E-319 내지 E-468; P-320 내지 E-468; A-321 내지 E-468; D-322 내지 E-468; L-323 내지 E-468; T-324 내지 E-468; G-325 내지 E-468; V-326 내지 E-468; T-327 내지 E-468; V-328 내지 E-468; Q-329 내지 E-468; S-330 내지 E-468; P-331 내지 E-468; G-332 내지 E-468; E-333 내지 E-468; A-334 내지 E-468; Q-335 내지 E-468; C-336 내지 E-468; L-337 내지 E-468; L-338 내지 E-468; G-339 내지 E-468; P-340 내지 E-468; A-341 내지 E-468; E-342 내지 E-468; A-343 내지 E-468; E-344 내지 E-468; G-345 내지 E-468; S-346 내지 E-468; Q-347 내지 E-468; R-348 내지 E-468; R-349 내지 E-468; R-350 내지 E-468; L-351 내지 E-468; L-352 내지 E-468; V-353 내지 E-468; P-354 내지 E-468; A-355 내지 E-468; N-356 내지 E-468; G-357 내지 E-468; A-358 내지 E-468; D-359 내지 E-468; P-360 내지 E-468; T-361 내지 E-468; E-362 내지 E-468; T-363 내지 E-468; L-364 내지 E-468; M-365 내지 E-468; L-366 내지 E-468; F-367 내지 E-468; F-368 내지 E-468; D-369 내지 E-468; K-370 내지 E-468; F-371 내지 E-468; A-372 내지 E-468; N-373 내지 E-468; I-374 내지 E-468; V-375 내지 E-468; P-376 내지 E-468; F-377 내지 E-468; D-378 내지 E-468; S-379 내지 E-468; W-380 내지 E-468; D-381 내지 E-468; Q-382 내지 E-468; L-383 내지 E-468; M-384 내지 E-468; R-385 내지 E-468; Q-386 내지 E-468; L-387 내지 E-468; D-388 내지 E-468; L-389 내지 E-468; T-390 내지 E-468; K-391 내지 E-468; N-392 내지 E-468; E-393 내지 E-468; I-394 내지 E-468; D-395 내지 E-468; V-396 내지 E-468; V-397 내지 E-468; R-398 내지 E-468; A-399 내지 E-468; G-400 내지 E-468; T-401 내지 E-468; A-402 내지 E-468; G-403 내지 E-468; P-404 내지 E-468; G-405 내지 E-468; D-406 내지 E-468; A-407 내지 E- 468; L-408 내지 E-468; Y-409 내지 E-468; A-410 내지 E-468; M-411 내지 E-468; L-412 내지 E-468; M-413 내지 E-468; K-414 내지 E-468; W-415 내지 E-468; V-416 내지 E-468; N-417 내지 E-468; K-418 내지 E-468; T-419 내지 E-468; G-420 내지 E-468; R-421 내지 E-468; N-422 내지 E-468; A-423 내지 E-468; S-424 내지 E-468; I-425 내지 E-468; H-426 내지 E-468; T-427 내지 E-468; L-428 내지 E-468; L-429 내지 E-468; D-430 내지 E-468; A-431 내지 E-468; L-432 내지 E-468; E-433 내지 E-468; R-434 내지 E-468; M-435 내지 E-468; E-436 내지 E-468; E-437 내지 E-468; R-438 내지 E-468; H-439 내지 E-468; A-440 내지 E-468; K-441 내지 E-468; E-442 내지 E-468; K-443 내지 E-468; I-444 내지 E-468; Q-445 내지 E-468; D-446 내지 E-468; L-447 내지 E-468; L-448 내지 E-468; V-449 내지 E-468; D-450 내지 E-468; S-451 내지 E-468; G-452 내지 E-468; K-453 내지 E-468; F-454 내지 E-468; I-455 내지 E-468; Y-456 내지 E-468; L-457 내지 E-468; E-458 내지 E-468; D-459 내지 E-468; G-460 내지 E-468; T-461 내지 E-468; G-462 내지 E-468; 및/또는 S-463 내지 E-468.

또 다른 태양에서, TR4 폴리펩티드의 N-말단 결실체는 일반식 n^2 내지 238(여기서, n^2 은 서열번호 1의 확인된 아미노산 서열에 상응하는 2 내지 238의 수이다)로 기술될 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 서열번호 1의 TR4 세포외 도메인 서열의 다음 잔기의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이들로 이루어진 TR4의 N-말단 결실체에 결합한다: A-2 내지 H-238; P-3 내지 H-238; P-4 내지 H- 238; P-5 내지 H-238; A-6 내지 H-238; R-7 내지 H-238; V-8 내지 H-238; H-9 내지 H-238; L-10 내지 H-238; G-11 내지 H-238; A-12 내지 H-238; F-13 내지 H-238; L-14 내지 H-238; A-15 내지 H-238; V-16 내지 H-238; T-17 내지 H-238; P-18 내지 H-238; N-19 내지 H-238; P-20 내지 H-238; G-21 내지 H-238; S-22 내지 H-238; A-23 내지 H-238; A-24 내지 H-238; S-25 내지 H-238; G-26 내지 H-238; T-27 내지 H-238; E-28 내지 H-238; A-29 내지 H-238; A-30 내지 H-238; A-31 내지 H-238; A-32 내지 H-238; T-33 내지 H-238; P-34 내지 H-238; S-35 내지 H-238; K-36 내지 H-238; V-37 내지 H-238; W-38 내지 H-238; G-39 내지 H-238; S-40 내지 H-238; S-41 내지 H-238; A-42 내지 H-238; G-43 내지 H-238; R-44 내지 H-238; I-45 내지 H-238; E-46 내지 H-238; P-47 내지 H-238; R48 내지 H-238; G-49 내지 H-238; G-50 내지 H-238; G-51 내지 H-238; R-52 내지 H-238; G-53 내지 H-238; A-54 내지 H-238; L-55 내지 H-238; P-56 내지 H-238; T-57 내지 H-238; S-58 내지 H-238; M-59 내지 H-238; G-60 내지 H-238; Q-61 내지 H-238; H-62 내지 H-238; G-63 내지 H-238; P-64 내지 H-238; S-65 내지 H-238; A-66 내지 H-238; R-67 내지 H-238; A-68 내지 H-238; R-69 내지 H-238; A-70 내지 H-238; G-71 내지 H-238; R-72 내지 H-238; A-73 내지 H-238; P-74 내지 H-238; G-75 내지 H-238; P-76 내지 H-238; R-77 내지 H-238; P-78 내지 H-238; A-79 내지 H-238; R-80 내지 H-238; E-81 내지 H-238; A-82 내

지 H-238; S-83 내지 H-238; P-84 내지 H-238; R-85 내지 H-238; L-86 내지 H-238; R-87 내지 H-238; V-88 내지 H-238; H-89 내지 H-238; K-90 내지 H-238; T-91 내지 H-238; F-92 내지 H-238; K-93 내지 H-238; F-94 내지 H-238; V- 95 내지 H-238; V-96 내지 H-238; V-97 내지 H-238; G-98 내지 H-238; V-99 내지 H-238; L-100 내지 H-238; L-101 내지 H-238; Q-102 내지 H-238; V-103 내지 H-238; V-104 내지 H-238; P-105 내지 H-238; S-106 내지 H-238; S-107 내지 H-238; A-108 내지 H-238; A-109 내지 H-238; T-110 내지 H-238; I-111 내지 H-238; K-112 내지 H-238; L-113 내지 H-238; H-114 내지 H-238; D-115 내지 H-238; Q-116 내지 H-238; S-117 내지 H-238; I-118 내지 H-238; G-119 내지 H-238; T-120 내지 H-238; Q-121 내지 H-238; Q-122 내지 H-238; W-123 내지 H-238; E-124 내지 H-238; H-125 내지 H-238; S-126 내지 H-238; P-127 내지 H-238; L-128 내지 H-238; G-129 내지 H-238; E-130 내지 H-238; L-131 내지 H-238; C-132 내지 H-238; P-133 내지 H-238; P-134 내지 H-238; G-135 내지 H-238; S-136 내지 H-238; H-137 내지 H-238; R-138 내지 H-238; S-139 내지 H-238; E-140 내지 H-238; R-141 내지 H-238; P-142 내지 H-238; G-143 내지 H-238; A-144 내지 H-238; C-145 내지 H-238; N-146 내지 H-238; R-147 내지 H-238; C-148 내지 H-238; T-149 내지 H-238; E-150 내지 H-238; G-151 내지 H-238; V-152 내지 H-238; G-153 내지 H-238; Y-154 내지 H-238; T-155 내지 H-238; N-156 내지 H-238; A-157 내지 H-238; S-158 내지 H-238; N-159 내지 H-238; N-160 내지 H-238; L-161 내지 H-238; F-162 내지 H-238; A-163 내지 H-238; C-164 내지 H-238; L-165 내지 H-238; P-166 내지 H-238; C-167 내지 H-238; T-168 내지 H-238; A-169 내지 H-238; C-170 내지 H-238; K-171 내지 H-238; S-172 내지 H-238; D-173 내지 H-238; E-174 내지 H-238; E-175 내지 H-238; E-176 내지 H-238; R-177 내지 H-238; S-178 내지 H-238; P-179 내지 H-238; C-180 내지 H-238; T-181 내지 H-238; T-182 내지 H-238; T-183 내지 H-238; R-184 내지 H-238; N-185 내지 H-238; T-186 내지 H-238; A-187 내지 H-238; C-188 내지 H-238; Q-189 내지 H-238; C-190 내지 H-238; K-191 내지 H-238; P-192 내지 H-238; G-193 내지 H-238; T-194 내지 H-238; F-195 내지 H-238; R-196 내지 H-238; N-197 내지 H-238; D-198 내지 H-238; N-199 내지 H-238; S-200 내지 H-238; A-201 내지 H-238; E-202 내지 H-238; M-203 내지 H-238; C-204 내지 H-238; R-205 내지 H-238; K-206 내지 H-238; C-207 내지 H-238; S-208 내지 H-238; T-209 내지 H-238; G-210 내지 H-238; C-211 내지 H-238; P-212 내지 H-238; R-213 내지 H-238; G-214 내지 H-238; M-215 내지 H-238; V-216 내지 H-238; K-217 내지 H-238; V-218 내지 H-238; K-219 내지 H-238; D-220 내지 H-238; C-221 내지 H-238; T-222 내지 H-238; P-223 내지 H-238; W-224 내지 H-238; S-225 내지 H-238; D-226 내지 H-238; I-227 내지 H-238; E-228 내지 H-238; C-229 내지 H-238; V-230 내지 H-238; H-231 내지 H-238; K-232 내지 H-238; 및/또는 E-233 내지 H-238.

상기 언급한 바와 같이, 단백질의 C-말단으로부터의 하나 이상의 아미노산의 결실이 단백질의 하나 이상의 생물학적 기능을 변형시키거나 상실시킬지라도, 다른 기능적 활성(예: 생물학적 활성, 다량체형성 능력, DR4 리간드(예: TRAIL)에 결합하는 능력)은 여전히 보유될 수 있다. 예를 들면, TR4 폴리펩티드의 완전한 또는 성숙한 형을 인식하는 항체를 유도하고/하거나 이에 결합할 수 있는 단축된 TR4 폴리펩티드의 능력은, 완전한 또는 성숙한 폴리펩티드의 잔기의 많은 부분이 C-말단으로부터 제거되는 경우에도, 일반적으로 보유될 것이다. 완전한 폴리펩티드의 C- 말단 잔기가 결여된 특정 폴리펩티드가 이러한 면역학적 활성을 보유하는지는 본원에 기술된 통상의 방법 및 당업계에 공지된 그 밖의 방법에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 다수의 결실된 C-말단 아미노산 잔기를 가진 TR4 폴리펩티드는 특정 생물학적 또는 면역원성 활성을 보유할 수 있을 것이다. 실제로, 6개와 같이 적은 TR4 아미노산 잔기로 구성된 펩티드는 종종 면역 반응을 일으킬 수 있다.

따라서, 본 발명은 30번 위치에 있는 알라닌 잔기 이하까지 서열번호 1의 TR4 폴리펩티드 서열의 아미노산 서열의 카복시 말단으로부터 하나 이상의 잔기가 결실된 폴리펩티드, 및 이러한 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 결합하는 항체를 추가로 제공한다. 특히, 본 발명은 서열번호 1의 잔기 24-m^1 (여기서, m^1 은 서열 번호 1중의 아미노산 잔기의 위치에 상응하는 30 내지 467의 정수이다)의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다.

보다 특히, 본 발명은 서열번호 1의 TR4 서열의 다음 잔기의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다: A-24 내지 L-467; A-24 내지 S-466; A-24 내지 V-465; A-24 내지 A-464; A-24 내지 S-463; A-24 내지 G-462; A-24 내지 T-461; A-24 내지 G-460; A-24 내지 D-459; A-24 내지 E-458; A-24 내지 L-457; A-24 내지 Y-456; A-24 내지 I-455; A-24 내지 F-454; A-24 내지 K-453; A-24 내지 G-452; A-24 내지 S-451; A-24 내지 D-450; A-24 내지 V-449; A-24 내지 L-448; A-24 내지 L-447; A-24 내지 D-446; A-24 내지 Q-445; A-24 내지 I-444; A-24 내지 K-443; A-24 내지 E-442; A-24 내지 K-441; A- 24 내지 A-440; A-24 내지 H-439; A-24 내지 R-438; A-24 내지 E-437; A-24 내지 E-436; A-24 내지 M-435; A-24 내지 R-434; A-24 내지 E-433; A-24 내지 L-432; A-24 내지 A-431; A-24 내지 D-430; A-24 내지 L-429; A-24 내지 L-428; A-24 내지 T-427; A-24 내지 H-426; A-24 내지 I-425; A-24 내지 S-424; A-24 내지 A-423; A-24 내지 N-422; A-24 내지 R-421; A-24 내지 G-420; A-24 내지 T-419; A-24 내지 K-418; A-24 내지 N-417; A-24 내지 V-416; A-24 내지 W-415; A-24 내지 K-414; A-24 내지 M-413; A-24 내지 L-412; A-24 내지 M-411; A-24 내지 A-410; A-24 내지 Y-409; A-24 내지 L-408; A-24 내지 A-407; A-24 내지 D-406; A-24 내지 G-405; A-24 내지 P-404; A-24 내지 G-403; A-24 내지 A-402; A-24 내지 T-401; A-24 내지 G-400; A-24 내지 A-399; A-24 내지 R-398; A-24 내지 V-397; A-24 내지 V-396; A-24 내지 D-395; A-2

4 내지 I-394; A-24 내지 E-393; A-24 내지 N-392; A-24 내지 K-391; A-24 내지 T-390; A-24 내지 L-389; A-24 내지 D-388; A-24 내지 L-387; A-24 내지 Q-386; A-24 내지 R-385; A-24 내지 M-384; A-24 내지 L-383; A-24 내지 Q-382; A-24 내지 D-381; A-24 내지 W-380; A-24 내지 S-379; A-24 내지 D-378; A-24 내지 F-377; A-24 내지 P-376; A-24 내지 V-375; A-24 내지 I-374; A-24 내지 N-373; A-24 내지 A-372; A-24 내지 F-371; A-24 내지 K-370; A-24 내지 D-369; A-24 내지 F-368; A-24 내지 F-367; A-24 내지 L-366; A-24 내지 M-365; A-24 내지 L-364; A-24 내지 T-363; A-24 내지 E-362; A-24 내지 T-361; A-24 내지 P-360; A-24 내지 D-359; A-24 내지 A-358; A-24 내지 G-357; A-24 내지 N-356; A-24 내지 A-355; A-24 내지 P-354; A-24 내지 V-353; A-24 내지 L-352; A-24 내지 L-351; A- 24 내지 R-350; A-24 내지 R-349; A-24 내지 R-348; A-24 내지 Q-347; A-24 내지 S-346; A-24 내지 G-345; A-24 내지 E-344; A-24 내지 A-343; A-24 내지 E-342; A-24 내지 A-341; A-24 내지 P-340; A-24 내지 G-339; A-24 내지 L-338; A-24 내지 L-337; A-24 내지 C-336; A-24 내지 Q-335; A-24 내지 A-334; A-24 내지 E-333; A-24 내지 G-332; A-24 내지 P-331; A-24 내지 S-330; A-24 내지 Q-329; A-24 내지 V-328; A-24 내지 T-327; A-24 내지 V-326; A-24 내지 G-325; A-24 내지 T-324; A-24 내지 L-323; A-24 내지 D-322; A-24 내지 A-321; A-24 내지 P-320; A-24 내지 E-319; A-24 내지 Q-318; A-24 내지 S-317; A-24 내지 E-316; A-24 내지 M-315; A-24 내지 Q-314; A-24 내지 Q-313; A-24 내지 E-312; A-24 내지 S-311; A-24 내지 V-310; A-24 내지 F-309; A-24 내지 T-308; A-24 내지 S-307; A-24 내지 L-306; A-24 내지 S-305; A-24 내지 D-304; A-24 내지 A-303; A-24 내지 N-302; A-24 내지 S-301; A-24 내지 L-300; A-24 내지 I-299; A-24 내지 E-298; A-24 내지 N-297; A-24 내지 H-296; A-24 내지 A-295; A-24 내지 N-294; A-24 내지 D-293; A-24 내지 E-292; A-24 내지 A-291; A-24 내지 G-290; A-24 내지 P-289; A-24 내지 G-288; A-24 내지 R-287; A-24 내지 L-286; A-24 내지 L-285; A-24 내지 G-284; A-24 내지 L-283; A-24 내지 R-282; A-24 내지 W-281; A-24 내지 F-280; A-24 내지 C-279; A-24 내지 V-278; A-24 내지 R-277; A-24 내지 D-276; A-24 내지 M-275; A-24 내지 C-274; A-24 내지 K-273; A-24 내지 P-272; A-24 내지 D-271; A-24 내지 G-270; A-24 내지 G-269; A-24 내지 C-268; A-24 내지 G-267; A-24 내지 S-266; A-24 내지 G-265; A-24 내지 I-264; A-24 내지 C-263; A-24 내지 C-262; A-24 내지 C-261; A- 24 내지 V-260; A-24 내지 I-259; A-24 내지 L-258; A-24 내지 V-257; A-24 내지 A-256; A-24 내지 V-255; A-24 내지 L-254; A-24 내지 L-253; A-24 내지 L-252; A-24 내지 P-251; A-24 내지 V-250; A-24 내지 V-249; A-24 내지 L-248; A-24 내지 T-247; A-24 내지 V-246; A-24 내지 V-245; A-24 내지 L-244; A-24 내지 I-243; A-24 내지 V-242; A-24 내지 W-241; A-24 내지 I-240; A-24 내지 N-239; A-24 내지 H-238; A-24 내지 G-237; A-24 내지 N-236; A-24 내지 G-235; A-24 내지 S-234; A-24 내지 E-233; A-24 내지 K-232; A-24 내지 H-231; A-24 내지 V-230; A-24 내지 C-229; A-24 내지 E-228; A-24 내지 I-227; A-24 내지 D-226; A-24 내지 S-225; A-24 내지 W-224; A-24 내지 P-223; A-24 내지 T-222; A-24 내지 C-221; A-24 내지 D-220; A-24 내지 K-219; A-24 내지 V-218; A-24 내지 K-217; A-24 내지 V-216; A-24 내지 M-215; A-24 내지 G-214; A-24 내지 R-213; A-24 내지 P-212; A-24 내지 C-211; A-24 내지 G-210; A-24 내지 T-209; A-24 내지 S-208; A-24 내지 C-207; A-24 내지 K-206; A-24 내지 R-205; A-24 내지 C-204; A-24 내지 M-203; A-24 내지 E-202; A-24 내지 A-201; A-24 내지 S-200; A-24 내지 N-199; A-24 내지 D-198; A-24 내지 N-197; A-24 내지 R-196; A-24 내지 F-195; A-24 내지 T-194; A-24 내지 G-193; A-24 내지 P-192; A-24 내지 K-191; A-24 내지 C-190; A-24 내지 Q-189; A-24 내지 C-188; A-24 내지 A-187; A-24 내지 T-186; A-24 내지 N-185; A-24 내지 R-184; A-24 내지 T-183; A-24 내지 T-182; A-24 내지 T-181; A-24 내지 C-180; A-24 내지 P-179; A-24 내지 S-178; A-24 내지 R-177; A-24 내지 E-176; A-24 내지 E-175; A-24 내지 E-174; A-24 내지 D-173; A-24 내지 S-172; A-24 내지 K-171; A- 24 내지 C-170; A-24 내지 A-169; A-24 내지 T-168; A-24 내지 C-167; A-24 내지 P-166; A-24 내지 L-165; A-24 내지 C-164; A-24 내지 A-163; A-24 내지 F-162; A-24 내지 L-161; A-24 내지 N-160; A-24 내지 N-159; A-24 내지 S-158; A-24 내지 A-157; A-24 내지 N-] 156; A-24 내지 T-155; A-24 내지 Y-154; A-24 내지 G-153; A-24 내지 V-152; A-24 내지 G-151; A-24 내지 E-150; A-24 내지 T-149; A-24 내지 C-148; A-24 내지 R-147; A-24 내지 N-146; A-24 내지 C-145; A-24 내지 A-144; A-24 내지 G-143; A-24 내지 P-142; A-24 내지 R-141; A-24 내지 E-140; A-24 내지 S-139; A-24 내지 R-138; A-24 내지 H-137; A-24 내지 S-136; A-24 내지 G-135; A-24 내지 P-134; A-24 내지 P-133; A-24 내지 C-132; A-24 내지 L-131; A-24 내지 E-130; A-24 내지 G-129; A-24 내지 L-128; A-24 내지 P-127; A-24 내지 S-126; A-24 내지 H-125; A-24 내지 E-124; A-24 내지 W-123; A-24 내지 Q-122; A-24 내지 Q-121; A-24 내지 T-120; A-24 내지 G-119; A-24 내지 I-118; A-24 내지 S-117; A-24 내지 Q-116; A-24 내지 D-115; A-24 내지 H-114; A-24 내지 L-113; A-24 내지 K-112; A-24 내지 I-111; A-24 내지 T-110; A-24 내지 A-109; A-24 내지 A-108; A-24 내지 S-107; A-24 내지 S-106; A-24 내지 P-105; A-24 내지 V-104; A-24 내지 V-103; A-24 내지 Q-102; A-24 내지 L-101; A-24 내지 L-100; A-24 내지 V-99; A-24 내지 G-98; A-24 내지 V-97; A-24 내지 V-96; A-24 내지 V-95; A-24 내지 F-94; A-24 내지 K-93; A-24 내지 F-92; A-24 내지 T-91; A-24 내지 K-90; A-24 내지 H-89; A-24 내지 V-88; A-24 내지 R-87; A-24 내지 L-86; A-24 내지 R-85; A-24 내지 P-84; A-24 내지 S-83; A-24 내지 A-82; A-24 내지 E-81; A-24 내지 R-80; A-24 내 지 A-79; A-24 내지 P-78; A-24 내지 R-77; A-24 내지 P-76; A-24 내지 G-75; A-24 내지 P-74; A-24 내지 A-73; A-24 내지 R-72; A-24 내지 G-71; A-24 내지 A-70; A-24 내지 R-69; A-24 내지 A-68; A-24 내지 R-67; A-24 내지 A-66; A-24 내지 S-65; A-24 내지 P-64; A-24 내지 G-63; A-24 내지 H-62; A-24 내지 Q-61; A-24 내지 G-60; A-24 내지 M-59; A-24 내지 S-58; A-24 내지 T-57; A-24 내지 P-56; A-24 내지 L-55; A-24 내지 A-54; A-24 내지 G-53; A-24 내지 R-52; A-24 내지 G-51;

A-24 내지 G-50; A-24 내지 G-49; A-24 내지 R-48; A-24 내지 P-47; A-24 내지 E-46; A-24 내지 I-45; A-24 내지 R-44; A-24 내지 G-43; A-24 내지 A-42; A-24 내지 S-41; A-24 내지 S-40; A-24 내지 G-39; A-24 내지 W-38; A-24 내지 V-37; A-24 내지 K-36; A-24 내지 S-35; A-24 내지 P-34; A-24 내지 T-33; A-24 내지 A-32; A-24 내지 A-31; 및/또는 A-24 내지 A-30.

또 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 일반식 24-m^2 (여기서, m^2 는 서열 번호 1의 확인된 아미노산 서열에 상응하는 30 내지 238의 수이다)로 기술될 수 있는 TR4 폴리펩티드의 C-말단 결실체에 결합한다. 구체적 태양에서, 본 발명은 서열번호 1의 TR4 세포외 도메인 서열의 다음 잔기의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 TR4 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다: A-24 내지 G-237; A-24 내지 N-236; A-24 내지 G-235; A-24 내지 S-234; A-24 내지 E-233; A-24 내지 K-232; A-24 내지 H-231; A-24 내지 V-230; A-24 내지 C-229; A-24 내지 E-228; A-24 내지 I-227; A-24 내지 D-226; A-24 내지 S-225; A-24 내지 W-224; A-24 내지 P-223; A-24 내지 T-222; A-24 내지 C-221; A-24 내지 D-220; A-24 내지 K-219; A-24 내지 V-218; A-24 내지 K-217; A-24 내지 V-216; A-24 내지 M-215; A-24 내지 G-214; A-24 내지 R-213; A-24 내지 P-212; A-24 내지 C-211; A-24 내지 G-210; A-24 내지 T-209; A-24 내지 S-208; A-24 내지 C-207; A-24 내지 K-206; A-24 내지 R-205; A-24 내지 C-204; A-24 내지 M-203; A-24 내지 E-202; A-24 내지 A-201; A-24 내지 S-200; A-24 내지 N-199; A-24 내지 D-198; A-24 내지 N-197; A-24 내지 R-196; A-24 내지 F-195; A-24 내지 T-194; A-24 내지 G-193; A-24 내지 P-192; A-24 내지 K-191; A-24 내지 C-190; A-24 내지 Q-189; A-24 내지 C-188; A-24 내지 A-187; A-24 내지 T-186; A-24 내지 N-185; A-24 내지 R-184; A-24 내지 T-183; A-24 내지 T-182; A-24 내지 T-181; A-24 내지 C-180; A-24 내지 P-179; A-24 내지 S-178; A-24 내지 R-177; A-24 내지 E-176; A-24 내지 E-175; A-24 내지 E-174; A-24 내지 D-173; A-24 내지 S-172; A-24 내지 K-171; A-24 내지 C-170; A-24 내지 A-169; A-24 내지 T-168; A-24 내지 C-167; A-24 내지 P-166; A-24 내지 L-165; A-24 내지 C-164; A-24 내지 A-163; A-24 내지 F-162; A-24 내지 L-161; A-24 내지 N-160; A-24 내지 N-159; A-24 내지 S-158; A-24 내지 A-157; A-24 내지 N-156; A-24 내지 T-155; A-24 내지 Y-154; A-24 내지 G-153; A-24 내지 V-152; A-24 내지 G-151; A-24 내지 E-150; A-24 내지 T-149; A-24 내지 C-148; A-24 내지 R-147; A-24 내지 N-146; A-24 내지 C-145; A-24 내지 A-144; A-24 내지 G-143; A-24 내지 P-142; A-24 내지 R-141; A-24 내지 E-140; A-24 내지 S-139; A-24 내지 R-138; A-24 내지 H-137; A-24 내지 S-136; A-24 내지 G-135; A-24 내지 P-134; A-24 내지 P-133; A-24 내지 C-132; A-24 내지 L-131; A-24 내지 E-130; A-24 내지 G-129; A-24 내지 L-128; A-24 내지 P-127; A-24 내지 S-126; A-24 내지 H-125; A-24 내지 E-124; A-24 내지 W-123; A-24 내지 Q-122; A-24 내지 Q-121; A-24 내지 T-120; A-24 내지 G-119; A-24 내지 I-118; A-24 내지 S-117; A-24 내지 Q-116; A-24 내지 D-115; A-24 내지 H-114; A-24 내지 L-113 ; A-24 내지 K-112; A-24 내지 I-111; A-24 내지 T-110; A-24 내지 A-109; A-24 내지 A-108; A-24 내지 S-107; A-24 내지 S-106; A-24 내지 P-105; A-24 내지 V-104; A-24 내지 V-103; A-24 내지 Q-102; A-24 내지 L-101; A-24 내지 L-100; A-24 내지 V-99; A-24 내지 G-98 ; A-24 내지 내지 A-24 내지 V-96; A-24 내지 V-95; A-24 내지 F-94; A-24 내지 K-93; A-24 내지 F-92; A-24 내지 T-91; A-24 내지 K-90; A-24 내지 H-89; A-24 내지 V-88; A-24 내지 R-87; A-24 내지 L-86; A-24 내지 R-85; A-24 내지 P-84; A-24 내지 S-83; A-24 내지 A-82; A-24 내지 E-81; A-24 내지 R-80; A-24 내지 A-79; A-24 내지 P-78; A-24 내지 R-77; A-24 내지 P-76; A-24 내지 G-75; A-24 내지 P-74; A-24 내지 A-73; A-24 내지 R-72; A-24 내지 G-71; A-24 내지 A-70; A-24 내지 R-69; A-24 내지 A-68; A-24 내지 R-67; A-24 내지 A-66; A-24 내지 S-65; A-24 내지 P-64; A-24 내지 G-63; A-24 내지 H-62; A-24 내지 Q-61; A-24 내지 G-60; A-24 내지 M-59; A-24 내지 S-58; A-24 내지 T-57; A-24 내지 P-56; A-24 내지 L-55; A-24 내지 A-54; A-24 내지 G-53; A-24 내지 R-52; A-24 내지 G-51; A-24 내지 G-50; A-24 내지 G-49; A-24 내지 R-48; A-24 내지 P-47; A-24 내지 E-46; A-24 내지 I-45; A-24 내지 R-44; A-24 내지 G-43; A-24 내지 A-42; A-24 내지 S- 41; A-24 내지 S-40; A-24 내지 G- 39; A-24 내지 W-38; A-24 내지 V-37; A-24 내지 K-36; A-24 내지 S- 35; A-24 내지 P-34; A-24 내지 T-33; A-24 내지 A-32; A-24 내지 A-31; 및/또는 A-24 내지 A-30.

본 발명은 서열번호 1의 C-221 미만으로 서열번호 1의 TR4 폴리펩티드의 아미노산 서열의 카복시 말단으로부터의 하나 이상의 잔기를 갖는 폴리펩티드에 결합하는 항체를 추가로 제공한다. 특히, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열의 잔기 1-m^9 (여기서, m^9 는 221 내지 468 범위의 정수이다)의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공하고, 잔기 C-221은 TR4 단백질의 수용체 결합 활성에 요구되는 것으로 믿어지는 완전한 TR4 폴리펩티드(서열번호 1에 제시됨)의 C-말단으로부터의 첫 번째 잔기의 위치이다.

또한, 본 발명은 서열번호 1의 잔기 n^1-m^1 및/또는 n^2-m^2 (여기서, n^1, n^2, m^1 및 m^2 는 상기한 바와 같은 정수이다)를 갖는 것으로 일반적으로 기술될 수 있는, TR4 폴리펩티드의 아미노 및 카복시 말단 모두로부터 하나 이상의 아미노산이 결실된 폴리펩티드에 결합하는 항체를 제공한다.

또한, ATCC 수탁번호 제97853호에 함유된 cDNA 클론에 의해 암호화된 완전한 TR4 아미노산 서열의 부분으로 이루어진 폴리펩티드에 결합하는 항체가 포함되고, 이때 상기 부분은 ATCC 수탁번호 제97853호에 함유된 cDNA 클론에 의해 암호화된 완전한 아미노산 서열의 아미노 말단으로부터의 1 내지 약 108개의 아미노산을 배제하거나, 카복시 말단으로부터의 1 내지 약 247개의 아미노산을 배제하거나, 또는 ATCC 수탁번호 제97853호에 함유된 cDNA

클론에 의해 암호화된 완전한 아미노산 서열의 상기 아미노 말단 및 카복시 말단 결실체의 임의의 배합을 배제한다.

바람직하게는, 본 발명의 항체는 세포외 도메인, 즉 서열번호 1의 잔기 24 내지 238 내(이 범위내의 임의의 부분은 가용성인 것으로 예상된다)의 부분을 포함하는 TR4의 단편에 결합한다.

TR4의 일부 아미노산 서열이 단백질이 구조나 기능에 현저한 영향을 주지 않으면서 변화될 수 있다는 것이 당업계에 인식될 것이다. 이러한 서열의 차이를 고려한다면, 활성을 결정하는 단백질상의 중요 영역이 존재할 것이라는 것을 기억해야 한다. 이러한 영역은 통상적으로 리간드 결합 부위 또는 사멸 도메인을 구성하거나 이들 도메인에 영향을 주는 3차 구조를 형성하는 잔기를 포함할 것이다.

따라서, 본 발명은 실질적 TR4 단백질 활성을 나타내거나, 또는 후술되는 단백질 단편과 같은 TR4의 영역을 포함하는 TR4 단백질의 변이체에 결합하는 항체를 추가로 포함한다. 이러한 돌연변이체는 결실, 삽입, 역위, 반복, 및 유형 치환을 포함한다. 아미노산의 변화가 표현형상으로 침묵(silent)일 것이라는 것에 관한 지침을 문헌[Bowie, J.U. et al., Science 247:1306-1310 (1990)]에서 찾아볼 수 있다.

따라서, 본 발명의 항체는 서열번호 1의 폴리펩티드의 단편, 유도체 또는 동족체, 또는 ATCC 수탁번호 제97853호의 cDNA에 의해 암호화된 폴리펩티드의 단편, 유도체 또는 동족체에 결합할 수 있다. 이러한 단편, 변이체 또는 유도체는 (i) 적어도 하나 이상의 아미노산 잔기가 보존성 또는 비보존성 아미노산 잔기(바람직 하게는 보존성 아미노산 잔기(들), 및 보다 바람직하게는 1 내지 10 미만의 보존성 아미노산 잔기)로 치환되고, 이러한 치환된 아미노산 잔기가 유전 암호에 의해 암호화된 것이거나 아닐 수 있는 것, (ii) 하나 이상의 아미노산 잔기가 치환 그룹을 포함하는 것, (iii) 성숙한 폴리펩티드가 또 다른 화합물, 예를 들어 폴리펩티드의 반감기를 증가시키는 화합물(예: 폴리에틸렌 글리콜)과 융합된 것, 또는 (iv) 추가의 아미노산이 성숙한 폴리펩티드, 예를 들어 IgG Fc 융합 영역 펩티드 또는 리더 서열 또는 분비 서열, 또는 성숙한 폴리펩티드 또는 프로단백질 서열의 정제를 위해 사용되는 서열과 융합된 것일 수 있다. 이러한 단편, 유도체 및 동족체는 본원의 교시로부터 당업자의 범위내에 있는 것으로 간주된다.

특히 흥미로운 것은 하전된 아미노산을, 또 다른 하전된 아미노산 및 중성 또는 음으로 하전된 아미노산으로 치환하는 것이다. 후자의 결과로, 양전하가 감소되어 TR4 단백질의 특징이 개선된 단백질이 생성된다. 집괴의 방지가 매우 바람직하다. 단백질의 집괴는 활성의 상실을 초래할 뿐 아니라, 이들이 면역원성일 수 있기 때문에, 약제학적 제형을 제조하는 경우에 문제가 될 수 있다[참조 문헌: Pinckard et al., Clin. Exp. Immunol. 2:331-340 (1967); Robbins et al., Diabetes 36:838-845 (1987); Cleland et al., Crit. Rev. Theapeutic Drug Carrier Systems 10:307-377 (1993)].

또한, 아미노산의 교체는 세포 표면 수용체에 대한 결합의 선택도를 변화시킬 수 있다. 문헌[Ostade et al., Nature 361:266-268 (1993)]은 2개의 공지된 유형의 TNFR 수용체 중 하나에만 TNF-α의 선택적인 결합을 초래하는 특정 돌연변이 를 기술하고 있다. 따라서, 본 발명의 항체는 천연 돌연변이 또는 사람의 조작에 의한 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 함유하는 TR4 수용체에 결합할 수 있다.

지적된 바와 같이, 변화는 바람직하게는, 단백질의 폴딩 또는 활성에 현저한 영향을 미치지 않는 보존성 아미노산 치환과 같이 중요하지 않은 성질의 것이다(표 3 참조).

구체적 태양에서, 서열번호 1의 아미노산 서열 및/또는 본원에 기술된 임의의 폴리펩티드 단편(예: 세포외 도메인 또는 세포내 도메인)에서의 치환, 부가 또는 결실의 수는 75, 70, 60, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 또는 30-20, 20-15, 20-10, 15-10, 10-1, 5-10, 1-5, 1-3 또는 1-2이다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4중에 하나 이상의 임의의 다음의 보존성 돌연변이를 함유하는, TR4 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체(특히 TR4의 세포외 가용성 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 단편)에 결합한다: 서열번호 1에서, M1은 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; A2는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A6은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R7은 H 또는 K로 대체됨; V8은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; H9는 K 또는 R로 대체됨; L10은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; G11은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A12는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; F13은 W 또는 Y로 대체됨; L14는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; A15는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V16은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; T17은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; N19는 Q로 대 체됨; G21은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S22는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; A23은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A24는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S25는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; G26은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; T27은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; E28은 D로 대체됨; A29는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A30은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A31은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A32는 G, I, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; T33은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; S35는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; K36은 H 또는 R로 대체됨; V37은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; W38은 F 또는 Y로 대체됨; G39는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S40은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; S41은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; A42는 G, I, L, S

, T, M 또는 V로 대체됨; G43은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R44는 H 또는 K 로 대체됨; I45는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E46은 D로 대체됨; R48은 H 또는 K로 대체됨; G49는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G50은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G51은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R52는 H 또는 K로 대체됨; G53은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A54는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; L55는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; T57은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; S58은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; M59는 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; G60은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; Q61은 N으로 대체됨; H62는 K 또는 R로 대체됨; G63은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S65는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; A66은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R67은 H 또는 K로 대체됨; A68은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R69는 H 또는 K로 대체됨; A70은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G71은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R72는 H 또는 K로 대체됨; A73은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G75는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R77은 H 또는 K 로 대체됨; A79는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R80은 H 또는 K 로 대체됨; E81은 D로 대체됨; A82는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S83은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; R85는 H 또는 K 로 대체됨; L86은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; R87은 H 또는 K 로 대체됨; V88은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; H89는 K 또는 R로 대체됨; K90은 H 또는 R로 대체됨; T91은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; F92는 W 또는 Y로 대체됨; K93은 H 또는 R로 대체됨; F94는 W 또는 Y로 대체됨; V95는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; V96은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; V97은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; G98은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V99는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; L100은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L101은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; Q102는 N으로 대체됨; V103은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; V104는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; S106은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; S107은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; A108은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A109는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; T110은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; I111은 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; K112는 H 또는 R로 대체됨; L113은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; H114는 K 또는 R로 대체됨; D115는 E로 대체됨; Q116은 N으로 대체됨; S117은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; I118은 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G119는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; T120은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; Q121은 N으로 대체됨; Q122는 N으로 대체됨; W123은 F 또는 Y로 대체됨; E124는 D로 대체됨; H125는 K 또는 R로 대체됨; S126은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; L128은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; G129는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E130은 D로 대체됨; L131은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; G135는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S136은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; H137은 K 또는 R로 대체됨; R138은 H 또는 K로 대체됨; S139는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; E140은 D로 대체됨; R141은 H 또는 K로 대체됨; G143은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A144는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; N146은 Q로 대체됨; R147은 H 또는 K 로 대체됨; T149는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; E150은 D로 대체됨; G151은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V152는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; G153은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; Y154는 F 또는 W로 대체됨; T155는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; N156은 Q로 대체됨; A157은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S158은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; N159는 Q로 대체됨; N160은 Q로 대체됨; L161은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; F162는 W 또는 Y로 대체됨; A163은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; L165는 A, G, I, S, T, M, 또는 V로 대체됨; T168은 A, G, I, L, S, M, 또는 V로 대체됨; A169는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; K171은 H 또는 R로 대체됨; S172는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; D173은 E로 대체됨; E174는 D로 대 체됨; E175는 D로 대체됨; E176은 D로 대체됨; R177은 H 또는 K로 대체됨; S178은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; T181은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; T182는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; T183은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; R184는 H 또는 K로 대체됨; N185는 Q로 대체됨; T186은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; A187은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; Q189는 N으로 대체됨; K191은 H 또는 R로 대체됨; G193은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; T194는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; F195는 W 또는 Y로 대체됨; R196은 H 또는 K로 대체됨; N197은 Q로 대체됨; D198은 E로 대체됨; N199는 Q로 대체됨; S200은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; A201은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E202는 D로 대체됨; M203은 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; R205는 H 또는 K로 대체됨; K206은 H 또는 R로 대체됨; S208은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; T209는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; G210은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R213은 H 또는 K로 대체됨; G214는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; M215는 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; V216은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; K217은 H 또는 R로 대체됨; V218은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; K219는 H 또는 R로 대체됨; D220은 E로 대체됨; T222는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; W224는 F 또는 Y로 대체됨; S225는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; D226은 E로 대체됨; I227은 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E228은 D로 대체됨; V230은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; H231은 K 또는 R로 대체됨; K232는 H 또는 R로 대체됨; E233은 D로 대체됨; S234는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; G235는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; N236은 Q로 대체됨; G237은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; H238은 K 또는 R로 대체됨; N239는 Q로 대체됨; I240은 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; W241은 F 또는 Y로 대체됨; V242는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; I243은 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; L244는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; V245는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; V246은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; T247은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; L248은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; V249는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; V250은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; L252는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L253은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L254는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; V255는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; A256은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V257은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; L258은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; I259는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V260은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; I264는 A, G, L, S, T, M, 또는 V로 대체됨; G265는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대

체됨; S266은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; G267은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G269는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G270은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; D271은 E로 대체됨; K273은 H 또는 R로 대체됨; M275는 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; D276은 E로 대체됨; R277은 H 또는 K로 대체됨; V278은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; F280은 W 또는 Y로 대체됨; W281은 F 또는 Y로 대체됨; R282는 H 또는 K로 대체됨; L283은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; G284는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대 체됨; L285는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L286은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; R287은 H 또는 K로 대체됨; G288은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G290은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A291은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E292는 D로 대체됨; D293은 E로 대체됨; N294는 Q로 대체됨; A295는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; H296은 K 또는 R로 대체됨; N297은 Q로 대체됨; E298은 D로 대체됨; I299는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; L300은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; S301은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; N302는 Q로 대체됨; A303은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; D304는 E로 대체됨; S305는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; L306은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; S307은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; T308은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; F309는 W 또는 Y로 대체됨; V310은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; S311은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; E312는 D로 대체됨; Q313은 N으로 대체됨; Q314는 N으로 대체됨; M315는 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; E316은 D로 대체됨; S317은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; Q318은 N으로 대체됨; E319는 D로 대체됨; A321은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; D322는 E로 대체됨; L323은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; T324는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; G325는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V326은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; T327은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; V328은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; Q329는 N으로 대체됨; S330은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; G332는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E333은 D로 대체됨; A334는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; Q335는 N으로 대체됨; L337은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L338은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; G339는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A341은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E342는 D로 대체됨; A343은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; E344는 D로 대체됨; G345는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S346은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; Q347은 N으로 대체됨; R348은 H 또는 K로 대체됨; R349는 H 또는 K 로 대체됨; R350은 H 또는 K으로 대체됨; L351은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L352는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; V353은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; A355는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; N356은 Q로 대체됨; G357은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; A358은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; D359는 E로 대체됨; T361은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; E362는 D로 대체됨; T363은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; L364는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; M365는 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; L366은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; F367은 W 또는 Y로 대체됨; F368은 W 또는 Y로 대체됨; D369는 E로 대체됨; K370은 H 또는 R로 대체됨; F371은 W 또는 Y로 대체됨; A372는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; N373은 Q로 대체됨; I374는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V375는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; F377은 W 또는 Y로 대체됨; D378은 E로 대체됨; S379는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; W380은 F 또는 Y로 대체됨; D381은 E로 대체됨; Q382는 N으로 대체됨; L383은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; M384는 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; R385는 H 또는 K로 대체됨; Q386은 N으로 대체됨; L387은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; D388은 E로 대체됨; L389는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; T390은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; K391은 H 또는 R로 대체됨; N392는 Q로 대체됨; E393은 D로 대체됨; I394는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; D395는 E로 대체됨; V396은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; V397은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; R398은 H 또는 K로 대체됨; A399는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G400은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; T401은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; A402는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G403은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; G405는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; D406은 E로 대체됨; A407은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; L408은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; Y409는 F 또는 W로 대체됨; A410은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; M411은 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; L412는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; M413은 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; K414는 H 또는 R로 대체됨; W415는 F 또는 Y로 대체됨; V416은 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; N417은 Q로 대체됨; K418은 H 또는 R로 대체됨; T419는 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; G420은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; R421은 H 또는 K로 대체됨; N422는 Q로 대체됨; A423은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S424는 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; I425는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; H426은 K 또는 R로 대체됨; T427은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; L428은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L429는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; D430은 E로 대체됨; A431은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; L432는 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; E433은 D로 대체됨; R434는 H 또는 K로 대체됨; M435는 A, G, I, L, S, T 또는 V로 대체됨; E436은 D로 대체됨; E437은 D로 대체됨; R438은 H 또는 K로 대체됨; H439는 K 또는 R로 대체됨; A440은 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; K441은 H 또는 R로 대체됨; E442는 D로 대체됨; K443은 H 또는 R로 대체됨; I444는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; Q445는 N으로 대체됨; D446은 E로 대체됨; L447은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; L448은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; V449는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; D450은 E로 대체됨; S451은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; G452는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; K453은 H 또는 R로 대체됨; F454는 W 또는 Y로 대체됨; I455는 A, G, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; Y456은 F 또는 W로 대체됨; L457은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; E458은 D로 대체됨; D459는 E로 대체됨; G460은 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; T461은 A, G, I, L, S, M 또는 V로 대체됨; G462는 A, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; S463은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; A464는 G, I, L, S, T, M 또는 V로 대체됨; V465는 A, G, I, L, S, T 또는 M으로 대체됨; S466은 A, G, I, L, T, M 또는 V로 대체됨; L467은 A, G, I, S, T, M 또는 V로 대체됨; 및/또는 E468은 D로 대체됨.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4중에 하나 이상의 임의의 다음의 비-보존성 돌연변이를 함유하는, TR4 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체(특히 TR4의 세포외 가용성 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진 단편)에 결합한다: 서열번호 1에서, M1은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A2는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P3은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; P4는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; P5는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; A6은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R7은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V8은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H9는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L10은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G11은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A12는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F13은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; L14는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A15는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V16은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T17은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P18은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; N19는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P20은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G21은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S22는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A23은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A24는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S25는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G26은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T27은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E28은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A29는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A30은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A31은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A32는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T33은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P34는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; S35는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K36은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V37은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; W38은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; G39는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S40은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S41은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A42는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G43은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R44는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; 145는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E46은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P47은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; R48은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G49는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G50은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G51은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R52는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G53은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A54는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L55는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P56은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; T57은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S58은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M59는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G60은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q61은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H62는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G63은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P64는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; S65는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A66은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R67은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A68은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R69는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A70은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G71은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R72는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A73은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P74는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G75는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P76은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; R77은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P78은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; A79는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R80은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E81은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A82는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S83은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P84는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; R85는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L86은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R87은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V88은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H89는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K90은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T91은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F92는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; K93은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F94는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; V95는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V96은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V97은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G98은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V99는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L100은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L101은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q102는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V103은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V104는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P105는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; S 106은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S107은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A108은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A109는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T110은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; I111은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K112는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L113은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H114는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D115는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q116은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S 117은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; 1118은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G119는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T120은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q121은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q122는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; W123은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; E124는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H125는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S126은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P127은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; L128은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G129는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E130은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L131은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C132는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; P133은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; P134는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G135는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S 136은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H137은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R138은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S139는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E140은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R141은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P142는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G143은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A144는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C145는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; N146은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R147은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C148은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; T149는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E150은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G151은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V152는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G153은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Y154는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; T155는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N156은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A157은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S158은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N159는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N160은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L161은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F162는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; A163은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C164는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; L165는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P166은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; C167은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; T168은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A169는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C170은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; K171은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S 172 는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D173은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E174는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E175는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E176은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R177은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S178은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P179는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; C180은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; T181은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T182는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T183은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R184는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N185는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T186은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A187은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C188은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; Q189는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C190은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; K191은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P192는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G193은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T194는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F195는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; R196은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N197은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D198은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N199는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S200은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A201은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E202는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M2

03은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W-, Y, P 또는 C로 대체됨; C204는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; R205는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K206은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C207은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; S208은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T209는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G210은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C211은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; P212는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; R213은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G214는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M215는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V216은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K217은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V218은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y로 대체됨; P 또는 C로 대체됨; K219는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D220은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C221은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; T222는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P223은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; W224는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; S225는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D226은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; 1227은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E228은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C229는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; V230은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H231은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K232는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E233은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S234는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G235는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N236은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G237은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H238은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N239는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; I240은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; W241은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; V242는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; I243은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L244는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V245는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V246은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T247은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L248은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V249는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V250은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P251은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; L252는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L253은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L254는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V255는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A256은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V257은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L258은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; I259는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V260은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C261은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; C262는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; C263은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; 1264는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G265는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S266은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G267은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C268은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; G269는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G270은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D271은 H, K, R, A, G, FI, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P272는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; K273은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C274는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; M275는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D276은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R277은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V278은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C279는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; F280은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; W281은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; R282는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L283은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G284는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L285는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L286은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R287은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G288은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P289는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G290은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A291은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E292는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D293은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N294는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A295는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H296은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N297은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E298은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; 1299는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L300은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S301은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N302는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A303은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D304는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S305는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L306은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S307은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T308은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F309는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; V310은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S311은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E312는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q313은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q314는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M315는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E316은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S317은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q318은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E319는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P320은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; A321은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D322는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L323은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T324는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G325는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V326은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T327은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V328은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q329는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S330은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P331은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G332는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E333은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A334는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q335는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; C336은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 P로 대체됨; L337은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L338은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G339는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P340은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; A341은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E342는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A343은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E344는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G345는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S346은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q347은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R348은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R349는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R350은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L351은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L352는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V353은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P354는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; A355는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N356은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G357은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A358은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D359는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P360은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; T361은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C 로 대체됨; E362는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T363은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L364는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M365는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L366은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F367은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; F368은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; D369는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K370은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F371은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; A372는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N373은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; I374는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V375는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P376은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; F377은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; D378은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S379는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; W380은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; D381은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q382는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L383은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M384는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R385는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q386은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L387은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D388은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L389는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T390은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K391은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N392는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E393은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; I394는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D395는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V396은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V397은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R398은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A399는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G400은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T401은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A402는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G403은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; P404는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y 또는 C로 대체됨; G405는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D406은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P

또는 C로 대체됨; A407은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L408은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Y409는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; A410은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M411은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L412는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M413은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K414는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; W415는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; V416은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N417은 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K418은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T419는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G420은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R421은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; N422는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A423은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S424는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; 1425는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H426은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T427은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L428은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L429는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D430은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A431은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L432는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E433은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R434는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; M435는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E436은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E437은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; R438은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; H439는 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A440은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K441은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E442는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K443은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; 1444는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Q445는 D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D446은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L447은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L448은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V449는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D450은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S451은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G452는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; K453은 D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; F454는 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; 1455는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; Y456은 D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P 또는 C로 대체됨; L457은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; E458은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; D459는 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G460은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; T461은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; G462는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S463은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; A464는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; V465는 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; S466은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; L467은 D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨; 및/또는 E468은 H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P 또는 C로 대체됨.

기능에 필수적인 본 발명의 TR4 단백질의 아미노산은 부위 지시된 돌연변이유발 또는 알라닌-스캐닝 돌연변이유발과 같은 당업계에 공지된 방법에 의해 확인될 수 있다[참조 문헌: Cunningham 및 Wells, Science 244:1081-1085(1989)]. 후자 방법은 분자내 모든 잔기에 단일 알라닌 돌연변이를 도입하는 것이다. 이후, 생성된 돌연변이 분자를 수용체 결합과 같은 생물학적 활성 또는 시험관내 또는 생체내 증식 활성에 대해 시험한다. 또한, 리간드-수용체 결합을 위해 중요한 부위는 결정화, 핵 자기 공명 또는 광친화성 표지화와 같은 구조 분석에 의해 결정될 수 있다[참조 문헌: Smith et al., J. Mol. Biol. 224:899-904(1992) and de Vos et al. Science 255:306-312(1992)]. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4 기능에 필수적인 TR4의 영역에 결합한다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항 체는 TR4 기능에 필수적인 TR4의 영역에 결합하여 TR4 기능을 억제하거나 제거한다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR4 기능에 필수적인 TR4 영역에 결합하여 TR4 기능을 증진시킨다.

부가적으로, 단백질 공학을 사용하여 TR4 폴리펩티드의 특징을 개선하거나 변경할 수 있다. 당업자에게 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여, 단일 또는 다중 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 융합 단백질을 포함하는 신규한 돌연변이 단백질 또는 뮤테인을 제조할 수 있다. 이러한 변형된 폴리펩티드는, 예를 들ㅁ녀, 증진된 활성 또는 증가된 안정성을 나타낼 수 있다. 추가로, 이들은 적어도 특정 정제 조건 및 저장 조건하에서 상응하는 천연 폴리펩티드보다 고수율로 정제될 수 있고 보다 우수한 용해도를 나타낼 수 있다. 본 발명의 항체는 이러한 변형된 TR4 폴리펩티드에 결합할 수 있다.

TR4의 비-천연 변이체는 당업계에 공지된 돌연변이유발 기술을 사용하여 생성할 수 있으며, 이러한 기술에는 올리고뉴클레오티드-매개된 돌연변이유발, 알라닌 스캐닝, PCR 돌연변이유발, 부위-지시된 돌연변이유발[참조 문헌: Carter et al., Nucl. Acids Res 13:4331 (1986); and Zoller et al., Nucl. Acids Res. 10:6487 (1982)], 카세트 돌연변이유발[참조 문헌: Wells et al., Gene 34: 315 (1985)], 제한 선별 돌연변이유발[참조 문헌: Well et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA 317: 415 (1986)]이 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다.

따라서, 본 발명은 선택된 숙주세포에서의 발현, 축적 등에 보다 적합한 TR4 폴리펩티드가 형성될 수 있도록 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실, 부가 또는 치 환된 TR4 유도체 및 동족체에 결합하는 항체를 포괄한다. 예를 들면, 디설피드 브릿지를 제거하도록 시스테인 잔기가 결실되거나 또 다른 아미노산 잔기로 치환되며; N-연결된 글리코실화 부위가 변형되거나 제거됨으로써, 예를 들면 과글리코실화 N-연결된 부위로 공지된 효모 숙주로부터 보다 용이하게 회수되어 정제된 균일한 생성물이 발현될 수 있다. 이러한 목적을 위해, TR4 폴리펩티드중의 하나 이상의 임의의 글리코실화 인식 서열상의 제1 또는 제3 아미노산 위치중 하나 또는 둘 모두에서의 다양한 아미노산 치환, 및/또는 하나 이상의 임의의 상기 인식 서열의 제2 위치의 아미노산의 결실은, 변형된 트리펩티드 서열에서의 TR4의 글리코실화를 방지할 것이다[참조 문헌: Miyajimo et al., EMBO J 5(6): 1193-97]. 또한, TR4 폴리펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기(예: 아르기닌 및 리신 잔기)가 결실되거나 또 다른 잔기로 치환됨으로써, 예를 들면 퓨린(furin) 또는 켁신(kexin)과 같은 프로테아제에 의한 목적하지 않은 프로세싱이 제거될 수 있다.

또한, 본 발명의 항체는 다음의 폴리펩티드에 결합하는 항체를 포함한다: 리더를 포함한 기탁된 cDNA(ATCC 수탁번호 제97853호의 기탁물)에 의해 암호화된 폴리펩티드를 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 리더가 결여된 기탁된 cDNA에 의해 암호화된 성숙한 폴리펩티드(즉, 성숙한 단백질)를 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 리더를 포함하는 서열번호 1의 폴리펩티드를 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 아미노 말단 메티오닌이 결여된 서열번호 1의 폴리펩티드를 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 리더가 결여된 서열번호 1의 폴리펩티드를 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 세포외 도 메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 시스테인 풍부 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 막관통 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 세포내 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; TR4 사멸 도메인을 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 세포외 및 세포내 도메인의 전부 또는 일부를 포함하지만 막관통 도메인이 결여된 가용성 폴리펩티드를 포함하거나, 또는 이로 이루어진 폴리펩티드; 및 상기 기술된 폴리펩티드(예를 들면, 기탁된 cDNA 클론(ATCC 수탁번호 제97853호의 기탁물)에 의해 암호화된 폴리펩티드), 서열번호 1의 폴리펩티드, 및 이러한 폴리펩티드의 30개 이상의 아미노산 및 보다 바람직하게는 50개 이상의 아미노산을 가진 부분과 80% 이상 동일한, 보다 바람직하게는 90% 또는 95% 동일한, 더욱 보다 바람직하게는 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 폴리펩티드.

예를 들면, TR4 폴리펩티드의 참조 아미노산 서열과 95% 이상 '동일한' 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드는, 당해 폴리펩티드 서열이 TR4 폴리펩티드의 참조 아미노산의 각 100개의 아미노산당 5개 이하의 아미노산이 변경될 수 있는 것을 제외하고는 폴리펩티드의 아미노산 서열이 참조 서열과 동일함을 의미한다. 환언하면, 참조 아미노산 서열과 95% 이상 동일한 아미노산 서열의 폴리펩티드를 수득하기 위해서는, 참조 서열중에 5% 이하의 아미노산 잔기가 결실되거나 또 다른 아미노산으로 치환될 수 있거나, 참조 서열의 총 아미노산 잔기중 5% 이하의 다수의 아미노산이 참조 서열로 삽입될 수 있다. 참조 서열의 이러한 변형은 참조 아미노산 서열의 아미노 또는 카복시 말단 위치에서, 또는 이들 말단 위치 사이의 어느 위치 에서도 일어날 수 있으며, 참조 서열내의 잔기 중에 개별적으로 또는 참조 서열내에 하나 이상의 연속 그룹으로 산재된다.

실제적인 과제로서, 임의의 특정 폴리펩티드가, 예를 들어, 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열 또는 기탁된 cDNA 클론에 의해 암호화된 아미노산 서열과 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한지의 여부는 베스트피트 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)과 같은 공지된 컴퓨터 프로그램을 사용하여 통상적으로 결정될 수 있다. 특정 서열이, 예를 들어, 본 발명에 따른 참조 서열과 95% 동일한지의 여부를 결정하기 위해 베스트피트 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 사용하는 경우, 동일성 %가 참조 아미노산 서열의 전체 길이에 대해 계산되고 참조 서열중의 총 아미노산 잔기의 수의 5% 이하의 상동성 차이가 허용되도록 파라미터가 설정된다.

구체적 태양에서, 전체적 서열 정렬(global sequence alignment)로서도 언급되는, 참조(조회) 서열(본 발명의 서열)과 대상 서열 사이의 동일성은, 문헌[참조: Brutlag et al. Comp. App. Biosci. 6:237-245(1990)]의 알고리듬을 기초로 하는 FASTDB 컴퓨터 프로그램을 사용하여 결정된다. FASTDB 아미노산 정렬에 사용되는 바람직한 파라미터는 다음과 같다: 매트릭스 = PAM 0, k-터플(tuple) = 2, 불일치 페널티 = 1, 연결 페널티 = 20, 무작위 그룹 길이 = 0, 컷오프 스코어 = 1, 윈도우 크기 = 서열 길이, 갭 페널티 = 5, 갭 사이즈 페널티 = 0.05, 윈도우 크기 = 500 또는 짧다 하더라도 대상 아미노산 서열의 길이. 당해 태양에 따르면, 대상 서열이 내부 결실 때문이 아니라 N- 또는 C- 말단 결실로 인해 조회 서열 보다 짧은 경우, FASTDB 프로그램은 전체적 동일성 %을 계산할 때 대상 서열의 N- 및 C-말단 절두를 고려하지 않는다는 사실을 염두에 두고 수동으로 교정하여 결과를 산출한다. 조회 서열과 관련하여 N- 및 C-말단에서 절두된 대상 서열에 대해, 동일성 %는 조회 서열 총 염기의 %로서 상응하는 대상 잔기와 일치/정렬되지 않는 대상 서열의 N- 및 C-말단인 조회 서열의 잔기의 수를 계산하여 교정한다. 잔기가 일치하는지/정렬되는지의 결정은 FASTDB 서열 정렬에 대한 결과로써 결정된다. 이어서, 당해 %를 특정 파라미터를 사용하는 상기 FASTDB 프로그램에 의해 계산된 동일성 %로부터 공제하여, 최종 동일성 % 스코어에 도달한다. 이러한 최종 동일성 % 스코어는 상기 태양을 목적으로 사용되는 것이다. 수동적으로 동일성 % 스코어를 조정할 목적으로, 조회 서열과 일치/정렬되지 않는, 대상 서열의 N- 및 C-말단에 대한 잔기만을 고려한다. 즉, 조회 잔기만이 대상 서열의 가장 멀리 있는 N- 및 C-말단 잔기를 벗어나 위치해 있다. 예를 들면, 90개의 아미노산 잔기 대상 서열을 100개의 잔기 조회 서열과 정렬시

켜 동일성 %를 결정한다. 대상 서열의 N 말단이 결실됨에 따라서, FASTDB 정렬은 N-말단에서 처음 10개의 잔기와 일치/정렬되지 않음을 보여준다. 10개의 쌍을 이루지 않은 잔기가 서열의 10%(일치되지 않는 N- 및 C-말단 잔기 수/조회 서열내 총 잔기 수)를 차지하므로, 10%를 FASTDB 프로그램에 의해 계산된 동일성 % 스코어로부터 공제한다. 잔여 90개의 잔기가 완전히 일치하는 경우 최종 동일성 %는 90%가 될 것이다. 또 다른 예에서, 90개의 잔기 대상 서열을 100 개의 잔기 조회 서열과 비교한다. 이 때의 결실은 내부 결실이므로, 대상 서열의 N- 또는 C-말단에 있는 잔기 모두가 조회 잔기와 일치/정렬된다. 이 경우에서, FASTDB에 의해 계산된 동일성 %가 수동적으로 교정되지 않는다. FASTDB 정렬에서 나타나는 바와 같이, 조회 서열과 일치/정렬되지 않는 대상 서열의 N- 및 C-말단을 벗어난 위치의 잔기만이 재차 수동적으로 교정된다. 상기 태양의 목적을 위해 어떠한 다른 수동적 교정을 하지 않는다.

또한, 본 출원은 n^1-m^1 및/또는 n^2-m^2 로서 본원에 제시된 TR4 폴리펩티드 서열과 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한 폴리펩티드를 함유하는 단백질에 결합하는 항체에 관한 것이다. 바람직한 태양에서, 본 출원은 본원에서 제시된 특정 TR4 N- 및 C-말단 결실의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드와 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상 동일한 폴리펩티드를 함유하는 단백질에 결합하는 항체에 관한 것이다.

특정 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 상기한 바와 같은 TR4 융합 단백질에 결합하고, 이때 융합 단백질의 TR4 부분은 본원에서 n^1-m^1 및/또는 n^2-m^2 로서 기술된 것이다.

변형된 TRAIL 수용체 폴리펩티드에 결합할 수 있는 본 발명의 항체

본 발명의 항체가 TR7 단백질(서열번호 3)의 변형된 형에 결합할 수 있다고 구체적으로 고려된다. 본 발명의 항체가 TR7(서열번호 3) 및 TR4(서열번호 1) 둘 모두에 특이적으로 결합할 수 있는 이들 태양에서, 이들 항체가 TR7 및/또는 TR4의 변형된 형에 결합할 수 있다고 또한 구체적으로 고려된다. TR4의 변형된 형은, 예를 들면, 하기의 TR7의 변형된 형에 상응하는 TR4의 변형된 형을 포함할 것이다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 천연적으로 정제된 TR7 폴리펩티드, 화학적 합성 방법에 의해 생성된 TR7 폴리펩티드, 및 예를 들면 재조합 조성물 및 상기 방법을 사용하여 재조합 기술에 의해 원핵생물 또는 진핵생물 숙주(예: 세균, 효모, 고등 식물, 곤충 및 포유동물 세포)로부터 생성된 TR7 폴리펩티드를 포함하나 이에 한정되지 않는 TR7 폴리펩티드(예를 들어 상기한 것들)에 결합한다. 재조합 생산 방법에서 사용되는 숙주에 따라서, 당해 폴리펩티드는 글리코실화 또는 비-글리코실화될 수 있다. 또한, TR7 폴리펩티드는 숙주-매개된 방법의 결과로서, 일부 경우에 변형된 개시 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다.

또한, 본 발명의 항체에 의해 결합되는 TR7 단백질은 당업계에 공지된 기술을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다[참조: Creighton, 1983, Proteins: Structures 및 Molecular Principles, W.H. Freeman amp; Co., N.Y. 및 Hunkapiller, M., et al., Nature 310:105-111 (1984)]. 예를 들면, TR7 폴리펩티드의 단편에 상응하는 펩티드는 펩티드 합성기를 사용하여 합성할 수 있다. 게다가, 경우에 따라서, 비전형적 아미노산 또는 화학적 아미노산 동족체가 TR7 폴리펩티드 서열로의 치환 또는 삽입으로 도입될 수 있다. 비전형적인 아미노산은 통상의 아미노산의 D-이성체, 2,4-디아미노부티르산, a-아미노 이소부티르산, 4-아미노부티르산, Abu, 2-아미노 부티르산, g-Abu, e-Ahx, 6-아미노 헥사노산, Aib, 2-아미노 이소부티르 산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르류신, 노르발린, 하이드록시프롤린, 사르코신, 시트룰린, 호모시트룰린, 시트테인산, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, b-알라닌, 플루오로-아미노산, 디자이너 아미노산, 예를 들어 b-메틸 아미노산, Ca-메틸 아미노산, Na-메틸 아미노산, 및 일반적인 아미노산 동족체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 또한, 아미노산은 D(우선성) 또는 L(좌선성)일 수 있다.

부가적으로, 본 발명은 해독 동안 또는 해독 후에, 예를 들어, 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 그룹 보호/차단에 의한 유도체화, 단백질용해성 절단, 항체 분자 또는 기타 세포 리간드로의 연결 등에 의해 특이하게 변형되는 TR7 폴리펩티드를 포함한다. 수 많은 화학적 변형은 브롬화 시아노겐, 트립신, 키모트립신, 파파인, V8 프로테아제, $NaBH_4$, 아세틸화, 포르밀화, 산화, 환원, 및 투니카마이신 존재하의 대사적 합성 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는 공지된 기술을 사용하여 수행될 수 있다.

TR7 폴리펩티드에 대한 추가적 해독후 변형은, 예를 들면, N-연결 또는 O-연결된 탄화수소 쇄, N-말단 또는 C-말단의 프로세싱, 아미노산 주쇄에 대한 화학적 잔기의 부착, N-연결 또는 O-연결된 탄화수소 쇄의 화학적 변형, 및 원핵 숙주 세포 발현에 의한 N-말단 메티오닌 잔기의 부가 또는 결실을 포함한다. 또한, 당해 폴리펩티드를 검출 가능한 표지, 예를 들어 효소 표지, 형광성 표지, 동위원소 표지 또는 친화성 표지로써 변형하여, 단백질의 검출 및 분리를 가능케한다.

추가의 잇점, 예를 들어 폴리펩티드의 용해도, 안정성 및 순환 시간의 증가 또는 면역원성의 감소를 제공할 수 있는 TR7 폴리펩티드의 화학적으로 변형된 유도체에 결합하는 항체가 본 발명에 의해 또한 제공된다[참조 문헌: 미국 특허

제4,179,337호]. 유도체화를 위한 화학적 잔기는 수용성 중합체, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카복시메틸셀룰로즈, 덱스트란, 폴리비닐 알콜 등으로부터 선택될 수 있다. 폴리펩티드는 분자내의 무작위적 위치 또는 분자내의 예정된 위치에서 변형될 수 있으며, 1, 2, 3 또는 그 이상의 부착된 화학적 잔기를 포함할 수 있다.

중합체는 임의의 분자량일 수 있으며 측쇄 또는 비측쇄일 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜의 경우에, 바람직한 분자량은 취급 및 제조에 있어 용이한 약 1KDa 내지 약 100KDa(용어 '약'은 폴리에틸렌 글리콜 제조에서 일부 분자의 분자량이 언급된 분자량 이상이거나 이하일 수 있음을 나타낸다)이다. 목적하는 치료적 측면(예: 목적하는 서방출의 기간, 효과, 생물학적 활성(존재하는 경우), 취급의 용이, 항원성의 정도 또는 결여, 및 치료적 단백질 또는 동족체에 대한 폴리에틸렌 글리콜의 기타 공지된 효과)에 따라서 다른 크기가 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜의 평균 분자량은 약 200, 500, 1000, 1500, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10,000, 10,500, 11,000, 11,500, 12,000,12,500, 13,000, 13,500, 14,000, 14,500, 15,000, 15,500, 16,000, 16,500, 17,000, 17,500, 18,000, 18,500, 19,000, 19,500, 20,000, 25,000, 30,000, 35,000, 40,000, 50,000, 55,000, 60,000, 65,000, 70,000, 75,000, 80,000, 85,000, 90,000, 95,000 또는 100,000kDa이다.

상기된 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜은 측쇄 구조를 가질 수 있다. 측쇄 폴리에틸렌 글리콜은, 예를 들면, 문헌[참조 문헌: 미국 특허 제5,643,575호; Morpurgo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996); Vorobjev et al., Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999); and Caliceti et al., Bioconjug. Chem. 10:638-646 (1999)]에 기술되어 있으며, 이들 각각의 기술은 본원에 참고로 인용된다.

폴리에틸렌글리콜 분자 (또는 기타 화학적 잔기)는 단백질의 기능성 또는 항원성 도메인에 있어서의 효과를 고려한다면 단백질에 부착되어 있어야 한다. 당업자에게 유용한 수 많은 부착 방법이 있다[참조: 본원에 참고로 인용된 EP 0 401 384(G-CSF에 대한 PEG의 커플링) 및 Malik et al., Exp. Hematol. 20:1028-1035 (1992)(염화트레실을 사용하는 GM-CSF의 페질화를 보고함)]. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜은 반응성 그룹(예: 유리 아미노 또는 카복실 그룹)에 의해 아미노산 잔기를 통하여 공유 결합될 수 있다. 반응성 그룹은 활성화된 폴리에틸렌 글리콜 분자가 결합될 수 있는 그룹이다. 유리 아미노 그룹을 갖는 아미노산 잔기는 리신 잔기 및 N-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며; 유리 카복시 그룹을 갖는 아미노산 잔기는 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 설피드릴 그룹이 또한 폴리에틸렌 글리콜 분자를 부착하는 반응성 그룹으로서 사용될 수 있다. 치료 목적을 위해서는 아미노 그룹, 예를 들어, N-말단 또는 리신 그룹에 부착하는 것이 바람직하다.

상기 제시된 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜은 연결을 통하여 수 많은 아미노산 잔기중의 임의의 아미노산 잔기에도 부착될 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜은 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산 또는 시스테인 잔기에 대한 단백질에 공유 결합을 통하여 연결될 수 있다. 하나 이상의 반응 화학을 사용하여 폴리에틸렌 글리콜을 단백질의 특정 아미노산 잔기(예: 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산 또는 시스테인) 또는 단백질의 한가지 유형 이상의 아미노산 잔기(예: 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산, 시스테인 및 이의 배합물)에 부착시킬 수 있다.

구체적으로, N-말단에서 화학적으로 변형된 단백질이 요구될 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜을 본 조성물의 예증으로서 사용하여, (분자량, 측쇄도 등이) 다양한 폴리에틸렌 글리콜 분자, 반응 혼물합중의 단백질(또는 펩티드) 분자에 대한 폴리에틸렌 글리콜 분자의 비율, 수행할 페질화 반응의 유형, 및 선택된 N-말단-페질화된 단백질을 수득하는 방법으로부터 선택될 수 있다. N-말단 페질화된 제제를 수득하는 방법(즉, 필요에 따라, 다른 모노페질화된 잔기로부터 당해 잔기를 분리시킴)은, N-말단-페질화된 물질을 페질화된 단백질 분자 집단으로부터 정제함으로써 가능하다. N-말단에서 선택적인 화학 변형은 특정 단백질에서 유도체화에 이용 가능한 상이한 유형의 1차 아미노 그룹(N-말단에 대한 리신)의 차별적인 반응성을 이용하는 환원적 알킬화에 의해 달성될 수 있다. 적당한 반응 조건하에, 카보닐 그룹 함유 중합체와의 N-말단에서 실질적으로 단백질의 선택적인 유도체화가 성취 된다.

위에서 지적한 바와 같이, 본 발명의 단백질의 페질화는 수 많은 수단을 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜은 직접 또는 개재 링커(intervening linker)를 사용하여 단백질에 부착시킬 수 있다. 단백질에 폴리에틸렌 글리콜을 부착시키기 위한 링커-부재 시스템이 문헌[Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304 (1992); Francis et al., Intern. J. of Hematol. 68:1-18 (1998); 미국 특허 제4,002,531호; 미국 특허 제5,349,052호; WO 95/06058 및 WO 98/32466]에 기술되어 있으며, 이들 각각의 기술은 본원에 참고로 인용된다.

폴리에틸렌 글리콜을 개재 링커를 사용하지 않고 단백질의 아미노산 잔기에 직접 부착시키기 위한 시스템은, 염화트레실($ClSO_2CH_2CF_3$)을 사용하는 모노메톡시 폴리에틸렌 글리콜(MPEG)의 변형에 의해 생성되는 트레실화된 MPEG를 사용한다. 단백질과 트레실화 MPEG와의 반응시, 폴리에틸렌 글리콜은 단백질의 아민 그룹에 직접 부착된다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 단백질과 2,2,2-트리플루오로에탄 설포닐 그룹을 갖는 폴리에틸렌 글리콜 분자와의 반응에 의해 생성되는 단백질-폴리에틸렌 글리콜 접합체를 포함한다.

또한, 폴리에틸렌 글리콜은 다수의 상이한 개재 링커를 사용하여 단백질에 부착될 수 있다. 예를 들면, 본원에 전문이

참고로 인용되어 있는 미국 특허 제5,612,460호에는 폴리에틸렌 글리콜을 단백질에 연결시키기 위한 우레탄 링커가 기 재되어 있다. 폴리에틸렌 글리콜이 링커에 의해 단백질에 부착되어 있는 단백질-폴리에틸렌 글리콜 접합체도 또한 단백질과 화합물, 예를 들어 MPEG-석신이미딜석시네이트, 1,1'-카보닐디이미다졸로 활성화된 MPEG, MPEG-2,4,5-트리클로로페닐카보네이트, MPEG-p-니트로페놀카보네이트 및 다양한 MPEG-석시네이트 유도체와의 반응에 의해 생성될 수 있다. 다수의 부가적 폴리에틸렌 글리콜 유도체, 및 폴리에틸렌 글리콜을 단백질에 부착시키기 위한 반응 화학은 WO 98/32466에 기재되어 있으며, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다. 본원에서 제시된 반응 화학을 사용하여 생성되는 페질화된 단백질 생성물은 본 발명의 범위내에 포함된다.

또한, 각각의 TR7 폴리펩티드에 부착되는 폴리에틸렌 글리콜 잔기의 수(즉, 치환도)는 다양할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 페질화된 단백질은 평균적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20개 또는 그 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자에 연결될 수 있다. 유사하게는, 평균 치환 정도는 단백질 분자당 예를 들어, 1 내지 3개, 2 내지 4개, 3 내지 5개, 4 내지 6개, 5 내지 7개, 6 내지 8개, 7 내지 9개, 8 내지 10개, 9 내지 11개, 10 내지 12개, 11 내지 13개, 12 내지 14개, 13 내지 15개, 14 내지 16개, 15 내지 17개, 16 내지 18개, 17 내지 19개 또는 18 내지 20개의 폴리에틸렌 글리콜 잔기의 범위내이다. 치환도를 결정하는 방법은, 예를 들면, 문헌[참조 문헌: Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304 (1992)]에 논의되어 있다.

언급된 바와 같이 본 발명의 항체는 해독후 프로세싱과 같은 천연 프로세싱에 의해 또는 당업계에 익히 공지된 화학적 변형 기술에 의해 변형된 TR7 폴리펩티 드에 결합할 수 있다. 동일한 유형의 변형은 주어진 TR7 폴리펩티드중의 몇몇 부위에서 동일하거나 다양한 정도로로 존재할 수 있다고 여겨진다. TR7 폴리펩티드는, 예를 들면, 유비퀴틴화의 결과로서 측쇄화될 수 있으며, 이들은 측쇄화되거나 측쇄화되지 않고 환상일 수 있다. 환상, 측쇄, 및 측쇄화된 환상 TR7 폴리펩티드는 해독후 천연 프로세싱에 의해 생성되거나, 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. 변형은 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아미드화, 플라빈의 공유 결합, 헴 잔기의 공유 결합, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 결합, 지질 또는 지질 유도체의 공유 결합, 포스포티딜이노시톨의 공유 결합, 가교, 환형화, 디설파이드 결합 형성, 디메틸화, 공유 가교의 형성, 시스테인의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마-카복실화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 하이드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 페질화, 단백질용해 프로세싱, 인산화, 프레닐화, 라세미화, 셀레노일화, 황산화, 전달 RNA 매개된 아미노산의 단백질에의 첨가(예: 아르기닐화) 및 유비퀴논화를 포함한다[참조 문헌: PROTEINS-STRUCTURE and MOLECULAR PROPERTIES, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New york (1993); POST-TRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pgs. 1-12 (1983); Seifter et al., Meth Enzymol 182:626-646 (1990); Rattan et al., Ann NY Acad Sci 663:48-62 (1992)].

항-TR7 항체

일 태양에서, 본 발명은 TR7(서열번호 3) 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체(예컨대, 디설파이드 브릿지에 의해 서로 연결된 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함하는 항체)(여기서, 중쇄의 아미노산 서열 및 경쇄의 아미노산 서열은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 세포주에 의해 발현되는 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열과 동일하다)를 제공한다. 또 다른 태양에서, 본 발명은 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체(각각이 디설파이드 브릿지에 의해 서로 연결된 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄로 이루어져서 항체를 형성한다)(여기서, 중쇄의 아미노산 서열 및 경쇄의 아미노산 서열은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 세포주에 의해 발현되는 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열과 동일하다)를 제공한다. TR7 폴리펩티드에 대한 면역특이적 결합은 특이적 항체-항원 결합을 검정하기 위한 본원에 기술되거나 당업계에서 공지된 면역분석에 의해 결정될 수 있다. TR7에 면역특이적으로 결합하는 이들 항체의 단편 또는 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자도 또한 본 발명에 포괄되며, 이들 항체 분자, 단편 및/또는 변이체를 암호화하는 핵산 분자(예: 서열번호 57-71)도 그러하다.

본 발명의 일 태양에서, TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체는, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 세포주에 의해 발현되는 임의의 중쇄의 아미노산 서열 및/또는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 세포주에 의해 발현되는 임의의 경쇄의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함한다.

본 발명의 또 다른 태양에서, TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인중 임의의 하나 의 아미노산 서열 및/또는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인중 임의의 하나의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함한다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 표 1에 언급된 단일 scFv로부터의 VH 도메인 및 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함한다. 대안적 태양에서, 본 발명의 항체는 표 1에 언급된 상이한 scFv로부터의 VH 도메인 및 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함한다. TR7에 면역특이적으로 결합하는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 및/또는 VL 도메인의 항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자도 또한 본 발명에 포괄되고, 이들 VH 및 VL 도메인, 분자, 단편 및/또는 변이체를 암호화하는 핵산 분자도 그러하다.

또한, 본 발명은 TR7의 폴리펩티드, 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체로서, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인중에 함유된 임의의 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VH CDR의 아미노산 서열을 가진 폴

리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진 항체를 제공한다. 특히, 본 발명은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인중에 함유된 VH CDR1의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진, TRAIL 수용체에 면역특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 또 다른 태양에서, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인중에 함유된 VH CDR2의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 바람직한 태양에서, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인중에 함유된 VH CDR3의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루 어진다. TR7 또는 TR7 단편 또는 이의 변이체에 면역특이적으로 결합하는 이들 항체, 또는 항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자도 또한 본 발명에 포괄되고, 이들 항체, 분자, 단편 및/또는 변이체를 암호화하는 핵산 분자(예: 서열번호 57-71)도 그러하다.

또한, 본 발명은 TR7의 폴리펩티드, 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체로서, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인중에 함유된 임의의 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VL CDR의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진 항체를 제공한다. 특히, 본 발명은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인중에 함유된 VL CDR1의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 또 다른 태양에서, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인중에 함유된 VL CDR2의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 바람직한 태양에서, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인에 함유된 VL CDR3의 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. TR7 또는 TR7 단편 또는 이의 변이체에 면역특이적으로 결합하는 이들 항체, 또는 항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자도 또한 본 발명에 포괄되고, 이들 항체, 분자, 단편 및/또는 변이체를 암호화하는 핵산 분자(예: 서열번호 57-71)도 그러하다.

본 발명은 또한 면역특이적으로 TR7 폴리펩티드 또는 TR7의 단편 또는 변이 체에 결합하는 항체(항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)로서, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인 또는 VL 도메인중에 함유된 바와 같은 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VH CDR 및 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VL CDR을 포함하거나 이로 이루어진 항체를 제공한다. 특히, 본 발명은 TR7의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체로서, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인 또는 VL 도메인중에 함유된 VH CDR 및 VL CDR중의 VH CDR1 및 VL CDR1, VH CDR1 및 VL CDR2, VH CDR1 및 VL CDR3, VH CDR2 및 VL CDR1, VH CDR2 및 VL CDR2, VH CDR2 및 VL CDR3, VH CDR3 및 VH CDR1, VH CDR3 및 VL CDR2, VH CDR3 및 VL CDR3 또는 임의의 배합체를 포함하거나 이들로 이루어진 항체를 제공한다. 바람직한 태양에서, 이들 배합체 중 하나 이상은 표 1에 기술된 것과 동일한 scFv로부터 기원한 것이다. TR7에 면역특이적으로 결합하는 이들 항체의 단편 또는 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자도 또한 본 발명에 의해 포괄되고, 이들 항체, 분자, 단편 또는 변이체를 암호화하는 핵산 분자(서열번호 57-71)도 그러하다.

항-TR7 항체를 암호화하는 핵산 분자

본 발명은 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)를 암호화하는, 일반적으로 분리된 핵산 분자를 제공한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산 분자는 서열번호 57 내지 71 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 구체적 태양에서, 본 발명의 핵산 분자는, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 가진 VH 도메인 및 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 가진 VL 도메인을 포함하거나 이들로 이루어진 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)를 암호화한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 핵산 분자는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 가진 VH 도메인 또는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 가진 VL 도메인을 포함하거나 이들로 이루어진 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)를 암호화한다.

본 발명은 또한 본원에 기술된 항체 분자(예: VH 도메인 및/또는 VL 도메인)의 변이체(유도체를 포함)를 포함하거나 이들로 이루어진, TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 당업자에게 공지된 표준 기술, 예를 들면, 부위-지시 돌연변이유발 및 PCR-매개 돌연변이유발 등을 사용하여, 본 발명의 분자를 암호화하는 뉴클레오티드 서열내에 돌연변이를 도입하여, 아미노산을 치환시킬 수 있다. 바람직하게, 변이체(유도체를 포함)는 참고 VH 도메인, VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VL 도메인, VLCDR1, VLCDR2 또는 VLCDR3과 비교하여, 50개 미만의 아미노산 치환체, 40개 미만의 아미노산 치환체, 30개 미만의 아미노산 치환체, 25개 미만의 아미노산 치환체, 20개 미만의 아미노산 치환체, 15개 미만의 아미노산 치환체, 10개 미만의 아미노산 치환체, 5개 미만의 아미노산 치환체, 4개 미만의 아미노산 치환체, 3개 미만의 아미노산 치환체, 2개 미만의 아미노 산 치환체를 암호화한다. '보존성 아미노산 치환'은 아미노산 잔기가 유사한 전하를 가진 측쇄를 지닌 아미노산 잔기로 대체된 것이다. 유사한 전하를 가진 측쇄를 지닌 아미노산 잔기의 패밀리는 당업계에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지된 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를

들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 지닌 아미노산을 포함한다. 또한, 돌연변이는 암호화 서열의 전부 또는 일부를 따라, 예를 들어 포화 돌연변이유발에 의해 무작위로 도입될 수 있고, 생성된 돌연변이체를 활성(예를 들어, TR7에 결합하는 능력)을 보유한 돌연변이체를 동정하기 위해 생물학적 활성에 대해 스크리닝할 수 있다.

예를 들면, 항체 분자의 주쇄 영역 또는 단지 CDR 영역에 돌연변이를 도입할 수 있다. 도입된 돌연변이는 침묵성(silent) 또는 중성 미스센스 돌연변이, 즉 항원에 결합하는 항체의 능력에 전혀 또는 거의 영향을 주지 않을 수 있다. 이러한 유형의 돌연변이는 코돈 활용을 최적화하거나 하이브리도마의 항체 생성을 개선하는데 유용할 수 있다. 또는, 비-중성 미스센스 돌연변이는 항원에 결합하는 항체의 능력을 변경시킬 수 있다. 대부분의 침묵성 및 중성 미스센스 돌연변이의 위치는 주쇄 영역내일 것이며, 대부분의 비-중성 미스센스 돌연변이의 위치는 CDR 내일 것이나, 이것은 절대적 요건은 아니다. 당업자는, 항원 결합 활성의 변화 또는 결 합 활성의 변화 없이 목적하는 특성(예: 항원 결합 활성 또는 항체 특이성의 변화에서의 개선)을 지닌 돌연변이 분자를 고안하고 시험할 수 있다. 돌연변이유발 후, 암호화된 단백질은 통상적으로 발현될 수 있고, 암호화된 단백질의 기능적 및/또는 생물학적 활성(예를 들어, TR7에 면역특이적으로 결합하는 능력)은 본원에 기술된 기술을 사용하거나 당업계에 공지된 기술의 통상적 변형 기술을 사용하여 결정할 수 있다.

구체적 태양에서, TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는, 엄격한 조건, 예를 들어 약 45℃에서 6x 염화나트륨/나트륨 시트레이트(SSC)에서 필터-결합된 DNA와 하이브리드화시킨 후 약 50 내지 65℃에서 0.2x SSC/0.1% SDS중에서 1회 이상 세척하는 조건하에서, 고도의 엄격한 조건, 예를 들어 약 45℃에서 6x SSC에서 필터-결합된 핵산과 하이브리드화시킨 후 약 68℃에서 0.1x SSC/0.2% SDS에서 1회 이상 세척하는 조건하에서, 또는 당업자에게 공지된 기타 엄격한 하이브리드화 조건하에서[참조 문헌: Ausubel, F.M. et al., eds. , 1989, *Current Protocols in Molecular Biology* , Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. 및 John Wiley amp; Sons, Inc., New York at pages 6.3.1-6.3.6 및 2.10.3], 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 또는 VL 도메인중 하나를 암호화하는 서열과 상보적인 뉴클레오티드 서열과 하이브리드화하는 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 이들 항체를 암호화하는 핵산 분자도 또한 본 발명에 포괄된다.

유사한 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체가 종종 유사한 구조 및 다수의 동일한 생물학적 활성을 갖는다는 것이 당업계에 익히 공지되어 있다. 따라서, 일 태양에서, TR7 또는 TR7의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 도메인의 아미노산 서열과 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함하거나 이들로 이루어진다다.

또 다른 태양에서, TR7 또는 TR7의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VL 도메인의 아미노산 서열과 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하거나 이들로 이루어진다.

항체를 생성하는 방법

본 발명에 따른 항체는 바람직하게는 파아지 scFv 전시 라이브러리를 이용하여 제조된다. 이를 달성하는데 이용되는 기술은 본원에 기재된 특허, 출원 및 참조 문헌에 기술되어 있다.

파아지 전시 방법에서, 기능성 항체 도메인은 이들을 암호화하는 폴리뉴클레 오티드 서열을 갖는 파아지 입자의 표면상에 전시된다. 특히, VH 및 VL 도메인을 암호화하는 DNA 서열은 동물 cDNA 라이브러리(예를 들어, 림프 조직의 사람 또는 마우스 cDNA 라이브러리) 또는 합성 cDNA 라이브러리로부터 증폭된다. VH 및 VL 도메인을 암호화하는 DNA는 PCR에 의해 scFv 링커로써 연결되고 파아지미드(phagemid) 벡터(예를 들어, pCANTAB 6 또는 pComb 3 HSS)에 클로닝된다. 상기 벡터를 이.콜라이에 전기천공으로 도입하고, 당해 이.콜라이를 헬퍼 파아지로 감염시킨다. 이들 방법에 사용되는 파아지는 전형적으로 fd 및 M13을 포함하는 필라멘트형 파아지이고, VH 및 VL 도메인은 통상적으로 파아지 유전자 III 또는 유전자 VIII중 하나에 재조합적으로 융합된다. 목적하는 항원(즉, TRAIL 수용체 폴리펩티드 또는 이의 단편)에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현하는 파아지는, 예를 들면, 표지된 항원 또는 고체 표면 또는 비드에 결합되거나 포획된 항원을 사용하여, 항원에 의해 선별되거나 동정될 수 있다. 본 발명의 항체를 제조하는데 사용될 수 있는 파아지 전시 방법의 예는 문헌[참조: Brinkman *et al.* , J. Immunol. Methods 182:41-50 (1995); Ames *et al.* , J. Immunol. Methods 184:177-186 (1995); Kettleborough *et al.* , Eur. J. Immunol. 24:952-958 (1994); Persic *et al.* , Gene 187 9-18 (1997); Burton *et al.* , Advances in Immunology 57:191-280(1994); PCT 출원번호 제PCT/GB91/O1 134호; PCT 공개공보 제WO90/02809호; 제WO91/10737호; 제WO92/01047호; 제WO92/18619호; 제WO93/1 1236호; 제WO95/15982호; 제WO95/20401호; 제WO97/13844호 및 미국 특허 제5,698,426호; 제5,223,409호; 제5,403,484호; 제5,580,717호; 제5,427,908호; 제5,750,753호; 제5,821,047호; 제5,5

71,698호; 제 5,427,908호; 제5,516,637호; 제5,780,225호; 제5,658,727호; 제5,733,743호 및 제5,969,108호; 이의 각각은 본원에 참조로서 이의 전문이 인용된다]에 기술된 방법을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

일부 용도, 예를 들어 본 발명의 항체의 시험관내 친화성 성숙에 있어서, 파아지 전시 라이브러리에서 단일쇄 항체 또는 Fab 단편으로서, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 및 VL 도메인을 발현하는 것이 유용할 수 있다. 예를 들면, 표 1에서 언급된 scFv의 VH 및 VL 도메인을 암호화하는 cDNA는 파아지 전시 라이브러리를 사용하여 모든 가능한 배합으로 발현될 수 있어서, 개선된 친화성 또는 개선된 해리 속도와 같은 바람직한 결합 특성을 가진 TR7 폴리펩티드에 결합하는 VH/VL 배합물이 선별될 수 있다. 또한, 특히, VH 및 VL 절편 - 표 1에서 언급된 scFv의 VH 또는 VL 도메인의 CDR 영역이 시험관내에서 돌연변이될 수 있다. 파아지 전시 라이브러리에서 '돌연변이체' CDR을 가진 VH 및 VL 도메인이 발현되면, 바람직한 결합 특징, 예를 들어 개선된 친화성 또는 개선된 해리 속도를 가진 TR7 폴리펩티드에 결합하는 VH/VL 배합물이 선별될 수 있다.

항체를 생성하는 추가적 방법

본 발명의 항체(항체 단편 또는 변이체를 포함)는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다. 예를 들면, 본 발명에 따른 항체가 하이브리도마 세포주 외의 세포주에서 발현될 수 있다고 여겨진다. 특정 항체에 대한 cDNA 또는 게놈 클론을 암호화하는 서열을 적당한 포유동물 또는 비-포유동물 숙주 세포의 형 질전환에 사용하여, 예를 들면, 파이지 전시 라이브러리를 제조할 수 있다. 또한, 본 발명의 폴리펩티드 항체는 화학적으로 합성되거나, 또는 재조합 발현 시스템의 사용을 통하여 제조될 수 있다.

본 발명의 항체를 제조하는 한가지 방법은 표 1에서 언급된 scFv의 VH 및/또는 VL 도메인을 클로닝하는 것이다. scFv를 함유하는 벡터로 형질감염된 세균으로부터 VH 및/또는 VL 도메인을 분리하기 위하여, VH 또는 VL 뉴클레오티드 서열에 상보적인 PCR 프라이머(실시예 4 참조)를 사용하여 VH 및 VL 서열을 증폭시킬 수 있다. 이어서, PCR 생성물을, 5' 및 3' 단일 T 뉴클레오티드 오버행(overhang)으로 이루어진, 즉 PCR 반응에 사용된 다수의 DNA 폴리머라제에 의해 PCR 생성물의 5' 및 3' 말단에 첨가된 단일 아데닌 뉴클레오티드 오버행에 상보적인 PCR 생성물 클로닝 부위를 가진 벡터를 사용하여 클로닝할 수 있다. 이어서, VH 및 VL 도메인을 당업계에 공지된 통상의 방법을 사용하여 서열분석할 수 있다. 달리, VH 및 VL 도메인은 전체 scFv(즉, VH 도메인, 링커 및 VL 도메인)를 증폭시키기 위하여 고안된 벡터-특이적 프라이머를 사용하여 증폭시킬 수 있다.

클로닝된 VH 및 VL 유전자는 하나 이상의 적합한 발현 벡터속에 도입될 수 있다. 비-제한적인 예로서, VH 또는 VL 뉴클레오티드 서열, 제한 부위, 및 제한 부위를 보호하기 위한 플랭킹 서열을 포함하는 PCR 프라이머를 사용하여 VH 또는 VL 서열을 증폭시킬 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기술을 사용하여, PCR 증폭된 VH 도메인을 적당한 면역글로불린 불변 영역(예: VH 도메인에 대한 사람 IgG1 또는 IgG4 불변 영역), 및 카파 및 람다 VL 도메인 각각에 대한 사람 카파 또는 람 다 불변 영역을 발현하는 벡터속에 클로닝시킬 수 있다. 바람직하게, VH 또는 VL 도메인을 발현하는 벡터는 선택된 발현 시스템내 중쇄 및 경쇄의 발현을 유도하는데 적합한 프로모터, 분비 시그날, 및 면역글로불린 가변 도메인, 면역글로불린 불변 도메인 및 네오마이신과 같은 선별 마커를 위한 클로닝 부위를 포함한다. 또한, VH 및 VL 도메인을 필수 불변 영역을 발현하는 단일 벡터속에 클로닝시킬 수 있다. 이어서 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터를 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 세포주에 공동-형질감염시켜, 전장의 항체(예: IgG)를 발현하는 안정적인 또는 일시적인 세포주를 작제할 수 있다[참조 문헌: Guo et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 82:925-31 (1997), 및 Ames et al., J. Immunol. Methods 184: 177-86 (1995), 이의 전문이 참조로서 본원에 인용됨].

본 발명은 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 분자를 포함)를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 또한 위에서 정의된 바와 같은 높은 엄격한 하이브리드화 조건, 또는 중간 또는 낮은 엄격한 하이브리드화 조건하에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 갖는 핵산과 상보적인 폴리뉴클레오티드와 하이브리드화하는 폴리뉴클레오티드를 포괄한다.

당업계에 공지된 임의의 방법에 의해, 당해 폴리뉴클레오티드가 수득될 수 있고, 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 결정될 수 있다. VH 도메인, VL 도메인 및 이의 CDR의 아미노산 서열이 공지된 경우, 이들 항체를 암호화하는 뉴클 레오티드 서열은 당업계에 널리 공지된 방법, 즉 특정 아미노산을 암호화하는 것으로 공지된 뉴클레오티드 코돈을 본 발명의 항체를 암호화하는 핵산이 제조되도록 조립하는 방법을 사용하여 결정할 수 있다. 당해 항체를 암호화하는 이러한 폴리뉴클레오티드는 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오티드로부터 조립될 수 있는데[참조 문헌: Kutmeier et al., BioTechniques 17:242(1994)], 이는 간략하게, 항체를 암호화하는 서열의 일부를 함유한 올리뉴클레오티드를 중첩시키고, 이들 올리고뉴클레오티드를 어닐링하여 연결시킨 다음, 연결된 올리고뉴클레오티드를 PCR로 증폭시키는 합성을 포함한다.

달리, 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 적합한 공급원의 핵산으로부터 제조될 수 있다. 특정 항체를 암호화하는 핵산을 함유한 클론이 이용될 수는 없으

나, 항체 분자의 서열이 공지되어 있는 경우, 면역글로불린을 암호화하는 핵산을 화학적으로 합성하거나, 또는 서열의 3' 및 5'말단에 하이브리드화 할 수 있는 합성 프라이머를 사용하는 PCR 증폭에 의해, 또는 예를 들어 항체를 암호화하는 cDNA 라이브러리로부터 cDNA 클론을 동정하기 위해 특정 유전자 서열에 대해 특이적인 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용한 클로닝에 의해 적합한 공급원(예를 들어, 항체를 발현하는 임의의 조직 또는 세포, 예를 들어, 본 발명의 항체를 발현하는 하이브리도마 세포 또는 엡스타인 바르 바이러스 형질전환된 B 세포주로부터 제조된 항체 cDNA 라이브러리 또는 cDNA 라이브러리, 또는 상기 조직 또는 세포로부터 분리된 핵산, 바람직하게는 폴리 A + RNA)으로부터 수득할 수 있다. 이어서 PCR에 의해 제조된 증폭된 핵산을 당업계에 널리 공지된 임의의 방법을 사용하여 복제 가능한 클로닝 벡터속에 클로닝할 수 있다.

항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)의 뉴클레오티드 서열이 일단 결정된 경우, 항체의 뉴클레오티드 서열을, 뉴클레오티드 서열을 조작하기 위한 당업계에 널리 공지된 방법, 예를 들면, 재조합 DNA 기술, 부위 지시된 돌연변이유발, PCR 등[예를 들어, 문헌(참조: 본원에 전문이 참조로서 인용된 Sambrook *et al.* , 1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY and Ausubel *et al.* , eds., 1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley amp; Sons, NY)에 기재된 기술]을 사용하여 조작하여, 상이한 아미노산 서열을 갖는 항체, 예를 들면 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함하는 항체가 제조될 수 있다.

구체적 태양에서, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 및 VL 도메인, 또는 이의 단편 또는 변이체를, 당업계에 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여 주쇄 영역내에 삽입한다. 구체적 태양에서, 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv의 VH 및/또는 VL의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 또는 그 이상의 CDR 또는 이의 단편 또는 변이체를, 당업계에 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여 주쇄 영액내에 삽입한다. 주쇄 영역은 천연적으로 존재하는 주쇄 영역 또는 컨센수스 주쇄 영역일 수 있고, 바람직하게는 사람 주쇄 영역[참조: 사람 주쇄 영역을 열거한 문헌(Chothia *et al.* , J. Mol. Biol. 278: 457-479 (1998))(이의 내용은 참조로서 이의 전문이 본원에 인 용됨)]일 수 있다. 바람직하게, 주쇄 영역 및 CDR의 배합에 의해 생성된 폴리뉴클레오티드는 TRAIL 수용체에 특이적으로 결합하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)를 암호화한다. 바람직하게는, 위에서 논의된 바와 같이, 하나 이상의 아미노산이 치환된 항체 또는 항체 단편의 변이체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 주쇄 영역내에서 제조될 수 있고, 바람직하게는 당해 아미노산 치환이 항체와 이의 항원의 결합을 현저하게 변화시키지 않는다. 부가적으로, 이러한 방법을 사용하여, 쇄내 디설파이드 결합에 관여하는 하나 이상의 가변 영역 시스테인 잔기의 아미노산을 치환 또는 결실시켜, 하나 이상의 쇄내 디설파이드 결합이 결여된 항체 분자, 또는 항체의 단편 또는 변이체를 제조할 수 있다. 다르게 변형된 폴리뉴클레오티드가 본 발명에 포괄되고 당업계의 통상적인 기술 범위에 속한다.

YAC 내에 메가염기-크기의 사람 유전자좌를 클로닝하고 재작제하는 능력 및 이들을 마우스 배선(germline)에 도입하는 능력은, 매우 거대하거나 조악하게 맵핑된 유전자좌의 기능 성분을 규명해줄 뿐만 아니라 사람 질환의 유용한 모델을 제시하는 강력한 접근법을 제공해준다. 또한, 마우스 유전자좌를 이의 사람 등가물로 치환시키기 위해 상기 기술을 활용하는 경우, 발생과정 동안의 사람 유전자 생성물의 발현 및 조절, 이들과 다른 시스템과의 교신, 및 질환 유발과 진행에 있어서의 이들의 관련성 여부를 독자적으로 통찰할 수 있었다.

이러한 전략의 중요한 실제적 적용은 마우스 체액성 면역계의 '사람화'이다. 내인성 Ig 유전자가 불활성화된 마우스 내로 사람 면역글로불린(Ig) 유전자좌를 도 입하면, 항체의 프로그램된 발현과 어셈블리가 진행되고 있는 매카니즘뿐만 아니라 B 세포 발생에 있어서의 이의 역할을 연구할 기회가 제공된다. 더우기, 이러한 전략은 완전한 사람 모노클로날 항체(Mab)를 생산하기 위한 이상적인 공급원을 제공해줄 수 있으며, 이는 사람 질환에 있어서의 항체 치료법의 기대를 충족시켜 주는 중요한 획기적인 사건이다.

완전한 사람 항체는 마우스 또는 마우스-유도체화 모노클로날 항체에 대한 고유 면역원성 및 알레르기성 반응을 최소화시켜, 투여된 항체의 효능과 안전성을 증가시켜줄 것으로 기대된다. 완전한 사람 항체의 사용은 반복적인 항체 투여를 요구하는 만성 및 재발성 사람 질환, 예를 들어, 암을 치료하는데 있어 상당한 잇점을 제공해줄 것으로 기대할 수 있다.

이러한 목표를 향한 한 가지 접근법은, 마우스 항체의 부재하에서 사람 항체의 큰 레퍼토리를 생성할 것이라는 기대하에, 사람 Ig 유전자좌의 거대 단편을 갖는, 상기와 같은 마우스 항체 생성이 결핍된 마우스 종을 기술적 처리하는 것이다. 거대 사람 Ig 단편은 거대 가변 유전자 다양성을 보존할 뿐만 아니라 항체 생산과 발현의 적당한 조절을 보존할 것이다. 항체 다양화와 선별에 대한 마우스 기구 및 사람 단백질에 대한 면역학적 내성의 결여를 이용함으로써, 이들 마우스 종내에 재생산된 사람 항체 레퍼토리는 사람 항원을 포함한 목적하는 모든 항원에 대한 고친화성 항체가 수득되어야 한다. 하이브리도마 기술을 사용하여, 목적하는 특이성을 지닌 항원-특이적 사람 모노클로날 항체를 용이하게 생산 및 선별할 수 있다.

이러한 일반적인 전략은 1994년에 공개된 최초의 크세노마우스(XenoMouse)™ 종의 생성과 연계되어 입증되었다[참조 문헌: Green et al. Nature Genetics 7: 13-21 (1994)]. 상기 크세노마우스™ 종을, 코어 가변 영역 및 불변 영역 서열을 함유한 사람 중쇄 유전자좌 및 카파 경쇄 유전자좌 각각의 245kb 및 10 190kb 크기의 배선 형태 단편을

함유하는 효모 인공 염색체(YAC)를 이용하여 기술적으로 처리하였다(Id.). YAC를 함유하는 사람 Ig는 항체의 재배열과 발현 모두에 있어서 마우스 시스템에 적합한 것으로 입증되었으며, 이는 불활성화된 마우스 Ig 유전자를 대체할 수 있었다. 이는, B-세포 발생을 유도하는 능력, 완전한 사람 항체의 성인-유사 사람 레퍼토리를 생성하는 능력, 및 항원-특이적 사람 모노클로날 항체를 제조하는 능력에 의해 입증되었다. 또한, 이들 결과로부터, 보다 많은 수의 V 유전자, 부가의 조절 요소, 및 사람 Ig 불변 영역을 함유하는 사람 Ig 유전자좌의 상당 부분을 도입하면, 감염 및 면역화에 대한 사람 체액성 반응의 특징인 완전한 레퍼토리가 실질적으로 반복될 것이라고 제안되었다. 그린(Green et al)의 논문은 최근에, 크세노마우스™ 마우스를 생산하기 위해, 사람 중쇄 유전자좌 및 카파 경쇄 유전자좌 각각의 메가염기-크기의 배선 형태 YAC 단편의 도입을 통하여 사람 항체 레퍼토리의 대략 80%를 초과하는 도입까지 확대되었다[참조: Mendez et al. Nature Genetics 15: 146-156 (1997), Green 및 Jakobovits J Exp. Med. 188: 483-495 (1998), Green, Journal of Immunological Methods 231: 11-23 (1999) 및 미국 특허원 제08/759,620호(1996년 12월 3일 출원); 이의 내용이 본원에 참조로서 본원에 인용된다].

이러한 접근법은 다음 문헌에서 추가로 논의되고 서술되어 있다[참조: 미국 특허원 제07/466,008호(1990년 1월 12일 출원), 제07/710,515호(1990년 11월 8일 출원), 제07/919,297호(1992년 7월 24일 출원), 제07/922,649호(1992년 7월 30일 출원, 제08/031,801호(1993년 3월 15일 출원), 제08/112,848호(1993년 8월 27일 출원), 제08/234,145호(1994년 4월 28일 출원), 제08/376,279호(1995년 1월 25일 출원), 제08/430,938호(1995년 4월 27일 출원), 제08/464,584호(1995년 6월 5일 출원), 제08/464,582호(1995년 6월 5일 출원), 제08/471,191호(1995년 6월 5일 출원), 제08/462,837호(1995년 6월 5일 출원), 제08/486,853호(1995년 6월 5일 출원), 제08/486,857호(1995년 6월 5일 출원), 제08/486,859호(1995년 6월 5일 출원), 제08/462,513호(1995년 6월 5일 출원), 제08/724,752호(1996년 10월 2일 출원), 및 제08/759,620호(1996년 12월 3일 출원); Mendez et al. Nature Genetics 15: 146-156 (1997) 및 Green 및 Jakobovits J Exp. Med. 188: 483 495 (1998); 유럽 특허 제EP 0 471 151 B1호(1996년 6월 12일 공개 등록), 국제 특허원 WO94/02602(1994년 2월 3일 공개), 국제 특허원 WO96/34096(1996년 10월 31일 공개) 및 WO98/24893(1998년 6월 11일 공개)]. 상기 인용된 특허, 특허원 및 참조문헌 각각의 내용 전체가 본원에 참조로서 인용된다.

사람 항-마우스 항체(HAMA) 반응은 키메라 또는 사람화된 항체를 제조하기 위한 산업을 선도하여 왔다. 키메라 항체가 사람 불변 영역과 쥐의 가변 영역을 갖는 경우, 특정의 사람 항-키메라 항체(HACA) 반응이, 특히 항체의 만성 또는 다중-투여 활용에서 관찰될 것으로 기대되었다. 따라서, HAMA 또는 HACA 반응의 우려 및/또는 효과를 없애기 위해서는 TR7 폴리펩티드에 대한 완전한 사람 항체를 제 공하는 것이 바람직할 것이다.

TR7 폴리펩티드에 특이적인 모노클로날 항체는 하이브리도마 기술을 사용하여 제조할 수 있다[참조 문헌: Kohler et alL., Nature 256: 495 (1975); Kohler et alL., Eur. J. Immunol. 6: 511 (1976); Kohler et al., Eur. J. Immunol. 6: 292 (1976); Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies 및 T-Cell Hybridomas, Elsevier, N. Y., pp. 571-681 (1981)]. 요약하면, 크세노마우스™마우스는 TR7 폴리펩티드로 면역화시킬 수 있다. 면역화 후, 이러한 마우스의 비장세포(splenocyte)를 추출하고 적합한 골수종 세포주와 융합시켰다. 임의의 적합한 골수종 세포주가 본 발명에 사용될 수 있으나; ATCC로부터 이용할 수 있는 모 골수종 세포주(SP2O)를 사용하는 것이 바람직하다. 융합 후, 수득된 하이브리도마 세포를 HAT 배지에서 선택적으로 유지한 다음, 문헌[Wands et al., Gastroenterology 80: 225-232 (1981)]에 기술된 바와 같이 제한 희석(limiting dilution)으로 클로닝한다. 이어서, 이러한 선별을 통하여 수득된 하이브리도마 세포를 검정하여 TR7 폴리펩티드의 결합할 수 있는 항체를 분비하는 클론을 동정한다.

사람에서의 항체의 생체내 사용 및 시험관내 검출 검정을 포함한 일부 용도를 위해, 사람 또는 키메라 항체를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 완전한 사람 항체는 특히 사람 환자의 치료를 위해 바람직하다[참조 문헌: 미국 특허 제4,444,887호 및 제4,716,111호; 및 PCT 공개공보 제WO98/46645호, 제WO 98/50433호, 제WO98/24893호, 제WO98/16654호, 제WO96/34096호, 제WO96/33735호 및 제WO91/10741호; 이의 각각은 본원에 이의 전문이 참조로서 인용된다]. 구체적 태양 에서, 본 발명의 항체는 본 발명의 하나 이상의 VH 및 VL 도메인 및 다른 면역글로불린 분자, 바람직하게는 사람 면역글로불린 분자로부터의 불변 영역을 포함한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 본 발명의 VH 및 VL에 상응하는 하나 이상의 CDR 및 또 다른 면역글로불린 분자, 바람직하게는 사람 면역글로불린 분자로부터의 주쇄 영역에 상응하는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 단편 또는 변이체의 하나 이상의 VH 또는 VL 도메인에 상응하는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 또는 그 이상의 VL CDR 또는 VH CDR, 및 사람 면역글로불린 분자로부터의 주쇄 영역(및 임의로 표 1에서 언급된 scFv에 의해 발현되는 항체로부터 유래되지 않은 하나 이상의 CDR)을 포함한다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는, 표 1에 언급된 scFv로부터 선택된 동일한 scFv 또는 상이한 scFv 또는 이의 단편 또는 변이체에 상응하는 VH CDR3, VL CDR3 또는 둘 모두, 및 사람 면역글로불린으로부터의 주쇄 영역을 포함한다.

키메라 항체는, 사람 항체로부터 기원하는 가변 영역 및 비-사람(예: 쥐) 면역글로불린 불변 영역을 갖거나, 또는 그 역으로 기원하는 항체와 같이 항체의 상이한 부분이 상이한 면역글로불린 분자로부터 기원하는 분자이다. 키메라 항체를 생성하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있다[참조 문헌: Morrison, Science 229:1202 (1985); Oi *et al.* , BioTechniques 4:214 (1986); Gillies *et al.* , J. Immunol. Methods 125:191-202 (1989); 미국 특허 제5,807,715호; 제4,816,567호; 및 제4,816,397호; 본원에 이의 전문이 참조로서 인용됨]. 사람 종 기원의 하나 이상의 CDR 및 비-

사람 면역글로불린 분자 기원의 주쇄 영역(예를 들면, 쥐, 개 또는 고양이 면역글로불린 분자 기원의 주쇄 영역)(또는 그 반대 경우)을 포함하는 키메라 항체는, 예를 들면, CDR-이식[참조: EP 239,400; PCT 공개공보 제WO91/09967호; 미국 특허 제5,225,539호; 제5,530,101호 및 제5,585,089호], 베니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing)[참조: EP 592,106; EP 519,596; Padlan, Molecular Immunology 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka *et al.* , Protein Engineering 7(6):805-814 (1994); Roguska *et al.* , PNAS 91:969-973 (1994)], 및 쇄 셔플링(shuffling)[참조: 미국 특허 제5,565,332호]을 포함하는 당업계에 공지된 다양한 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 바람직한 태양에서, 키메라 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 VH 또는 VL 도메인의 VH CDR3 또는 VL CDR3 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 사람 CDR3, 및 표 1에 기술된 상응하는 scFv의 주쇄와는 상이한 비-사람 주쇄 영역 또는 사람 주쇄 영역을 포함한다. 흔히, 주쇄 영역내 주쇄 잔기를 CDR 공여 항체 기원의 상응하는 잔기로 치환하여, 항원 결합을 변화, 바람직하게는 개선시킬 것이다. 이들 주쇄 치환은 당업계에 널리 공지된 방법, 예를 들면, CDR과 주쇄 잔기의 상호작용을 모델링하여 항원 결합에 중요한 주쇄 잔기를 동정하는 방법 및 서열을 비교하여 특정 위치에서 특이한 주쇄 잔기를 동정하는 방법에 의해 동정된다[참조: Queen *et al.* , U.S. Patent No. 5,585,089; Riechmann *et al.* , Nature 332:323 (1988); 본원에 이들의 전문이 참조로서 인용됨].

내체(intrabody)는 재조합 핵산 분자로부터 발현되어 세포내(예를 들면, 세 포질, 소포체 또는 주변세포질)에 유지되도록 조작된 항체, 종종 scFv이다. 내체는, 예를 들면, 내체가 결합하는 단백질의 기능을 제거하는데 사용될 수 있다. 또한, 내체의 발현은 내체를 포함하는 핵산 발현 벡터에서 유도성 프로모터의 사용을 통하여 조절될 수 있다. 본 발명의 내체는 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 문헌[참조: Chen et al., Hum. Gene Ther. 5:595-601(1994); Marasco, W.A., Gene Ther. 4: 11-15(1997); Rondon 및 Marasco, Annr. Rev. Microbiol. 51: 257-283 (1997); Proba et al., J. Mol. Biol. 275: 245-253 (1998); Cohen et alL., Oncogene 17: 2445-2456 (1998); Ohage 및 Steipe, J. Mol. Biol. 291 : 1119-1128(1999); Ohage et al., J. Mol. Biol. 291: 1129-1134 (1999); Wirtz 및 Steipe, Protein Sci. 8: 2245-2250 (1999); Zhu et al., J. Immunol. Methods 231: 207- 222 (1999)], 및 본원에서 인용된 참조 문헌에 기술되고 검토된 방법을 사용하여 생성할 수 있다.

본 발명의 항체(이의 단편 또는 변이체를 포함)(예를 들면, 본 발명의 항체의 중쇄 또는 경쇄)의 재조합 발현은 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 발현 벡터의 작제를 필요로 한다. 일단, 본 발명의 항체 분자(예를 들면, 전체 항체, 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 이의 일부분(중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 함유하는 것이 바람직하나, 필수적인 것은 아님)을 암호화하는 폴리뉴클레오티드가 수득되면, 항체 분자를 제조하기 위한 벡터(들)를 당업계에 널리 공지된 기술을 사용하여 재조합 DNA 기술에 의해 생성할 수 있다. 따라서, 핵산을 암호화하는 항체를 함유하는 폴리뉴클레오티드를 발현시킴으로써 단백질을 제조하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 당업자에게 널리 공지된 방법을 사용하여, 항체 암호화 서열 및 적당한 전사 및 해독 제어 시그날을 함유하는 발현 벡터를 작제할 수 있다. 이들 방법에는, 예를 들면, 시험관내 재조합 DNA 기술, 합성 기술 및 생체내 유전자 재조합 기술이 포함된다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 항체 분자(예를 들면, 전체 항체, 항체의 중쇄 또는 경쇄, 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인, 또는 이의 부분, 또는 중쇄 또는 경쇄 CDR, 단일쇄 Fv, 또는 이의 단편 또는 변이체)를 암호화하는, 프로모터에 작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 복제능 벡터를 제공한다. 이러한 벡터는 항체 분자의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열[참조: PCT 공개공보 WO 86/05807; PCT 공개공보 WO 89/01036; 및 미국 특허 제5,122,464호; 이들의 각 내용은 본원에 참조로서 전문이 인용된다]을 포함할 수 있고, 당해 항체의 가변 도메인을 이러한 벡터에 클로닝하여 전체 중쇄, 전체 경쇄 또는 전체 중쇄 및 경쇄 모두를 발현할 수 있다.

발현 벡터(들)를 통상적인 기술을 사용하여 숙주 세포에 도입한 다음, 형질감염된 세포를 통상적인 기술로 배양하여 본 발명의 항체를 생성한다. 따라서, 본 발명은 발명의 항체(예를 들면, 전체 항체, 항체의 중쇄 또는 경쇄 또는 이의 부분, 단일쇄 항체 또는 이의 단편 또는 변이체)를 암호화하는, 이종성 프로모터에 작동가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드(들)를 함유하는 숙주 세포를 포함한다. 바람직한 태양에서, 전체 항체 분자를 발현시키기 위하여, 중쇄와 경쇄 모두를 암호화하는 벡터를 숙주 세포에서 공동-발현시켜, 상세히 후술되는 바와 같이 전체 면역글로불린 분자를 발현시킬 수 있다.

다양한 숙주-발현 벡터 시스템을 사용하여 본 발명의 항체 분자를 발현시킬 수 있다. 이러한 숙주-발현 시스템은, 목적하는 암호화 서열을 생성한 후 정제시킬 수 있는 비히클을 나타낼 뿐만 아니라, 적당한 뉴클레오티드 암호화 서열로 형질전환되거나 형질감염되는 경우 원 위치(in situ)에서 본 발명의 항체 분자를 발현할 수 있는 세포를 또한 나타낸다. 이들에는 항체 단편 또는 이의 변이체(단일쇄 항체)를 발현하도록 조작된 박테리오파아지(bacteriophage) 입자; 항체 암호화 서열을 함유하는, 재조합 박테이로파아지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 세균(예: 이. 콜라이, 비. 서브틸리스(B. subtilis))과같은 미생물; 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예: 삭카로마이세스(Saccharomyces), 피치아(Pichia)); 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예: 바쿨로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 항체 암호화 서열을 함유하는, 재조합 바이러스 발현 벡터(예: 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 또는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예: Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유동물 세포의 게놈으로부터 유래된 프로모터(예를 들면, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터(예를 들면, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)를 함유하는 재조합 발현 작제물을 보유하는 포유도움ㄹ 세포 시스템(예를 들면, COS, CHO, BHK, 293, 3T3, NSO 세포)가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 바

람직하게는, 에스케리키아 콜라이와 같은 세균 세포, 보다 바람직하게는 특히 전체 재조합 항체 분자를 발현시키기 위한 진핵성 세포가 재조합 항체 분자를 발현시키는데 사용된다. 예를 들면, 사람 사이토메갈로바이러스 기원의 주요 즉시 초기(major intermediate early) 유전자 프로모터 요소와 같은 벡터와 함께 중국산 햄스터 난소 세포(CHO)와 같은 포유동물 세포는 항체에 대해 효과적인 발현 시스템이다[참조: Foecking et al., Gene 45:101(1986); Cockett et al., Bio/Technology 8:2(1990); Bebbington et al., Bio/Techniques 10:169 (1992); Keen 및 Hale, Cytotechnology 18: 207 (1996)]. 이들 참조 문헌은 본원에 이의 전문이 참조로서 인용된다.

세균성 시스템에서, 수 많은 발현 벡터가 발현되는 항체 분자에 대해 의도된 용도에 따라서 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 항체 분자의 약제학적 조성물을 제조하기 위하여 다량의 상기 단백질을 생성해야 하는 경우에, 용이하게 정제될 수 있는 고수준의 융합 단백질 생성물의 발현을 지시하는 벡터가 바람직할 수 있다. 이러한 벡터에는 이. 콜라이 발현 벡터 pUR278[참조: Ruther et al., EMBO J. 2:1791 (1983)](당해 발현 벡터에서, 항체 암호화 서열이 lacZ 암호화 영역을 가진 프레임으로 벡터 내로 개별적으로 연결되어 융합 단백질이 생성된다); pIN 벡터[참조: Inouye amp; Inouye, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109(1985); Van Heeke amp; Schuster, J. Biol. Chem. 24:5503-5509 (1989)] 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. pGEX 벡터를 사용하여 글루타티온 5-트랜스퍼라제(GST)와의 융합 단백질로서 외래 폴리펩티드를 발현할 수도 있다. 일반적으로, 이러한 융합 단백질은 가용성이고, 매트릭스 글루타티온 아가로즈 비드에 흡착 및 결합시킨 다음 유리 글루타티온의 존재하에서 용출시킴으로써 용해된 세포로부터 용이하게 정제할 수 있다. 이러한 pGEX 벡터는 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 고안되어, 클로닝된 표적 유전자 생성물이 GST 잔기로부터 방출될 수 있다.

곤충 시스템에서, 오토그라파 칼리포니카 핵 다각체 바이러스(AcNPV)를 외래 유전자를 발현하기 위한 벡터로서 사용한다. 이러한 바이러스는 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 성장한다. 항체 암호화 서열을 당해 바이러스의 비-필수 영역(예를 들면, 폴리헤드린 유전자) 내로 개별적으로 클로닝한 다음, AcNPV 프로모터(예를 들면, 폴리헤드린 프로모터)의 제어하에 배치한다.

포유동물 숙주 세포에서, 수 많은 바이러스계 발현 시스템을 이용할 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로서 사용되는 경우에는, 목적하는 항체 암호화 서열을 아데노바이러스 전사/해독 제어 복합체, 예를 들면, 후기 프로모터 및 삼부(tripartite)의 리더 서열에 연결할 수 있다. 이어서, 이러한 키메라 유전자를 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 게놈 내에 삽입할 수 있다. 바이러스 게놈의 비-필수 영역(예를 들면, 영역 E1 또는 E3)에 삽입하면, 감염된 숙주에서 생존가능하고 항체 분자를 발현할 수 있는 재조합 바이러스가 생성될 것이다[참조: Logan amp; Shenk, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359(1984)]. 또한 특이적 개시 시그날이 삽입된 항체 암호화 서열의 효율적인 해독을 위하여 요구될 수도 있다. 이들 시그날에는 ATG 개시 코돈 및 인접한 서열이 포함된다. 더우기, 이러한 개시 코돈은 전체 삽입체의 해독을 보장하기 위해서 목적하는 암호화 서열의 판독 프레임과 동일한 상내에 있어야 한다. 이들 외인성 해독 제어 시그날과 개시 코돈은 천연 및 합성 모두의 각종 기원일 수 있다. 발현 효율은 적당한 전사 인핸서(enhancer) 요소, 전사 터미네이터 등을 포함시킴으로써 증가될 수 있다[참조: Bittner et al., Methods in Enzymol. 153:51-544(1987)].

또한, 삽입된 서열의 발현을 조정하거나 변형시키며, 유전자 생성물을 목적하는 특정한 방식으로 프로세싱하는 숙주 세포 균주를 선택할 수 있다. 단백질 생성물의 이러한 변형(예: 당화) 및 프로세싱(예: 절단)은 단백질의 기능에 있어 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질과 유전자 생성물의 해독 후 프로세싱 및 변형에 대한 특징적이고도 특이한 매카니즘을 지니고 있다. 적당한 세포주 또는 숙주 시스템을 선택하여, 발현된 외래 단백질의 정확한 변형과 프로세싱을 보장할 수 있다. 이를 위하여, 유전자 생성물의 1차 전사체의 적절한 프로세싱, 당화 및 인산화를 위한 세포내 기구를 보유하고 있는 진핵생물 숙주 세포가 사용될 수 있다. 이러한 포유동물 숙주 세포에는 CHO, VERY, BHK, Hela, COS, NSD, MDCK, 293, 3T3, W138, 특히 유방암 세포주, 예를 들어 BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, 및 정상적인 유선 세포주, 예를 들어 CRL7030 및 HsS78Bst가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

재조합 단백질을 장기간 동안 고수율로 생산하기 위해서는, 안정적인 발현이 바람직하다. 예를 들면, 항체 분자를 안정적으로 발현하는 세포주를 기술적으로 처리할 수 있다. 바이러스의 복제 오리진을 함유하는 발현 벡터를 사용하기 보다는, 숙주 세포를 적당한 발현 제어 요소(예: 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 터미네이터, 폴리아데닐화 부위 등) 및 선택가능 마커에 의해 제어된 DNA로 형질전환시킬 수 있다. 외래 DNA를 도입한 후, 기술적으로 처리된 세포를 1 내지 2일 동안 강화 배지에서 성장시킨 다음, 선택 배지로 교체할 수 있다. 재조합 플라스미드 내의 선별가능 마커는 선별에 대한 내성을 부여하고, 세포가 플라스미드를 이의 염색체 내로 안정적으로 통합시키고 성장되도록 하여 다시 세포주 내로 클로닝되어 증대될 수 있는 포시(foci)를 형성할 수 있도록 한다. 이 방법은 당해 항체 분자를 발현하는 세포주를 기술적으로 처리하는데 유리하게 사용될 수 있다. 이와 같이 기술적으로 처리된 세포주는, 당해 항체 분자와 직접 또는 간접적으로 상호작용하는 조성물의 스크리닝 및 평가에 특히 유용할 수 있다.

단순 포진 바이러스 티미딘 키나제[참조: Wigler et al., Cell 11:223(1977)], 하이포크산틴-구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제[참조: Szybalska amp; Szybalski, Pro. Natl. Acad. Sci. USA 48:202(1992)], 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제[참조: Lowy et al. Cell 22:817(1980)]를 포함하지만 이에 제한되지 않는 수 많은 선별 시스템이 사용될 수 있으며, 유전자를 tk-, hgpt- 또는 aprt-세포에 각각 사용할 수 있다. 또한, 항대사제 내성을 다음 유전자에 대

한 선별 기준으로서 사용할 수 있다: 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여하는 dhfr[참조: Wigler et al., Natl. Acad. Sci. USA 77:357 (1980); O'Hare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527 (1981)]; 미코페놀산에 대한 내성을 부여하는 gpt[참조: Mulligan amp; Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072(1981)]; 아미노글리코시드 G-418에 대한 내성을 부여하는 neo[참조: Clinical Pharmacy 12:488-505; Wu and Wu, Biotherapy 3:87-95(1991); Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxocol. 32:573-596(1993); Mulligan, Science 269:926-932(1993); and Morgan andAnderson, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 (1993); TIB TECH 11(5):155-215(May, 1993)]; 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro[참조: Santerre et al., Gene 30:147(1984)]. 재조합 DNA 기술 분야에 통상적으로 공지된 방법을 통상 적용하여, 목적하는 재조합 클론을 선별할 수 있고, 이러한 방법은, 예를 들면, 다음 문헌에 기재되어 있다[참조: Ausubel et al.(eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley amp; Sons, NY (1993); Kriegler, Gene Transfer 및 Expression, A Laboratory Mannual, Stockton Press, NY(1990); and in Chapters 12 amd 13, Dracopoli et al. (eds), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley amp; Sons, NY (1994); Colberre-Garapin et al., J. Mol. Biol. 150:1(1981), 이들 각각이 본원에 참조로서 이의 전문이 인용된다].

항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다[참조: Bebbington and Hentschel; 'The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells' in DNA Cloning, Vol. 3.(Academic Press, New York, 1987)]. 항체를 발현하는 벡터 시스템 중의 마커가 증폭될 수 있는 경우, 숙주 세포의 배양물중에 존재하는 억제제의 수준 증가는 마커 유전자의 복사체 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역은 항체의 암호화 서열과 연관이 있기 때문에, 항체 생성 또한 증가될 것이다[참조: Crouse et al., Mol. Cell. Biol. 3:257 (1983)].

선별가능 마커로서 글루타민 신타제(GS) 또는 DHFR을 사용하는 벡터는 각각, 약물 메티오닌 설폭스이민 또는 메토트렉세이트의 존재 하에 증폭될 수 있다. 글 루타민 신타제-기초 벡터의 이점은 글루타민 신타제 음성인 세포주(예: 쥐의 흑색종 세포주, NSO)의 이용가능성이다. 또한, 글루타민 신타제 발현 시스템은 내인성 유전자의 작용을 방지하기 위한 부가의 억제제를 제공함으로써 글루타민 신타제 발현 세포(예: 중국산 햄스터 난소 세포(CHO))에서 작용할 수 있다. 글루타민 신타제 발현 시스템 및 이의 성분들은 PCT 공개공보 W087/04462; W086/05807; W089/01036; W089/10404; 및 W091/06657(이들 전문이 본원에 참조로서 인용되어 있다)에 상세히 기재되어 있다. 부가적으로, 본 발명에 따라서 사용될 수 있는 글루타민 신타제 발현 벡터는 예를 들어, 공급원[Lonza Biologics, Inc. (Portsmouth, NH)]로부터 시판되고 있다. 쥐의 흑색종 세포에서 GS 발현 시스템을 사용하여 모노클로날 항체를 발현 및 생성시키는 것이 문헌[참조: Bebbington et al., Bio/technology 10: 169 (1992) and in Biblia and Robinson Biotechnol. Prog. 11: 1 (1995); 이들 전문이 본원에 참조로서 인용되어 있다]에 기재되어 있다.

숙주 세포는, 본 발명의 2개의 발현 벡터, 즉 중쇄 유래된 폴리펩티드를 암호화하는 제1 벡터와 경쇄 유래된 폴리펩티드를 암호화하는 제2 벡터로 공동-형질감염시킬 수 있다. 이러한 2개 벡터는, 중쇄와 경쇄 폴리펩티드가 동등하게 발현될 수 있도록 하는 동일한 선별가능 마커를 함유할 수 있다. 달리, 중쇄와 경쇄 폴리펩티드 모두를 암호화하고 발현할 수 있는 단일 벡터를 사용할 수 있다. 이러한 상황 하에서는, 독성의 유리 중쇄가 과량으로 존재하는 것을 피하도록 경쇄를 중쇄 앞에 위치시키는 것이 바람직하다[참조: Proudfoot, Nature 322:52(1986); Kohler, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197(1980)]. 중쇄와 경쇄에 대한 암호화 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다.

일단 본 발명의 항체 분자(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)를 화학적 합성하거나 또는 재조합적으로 발현시키면, 이를 면역글로불린 분자 또는 보다 일반적으로는 단백질 분자를 정제하는 것으로 당업계에 공지된 임의의 방법, 예를 들면, 크로마토그래피(예: 이온 교환, 친화성, 특히 단백질 A에 대한 특이적 항원에 대한 친화성, 및 사이징 칼럼 크로마토그래피), 원심분리, 시차 용해도, 또는 단백질 정제에 대한 기타 표준 기술에 의해 정제할 수 있다. 또한, 본 발명의 항체를 본원에 기재된 이종성 폴리펩티드 서열 또는 당해 분야에 공지된 기타 서열에 융합시켜 정제를 용이하게 할 수 있다.

본 발명의 항체는 천연적으로 여과된 생성물, 화학 합성 방법의 생성물 및, 예를 들면, 세균, 효모, 고등 식물, 곤충 및 포유동물 세포를 포함하는 원핵성 또는 진핵성 숙주로부터 재조합 기술에 의해 생성되는 생성물을 포함한다. 재조합 생산 방법에 사용되는 숙주에 따라서, 본 발명의 항체는 글리코실화되거나 비-글리코실화될 수 있다. 추가로, 본 발명의 항체는 또한 숙주-매개된 방법으로서 일부 경우에, 변형된 개시 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다.

본 발명의 항체는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다[참조: Creighton, 1983, Proteins: Structures and Molecular Principles, W.H. Freeman amp; Co., N.Y., 및 Hunkapiller, M., et al., 1984, Nature 310:105-111]. 예를 들면어, 본 발명의 항체의 단편에 상응하는 펩티드는 펩티드 합성기를 사용하여 합성할 수 있다. 게다가, 경우에 따라서, 비전형적 아미노산 또는 화학 적 아미노산 동족체가 항체 폴리펩티드 서열로의 치환 또는 삽입으로 도입될 수 있다. 비전형적인 아미노산은 통상의 아미노산의 D-이성체, 2,4-디아미노부티르산, a-아미노 이소부티르산, 4-아미노부티르산, Abu, 2-아미노 부티르산, g-Abu, e-Ahx, 6-아미노 헥사노산, Aib, 2-아미노 이소부티르산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르류신, 노르발린, 하이드록시프롤린, 사르코신, 시트룰린, 호모시트룰린, 시트테인산, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, b-알라닌, 플루오로-아미노산, 디자이너 아미노산, 예를 들어 b-메틸 아미노산, Ca-메틸 아미노산, Na-메틸 아미노산, 및 일반적인 아미노산 동족체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 또한, 아미노산은 D(우선성) 또는 L(좌선성)일 수 있다.

본 발명은 해독 동안 또는 해독 후에, 예를 들면, 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 그룹 보호/차단에 의한 유도체화, 단백질용해성 절단, 항체 분자 또는 기타 세포 리간드로의 연결 등에 의해 특이하게 변형되는 항체를 포괄한다. 임의의 수 많은 화학적 변형은 브롬화 시아노겐, 트립신, 키모트립신, 파파인, V8 프로테아제, $NaBH_4$, 아세틸화, 포르밀화, 산화, 환원, 및 투니카마이신 존재하의 대사적 합성 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는 공지된 기술을 사용하여 수행할 수 있다.

본 발명에 포괄되는 추가적 해독후 변형은, 예를 들면, N-연결 또는 O-연결된 탄화수소 쇄, N-말단 또는 C-말단의 프로세싱, 아미노산 주쇄에 대한 화학적 잔기의 부착, N-연결 또는 O-연결된 탄화수소 쇄의 화학적 변형, 및 원핵 숙주 세포 발현의 결과로서 N-말단 메티오닌 잔기의 부가 또는 결실을 포함한다. 또한, 당해 항체를 검출 가능한 표지, 예를 들어 효소 표지, 형광성 표지, 동위원소 표지 또는 친화성 표지를 사용하여 변형하여, 항체의 검출 및 분리를 가능케한다.

적합한 효소의 예로는 서양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타제, 베타-갈락토시다제, 글루코스 옥시다제 또는 아세틸콜린에스테라제가 포함되고; 적합한 보족 그룹 복합체의 예로는 스트렙트아비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴이 포함되고; 적합한 형광 물질의 예로는 비오틴, 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 댄실 클로라이드 또는 피코에리트린이 포함되고; 발광 물질의 예로는 루미놀이 포함되고; 생물발광 물질의 예로는 루시페라제, 루시페린 및 아에쿠오린이 포함되고; 적합한 방사능활성 물질의 예로는 방사능활성 금속 이온, 예를 들어 ^{213}Bi와 같은 알파-방출인자 또는 기타 방사성동위원소, 예를 들어 요오드(^{121}I, ^{123}I, ^{125}I, ^{131}I), 탄소(^{14}C), 황(^{35}S), 트리튬(^{3}H), 인듐(^{111}In, ^{112}In, ^{113m}In, ^{115m}In) 및 테크네튬(^{99}Tc, ^{99m}Tc), 탈륨(^{201}Ti), 갈륨(^{68}Ga, ^{67}Ga), 팔라듐 (^{103}Pd), 몰리브데늄 (^{99}Mo), 제논 (^{133}Xe), 불소 (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{113}Sn, 및 ^{117}Tin이 포함된다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 유로피움(Europium)으로 표지될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 항체는 제조자의 지시에 따라 DELFIA Eu-표지화 키트 (catalog# 1244-302, Perkin Elmer Life Sciences, Boston, MA)를 사용하여 유로피움으로 표지화 될 수 있다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 ^{111}In, ^{177}Lu, ^{90}Y, ^{166}Ho, ^{153}Sm, ^{215}Bi 및 ^{225}Ac를 포함하지만 이에 제한되지 않는 방사성 금속 이온을 폴리펩티드에 접합시키는데 유용한 거대환 킬레이터에 부착시킨다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체에 부착된 거대환 킬레이터에 결합된 방사성 금속 이온은 ^{111}In이다. 또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체에 부착된 거대환 킬레이터에 결합된 방사성 금속 이온은 ^{90}Y이다. 구체적 태양에서, 거대환 킬레이터는 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N',N''-테트라아세트산(DOTA)이다. 구체적 태양에서, 거대환 킬레이터는 α-(5-이소티오시아나토-2-메톡시페닐)-1,4,7,10-테트라아자-사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산이다. 다른 구체적 태양에서, 상기 DOTA가 링커 분자를 통하여 본 발명의 항체에 부착된다. DOTA와 같은 거대한 킬레이터를 폴리펩티드에 접합시키는데 유용한 링커 분자의 예로는 당업계에 통상적으로 공지되어 있다[참조: DeNardo et al., Clin Cancer Res. 4(10): 2483-90, 1998; Peterson et al., Bioconjug. Chem. 10(4): 553-7, 1999; 및 Zimmerman et al, Nucl. Med. Biol. 26 (8): 943-50, 1999; 이의 전문이 본원에 참조로서 인용된다]. 또한 항체 에 접합될 수 있는 킬레이트화제 및 이를 제조하고 사용하는 방법을 발표하는 미국 특허 제5,652,361호 및 제5,756,065호는 전문이 본원에 참조로 인용된다.

일 태양에서, 본 발명의 항체는 비오틴으로 표지된다. 다른 관련 태양에서, 본 발명의 비오틴화된 항체는, 예를 들면, 이미지화제 또는 하나 이상의 TRAIL 수용체 공동수용체(coreceptor) 또는 리간드 분자를 동정하는 수단으로서 사용될 수 있다.

추가의 잇점, 예를 들어, 폴리펩티드의 증가된 용해도, 안정성 및 생체내 또는 실험관내 순환 시간 또는 감소된 면역원성을 제공할 수 있는 본 발명의 항체의 화학적으로 변형된 유도체가 본 발명에 의해 또한 제공된다[참조 문헌: 미국 특허 제4,179,337호]. 유도체화를 위한 화학적 잔기는 수용성 중합체, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카복시메틸셀룰로즈, 덱스트란, 폴리비닐 알콜 등으로부터 선택될 수 있다. 상기 항체는 분자내의 무작위적 위치 또는 분자내의 예정된 위치에서 변형될 수 있으며, 1, 2, 3 또는 그 이상의 부착된 화학적 잔기를 포함할 수 있다.

중합체는 임의의 분자량일 수 있으며, 측쇄 또는 비측쇄일 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜의 경우에, 바람직한 분자량은 취급 및 제조에 있어 용이한 약 1KDa 내지 약 100KDa(용어 '약'은 폴리에틸렌 글리콜 제조에서, 일부 분자의 분자량이 언급된 분자량 이상이거나 이하일 수 있음을 나타낸다)이다. 목적하는 치료적 측면(예: 목적하는 서방출의 기간, 효과, 생물학적 활성(존재하는 경우), 취급의 용이, 항원성의 정도 또는 결여, 및 치료적 단백질 또는 동족체에 대한 폴리에틸렌 글리 콜의 기타 공지된 효과)에 따라서 다른 크기가 사용될 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜의 평균 분자량은 약 200, 500, 1000, 1500, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10,000, 10,500, 11,000, 11,500, 12,000,12,500, 13,000, 13,500, 14,000, 14,500, 15,000, 1

5,500, 16,000, 16,500, 17,000, 17,500, 18,000, 18,500, 19,000, 19,500, 20,000, 25,000, 30,000, 35,000, 40,000, 50,000, 55,000, 60,000, 65,000, 70,000, 75,000, 80,000, 85,000, 90,000, 95,000 또는 100,000kDa이다.

상기된 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜은 측쇄 구조를 가질 수 있다. 측쇄 폴리에틸렌 글리콜은, 예를 들면, 문헌[참조 문헌: 미국 특허 제5,643,575호; Morpurgo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996); Vorobjev et al., Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999); and Caliceti et al., Bioconjug. Chem. 10:638-646 (1999)]에 기술되어 있으며, 이들 각각의 기술은 본원에 참고로 인용된다.

폴리에틸렌 글리콜 분자 (또는 기타 화학적 잔기)는 항체의 기능성 또는 항원성 도메인에 있어서의 효과를 고려하여 항체에 부착되어 있어야 한다. 당업자에게 유용한 수 많은 부착 방법이 있다[참조: 본원에 참고로 인용된 EP 0 401 384(G-CSF에 대한 PEG의 커플링) and Malik et al., Exp. Hematol. 20:1028-1035 (1992)(염화트레실을 사용하는 GM-CSF의 페질화를 보고함)]. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜은 반응성 그룹(예: 유리 아미노 또는 카복실 그룹)을 통한 아미노산 잔기를 통 하여 공유 결합될 수 있다. 반응성 그룹은 활성화된 폴리에틸렌 글리콜 분자가 결합될수 있는 그룹이다. 유리 아미노 그룹을 갖는 아미노산 잔기는, 예를 들면, 리신 잔기 및 N-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며; 유리 카복시 그룹을 갖는 아미노산 잔기는 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 설피드릴 그룹이 또한 폴리에틸렌 글리콜 분자 부착에 대한 반응성 그룹으로서 사용될 수 있다. 치료 목적을 위해서는 아미노 그룹, 예를 들어 N-말단 또는 리신 그룹에 부착하는 것이 바람직하다.

위에서 제시된 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜은 단백질, 예를 들면, 항체 연결을 통하여 수 많은 아미노산 잔기중의 임의의 아미노산 잔기에 부착될 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜은 공유 결합을 통하여 단백질, 즉 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산 또는 시스테인 잔기에 연결될 수 있다. 하나 이상의 반응 화학을 사용하여 폴리에틸렌 글리콜을 단백질의 특정 아미노산 잔기(예: 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산 또는 시스테인) 또는 단백질의 한가지 유형 이상의 아미노산 잔기(예: 리신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산, 시스테인 및 이의 배합물)에 부착시킬 수 있다.

구체적으로는, 중쇄 또는 경쇄 또는 이 둘 모두의 N-말단에서 화학적으로 변형된 항체가 요구될 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜을 본 조성물의 예증으로서 사용하여, (분자량, 측쇄도 등이) 다양한 폴리에틸렌 글리콜 분자, 반응물 혼합에 있어 단백질(또는 펩티드) 분자에 대한 폴리에틸렌 글리콜 분자의 비율, 수행할 페질화 반응의 유형, 및 선택된 N-말단 페질화된 단백질을 수득하는 방법으로부터 선택될 수 있다. N-말단 페질화된 제조물을 수득하는 방법(즉, 필요에 따라, 다른 모노페질화된 잔기로부터 당해 잔기를 분리시킴)은, N-말단-페질화된 물질을 페질화된 단백질 분자 집단으로부터 정제함으로써 가능하다. N-말단 변형에서 선택적인 화학적 변형은, 특정 단백질에서 유도체화에 이용 가능한 상이한 유형의 1차 아미노 그룹(N-말단에 대한 리신)의 차별적인 반응성을 이용하는 환원적 알킬화에 의해 달성될 수 있다. 적당한 반응 조건하에, 카보닐 그룹 함유 중합체와의 N-말단에서 실질적으로 단백질의 선택적인 유도체화가 성취된다.

위에서 지적한 바와 같이, 본 발명의 단백질의 페질화는 수 많은 수단을 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜은 직접 또는 개재 링커(intervening linker)를 사용하여 항체에 부착시킬 수 있다. 단백질에 폴리에틸렌 글리콜을 부착시키기 위한 링커-부재 시스템이 문헌[Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304 (1992); Francis et al., Intern. J. of Hematol. 68:1-18 (1998); 미국 특허 제4,002,531호; 미국 특허 제5,349,052호; WO 95/06058 및 WO 98/32466]에 기술되어 있으며, 이들 각각의 기술은 본원에 참고로 인용된다.

폴리에틸렌 글리콜을 개재 링커를 사용하지 않고 항체의 아미노산 잔기에 직접 부착시키기 위한 시스템은, 염화트레실($ClSO_2CH_2CF_3$)을 사용하는 모노메톡시 폴리에틸렌 글리콜(MPEG)의 변형에 의해 생성되는 트레실화된 MPEG를 사용한다. 단백질과 트레실화 MPEG와의 반응시, 폴리에틸렌 글리콜은 단백질의 아민 그룹에 직 접 부착된다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 항체와 2,2,2-트리플루오로에탄 설포닐 그룹을 갖는 폴리에틸렌 글리콜 분자와의 반응에 의해 생성되는 항체-폴리에틸렌 글리콜 접합체를 포함한다.

또한, 폴리에틸렌 글리콜은 다수의 상이한 개재 링커를 사용하여 항체에 부착될 수 있다. 예를 들면, 본원에 전문이 참고로 인용되어 있는 미국 특허 제5,612,460호에는 폴리에틸렌 글리콜을 단백질에 연결시키기 위한 우레탄 링커가 기재되어 있다. 폴리에틸렌 글리콜이 링커에 의해 항체에 부착되어 있는 항체-폴리에틸렌 글리콜 접합체도 또한 항체와 화합물, 예를 들어 MPEG-석신이미딜석시네이트, 1,1'-카보닐디이미다졸로 활성화된 MPEG, MPEG-2,4,5-트리클로로페닐카보네이트, MPEG-p-니트로페놀카보네이트 및 다양한 MPEG-석시네이트 유도체와의 반응에 의해 생성될 수 있다. 다수의 추가 폴리에틸렌 글리콜 유도체, 및 폴리에틸렌 글리콜을 단백질에 부착시키기 위한 반응 화학은 WO 98/32466에 기재되어 있으며, 이의 전문은 본원에 참고로 인용된다. 본원에서 기술되는 반응 화학을 사용하여 형성되는 페질화된 항체 생성물은 본 발명의 범위내에 포함된다.

또한, 각각의 본 발명의 항체에 부착되는 폴리에틸렌 글리콜 잔기의 수(즉, 치환도)는 다양하다. 예를 들면, 본 발명의 페질화된 항체는 평균적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20개 또는 그 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자

에 연결될 수 있다. 유사하게는, 평균 치환 정도는 항체 분자당, 예를 들어 1 내지 3개, 2 내지 4개, 3 내지 5개, 4 내지 6개, 5 내지 7개, 6 내지 8개, 7 내지 9개, 8 내지 10개, 9 내지 11개, 10 내지 12개, 11 내지 13개, 12 내지 14개, 13 내 지 15개, 14 내지 16개, 15 내지 17개, 16 내지 18개, 17 내지 19개 또는 18 내지 20개의 폴리에틸렌 글리콜 잔기의 범위내이다. 치환 정도를 측정하는 방법은, 예를 들면, 문헌[참조 문헌: Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304 (1992)]에 논의되어 있다.

항-TR7 항체의 특징규명

본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는 또한 TR7 폴리펩티드 또는 TR7 폴리펩티드의 단편 또는 변이체에 대한 이의 결합의 관점에서 기술되거나 명시될 수 있다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 5 X 10 $^{-2}$ M, 10 $^{-2}$ M, 5 X l0 $^{-3}$ M, l0 $^{-3}$ M, 5 X 10 $^{-4}$ M, 10 $^{-4}$ M, 5 X 10 $^{-5}$ M 또는 10 $^{-5}$ M 이하의 해리 상수 또는 K_D 로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 항체는 5 X 10 $^{-6}$ M, 10 $^{-6}$ M, 5 X 10 $^{-7}$ M, 10 $^{-7}$ M, 5 X 10 $^{-8}$ M 또는 10 $^{-8}$ M 이하의 해리 상수 또는 K_D 로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 보다 더욱 바람직하게는, 본 발명의 항체는 5 X l0 $^{-9}$ M, l0 $^{-9}$ M, 5 X 10 $^{-10}$ M, 10 $^{-10}$ M, 5 X 10 $^{-11}$ M, 10 $^{-11}$ M, 5 X 10 $^{-12}$ M, 10 $^{-12}$ M, 5 X $^{-13}$ M, l0 $^{-13}$ M, 5 X 10 $^{-14}$ M, 10 $^{-14}$ M, 5 X l0 $^{-15}$ M 또는 l0 $^{-15}$ M 이하의 해리 상수 또는 K_D 로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 본 발명은 별도 로 열거된 각각의 값 사이의 범위중 어느 한 범위내 있는 해리 상수 또는 K_D 로 TR7 폴리펩티드와 결합하는 항체를 포괄한다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 5 X 10 $^{-2}$ 초 $^{-1}$, 10 $^{-2}$ 초 $^{-1}$, 5 X l0 $^{-3}$ 초 $^{-1}$ 또는 l0 $^{-3}$ 초 $^{-1}$ 이하의 해리 속도(K_{off})로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 항체는 5 X 10 $^{-4}$ 초 $^{-1}$, 10 $^{-4}$ 초 $^{-1}$, 5 X 10 $^{-5}$ 초 $^{-1}$ 또는 10 $^{-5}$ 초 $^{-1}$ 5 X 10 $^{-6}$ 초 $^{-1}$, 10 $^{-6}$ 초 $^{-1}$, 5 X 10 $^{-7}$ 초 $^{-1}$ 또는 10 $^{-7}$ 초 $^{-1}$ 이하의 해리 속도(K_{off})로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 본 발명은 별도로 열거된 각각의 값 사이의 어느 한 범위내에 있는 해리 상수(K_{off})로 TR7 폴리펩티드와 결합하는 항체를 포괄한다.

다른 태양에서, 본 발명의 항체는 10 ^{3} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$, 5 X 10 ^{3} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$, 10 ^{4} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$ 또는 5 X 10 ^{4} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$ 이상의 결합 속도(K_{on})로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 항체는 10 ^{5} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$, 5 X 10 ^{5} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$, 10 ^{6} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$ 또는 5 X 10 ^{6} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$ 또는 10 ^{7} M $^{-1}$ 초 $^{-1}$ 이상의 결합 속도로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 본 발명은 별도로 열거된 각각의 값 사이의 어느 한 범위내에 있는 결합 속도(K_{on})로 TR7 폴리펩티드와 결합하 는 항체를 포괄한다.

본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)는 사람 TR7 폴리펩티드(서열번호 3)의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 원숭이 TR7 폴리펩티드의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 쥐 TR7 폴리펩티드의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합한다. 일 태양에서, 본 발명의 항체는 사람 및 원숭이 TR7 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 사람 TR7 폴리펩티드 및 쥐 TR7 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 항체는 쥐 TR7 폴리펩티드에 비해 사람 TR7 폴리펩티드에 우선적으로 결합한다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)는 TR7 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합하고 모든 다른 항원과 교차반응하지 않는다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 폴리펩티드(예: 서열번호 3 또는 이의 단편 또는 변이체)에 면역특이적으로 결합하고, 종양 괴사 인자 종양 괴사 인자 수용체 패밀리 폴리펩티드(예: TR1, TR5, TR1O BCMA, TACI, CD30, CD27, OX40, 4-1BB, CD40, NGFR, TNFR1, TNFR2, Fas 및 NGFR)의 하나 이상의 추가적 일원과 교차반응하지 않는다.

또 다른 태양에서, 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)는 TR7 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합하고 다른 항원과 교차반응한다. 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 폴리펩티드(예: 서열번호 3 또는 이의 단편 또는 변이체)에 면역특이적으로 결합하고, 종양 괴사 인자 수용체 패밀리 폴리펩티드(예: TR1, TR5, TR1O BCMA, TACI, CD30, CD27, OX40, 4-1BB, CD40, NGFR, TNFR1, TNFR2, Fas 및 NGFR)의 하나 이상의 추가적 일원과 교차반응한다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는, TR1, TR4, TR5 또는 TR10(서열번호 5, 1, 2 및 5) 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합할 수 있는 이의 능력에 비해 TR7(서열번호 3) 또는 이의 단편 또는 변이체에 우선적으로 결합한다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR1, TR5 또는 TR10(서열번호 5, 2 및 4) 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합할 수 있는 이의 능력에 비해 TR7 및 TR4(서열번호 3 및 1) 또는 이의 단편 또는 변이체에 우선적으로 결합한다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR1, TR7, TR5, TR4 및 TR10(서열번호 5, 1, 2, 3 및 4)에 결합한다. 항체가 다른 항원에 비해 특정 항원에 우선적으로 결합할 수 있는 능력은 당업계에 공지된 모든 방법을 사용하여 결정할

수 있다.

비-제한적인 예로서, 제2 항원에 대한 항체의 K_D 보다 낮은 해리 상수(K_D)로 항체가 제1 항원과 결합하는 경우에, 당해 항체는 제1 항원과 우선적으로 결합할 것으로 여겨질 것이다. 또 다른 비-제한적인 태양에서, 제2 항원에 대한 항체의 K_D 보다 1 이상의 차수(order of magnitude)가 낮은 친화성(즉, K_D)으로 항체가 제1 항원과 결합하는 경우에, 당해 항체는 제1 항원과 우선적으로 결합할 것으로 여겨질 것이다. 또 다른 비-제한적인 태양에서, 제2 항원에 대한 항체의 K_D 보다 2 이상의 차수가 낮은 친화성(즉, K_D)으로 항체가 제1 항원과 결합하는 경우에, 당해 항체는 제1 항원과 우선적으로 결합할 것으로 여겨질 것이다.

또 다른 비-제한적인 태양에서, 제2 항원에 대한 항체의 K_{off} 보다 낮은 해리 속도(K_{off})로 항체가 제1 항원과 결합하는 경우에, 당해 항체는 제1 항원과 우선적으로 결합할 것으로 여겨질 것이다. 또 다른 비-제한적인 태양에서, 제2 항원에 대한 항체의 K_{off} 보다 1 이상의 차수가 낮은 K_{off} 로 항체가 제1 항원과 결합하는 경우에, 당해 항체는 제1 항원과 우선적으로 결합할 것으로 여겨질 것이다. 또 다른 비-제한적인 태양에서, 제2 항원에 대한 항체의 K_{off} 보다 2 이상의 차수가 낮은 K_{off} 로 항체가 제1 항원과 결합하는 경우에, 당해 항체는 제1 항원과 우선적으로 결합할 것으로 여겨질 것이다.

또한, 본 발명은 본원에 기술된 하나 이상의 항체와 동일한 하나 이상의 생물학적 특징을 가진 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이루어진 분자를 포함)를 포괄한다. '생물학적 특징'이란, 예를 들면, TR7 폴리펩티드(예: 막-매몰된 TRAIL 수용체)에 결합할 수 있는 능력, TR7 매개된 생물학적 활성을 자극하는 능력(예를 들면, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 능력; 실시예 3 참조), TR7 리간드(예: AIM-I으로서도 공지된 TRAIL (서열번호 72); 참조: 국제출원 WO97/35899 미국 특허원 제5,771,223호), 또는 이의 단편, 변이체 또는 융합 단 백질이 TRAIL 수용체에 결합하는 것을 실질적으로 차단하는 능력(실시예 2 참조), 또는 세포의 표면상에 TR7 발현을 상향조절하는 능력과 같은 항체의 생체내 또는 시험관내 활성 또는 특성을 의미한다. TR7 폴리펩티드에 대한 항체가 가질 수 있는 기타 생물학적 활성에는 TR7 매개된 생물학적 활성을 억제하는(예를 들면, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 억제하는) 능력 또는 세포 표면상에서 TR7 발현을 하향조절하는 능력을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 임의로, 본 발명의 항체는 본원에서 구체적으로 언급한 하나 이상의 항체와 동일한 에피토프에 결합할 것이다. 이러한 에피토프 결합은 당업계에 공지된 검정을 사용하여 통상적으로 결정될 수 있다.

또한, 본 발명은 TR7 매개된 생물학적 활성을 자극하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)를 제공한다. 일 태양에서, TR7 매개된 생물학적 활성을 자극하는 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 단편 또는 변이체의 VH 및/또는 VL 도메인를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 구체적 태양에서, TR7 매개된 생물학적 활성을 자극하는 항체는 표 1에 언급된 임의의 하나의 scFv 또는 이의 단편 또는 변이체의 VH 및 VL 도메인을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 이들 항체를 암호화하는 핵산 분자도 또한 본 발명에 포괄된다.

또한, 본 발명은 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)를 제공한다(실시예 3 참조). 일 태양에서, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체는 표 1에 언 급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 단편 또는 변이체의 VH 및/또는 VL 도메인를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 구체적 태양에서, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체는 표 1에 언급된 임의의 하나의 scFv 또는 이의 단편 또는 변이체의 VH 및 VL 도메인를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 이들 항체를 암호화하는 핵산 분자도 또한 본 발명에 포괄된다.

바람직한 태양에서, 본 발명은 항체 가교 시약, 예를 들어 항-Ig Fc 시약 세포의 존재 또는 부재하에서 역시 동등하게 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)를 제공한다(실시예 3 참조). 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 항-Ig Fc 항체 가교 시약의 존재 또는 부재하에서 역시 동등하게 HeLa 세포의 아폽토시스를 자극한다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 사이클로헥스이미드 2μg/ml의 존재하에서 항-Ig Fc 항체 가교 시약의 존재 또는 부재하에 역시 동등하게 HeLa 세포의 아폽토시스를 자극한다. 또 다른 태양에서,본 발명의 항체는 항-Ig Fc 항체 가교 시약의 존재 또는 부재하에서 역시 동등하게 SW480 세포의 아폽토시스를 자극한다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 사이클로헥스이미드 2μg/ml의 존재하에서 항-Ig Fc 항체 가교 시약의 존재 또는 부재하에 역시 동등하게 SW 480 세포의 아폽토시스를 자극한다.

다른 바람직한 태양에서, 본 발명은 동일 농도(예를 들면, ng/ml 단위)의 TRAIL 폴리펩티드(TRAIL 폴리펩티드 단편, 변이체 또는 융합 단백질을 포함)가 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 만큼 적어도 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자 극하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이루어진 분자를 포함)를 제공한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 동일 농도(예를 들면, ng/ml 단위)의 TRAIL 폴리펩티드(TRAIL 폴리펩티드 단편, 변이체 또는 융합 단백질을 포함)가 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것 보다 양호하게 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 동일 농도(예를 들면, ng/ml 단위)의 TRAIL 폴리펩티드(TRAIL 폴리펩티드 단편, 변이체 또는 융합 단백질을 포함)가 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것보다 양호하게 HeLa 세포의 아폽토시스를 자극한다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 동일 농도(예를 들면, ng/ml 단위)의

TRAIL 폴리펩티드(TRAIL 폴리펩티드 단편, 변이체 또는 융합 단백질을 포함)가 사이클로헥스이미드 2㎍/ml의 존재하에서 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것 보다 양호하게 HeLa 세포의 아폽토시스를 자극한다.

다른 바람직한 태양에서, 본 발명은 또한 화학치료적 약제 또는 항체가 단독으로 수용체 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것 보다, 화학치료적 약제와 함께 투여된 경우 더 월등히 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)를 제공한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는, 토포테칸(Topotecan) 또는 항체가 단독으로 수용체 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것 보다, 토포테칸과 함께 투여된 경우 더 월등히 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는, 사이클로헥스이미드 또는 항체가 단독으로 수용체 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것 보다, 사이클로헥스이미드와 함께 투여된 경우 더 월등히 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극한다.

또한, 본 발명은 TRAIL이 TR7 폴리펩티드에 결합하는 것을 차단하거나 억제하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함)를 제공한다(실시예 2 참조). 일 태양에서, TRAIL이 TR7에 결합하는 것을 차단하거나 억제하는 항체는 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 단편 또는 변이체의 VH 및/또는 VL 도메인를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 구체적 태양에서, TRAIL이 TR7에 결합하는 것을 차단하거나 억제하는 항체는 표 1에 언급된 어느 하나의 scFv 또는 임의의 단편 또는 변이체의 VH 및 VL 도메인를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 이들 항체를 암호화하는 핵산 분자도 또한 본 발명에 포괄된다.

또한, 본 발명은 TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함) 및 이종성 폴리펩티드를 포함하거나 또는 이로 이루어진 융합 단백질을 제공한다. 바람직하게는, 항체에 융합되는 이종성 폴리펩티드는 TR7 발현 세포를 표적화하는 기능에 유용하거나 표적화하는데 유용하다. 구체적 태양에서, 본 발명은, 제1 항체 결합 부위는 TR7에 대해 특이적이고 제2의 항체 결합 부위는 TR4 또는 종양 특이적 항원과 같은 이종성 폴리펩티드에 대해 특이적인 이원특이적 항체를 포괄한다. 또 다른 바람직한 태양에서, 항체에 융합된 이종성 폴리펩티드는 당해 항체를 종양 세포에 표적화하는데 유용하다. 일 태양에서, 본 발명의 융합 단백질은, 본 발명의 항체의 하나 이상의 VH 도메인의 아미노산 서열 또는 본 발명의 항체의 하나 이상의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체, 및 이종성 폴리펩티드 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 융합 단백질은, 본 발명의 항체의 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VH CDR의 아미노산 서열 또는 본 발명의 항체의 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VL CDR의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체, 및 이종성 폴리펩티드 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어지고, 당해 융합 단백질을 TR7에 면역특이적으로 결합한다. 바람직한 태양에서, 융합 단백질은, 본 발명의 항체의 VH CDR3의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체, 및 이종성 폴리펩티드 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 또 다른 태양에서, 융합 단백질은, 본 발명의 항체의 하나 이상의 VH 도메인의 아미노산 서열 또는 본 발명의 항체의 하나 이상의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체, 및 이종성 폴리펩티드 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 바람직하게는, 융합 단백질의 VH 및 VL 도메인은 본 발명의 단일 항체(또는 scFv 또는 Fab 단편)에 상응한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 융합 단백질은, 본 발명의 항체의 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VH CDR의 아미노산 서열 및 본 발명의 항체의 1, 2, 3개 또는 그 이상의 VL CDR의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체, 및 이종성 폴리펩티드 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 바람직하게는, 2, 3, 4, 5, 6 또는 그 이상의 VHCDR 또는 VLCDR은 본 발명의 단일 항체(또는 scFv 또는 Fab 단편)에 상응한다. 이들 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자도 또한 본 발명에 포 괄된다.

본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함)는 각종 방법에 의해 특징이 규명될 수 있다. 특히, 본 발명의 항체 및 관련 분자는, 본원에 기술된 기술 또는 당업계에 공지된 기술을 통상적으로 변형시킨 기술을 사용하여 TR7 또는 TR7의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 능력에 대해 검정될 수 있다. 본 발명의 항체가 TR7 또는 TR7의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합할 수 있는 능력에 대한 검정은 용액중에서[예: Houghten, Bio/Techniques 13: 412-421 (1992)], 비이드 상에서[예: Lam, Nature 354: 82-84 (1991)], 칩상에서[예: Fodor, Nature 364: 555-556 (1993)], 세균상에서[예: 미국 특허 제5,223,409호], 포자상에서[예: 미국 특허 제5,571,698호; 제5,403,484호; 및 제5,223,409호], 플라스미드상에서[예: Cull et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1865-1869(1992)] 또는 파아지상에서[예: Scott 및 Smith, Science 249: 386-390(1990); Devlin, Science 249: 404-406(1990); Cwirla et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 7178-7182(1990); 및 Felici, J. Mol. Biol. 222: 301-310 (1991)](이들의 각 참조 문헌은 본원에 이의 전문이 참조로서 인용된다) 수행될 수 있다. 이어서, TR7 또는 TR7의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 것으로 동정된 항체를, 본원에 기술된 기술 또는 당업계에 공지된 기타 기술을 사용하거나 이를 통상적으로 변형시켜서, TR7 또는 TR7의 단편 또는 변이체에 대한 특이성 및 친화성에 대해 검정할 수 있다.

본 발명의 항체는 당업계에 공지된 임의의 모든 방법에 의해, TR7 폴리펩티 드에 대한 면역특이적 결합 및 다른 항원과의 교차 반응성에 대해 검정될 수 있다. 면역특이적 결합 및 교차 반응성을 분석하는데 사용될 수 있는 면역분석법은, BIA코어 분석(예를 들어, 실시예 1 참조), FACS(형광 활성화 세포 분리기) 분석(예를 들어, 실시예 3 참조), 면역형광, 면역세포화학, 방사성면역검정, ELISA(효소 결합 면역흡착 검정), '샌드위치(sandwich)' 면역검정, 면역침전 검정, 웨스턴 블롯, 프레시피틴 반응, 겔 확산 프레시피틴 반응, 면역확산 검정, 집괴반응 검정, 보체-고정 검정, 면역방

사측정 검정, 형광성 면역검정, 단백질 A 면역검정 등의 기술을 이용한 경쟁적 및 비-경쟁적 분석 시스템이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 분석은 통상적이고 당해 분야에 널리 공지되어 있다[참조: Ausubel et al., eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley amp; Sons, Inc., New York; 이의 전문이 본원에 참조로서 인용됨]. 면역검정의 예가 아래에 간략히 기재되어 있다(하지만 이를 제한하고자 함은 아니다).

ELISA는 항원을 준비하고, 96웰-미세역가 플레이트의 웰을 항원으로 피복하고, 웰에 결합하지 않는 항원을 세척하고, 효소성 기질(예를 들어, 서양고추냉이 퍼옥시다제 또는 알칼린 포스파타제)와 같은 검출 가능한 화합물에 접합된 목적하는 항체를 웰에 첨가하고, 일정 시간동안 항온처리하고, 결합되지 않은 항체 또는 비특이적으로 결합된 항체를 세척하고, 웰을 피복한 항원에 특이적으로 결합된 항체의 존재를 검출하는 것을 포함한다. ELISA에서, 목적하는 항체는 검출 가능한 화합물에 접합되지 말아야 하고, 그 대신 검출 가능한 화합물에 접합된 제2 항체(목적하는 항체를 인지하는)가 웰에 첨가될 수 있다. 달리, 당해 항원은 웰에 직접 피복될 필요는 없으며; 대신, ELISA 플레이트가 항-Ig-Fc 항체로 피복될 수 있으며, TRAIL 수용체-Fc 융합 단백질 형태의 항원이 플레이트에 피복된 항-Ig-Fc에 결합될 수 있다. 이는, 항원이 플레이트에 직접 피복되었을 때 항원이 가질 수 있는 것 보다 더 천연적인 형태로 항원 단백질(예: TR7 폴리펩티드)를 유지하는데 바람직할 수 있다. 또 다른 방법으로서, 웰을 항원으로 피복하는 대신, 항체를 웰에 피복시킬 수 있다. 이 경우에, 검출 가능한 분자는 효소성 기질(예를 들어, 서양고추냉이 퍼옥시다제 또는 알칼린 포스파타제)과 같은 검출 가능한 화합물에 접합된 항원일 수 있다. 당업자는 검출된 시그날을 증가시키도록 변형될 수 있는 파라미터 및 당업계에 공지된 ELISA의 다른 변형법에 대해 인지할 수 있다. ELISA에 관한 추가적인 논의는 문헌[참조:Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley amp; Sons, Inc., New York at 11.2.1.]을 참조한다.

항원에 대한 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 scFv 또는 기타 분자를 포함)의 결합 친화성 및 항체-항원 상호작용의 해리 속도는 경쟁 결합 분석법에 의해 측정될 수 있다. 경쟁 결합 분석의 일례는 증가량의 비표지된 항원의 존재하에 목적하는 항체로 표지된 항원(예를 들어, ^{3}H 또는 ^{125}I로 표지된 항원) 또는 이의 단편 또는 변이체의 항온처리, 및 표지된 항원에 결합된 항체의 검출을 포함하는 방사능면역분석법이다. TR7에 대한 본 발명의 항체의 친화성 및 결합 해리 속도는 스캐차드 플롯(Scatchard plot) 분석에 의한 데이터로부터 결정될 수 있다. 제2 항체와의 경쟁은 또한 방사능면역분석법을 사용하여 결정될 수 있다. 이 경우에, TR7 폴리펩티드는, 비표지된 제2 항-TR7 항체의 양이 증가하는 가운데 표지된 화합물(예를 들어, ^{3}H 또는 ^{125}I로 표지된 화합물)에 접합된 본 발명의 항체를 사용하여 항온처리한다. 두 항체 사이의 이러한 종류의 경쟁적 검정법을 사용하여, 2개의 항체가 동일하거나 상이한 에피토프에 결합하는지를 결정할 수 있다.

바람직한 태양에서, BIA코어 반응속도론적 분석을 사용하여, TRAIL 수용체 또는 TRAIL 수용체의 단편에 대한 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함)의 결합 및 해리 속도를 결정한다. BIA코어 반응속도론적 분석은 실시예 1에 상세히 기술된 바와 같이 이들의 표면상에 고정된 TRAIL 수용체를 사용하여, 칩으로부터의 항체의 결합 및 해리를 분석함을 포함한다.

면역침전 프로토콜은 일반적으로 세포 집단을 단백질 포스파타제 및/또는 프로테아제 억제제(예를 들어, EDTA, PMSF, 아프로티닌, 나트륨 바나데이트)가 보충된 RIPA 완충액(1% NP-40 또는 트리톤 X-100, 1% 나트륨 데옥시콜레이트, 0.1% SDS, 0.15M NaCl, pH 7.2에서 0.01M 인산나트륨, 1% 트라실롤)과 같은 용해 완충액중에서 용해시키고, 목적하는 항체를 세포 용해물에 첨가하고, 40℃에서 일정 시간(예를 들어, 1내지 4 시간)동안 항온처리하고, 단백질 A 및/또는 단백질 G 세파로스 비드를 세포 용해물에 첨가하고, 40℃에서 약 1시간 이상 동안 항온처리하고, 비드를 용해 완충액중에서 세척하고, 비드를 SDS/샘플 완충액중에 재현탁시키는 것 을 포함한다. 특정 항원을 면역침전시키기 위한 목적하는 항체의 능력은, 예를 들면, 웨스턴 블롯 분석법에 의해 평가될 수 있다. 당업자는 항원에 대한 항체의 결합을 증진시키고 주변배경(예를 들어, 세파로스 비드를 사용한 세포 용해물의 사전 세정)을 감소시키기 위해 변형될 수 있는 파라미터에 대해 인지할 수 있다. 면역침전 프로토콜에 관한 추가의 논의는 문헌[참조: Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley amp; Sons, Inc., New York at 10.16.1]을 참조한다.

웨스턴 블롯 분석법은 일반적으로, 단백질 샘플을 준비하고, 폴리아크릴아미드 겔(예를 들어, 항원의 분자량에 따른 8% 내지 20% SDS-PAGE)중에서 단백질 샘플을 전기영동하고, 단백질 샘플을 폴리아크릴아미드 겔로부터 니트로셀룰로스, PVDF 또는 나일론과 같은 막으로 옮기고, 차단 용액(예를 들어, 3% BSA가 첨가된 PBS 또는 비지방유)중에서 막을 차단하고, 세척 완충액(예를 들어, PBS-트윈 20)중에서 막을 세척하고, 차단 완충액중에 희석된 1차 항체(목적하는 항체)로 막을 차단하고, 세척 완충액으로 막을 세척하고, 차단 완충액중에서 희석된 효소성 기질(예를 들어, 서양고추냉이 퍼옥시다제 또는 알칼린 포스파타제) 또는 방사성 분자(예를 들어, ^{32}P 또는 ^{125}I)와 접합된 2차 항체(1차 항원을 인식함, 예를 들면, 항-사람 항체)로 막을 차단하고, 세척 완충액으로 막을 세척하고, 항원의 존재를 검출하는 것을 포함한다. 당업자는 검출된 시그날을 증가시키고 주변배경 노이즈를 감소시키도록 변형될 수 있는 파라미터에 대해 인지할 수 있다. 웨스턴 블롯 프로토콜에 관한 추가의 논의는 문헌[참조: Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley amp; Sons, Inc., New York at 10.8.1.]을 참조한다.

항체 접합체

본 발명은 이종성 폴리펩티드(또는 이의 일부, 바람직하게는 당해 폴리펩티드의 10개 이상, 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 50개 이상, 60개 이상, 70개 이상, 80개 이상, 90개 이상 또는 100개 이상의 아미노산)에 재조합적으로 융합되거나 화학적으로 접합(공유 결합 및 비공유 접합을 모두 포함)되어 융합 단백질을 형성하는 항체(항체의 단편 또는 변이체를 포함)를 포괄한다. 이러한 융합은 반드시 직접적일 필요는 없고, 링커 서열을 통해 이루어질 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 항체는 특정 세포 표면 항원에 대해 특이적이거나 특정 세포 표면 수용체에 결합하는 항원에 결합하는 본 발명의 항체에 이종성 폴리펩티드를 융합시키거나 결합시키는 방법에 의해, 시험관내 또는 생체내에서, 특정 세포 유형(예: 암 세포)에 대해 이종성 폴리펩티드를 표적화시키는데 사용될 수 있다. 본 발명의 항체는 또한 알부민[재조합 사람 혈청 알부민{참조: 미국 특허 제5,876,969호(1999년 3월 2일 등록), 유러 특허 제0 413 622호 및 미국 특허 제5,766,883호(1998년 6월 16일 출원); 이들의 전문이 본원에 참조로서 인용됨}을 포함하지만, 이에 제한되지 않음]에 융합되어, 키메라 폴리펩티드를 생성할 수 있다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 폴리펩티드/항체(이의 단편 또는 변이체를 포함)는 사람 혈청 알부민의 성숙 한 형태(즉, 유럽 특허 제0 322 094호(이의 전문이 참조로서 본원에 인용됨)의 도 1 및 2에 도시된 사람 혈청 알부민의 아미노산 1 내지 585)에 융합된다. 또 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 폴리펩티드/항체(이의 단편 또는 변이체를 포함)는 미국 특허 제5,766,883호(이의 전문이 참조로서 본원에 인용됨)에 기술된 사람 혈청 알부민의 아미노산 잔기 1-z(여기서, z는 369 내지 419의 정수이다)을 포함하거나 또는 이로 이루어진 폴리펩티드 단편에 융합된다. 본 발명의 폴리펩티드 및/또는 항체(이의 단편 또는 변이체를 포함)는 이종성 단백질(예: 면역글로불린 Fc 폴리펩티드 또는 사람 혈청 알부민 폴리펩티드)의 N-말단 또는 C-말단에 융합될 수 있다. 본 발명의 융합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드도 또한 본 발명에 포괄된다. 이러한 융합 단백질은, 예를 들면, 정제를 용이하게 하고, 생체내 반감기를 증가시킬 수 있다. 이종성 폴리펩티드에 융합되거나 접합된 항체는 당업계에 공지된 방법을 사용한 시험관내 면역분석법 및 정제 방법에 사용될 수 있다[참조 문헌: Harbor et al., supra, 및 PCT publication WO 93/2 1232; EP 439,095; Naramura et al., Immunol. Lett. 39: 91-99(1994); 미국 특허 제5,474,981호; Gillies et al., PNAS 89: 1428-1432 (1992); Fell et al., J. Immunol; 이들의 전문이 본원에 참조로서 인용된다].

본 발명은 추가로, 항체 단편에 융합되거나 접합된 이종성 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 조성물을 포함한다. 예를 들면, 이종성 폴리펩티드는 Fab 단편, Fd 단편, Fv 단편, F(ab) $_2$ 단편 또는 이의 일부에 융합되거나 접합될 수 있 다. 폴리펩티드를 항체 부분에 융합시키거나 접합시키는 방법은 당업계에 공지되어 있다[참조 문헌: 미국 특허 제5,336,603호; 제5,622,929호; 제5,359,046호; 제5,349,053호; 제5,447,851호; 제5,112,946호; 유럽 특허 제307,434호; 제367,166호; PCT 공개공보 제WO 96/04388호; 제WO 91/06570호; Ashkenazi *et al.* , Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10535-10539 (1991); Zheng *et al.* , J. Immunol. 154:5590-5600 (1995); 및 Vil *et al.* , Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337- 11341 (1992); 이들 참조 문헌은 본원에 이의 전문이 참조로서 인용된다].

본 발명의 추가의 융합 단백질은 유전자-셔플링(shuffling), 모티프-셔플링, 엑손-셔플링 및/또는 코돈-셔플링('DNA 셔플링'으로서 총칭됨)의 기술을 통해 생성될 수 있다. DNA 셔플링을 사용하여 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)의 활성을 조절할 수 있고, 이러한 방법을 사용하여 활성이 변형된 항체(예를 들어, 고친화성 및 낮은 해리 속도를 갖는 항체)를 생성할 수 있다[참조 문헌: 미국 특허 제5,605,793호; 제5,811,238호; 제5,830,721호; 제5,834,252호; 및 제5,837,458호, 및 Patten *et al.* , Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33 (1997); Harayama, Trends Biotechnol. 16(2):76-82 (1998); Hansson, *et al.* , J. Mol. Biol. 287:265-76 (1999); and Lorenzo and Blasco, Biotechniques 24(2):308-13 (1998) (이들 특허 및 공보는 본원에 참조로서 이의 전문이 인용된다). 일 태양에서, 본 발명의 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 재조합전에 오류-발생용이(error-prone) PCR, 무작위 뉴클레오티드 삽입 또는 다른 방법에 의해 무작위 돌연변이유발시켜 변형될 수 있다. 또 다른 태양에서, 면역특이적으로 TR7에 결합하는 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드의 하나 이상의 부분을 하나 이상의 이종성 분자의 하나 이상의 성분, 모티프, 절편, 부분, 도메인 및 단편 등과 재조합할 수 있다.

더욱이, 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함)는 정제를 용이하게 하는 폴리펩티드와 같은 마커 서열에 융합될 수 있다. 바람직한 태양에서, 마커 아미노산 서열은 특히 pQE 벡터(QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311)에 제공된 태그와 같은 헥사-히스티딘 폴리펩티드이고, 이의 대부분은 시판되고 있다. 문헌[참조: Gentz *et al.* , Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824 (1989)]에 기술된 바와 같이, 헥사 히스티딘은 융합 단백질의 편리한 정제를 위해 제공된다. 정제하는데 유용한 기타 펩티드 태그에는, 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질[참조: Wilson et al., Cell 37:767(1984)]로부터 유래된 에피토프에 상응하는 헤마글루티닌 'HA' 태그 및 FLAG ^{R} 태그(Stratagene, La Jolla, CA)가 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.

본 발명은 추가로 진단제 또는 치료제에 접합된 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함)를 포괄한다. 당해 항체는 임상 시험 과정의 일부로서 종양의 발달 또는 진행을 모니터하거나 예후하기 위해, 예를 들면, 주어진 치료 처방의 효능을 결정하기 위해 진단학적으로 사용될 수 있다. 항체를 검출 가능한 물질과 커플링시켜 검출을 용이하게 할 수 있다. 검출 가능한 물질의 예에는 각종 효소, 보족 그룹, 형광 물질, 발광 물질, 생물발광 물질, 방사능활성 물질, 다양한 양전자 방 출 단층촬영술을 사용한 양전자 방출 금속, 및 비방사능활성 상자성 금속 이온이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 검출 가능한 물질은 항체에 직접적으로, 또는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 중간체(예를 들어, 당업계에 공지된 링커)를 통해 항체에 간접적으로 커플링되거나 접합될 수 있다[참조 문헌: 본 발명에 따른 진단제로서 사용하기 위한 항체에 접합될 수 있는 금속 이온에 대하여, 미국 특허 제4,741,900호 참조]. 적합한 효소의 예로는 서양고

추냉이 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제가 포함되지만 이에 제한되지 않고; 적합한 보족 그룹의 예로는 스트렙트아비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴이 포함되지만 이에 제한되지 않고; 적합한 형광 물질의 예로는 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 댄실 클로라이드 또는 피코에리트린이 포함되지만 이에 제한되지 않고; 발광 물질의 예로는 루미놀이 포함되지만 이에 제한되지 않고; 생물발광 물질의 예로는 루시페라제, 루시페린 및 아에쿠오린이 포함하지만 이에 제한되지 않고; 적합한 방사능활성 물질의 예로는 요오드(^{121}I, ^{123}I, ^{125}I, ^{131}I), 탄소(^{14}C), 황(^{35}S), 트리튬(^{3}H), 인듐(^{111}In, ^{112}In, ^{113m}In, ^{115m}In) 및 테크네튬(^{99}Tc, ^{99m}Tc), 탈륨(^{201}Ti), 갈륨(^{68}Ga, ^{67}Ga), 팔라듐 (^{103}Pd), 몰리브데늄 (^{99}Mo), 제논 (^{133}Xe), 불소 (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

추가로, 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 scFv 또는 기타 분자를 포함)를 세포독소, 예를 들면 세포증식억제제 또는 세포파괴제, 치료제 또는 방사성 금속 이온, 예를 들면 알파-방출인자(예: ^{213}Bi) 또는 기타 방사성동위원소(예: ^{103}Pd, ^{135}Xe, ^{131}I, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{35}S, ^{90}Y, ^{153}Sm, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{113}Sn, ^{90}Y, ^{117}Tin, ^{186}Re, ^{188}Re 및 ^{166}Ho)에 커플링시키거나 접합시킬 수 있다. 구체적 태양에서, 항체 또는 이의 단편은 ^{177}Lu, ^{90}Y, ^{166}Ho 및 ^{153}Sm을 포함하지만 이에 제한되지 않는 방사성 금속 이온을 폴리펩티드에 킬레이트화시키는 거대환 킬레이터에 부착시킨다. 구체적 태양에서, 거대환 킬레이터는 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N',N''-테트라아세트산(DOTA)이다. 다른 구체적 태양에서, 상기 DOTA가 링커 분자를 통하여 본 발명의 항체 또는 이의 단편에 부착된다. DOTA를 폴리펩티드에 접합시키는데 유용한 링커 분자의 예로는 당업계에 통상적으로 공지되어 있다[참조: DeNardo et al., Clin Cancer Res. 4(10): 2483-90, 1998; Peterson et al., Bioconjug. Chem. 10(4): 553-7, 1999; 및 Zimmerman et al, Nucl. Med. Biol. 26 (8): 943-50, 1999; 이의 전문이 본원에 참조로서 인용된다].

킬레이터 분자는 당업계에 공지되어 있다. 킬레이터 분자는 본 발명의 항체에 부착되어서 방사성 핵종(radionuclide) 또는 형광 표지를 포함하는 금속 이온으로 상기 항체를 표지화하는 것을 촉진할 수 있다. 예를 들면, 문헌들[참고: Subramanian, R. and Meares, C.F., 'Bifunctional Chelating Agents for Radiometal-labeled monoclonal Antibodies,' in Cancer Imaging with Radiolabeled Antibodies (D. M. Goldenberg, Ed.) Kluwer Academic Publications, Boston; Saji, H., 'Targeted delivery of radiolabeled imaging and therapeutic agents: bifunctional radiopharmaceuticals.' Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 16:209-244 (1999); Srivastava S.C. 및 Mease R.C., 'Progress in research on ligands, nuclides and techniques for labeling monoclonal antibodies.' Int. J. Rad. Appl. Instrum. B 18:589-603 (1991); and Liu, S. and Edwards, D.S., 'Bifunctional chelators for therapeutic lanthanide radiopharmaceuticals.' Bioconjug. Chem. 12:7-34 (2001)]이 참고된다. 항체에 공유적으로 결합될 수 있는 임의의 킬레이터는 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 킬레이터는 추가로 킬레이팅 잔기와 당해 항체를 연결하는 링커 잔기를 포함할 수 있다.

일 태양에서, 본 발명의 항체는 어사이클릭(acyclic) 킬레이터, 예를 들어 디에틸렌 트리아민-N,N,N',N',N'-펜타아세트산 (DPTA), DPTA의 유사체, 및 DPTA의 유도체에 부착된다. 비-제한적 예로서, 상기 킬레이터는 2-(p-이소티오시아나토벤질)-6- 메틸디에틸렌트리아민펜타아세트산 (1B4M-DPTA, 또한 MX-DTPA로 공지됨), 2-메틸-6-(로-니트로벤질)-1,4,7- 트리아자헵탄-N,N,N',N',N'-펜타아세트산 (니트로-1B4M-DTPA 또는 니트로-MX-DTPA); 2-(p-이소티오시아나토벤질)-사이클로헥실디에틸렌트리아민펜타아세트산(CHX-DTPA), 또는 N-[2-아미노-3-(로-니트로페닐)프로필]-트랜스-사이클로헥산-1,2-디아민-N,N',N'-펜타아세트산 (니트로-CHX-A-DTPA)일 수 있다.

또다른 태양에서, 본 발명의 항체는 어사이클릭 터피리딘 킬레이터, 예를 들어 6,6'-비스[[N,N,N',N'- 테트라(카복시메틸)아미노]메틸]-4'-(3-아미노-4-메톡시페닐)-2,2':6',2 '- 터피리딘 (TMT-아민)에 부착된다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체에 부착되는 거대환 킬레이터는 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산(DOTA)이다. 다른 구체적 태양에서, 상기 DOTA는 링커 분자를 통해서 본 발명의 항체에 부착된다. DOTA를 폴리펩티드에 접합시키는데 유용한 링커 분자의 예로는 통상적으로 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[참고: DeNardo et al., Clin. Cancer Res. 4(10):2483-90, 1998; Peterson et al., Bioconjug. Chem. 10(4):553-7, 1999; and Zimmerman et al., Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50, 1999-본원에 참조로서 이의 전문이 인용됨]에서 참조된다. 추가로, 미국 특허 제5,652,361호 및 제5,756,065호에서는 전문이 본원에 참조로서 인용되고 있는데, 여기서 항체에 접합할 수 있는 킬레이팅제 및 이를 제조하고 사용하는 방법에 대해 발표되어 있다. 미국 특허 제5,652,361호 및 제5,756,065호에서는 킬레이팅제를 항체에 접합시키는 것에 촛점을 두고 있으나, 당업자는 킬레이팅제를 다른 폴리펩티드에 접합시키기 위해서 상기에서 밝혀진 방법을 용이하게 적용할 수 있다.

활성화된 팔 또는 작용기를 통해 접합되는 거대환 리간드에 기초하고, 리간드의 탄소 중추에 부착되는 이중 기능성 킬레이터는 문헌[참고: M. Moi et al., J. Amer. Chem. Soc. 49:2639 (1989) (2-p-니트로벤질-1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N',N''-테트라아세트산); S. V. Deshpande et al., J. Nucl. Med. 31:473 (1990); G. Ruser et al., Bioconj. Chem. 1:345 (1990); C. J. Broan et al., J. C. S. Chem. Comm. 23:1739 (1990); and C. J. Ander son et al., J. Nucl. Med. 36:850 (1995)]에서 기술되는 바와 같이 사용될 수 있다.

일 태양에서, 임의로 하나 이상의 카복시, 아미노, 하이드록사메이트, 포스포네이트 또는 포스페이트 그룹을 함유하는 폴리아자마크로사이클릭 킬레이터와 같은 거대환 킬레이터는 본 발명의 항체에 부착된다. 또다른 태양에서, 상기 킬레이터는 DOTA, DOTA의 유사체 및 DOTA의 유도체로 이루어진 그룹으로부터 선택된 킬레이터이다.

일 태양에서, 본 발명의 항체에 부착될 수 있는 적합한 킬레이터 분자는 DOXA (1-옥사-4,7,10-트리아자사이클로도데칸트리아세트산), NOTA (1,4,7-트리아자사이클로노난트리아세트산), TETA (1,4,8,11-테트라아자사이클로테트라데칸테트라아세트산), 및 THT (4'-(3-아미노-4-메톡시-페닐)-6,6'-비스(N',N'-디카복시메틸-N-메틸하이드라지노)-2,2':6',2'-터피리딘), 및 이의 유사체와 유도체를 포함한다. 다음 문헌[참고: Ohmono et al., J. Med. Chem. 35: 157-162 (1992); Kung et al., J. Nucl. Med. 25: 326-332 (1984); Jurisson et al., Chem. Rev. 93:1137-1156 (1993); 및 미국 특허 제5,367,080호]이 참고된다. 다른 적합한 킬레이터는 미국 특허 제4,647,447호; 제4,687,659호; 제4,885,363호; 유럽 특허 제EP-A-71564호; 국제 공개공보 제WO89/00557호;및 유럽 특허 제EP-A-232751호에 기재된 킬레이팅제를 포함한다.

또다른 태양에서, 본 발명에 사용될 수 있는 적합한 거대환 카복실산 킬레이 터는 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N',N''-테트라아세트산(DOTA); 1,4,8,12-테트라아자사이클로펜타데칸-N,N',N',N''-테트라아세트산 (15N4); 1,4,7-트리아자사이클로노난-N,N',N'-트리아세트산 (9N3); 1,5,9-트리아자사이클로도덴칸-N,N',N'-트리아세트산 (12N3); 및 6-브로모아세트아미도-벤질-1,4,8,11-테트라아자사이클로테트라데칸- N,N',N',N''-테트라아세트산 (BAT)을 포함한다.

본 발명의 항체에 부착될 수 있는 바람직한 킬레이터는 MeO-DOTA-NCS로 또한 공지되어 있는 α-(5-이소티오시아나토- 2-메톡시페닐)-1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산이다. α-(5-이소티오시아나토- 2-메톡시페닐)- 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산의 염 또는 에스테르도 또한 사용될 수 있다.

기술된 바와 같은 킬레이터가 공유적으로 부착되는 본 발명의 항체는 치유, 진단, 또는 치유 및 진단 목적 모두에 적합한 방사성 핵종으로 표지화(킬레이터의 배위 위치를 통해서) 될 수 있다. 적당한 금속의 예로는 Ag, At, Au, Bi, Cu, Ga, Ho, In, Lu, Pb, Pd, Pm, Pr, Rb, Re, Rh, Sc, Sr, Tc, Tl, Y, 및 Yb가 포함된다. 진단 목적으로 사용되는 방사성 핵종의 예로는 Fe, Gd, ^{111}In, ^{67}Ga, 또는 ^{68}Ga이다. 또다른 태양에서, 진단 목적에 사용되는 방사성 핵종은 ^{111}In, 또는 ^{67}Ga이다. 치료 목적으로 사용되는 방서성 핵종의 예로는 ^{166}Ho, ^{165}Dy, ^{90}Y, ^{115m}In, ^{52}Fe, 또는 ^{72}Ga이다. 일 태양에서, 진단 목적으로 사용되는 방사성 핵종의 예는 ^{166}Ho 또는 ^{90}Y이다. 치료 및 진단 목적 모두에 사용되는 방사성 핵종의 예로는 ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{175}Yb, 또는 ^{47}Sc이 포함된다. 일 태양에서, 상기 방사성 핵종은 ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{175}Yb, 또는 ^{159}Gd이다.

바람직한 금속 방사성 핵종은 ^{90}Y, ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{47}Sc, ^{67}Ga, ^{51}Cr, ^{177m}Sn, ^{67}Cu, ^{167}Tm, ^{97}Ru, ^{188}Re, ^{177}Lu, ^{199}Au, ^{47}Sc, ^{67}Ga, ^{51}Cr, ^{177m}Sn, ^{67}Cu, ^{167}Tm, ^{95}Ru, ^{188}Re, ^{177}Lu, ^{199}Au, ^{203}Pb 및 ^{141}Ce로부터 선택된 방사성 핵종을 포함한다.

특정 태양에서, 킬레이터가 공유적으로 부착되는 본 발명의 항체는 ^{90}Y, ^{111}In, ^{177}Lu, ^{166}Ho, ^{215}Bi, 및 ^{225}Ac로 이루어진 그룹에서부터 선택된 금속 이온으로 표지화될 수 있다.

더우기, γ-방출 방사성 핵종, 예를 들어 ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{67}Ga, 및 ^{169}Yb는 진단용 이미지화에 사용될 수 있는 반면, β-방출제, 예를 들어 ^{67}Cu, ^{111}Ag, ^{186}Re, 및 ^{90}Y는 종양 치료시 적용하는데 유용하다. 또한 다른 유용한 방사성 핵종은 γ-방출제, 예를 들어 ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{67}Ga, 및 ^{169}Yb, 및 β-방출제, 예를 들어 ^{67}Cu, ^{111}Ag, ^{186}Re, ^{188}Re 및 ^{90}Y을 포함할 뿐만 아니라 관심이 있는 다른 방사성 핵종, 예를 들어 ^{211}At, ^{212}Bi, ^{177}Lu, ^{86}Rb , ^{105}Rh, ^{153}Sm, ^{198}Au, ^{149}Pm, ^{85}Sr, ^{142}Pr, ^{214}Pb, ^{109}Pd, ^{166}Ho, ^{208}Tl, 및 ^{44}Sc를 포함한다. 킬레이터가 공유적으로 부착되는 본 발명의 항체는 상기 기술된 방사성 핵종으로 표지화될 수 있다.

또다른 태양에서, 킬레이터가 공유적으로 부착되는 본 발명의 항체는 전이 금속 및 란탄계 금속을 포함하는 상자성 금속 이온, 예를 들어 원자 번호 21-29, 42, 43, 44, 또는 57-71, 특히 Cr, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, 및 Lu의 이온으로 표지화될 수 있다. 자기 공명 영상(magnetic resonance imaging)을 구성하는데 사용되는 상자성 금속은 원자 번호 22 내지 29, 42, 44 및 58-70을 갖는 원소를 포함한다.

또다른 태양에서, 킬레이터가 공유적으로 부착되는 본 발명의 항체는 란탄 계열을 포함하는 형광성 금속 이온, 특히 La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu (e.g., ^{152}Eu), Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, 및 Lu로 표지화될 수 있다.

또다른 태양에서, 킬레이터가 공유적으로 부착되는 본 발명의 항체는 Mo, Bi, Si, 및 W의 원자를 포함하는 중금속-함

유 수용체로 표지화될 수 있다.

본 발명의 방사성 표지된 항체는 이들이 결합하는 세포를 사멸시킬뿐 아니라, 이웃하는 세포를 사멸시키는데 유용할 수 있다. 예를 들면, TR7의 발현은 종양의 모든 세포상에 보편적이지 않을 수 있다. 그러나, 특정 방사능 붕괴시 발생하는 에너지는 단일 세포 지름 이상으로 미칠 수 있기 때문에, 본 발명의 방사성 표지된 항체는 TR7를 발현하지 않는 세포, 예를 들면, 암성 세포가 아니라 TR7를 발현하는 세포에 밀접하게 근접한 세포를 사멸시키는데 사용될 수 있다.

세포독소 또는 세포독성제로는 세포에 유해한 모든 제제가 포함된다. 이의 예로는 파클리탁솔, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 티미딘 키나제, 엔도뉴클리아제, RNAase, 및 푸로마이신 및 이들의 단편, 변이체 또는 동족체가 포함되나, 이에 제한되지 않는다. 치료제로는 항대사제(예: 메토트렉세이트, 6-머캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 데카르바진), 알킬화제(예: 메클로르에타민, 티오에파 클로르암부실, 멜팔란, 카르무스틴(BSNU) 및 로무스틴(CCNU), 사이클로토스파미드, 부설판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C 및 시스디클로로디아민 플라티늄(II)(DDP) 시스플라틴), 안트라사이클린(예: 다우노루비신(이전에 다우노마이신으로 명명됨) 및 독소루비신), 항생제(예: 닥티노마이신(이전에 악티노마이신으로 명명됨), 블레오마이신, 미트라마이신 및 안트라마이신(AMC)) 및 항-유사분열제(예: 빈크리스틴 및 빈블라스틴)이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.

당업계에 공지된 기술은 본 발명의 항체를 표지시키는데 적용될 수 있다. 이러한 기술은 이작용성 접합제[참조: 미국 특허 제5,756,065호; 제5,714,711호; 제5,696,239호; 제5,652,371호; 제5,505,931호; 제5,489,425호; 제5,435,990호; 제5,428,139호; 제5,342,604호; 제5,274,119호; 제4,994,560호; 및 제5,808,003호; 이의 각각의 내용은 본원에 참조로서 이의 전문이 인용됨] 및 직접적 커플링 반응[참조: Bolton-Hunter 및 Chloramine-T reaction)의 사용을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

주어진 생물학적 반응을 변경시키는데 사용될 수 있는 접합체, 치료제 또는 약제 잔기인 본 발명의 항체는 전통적인 화학적 치료제에 국한되는 것으로서 해석되어서는 아니된다. 예를 들면, 약제 잔기는 목적하는 생물학적 활성을 보유한 단백질 또는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질로는, 독소, 예를 들어 아브린, 리신 A, 알파 독소, 슈도모나스 외독소 또는 디프테리아 독소, 사포린, 모모르딘, 겔로닌, 미국자리공 항바이러스 단백질, 알파-사르신 및 콜레라 독소; 단백질, 예를 들어 종양 괴사 인자, 알파-인터페론, 베타-인터페론, 신경 성장 인자, 혈소판 유래된 성장 인자, 조직 플라스미노겐 활성인자, 아폽토시스 제제, 예를 들면, TNF-알파, TNF-베타, AIM I(참조 문헌: 국제 공개공보 제WO 97/33899호), AIM II(참조 문헌: 국제 공개공보 제WO 97/34911호), Fas 리간드(참조 문헌: Takahashi et al., Int. Immunol., 6:1567-1574(1994)), VEGI(참조 문헌: 국제 공개공보 제WO 99/23105호), 혈전제 또는 신생혈관형성 억제제, 예를 들면, 안지오스타틴 또는 엔도스타틴; 또는 생물학적 반응 변경제, 예를 들어 림포킨, 인터류킨-1(IL-1), 인터류킨-2(IL-2), 인터류킨-6(IL-6), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 과립구 콜로리 자극 인자(G-CSF) 또는 기타 성장 인자가 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.

또한, 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함)는, 특히 면역분석 또는 표적 항원의 정제에 유용한 고체 지지체에 부착될 수 있다. 이러한 고체 지지체로는 유리, 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드 또는 폴리프로필렌이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.

치료 잔기를 항체에 접합시키는 기술은 널리 공지되어 있다[참조 문헌: Arnon *et al.* , 'Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy' in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.* , 'Antibodies For Drug Delivery', in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, 'Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review', in Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); *'A* nalysis, Results, and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy', in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection and Therapy, Baldwin *et al.* (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), and Thorpe *et al.* , 'The Preparation and Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates', Immunol. Rev. 62:119-58 (1982)].

또한, 본 발명의 항체는 제2 항체와 접합하여 세갈(Segal)의 미국 특허 제4,676,980호(이는 본원에 참조로서 이의 전문이 인용됨)에 기술된 바와 같은 항체 이종성접합체를 형성할 수 있다.

치료 잔기가 접합되어 있거나 접합되어 있지 않은 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로써 이루어진 다른 분자를 포함)는 단독으로 또 는 세포독성 인자(들) 및/또는 사이토킨(들)과 함께 치료제로서 사용될 수 있다.

본 발명의 항체의 이용

본 발명의 항체는, 예를 들면, 시험관내 및 생체내 진단 및 치료학적 방법 모두에서 포함하는 본 발명의 폴리펩티드를 정제하고, 검출하고, 표적화하는 등에 사용될 수 있다. 예를 들면, 당해 항체는 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 수준을 정성적 및 정량적으로 측정하기 위한 면역분석에 사용된다[참조 문헌: Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. (1988); 이는 본원에 참조로서 이의 전문이 인용된다]

면역표현형결정

본 발명의 항체는 세포주 및 생물학적 샘플의 면역표현형결정에 이용될 수 수 있다(예를 들면, 실시예 3 참조). 본 발명의 유전자의 해독 생성물은, 세포 특이적 마커로서, 또는 보다 구체적으로 특정 세포 유형, 특히 종양 및 암 세포의 분화 및/또는 성숙의 다양한 단계에서 차등적으로 발현되는 세포 마커로서 유용할 수 있다. 특이적 에피토프, 또는 에피토프의 배합에 대해 유도된 모노클로날 항체를 사용하여, 마커를 발현하는 세포 집단을 스크리닝할 수 있다. 마커(들)을 발현하는 세포 집단을 스크리닝하기 위하여, 모노클로날 항체를 사용하는 다양한 기술이 이용될 수 있으며, 이에는 항체-피복된 자기 비이드를 사용하는 자성 분리, 고체 매트릭스(즉, 플레이트)에 부착된 항체를 이용한 '패닝(panning), 및 유동 세포측 정기[참조 문헌: 미국 특허 제5,985,660호; 및 Morrison et al., Cell, 96:737-49(1999)]가 포함된다.

이들 기술을 사용하여, 혈액학적 악성종양(즉, 급성 백혈병 환자에게 있어서 최소 잔여 질환(MRD))에서 발견될 수 있는 바와 같은 세포의 특정 집단을 스크리닝하고, 이식중에 '비-자기(non-self)' 세포를 스크리닝하여 이식-대-숙주 질환(GVHD)을 예방할 수 있다. 또한, 이들 기술을 사용하여, 사람 탯줄 혈액에서 발견될 수 있는 바와 같은, 증식할 수 있고/있거나 분화할 수 있는 조혈 줄기세포 및 전구세포를 스크리닝할 수 있다.

에피토프 맵핑

본 발명은 TR7 폴리펩티드의 에피토프를 동정하는데 사용될 수 있는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함)를 제공한다. 특히, 본 발명의 항체는 본원에 기술된 기술 또는 당업계에 공지된 기타 기술를 사용하여, 사람 TR7 폴리펩티드(예. 서열번호 3) 또는 사람 세포에서 발현되는 TR7 폴리펩티드; 쥐 TR7 또는 쥐의 세포에서 발현되는 TR7 폴리펩티드; 랫트 TR7 폴리펩티드 또는 랫트 세포에서 발현되는 TR7 폴리펩티드; 또는 원숭이 TR7 폴리펩티드 또는 원숭이 세포에서 발현되는 TR7 폴리펩티드의 에피토프를 동정하는데 사용될 수 있다. 에피토프로서 작용하는 단편은 임의의 통상적 수단에 의해 생성될 수 있다[참조 문헌: Houghten, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 5131-5135 (1985), 및 미국 특허 제4,711,211호]. 본 발명의 항체의 동정된 에피토프는, 예를 들면, 백신 후보로서 사용되어, 즉 개체를 면역화하여 TR7 폴리펩티드의 천연 형에 대해 항체를 유도할 수 있다.

항체의 진단 용도

TR7 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 본 발명의 표지된 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)는 질환 및/또는 장애를 검출, 진단, 예후 또는 모니터하기 위한 진단 목적으로 사용될 수 있다. 구체적 태양에서, TR7 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 본 발명의 표지된 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)는 TR7의 비정상적 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 및/또는 장애를 검출, 진단, 예후 또는 모니터하기 위한 진단 목적으로 사용될 수 있다.

TR7은 T 세포(휴지기 및 활성 T 세포, 예를 들면, 재조합 IL-2로 활성화된 T 세포 모두), 휴지기 및 활성화된 단핵구, 예를 들면 GM-CSF로 활성화된 단핵구 모두의 단핵구, 민무늬근 세포, 연골 세포(chondrocytes), 섬유아세포, 내피세포, 상피 세포 및 골격근 세포를 포함하는 1차 세포 및 조직 샘플상에 발현된다. TR7은 또한 사람 섬유육종 세포주 HT-1080; 사람 자궁경부암 세포주 ME-180 및 HeLa; 사람 악성 흑색종 세포주 RPMI-7951, SK-MEL-1 및 G361; 사람 성인 T 세포 백혈병 세포주 Jurkat; 사람 자궁암 세포주 SK-UT-1 및 RL-95; 사람 폐암 세포주 SK-MES-1, 사람 결장암 세포주, LS174T, HT29, 및 HCT116, su.86.86 및 CFPAC 췌장암 세포주, 사람 난소암 세포주 TOV21G, 및 사람 간암 세포주 HepG2 및 SNU449 및 사람 신경모세포종 세포주 SK-N-SH를 포함하나 이에 한정되지 않는 세포주 상에 발현된다. 이러한 세포주가 유래된 조직에 상응하는 조직의 암뿐 아니라 다른 질환은 본 발명에 따른 항체 조성물로써 진단되거나 치료될 수 있다.

본 발명은, (a) TR7에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 하나 이상의 항체를 사용하여, 개체로부터의 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 발현을 검정하는 단계, 및 (b) 당해 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 수준을 TR7 폴리펩티드의 표준 수준(예를 들어, 정상적인 생물학적 샘플중의 수준)과 비교하는 단계를 포함하여, TR7 폴리펩티드의 발현을 검출하는 방법을 제공한다.

본 발명은, (a) TR7에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 하나 이상의 항체를 사용하여, 개체로부터의 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 발현을 검정하는 단계, 및 (b) 당해 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 수준을 예를 들어, 정상적인 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 표준 수준과 비교시, TR7 폴리펩티드의 표준 수준에 비해 검정된 TR7 폴리펩티드의 수준의 증가 또는 감소가 비정상적 발현을 나타내는 단계를 포함하여, TR7 폴리펩티드의 비정상적 발현을 검출하는 방법을 제공한다.

'생물학적 샘플'은, TR7 폴리펩티드 단백질 또는 mRNA를 함유할 수 있는 개체로부터 수득된 모든 유체 및/또는 세포, 체액, 체조직, 체세포, 세포주, 조직 배양액 또는 기타 공급원을 의미한다. 체액은 혈청, 혈장, 뇨, 활액, 척수액, 타액 및 점액을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 조직 샘플은 또한 부검 물질로부터 수득될 수 있다. 포유동물로부터 조직 생검 및 체액을 수득하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 생물학적 샘플이 mRNA를 포함하는 경우, 조직 생검이 바람 직한 공급원이다.

TR7 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)는 암 및 기타 과증식성 장애, 및/또는 이와 관련된 질환 및 병리상태를 검출, 진단, 예후 또는 모니터하기 위한 진단 목적으로 사용될 수 있다. 본 발명은, (a) TR7 폴리펩티드에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 하나 이상의 항체를 사용하여, 개체로부터의 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 발현을 검정하는 단계, 및 (b) TR7 폴리펩티드의 수준을 예를 들어, 정상적인 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 표준 수준과 비교시, TR7 폴리펩티드의 표준 수준에 비해 검정된 TR7 폴리펩티드의 수준의 증가 또는 감소가 암 및/또는 과증식성 장애를 나타내는 단계를 포함하여, TR7 폴리펩티드의 비정상적 발현을 검출하는 방법을 제공한다.

TRAIL은 일부 예에서 종양 세포를 선택적으로 사멸하는 것으로 밝혀졌다[참조 문헌: Oncogene 19:3363-71 (2000)]. 이는 정상 세포 및 암세포상에서 TRAIL 수용체의 차등적 발현의 결과일 수 있다. 따라서, 구체적 태양에서, 검정된 TR7 폴리펩티드의 수준의 증가는 암 및/또는 과증식성 장애를 나타내는 것이다.

기타 보고는, 종양 세포에 의한 TR7 발현의 감소는 종양 세포가 면역계를 회피한 매카니즘일 수 있다고 보고한다[참조 문헌: Int. J. Oncol. 16:917-25 (2000)]. 따라서, 다른 구체적 태양에서, 검정된 TR7 폴리펩티드의 수준의 감소는 암 및/또는 과증식성 장애를 나타내는 것이다.

본 발명의 일 측면은 동물, 바람직하게는 포유동물 및 가장 바람직하게는 사 람에서 TR7의 비정상적인 발현과 관련된 질환 또는 장애를 검출하고 진단하는 것이다. 일 태양에서, 진단은, a) TR7에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 표지된 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)의 유효량을 피험체에게 투여(예를 들어, 비경구, 피하내 또는 복강내)하는 단계; b) 투여후 표지된 항체가 TR7 폴리펩티드가 발현되는 피험체의 위치에 우선적으로 집중되도록 하고 (결합되지 않는 표지된 분자가 배경 수준으로 제거되도록) 일정 시간 동안 대기하는 단계; c) 배경 수준을 결정하는 단계; 및 d) 배경 수준 이상으로의 표지된 항체 또는 이의 단편의 검출 및 질환이나 장애를 갖지 않은 사람에게서 관찰되는 수준 이상 또는 이하로의 표지된 항체 또는 이의 단편의 검출이 당해 피험체가 TR7 폴리펩티드의 비정상적 발현과 관련된 특정 질환 또는 장애를 갖는다는 것을 나타내도록 하는, 피험체에서 표지된 항체를 검출하는 단계를 포함한다. 배경 수준은 검출된 표지 분자의 양을 특정 시스템에 대해 이전에 결정된 표준 값과 비교하는 단계를 포함하는 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

사용되는 피험체의 크기 및 영상 시스템이 진단을 영상화하는데 요구되는 영상 잔기의 양을 결정한다는 것은 당업계에서 이해될 것이다. 방사능 동위원소 잔기의 경우, 사람 피험체에 대해서, 주입된 방사능의 양은 통상적으로 ^{99}Tc의 약 5 내지 20 밀리쿠리(millicury)의 범위일 것이다. 이어서, 표지된 항체는 특이적 단백질을 함유하는 세포의 위치에 우선적으로 축적될 것이다. 생체내 종양 영상화는 문헌[참조: S.W. Burchiel *et al.* , 'Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies 및 Their Fragments.'(Chapter 13 in Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer, S.W. Burchiel and B. A. Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982)]에 기술되어 있다.

사용되는 표지의 유형 및 투여 방식을 포함한 여러 변수에 따라, 표지된 분자가 피험체의 특정 위치에 우선적으로 집중되도록 하고 결합되지 않은 표지된 분자가 배경 수준으로 제거되도록 하는 투여 후의 시간 간격은 6 내지 48시간, 6 내지 24시간, 또는 6 내지 12시간이다. 또 다른 태양에서, 투여후 시간 간격은 5 내지 20일 또는 5 내지 10일이다.

일 태양에서, 질환 또는 장애의 모니터는 질환 또는 장애를 진단하는 방법을 반복, 예를 들면, 최초 진단한 후 1개월, 최초 진단한 후 6개월, 최초 진단한 후 1년 등의 간격으로 반복하여 수행한다.

표지된 분자의 존재는 생체내 스캐닝에 대해 당업계에 공지된 방법을 사용하여 환자에게서 검출할 수 있다. 이들 방법은 사용되는 표지의 유형에 의존한다. 당업자는 특정 표지를 검출하기 위한 적당한 방법을 결정할 수 있다. 본 발명의 진단 방법에 사용될 수 있는 방법 및 장치는 컴퓨터 단층촬영술(CT), 양전자 방출 단층촬영술(PET)와 같은 전신 스캐닝, 자기 공명 영상화(MRI) 및 음파검사를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

구체적정 태양에서, 당해 분자는 방사능 동위원소로 표지되고 방사선조사 반응성 수술 장치를 사용하여 환자에게서 검출한다[참조 문헌: Thurston et al., 미국 특허 제5,441,050호]. 또 다른 태양에서, 당해 분자는 형광성 화합물로 표지되 고 형광 반응성 스캐닝 장치를 사용하여 환자에게서 검출한다. 또 다른 태양에서, 당해 분자는 양전자 방출 금속으로 표지되고 양전자 방출 단층촬영술을 사용하여 환자에게서 검출한다. 또 다른 태양에서, 당해 분자는 상자성 표지로 표지되고 자기 공명 영상화(MRI)를 사용하여 환자에게서 검출한다.

항체의 치료학적 용도

TR7에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 하나 이상의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또한 이들로 이루어진 분자를 포함)는 치료제로서 체내에 국부적으로 또는 전신적으로 사용될 수 있다. 본 발명은 추가로 하나 이상의 기재된 질환, 장애 또는 증상을 예방하거나 치료하기 위해 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또한 이들로 이루어진 분자를 포함)를 동물, 바람직하게는 포유동물 및 가장 바람직하게는 사람에게 투여함을 포함하는 항체 기반 치료요법에 관한 것이다. 본 발명의 치료 화합물은 본 발명의 항체 및 본 원에 기재된 본 발명의 항체(및 항-이디오형 항체)를 암호화하는 핵산을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일 태양에서, 본 발명의 항체는 본원에 기재된 질환, 장애 또는 증상중 어느 하나 이상을 포함하지만 이에 제한되지 않는 질환, 장애 또는 증상을 치료하거나 경감시키거나 예방하는데 사용될 수 있다. 질환, 장애 또는 증상의 치료 및/또는 예방은 당해 질환, 장애 또는 증상과 관련된 증후를 경감시킴을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 항체는 당해 분야에 공지되어 있거나 본원에 기재된 바와 같은 약제학적으로 허용되는 조성물로 제공될 수 있다. 특정 태 양에서, 하기 실시예에 상세하게 기술된 바와 같이, 본 발명의 항체의 특성은 당해 항체가 선행기술분야에 기재된 TR7 결합 항체보다 치료제로서 보다 우수하게 한다.

암을 치료하기 위한 항체의 치료학적 용도

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 암을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 매우 바람직한 태양에서, TR7 폴리펩티드에 결합하는 본 발명의 항체는 암을 치료하거나 , 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 암 및 기타 관련된 장애의 진행 또는 전이를 억제하는데 사용된다. 암 및 관련 장애는 결장암, 자궁암, 백혈병[급성 백혈병{예를 들어, 급성 임파구 백혈병, 급성 골수구성 백혈병(골수모세포성 백혈병, 전골수세포성 백혈병, 골수단구성 백혈병, 단구성 백혈병 및 적백혈병을 포함)} 및 만성 백혈병{예, 만성 골수(과립구성) 백혈병 및 만성 임파구 백혈병}], 진성 적혈구 증가, 임파종(예: 홉킨스 질환 및 비홉킨스 질환) , 다발성 골수종, 발덴스트롬의 거대글로불린혈증, 중쇄 질환, 및 충실성 종양(육종 및 암종, 예를 들어, 섬유육종, 점액육종, 지질육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 임파척삭종, 임파척삭내피육종, 활막종, 중피종, 어윈 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 결장 암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 상피세포암, 기저 세포암, 선암종, 땀샘암, 기름샘 암, 유두암, 유두선암, 낭선암종, 연수암, 기관지암, 망막 세포암, 간암, 담관암, 융모막암종, 정상피종, 태생암, 빌름 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 폐암종, 소 세포 폐암, 방광암, 상피암, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 핍지교종, 메난지오마, 흑색종, 신경모세포종 및 망막모세포종을 포함하지만 이에 제한되지 않음)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 신장암을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 신장암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 흑색종을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 흑색종을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 간암종과 같은 간암을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 간암종과 같은 간암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 수모세포종, 신경모세포종 및 교모세포종과 같은 중추 신경계의 암을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 수모세포종, 신경모세포종 및 교모세포종과 같은 중추신경계의 암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 다발성 골수종을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 다발성 골수종을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

다른 매우 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 비홉킨스 임파종을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 비홉킨스 임파종을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 전립선암 및 전이성 전립선암을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 전립선암 및 전이성 전립선암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

본 발명에 따라, 폐암 조직, 방광암 조직 및 난소암 조직상에 TRAIL 수용체 TR7가 발현되는 것으로 입증되었다. 추가로, 본 발명에 따라, TRAIL 수용체 TR7가 원발성 유방, 결장, 폐 및 위 종양 조직상에 발현되는 것으로 입증되었다.

따라서, 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 비소세포 폐암을 포함하나 이에 한정되지 않는 폐암을 치료하는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 비소세포 폐암을 포함하나 이에 한정되지 않는 폐암을 치료하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 방광암을 치료하는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 방광암을 치료하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 난소암을 치료하는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 난소암을 치료하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 유방암 및 전이성 유방암을 치료하는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 유방암 및 전이성 유방암을 치료하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 결장암 및/또는 직장결장암을 치료하는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 결장암 및/또는 결장직장암을 치료하는데 사용된다.

고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 위암을 치료하는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 위암을 치료하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 신장암, 흑색종, 췌장암 및 간암종과 같은 간암을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 신장암, 흑색종, 췌장암 및 간암종과 같은 간암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 백혈병을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 백혈병을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 만성 임파구 백혈병(CLL)을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 만성 임파구 백혈병(CLL)을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 골수이형성 증후군을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 골수이형성 증후군을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

또 다른 고도로 바람직한 태양에서, TR7에 결합하고 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 본 발명의 항체는 어윙 육종 및 골육종을 포함하나 이에 한정되지 않는 골암을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 다른 바람직한 태양에서, TR7에 결합하는 본 발명의 항체는 어윙 육종 및 골육종을 포함하나 이에 한정되지 않는 골암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용된다.

또 다른 태양에서, TR7에 결합하고 임의로 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자 극하는 본 발명의 항체는 암(예를 들어, 결장암, 심장종양, 췌장암, 흑색종, 망막모세포종, 교모세포종, 폐암, 장암, 고환암, 위암, 신경모세포종, 점액종, 근종, 림프종, 내피종, 골모세포종, 파골세포종, 골육종, 연골육종, 선종, 유방암, 전립선암, 카포시 육종 및 난소암을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 여포 림프종, p53 돌연변이를 갖는 암 및 호르몬 의존성 종양), 자가면역 장애(예를 들어,

다발성 경화증, 쇼그렌 증후군, 하시모토 갑상선염, 담즙성 간경변증, 베흐체의 질환, 크론 질환, 다발성근염, 전신성 홍반 낭창 및 면역 관련 사구체신염 류마티스 관절염) 및 바이러스 감염(예를 들어, 헤르페스 바이러스, 폭스 바이러스 및 아데노바이러스), 정보 이식-대-숙주 질환, 급성 이식 거부 및 만성 이식 거부를 포함하는, 세포 생존력 증가 또는 아폽토시스의 억제와 관련된 질환 및/또는 장애를 치료하는데 사용된다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 암, 특히, 상기 열거된 암의 성장, 진행 및/또는 전이를 억제하는데 사용된다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 시험관내 또는 생체내에서 간독성이 아니다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용되는 본 발명의 항체는 상기에서 구체적으로 기술되고 있고/있거나 바람직하게 TR7에 결합한다. 다른 바람직한 태양에서, 상기 암을 치료하거나 예방하거나 경감하는데 사용되는 본 발명의 항체는 상기에서 구체적으로 기술되고 있고/있거나 바람직하게 TR7 및 TR4에 결합한다.

항체의 추가의 치료학적 용도

또 다른 태양에서, 본 발명은 TR7 발현 세포의 성장을 억제하거나 이를 사멸시키는 유효량의 본 발명의 항체 또는 항체 조성물(예를 들어, 항체 단편 및 변이체, 항체 혼합물, 항체 다량체, 본 발명의 융합 단백질 및 화학치료제와 같은 또 다른 치료학적 화합물과 배합된 항체)을 TR7 발현의 세포의 증식 억제 또는 이의 사멸이 요구되는 동물에게 투여하는 것으로 이루어지거나 이를 포함하는 TR7 발현 세포의 증식을 억제하거나 이를 사멸시키기 위한 방법 및 조성물을 제공한다.

한 측면에서, 본 발명은 TR7 매개 시그날 전달을 유도하거나 증가시킬 수 있는 유효량의 본 발명의 항체, 바람직하게는 효능성 항-TR7 항체를 TR7 폴리펩티드를 발현하는 세포에게 투여함을 포함하는, TNF-계열 리간드(특히, TRAIL(서열번호 72))에 의해 유도된 아폽토시스를 증진시키는 방법에 관한 것이다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 TNF-계열 리간드(특히, TRAIL(서열번호 72))에 의해 유도된 아폽토시스를 증진시키는 방법에 관한 것으로, 이는 TR7 및/또는 TR4 폴리펩티드를 발현하는 세포에 TR7 및 TR4 모두에 특이적으로 결합하고 TR7 및/또는 TR4 매개된 시그날 전달을 유도하거나 증가시킬 수 있는 유효량의 본 발명의 항체, 바람직하게 효능적 항체를 투여하는 것과 관계있다. 바람직하게, TR7 및/또는 TR4 매개 시그날 전달은 본 발명의 항체에 의해 증가되거나 유도되어 아폽토시스가 감소되거나 사이토킨 및 접착 분자 발현이 감소되어 발병되는 질환을 치료한다.

한 측면에서, 본 발명은 TRAIL 수용체 매개 시그날 전달, 특히 TR7 및 TR4 매개 시그날 전달을 유도하거나 증가시킬 수 있는 유효량의 본 발명의 항체, 바람직하게 효능성 항-TR7, 및/또는 항-TR7 및 TR4 항체(즉, TR7 및 TR4 모두에 면역특이적으로 결합하는 항체)를 TR7 및/또는 TR4를 발현하는 세포에 투여함을 포함하는, TR7 및/또는 TR4 발현 세포의 아폽토시스를 유도하는 방법에 관한 것이다.

추가의 측면에서, 본 발명은 TR7 매개 시그날 전달을 감소시킬 수 있는 유효량의 본 발명의 항체, 바람직하게는 길항성 항-TR7 항체를 TR7 폴리펩티드를 발현하는 세포에게 투여함을 포함하는 TNF-계열 리간드(특히, TRAIL(서열번호 72))에 의해 유도되는 아폽토시스를 억제하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 TR7 및 TR4 모두에 특별히 결합하고 TR7 및/또는 TR4 매개 시그날 전달을 감소시킬 수 있는 유효량의 본 발명의 항체, 바람직하게 길항적 항체를 TR7 및/또는 TR4 폴리펩티드를 발현하는 세포에 투여함을 포함하는, TNF-계열 리간드(특히, TRAIL(서열번호 72))에 의해 유도된 아폽토시스를 억제하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게, TR7 및/또는 TR4 매개 시그날 전달이 감소되어 아폽토시스 또는 NFkB 발현이 증가되어 발병되는 질환을 치료한다.

한 측면에서, 본 발명은 TRAIL 수용체 매개 시그날 전달, 특히 TR7 및 TR4 매개 시그날 전달을 감소시킬 수 있는 유효량의 본 발명의 항체, 바람직하게 길항적 항-TR7, 및/또는 항-TR7 및 TR4 항체(즉, TR7 및 TR4 모두에 면역특이적으로 결합하는 항체)를 TR7 및/또는 TR4를 발현하는 세포에 투여함을 포함하는, TR7 및/또는 TR4 발현 세포의 아폽토시스를 억제하는 방법에 관한 것이다.

TR7 '효능제'란 TRAIL 수용체에 의해 매개된 아폽토시스를 증진시키거나 강화시킬 수 있는 천연적으로 존재하거나 합성되는 화합물을 의미한다. TR7 '길항제'란 TRAIL 수용체에 의해 매개되는 아폽토시스를 억제할 수 있는 천연적으로 존 재하거나 합성되는 화합물을 의미한다. 본 발명의 임의의 후보물질인 '효능제' 또는 '길항제'가 각각 아폽토시스를 증진되거나 억제될 수 있는지는 하기에 보다 상세하게 기술된 것들을 포함하는 당해 기술 분야에 공지된 TNF-계열 리간드/수용체 세포 반응 검정을 사용하여 결정될 수 있다.

본 발명의 항체는 본원에 기재된 하나 이상의 질환, 장애 또는 증상을 포함하지만 이에 제한되지 않는, TR7 또는 TR7 리간드의 비정상적 발현 및/또는 활성과 관련된 질환, 장애 또는 증상을 치료하거나 경감시키거나 예방하는데 사용될 수 있다. TR7 발현 및/또는 활성이 비정상적이고 TR7 리간드 발현 및/또는 활성이 비정상적인 것과 관련된 질환, 장애 또는 증상의 치료 및/또는 예방은 당해 질환, 장애 또는 증상과 관련된 증후를 경감시키는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 항체는 당업계에 공지되거나 본원에 기술된 바와 같은 약제학적으로 허용되는 조성물로

제공될 수 있다.

추가로, TRAIL 수용체-매개 생물학적 활성(예를 들어, TRAIL 수용체 발현 세포에서의 아폽토시스 유도)을 활성화시키는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는 동물에게 투여되어 본원에 기재된 질환 또는 장애, 특히 암 및 다른 과증식성 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시킬 수 있다. 이들 항체는, 예를 들면, TRAIL 수용체에서 형태적 변화를 유도하여 TRAIL 수용체의 생물학적 활성 모두 또는 이의 서브세트를 강화시키거나 활성화시킬 수 있다. 구체적 태양에서, 항체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상으로 TR7 활성을 증가시키는 본 발명의 항체가 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다. 또 다른 태양에서, 항체 또는 항체 단편 및/또는 항체 변이체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상으로 TR7 활성을 증가시키는 항체의 배합물, 항체 단편의 배합물, 항체 변이체의 배합물 또는 항체, 항체 단편 및/또는 항체 변이체의 배합물이 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다.

추가로, TR7 매개 생물학적 활성(예를 들어, TR7 발현 세포에서 아폽토시스의 유도)을 활성화시키는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여될 수 있다. 이들 항체는 예를 들면, TRAIL 수용체의 형태적 변화를 유도함에 의해 TRAIL 수용체의 생물학적 활성 모두 또는 서브세트를 강화시키거나 활성화시킬 수 있다. 구체적 태양에서, 항체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상으로 TR7 활성을 증가시키는 본 발명의 항체는 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다. 또 다른 태양에서, 항체 또는 항체 단편 및/또는 항체 변이체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상으로 TR7 활성을 증가시키는 항체의 배합물, 항체 단편의 배합물, 항체 변이체의 배합물 또는 항체, 항체 단편 및/또는 항체 변이체의 배합물이 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다.

TRAIL 수용체, 바람직하게는 TR7 시그날 전달의 효능제 또는 길항제로서 작용하는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여될 수 있다. 예를 들면, 완전히 또는 부분적으로 TR7와 결합하는 TRAIL의 작용을 모사하는 본 발명의 항체인 TR7 효능제가 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여될 수 있다. 또 다른 예로서, TR7와 이의 리간드간의 상호작용을 파괴하거나 차단하거나 TR7를 통한 시그날 전달을 억제하거나 감소시키거나 차단하는 본 발명의 항체는 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여될 수 있다. TR7이 이의 리간드와 결합하는 것을 차단하지는 않지만 TR7 시그날 전달을 억제하거나 하향조절하는 본 발명의 항체가 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여될 수 있다. TR7 시그날 전달을 증진시키거나 억제하거나 상향조절하거나 하향조절하는 본 발명의 항체의 능력은 본원에 기재된 기술 또는 당해 기술 분야에 공지된 또 다른 기술에 의해 결정될 수 있다. 예를 들면, TRAIL-유도된 수용체 활성화 및 시그날 전달 분자의 활성화는 면역침전법에 이어서 웨스턴 블롯 분석(예를 들면, 본원에 기재된 바와 같음)에 의해 FADD 및 TRADD와 같은 어댑터 단백질의 TR7와의 연합을 검출함에 의해 결정될 수 있다.

추가로, TR7 매개 생물학적 활성(TR7 발현 세포에서의 아폽토시스의 유도)을 활성화시키는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간 드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여될 수 있다. 이들 항체는, 예를 들면, TRAIL 수용체의 형태적 변화를 유도하여 TRAIL 수용체의 모든 생물학적 활성 또는 이의 서브세트를 강화시키거나 활성화시킬 수 있다. 구체적 태양에서, 항체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상,

50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상으로 TR7 활성을 증가시키는 본 발명의 항체가 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여될 수 있다. 또 다른 태양에서, 항체 또는 항체 단편 및/또는 항체 변이체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 5% 이상, 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상으로 TR7 활성을 증가시키는 항체의 배합물, 항체 단편의 배합물, 항체 변이체의 배합물 또는 항체, 항체 단편 및/또는 항체 변이체의 배합물이 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 결핍, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능의 결핍과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다.

구체적 태양에서, 항체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 95% 이상, 90% 이상, 85% 이상, 80% 이상, 75% 이상, 70% 이상, 60% 이상, 50% 이상, 45% 이상, 40% 이상, 35% 이상, 30% 이상, 25% 이상, 20% 이상 또는 10% 이상으로 완전히 또는 부분적으로 TR7 활성(예: 아폽토시스의 자극)을 억제하거나 하향조절하는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 항진, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드 기능 항진과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다. 또 다른 태양에서, 항체, 항체 단편 및/또는 항체 변이체의 부재하의 TR7 활성과 비교하여 95% 이상, 90% 이상, 85% 이상, 80% 이상, 75% 이상, 70% 이상, 60% 이상, 50% 이상, 45% 이상, 40% 이상, 35% 이상, 30% 이상, 25% 이상, 20% 이상 또는 10% 이상으로 TR7 활성을 억제하거나 하향조절하는 항체의 배합물, 항체 단편의 배합물, 항체 변이체의 배합물 또는 항체, 항체 단편 및/또는 변이체의 배합물은 비정상적인 TR7 발현, TR7 기능 항진, 비정상적인 TR7 리간드 발현 또는 TR7 리간드의 기능 항진과 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다.

일 태양에서, 본 발명의 치료학적 또는 약제학적 조성물은 AIDS, 신경퇴행성 장애(예를 들어, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 근위축성 외측 경화증, 망막색소변성, 소뇌변성), 골수이형성 증후군(예: 무형성 빈혈), 허혈 손상(예를 들어, 심근경색, 발작 및 재관류 손상에 의해 유발되는 것), 독소 유발된 간 질환(예를 들어, 알콜에 의해 유발되는 것), 패혈성 쇼크, 악액질 및 식욕불량을 포함하지만 이 에 제한되지 않는 증가된 아폽토시스와 관련된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 치료학적 또는 약제학적 조성물은 골수 부전증, 예를 들면, 무형성 빈혈 및 골수이형성 증후군을 치료하거나 예방하거나 경감시키기 위해 동물에게 투여된다.

본 발명의 치료학적 또는 약제학적 조성물은 또한 기관 거부 또는 이식-대 숙주-질환(GVHD) 및/또는 이와 연관된 증상을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 투여될 수 있다. 기관 거부는 면역 반응을 통한 이식된 조직의 숙주 면역세포 파괴에 의해 발생한다. 유사하게, 면역반응은 또한 GVHD에 관여하지만, 이 경우에, 외부 이식된 면역 세포는 숙주 조직을 파괴한다. 면역 세포 효과인자 기능에 의해 유도된 세포 사멸은 아폽토시스성 사멸이다. 따라서, 본 발명의 항체(예를 들어, 아폽토시스를 억제하는 항체)의 투여는 기관 거부 또는 GVHD를 예방하는데 효과적인 치료법일 수 있다.

또 다른 태양에서, 본 발명의 치료학적 또는 약제학적 조성물을 동물에게 투여하여 감염성 질환을 치료하거나 예방하거나 개선시킨다. 감염성 질환은 효모, 진균류, 바이러스 및 세균 감염과 연관된 질환을 포함한다. 본 발명에 따라 치료되거나 예방될 수 있는 바이러스 감염 유발 바이러스는 레트로바이러스(예를 들어, I형 및 II형 사람 T-세포 림프구 영양 바이러스(HTLV) 및 사람 면역결핍 바이러스(HIV)), 헤르페스 바이러스(예를 들어, I형 및 II형 단순 포진 바이러스(HSV), 엡스테인-바르 바이러스(Epstein-Barr), HHV6-HHV8 및 거대세포바이러스), 아레나바이러스(예를 들어, 라사 열 바이러스), 파라믹소바이러스(paramyxovirus)(예를 들 어, 모르빌리바이러스(morbillivirus) 바이러스, 사람 호흡기 합포체 바이러스, 유행귀밑선염 및 뉴모바이러스(pneumovirus)), 아데노바이러스(adenovirus), 부냐바이러스(예를 들어, 한타바이러스), 코르나바이러스, 필로바이러스(예를 들어, 에볼라 바이러스), 플라비바이러스(예를 들어, C형 간염 바이러스(HCV), 황열 바이러스 및 일본 뇌염 바이러스), 헤파드나바이러스(hepadnavirus)(예를 들어, B형 간염 바이러스(HBV)), 오르토미요바이러스(orthomyovirus)(예를 들어, A형, B형 및 C형 인플루엔자 바이러스), 파포바바이러스(papovavirus)(예를 들어, 파필로마바이러스(papillomavirus)), 피코르나바이러스(picornavirus) (예를 들어, 리노바이러스(rhinovirus), 엔테로바이러스(enterovirus) 및 A형 간염 바이러스), 폭스바이러스(poxvirus), 레오바이러스(reovirus) (예를 들어, 로타바이러스(rotavirus)), 토가바이러스(togavirus) (예를 들어, 루벨라 바이러스(rubella virus)), 라브도바이러스(rhabdovirus) (예를 들어, 랍비 바이러스(rabies virus))를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 세균 감염을 일으키는 미생물 병원체는 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes)* , 스트렙토코커스 뉴모니애(*Streptococcu s pneumoniae)* , 네이세리아 고노로에(*Neisseria gonorrhoea)* , 네이세리아 메닝기티디스(*Neisseria meningitidis)* , 코리네박테리움 디프테리아(*Corynebacterium diphtheriae)* , 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum)* , 클로스트리디움 퍼프린겐스(*Clostridium perfringens)* , 클로스트리디움 테타니(*Clostridium tetani)* , 해모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae)* , 클렙시엘라 뉴모니애(*Klebsiella pneumoniae)* , 클렙시엘라 오자에나(*Klebsiella ozaenae)* , 클렙시엘라 리노스크레로모티스(*Klebsiella rhinoscle* *romotis)*, 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus)*, 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae)*, 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli)*, 슈도모나스 아에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa)*, 캄필로박터(비브리오) 페터스(*Campylobacter* (Vibrio) *fetus)*, 캄필로박터 에유니 *(Campylobacter jejuni)*, 에어로모나스 하이드로필라(*Aeromonas hydrophila)*, 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus)*, 에드워드시엘라 타르다(*Edwardsiella tarda)*, 에르시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia enterocolitica)*, 에르시니아 페스티스 *(Yersinia pestis)*, 에르시니아 슈도투버큘로시스(*Yersini* a *pseudotuberculosi* s), 쉬겔라 디센테리애(*Shigella dysenteriae)*, 쉬겔라 플렉스네리 *(Shigella flexneri)*, 쉬겔라 소네이(*Shigella sonnei),* 살모넬라 타이피무리움 *(Salmonella typhimurium)*, 트레포네마 팔리둠(*Treponema pallidum)*, 트레포네마 페르테누에(*Treponema pertenue)*, 트레포네마 카라테네움(*Treponema carateneum)*, 보렐리아 빈센티(*Borrelia vincentii)*, 보렐리아 부르그도르페리 *(Borrelia burgdorferi)*, 렙토스피라 이크테로헤모라지애(*Leptospira icterohemorrhagiae)*, 마이코박테리움 튜버큘로시스(*Mycobacterium tuberculosis)*, 톡소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondii)*, 뉴모시스티스 카리니 *(Pneumocystis carinii)*, 프란시셀라 툴라렌시스 투라렌시스(*Francisella tularensis)*, 브루셀라 아보르투스(*Brucella abortus)*, 부르셀라 수이스(*Brucella suis)*, 브루셀라 멜리텐시스(*Brucella melitensis)*, 마이코플라스마 종 *(Mycoplasma spp),* 리케치아 프로와제키(*Rickettsia prowazeki)*, 리케치아 스추구무치(*Rickettsia tsutsugumushi)*, 클라미디아 종 *(Chlamydia spp)* 및 헬리코박터 파이로리(*Helicobacter pylori)* 를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 AIDS, 신경퇴행성 장애(예를 들어, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 근위축성 외측 경화증, 망막색소변성, 소뇌변성 및 뇌종양 또는 프리온 연관된 질환); 자가면역 질환(예를 들어, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 소조그렌 증후군, 하시모토 갑상선염, 담즙 경변증, 베체 질환, 크론 질환, 다발성근염, 전신성 홍반성 루프스, 면역-관련 사구체신염 및 류마티스 관절염), 골수이형성 증후군(예: 무형성 빈혈), 이식-대-숙주 질환, 허혈 손상(예를 들어, 심근경색, 발작 및 재관류 손상에 의해 유발되는 것), 간 손상(예를 들어, 간염 관련 간 손상, 경변증, 허혈/재관류 손상, 콜레스테롤혈증(담즙관 손상) 및 간암); 독소 유발된 간 질환(예를 들어, 알콜에 의해 유발되는 것), 패혈성 쇼크, 악액질 및 식욕불량을 포함하지만 이에 제한되지 않는 증가된 아폽토시스와 관련된 질환을 치료하거나 예방하거나 경감시키는데 사용된다. 바람직한 태양에서, 항체가 TRAIL 수용체에 결합하여 TRAIL의 수용체로의 결합을 차단하고 아폽토시스를 유도하는 생물학적 시그날을 전달하지 못하게 하는 항-TR7 길항성 항체가 상기 열거된 질환 및 장애를 치료하는데 사용된다.

HIV 유도된 신경병증 및 HIV 뇌염을 포함하는 HIV와 관련된 많은 병리학적 증상은 아폽토시스에 의해 매개된다. 따라서, 추가의 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체, 바람직하게는 길항성 항-TR7 항체는 AIDS 및 AIDS와 관련된 병리학적 증상을 치료하는데 사용된다. 본 발명의 또 다른 태양은 HIV 감염된 환자에서 T 세포의 TRAIL 매개 사멸을 감소시키기 위한 본 발명의 항체의 용도에 관한 것이다.

추가의 태양에서, 본 발명의 항체, 특히, 길항성 항-TR7 항체는 T 세포 아폽토시스의 다른 억제제와 배합되어 투여된다. 예를 들면, Fas 매개 아폽토시스는 HIV 환자에서 T 세포의 손실과 관련이 있다[문헌참조: Katsikis et al., J. Exp. Med. 181:2029-2036, 1995]. 따라서, Fas 리간드 매개 및 TRAIL 매개 T 세포 사멸 모두에 민감한 환자는 TRAIL/TR7 상호작용을 차단하는 제제 및 Fas-리간드/Fas 상호작용을 차단하는 제제 모두로 치료될 수 있다. Fas 리간드 대 Fas의 결합을 차단하는데 적합한 제제는 가용성 Fas 폴리펩티드, 다량체 형태의 가용성 Fas 폴리펩티드(예를 들어, sFas/Fc의 이량체), 아폽토시스를 유발하는 생물학적 시그날을 전달하는 것 없이 Fas와 결합하는 항-Fas 항체; Fas-리간드의 Fas로의 결합을 차단하는 항-Fas-리간드 항체 및 Fas와 결합하지만 아폽토시스를 유도하는 생물학적 시그날을 전달하지 못하는 Fas-리간드의 뮤테인을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 바람직하게, 본원의 방법에 따라 사용되는 항체는 모노클로날 항체이다. 항-Fas 모노클로날 항체를 차단시킴을 포함하는, Fas-리간드/Fas 상호작용을 차단하는데 적합한 제제의 예는 본원에 참조로서 인용된 문헌[참조: 국제 출원 공개번호 제WO 95/10540호]에 기재되어 있다.

또한 본 발명의 항체와 함께 투여될 수 있고 TRAIL의 TR7로의 결합을 차단하는 적합한 제제는 가용성 TR7 폴리펩티드(예를 들어, 가용성 형태의 OPG, TR5(국제출원 공개 번호 제WO 98/30693호), 가용성 형태의 TR7(국제 공개번호 제WO 98/32856), TR4/DR5(국제 출원 공개 번호 제WO 98/41629호) 및 TR10(국제 출원 공개 번호 제WO 98/54202호)), 다량체 형태의 가용성 TR7 폴리펩티드 및 아폽토시스 를 유도하는 생물학적 시그날을 전달하는 것 없이 TR7과 결합하는 TR7 항체, TRAIL의 하나 이상의 TRAIL 수용체로의 결합을 차단하는 항-TRAIL 항체 및 TRAIL 수용체에 결합하지만 아폽토시스를 유도하는 생물학적 시그날을 전달하지 못하는 TRAIL의 뮤테인을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

동종이식 거부에서, 대부분의 면역계는 단지 환경적 항원에 의해 준비만 되어 있기 때문에 수용자 동물의 면역계는 이전에 반응하도록 준비되어 있지 않다. 동종의 다른 구성원 기원의 조직은, 예를 들면, 바이러스 및 세균이 제공되는 것과 동일한 방식으로 제공되지 않는다. 동종이식 거부의 경우에, 면역억제 섭생은 면역계를 효과인자 단계에 도달하지 못하도록 디자인된다. 그러나, 이종이식 거부의 면역 프로필은 동종이식 거부 보다 더 질환 재발을 모사할 수 있다. 질환 재발의 경우에, 고유 소도 세포(native islet cell)의 파괴에 의해 입증된 바와 같이 면역계는 이미 활성화되어 있다. 그러므로, 질환 재발의 경우에, 면역계는 이미 효과인자 단계에 있다. 본 발명의 항체(예를 들어, 발명의 효능성 항체)는 효과인자 세포로 활성화되고 분화된 림프구가 TR7 폴리펩티드를 발현함으로써 아폽토시스를 증진시키는 화합

물에 민감해지기 때문에 동종이식 및 이종이식 모두의 면역반응을 억제할 수 있다. 따라서, 본 발명은 추가로, 면역 특화 조직을 제조하는 방법을 제공한다. 본 발명의 길항제는 추가로 염증성 장 질환의 치료에 사용될 수 있다.

본 발명의 항체 및 항체 조성물은 류마티스 관절염, 골관절염, 건선, 패혈증 및 염증성 장 질환과 같은 염증 질환을 치료하는데 유용할 수 있다.

추가로, TR7 폴리펩티드의 임파아구 발현으로 인해, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 당해 형태의 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 추가로, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 류마티스 관절염, 골관절염, 건선, 패혈증 및 염증성 장 질환과 같은 다양한 만성 및 급성 형태의 염증을 치료하는데 사용될 수 있다.

일 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 사지 허혈과 같은 말초 동맥 질환을 포함하는 심혈관 장애를 치료하는데 사용될 수 있다.

심혈관 장애는 심혈관 이상증, 예를 들어 동맥-동맥 피스툴라, 동정맥 피스툴라, 뇌 동정맥 기형, 선천성 심장 결함, 폐 폐쇄증 및 시미타르 증후군을 포함한다. 선천성 심장 결함은 대동맥 교착, 삼방심, 관상 혈관 이상증, 교차 심장, 우심증, 개방된 관 동맥관, 에브시타인 기형, 에이센멘거 후유증, 재생불량성 좌심장 증후군, 좌심증, 필로증후군, 대혈관전위증, 양대혈관 우심실기시증, 삼천관폐쇄증, 동맥간존속증, 및 심중격 결손증, 예를 들어 대동맥 폐동맥 중격 결손증, 심내막 융기 결손증, 루템바허 증후군, 필로삼징, 심실성 심장 중격 결손증을 포함한다.

심혈관 장애는 또한 심장 질환, 예를 들어 죽상경화증, 부정맥, 카르시노이드 심장 질환, 높은 심박출량, 낮은 심박출량, 심장압전, 심내막염(세균성 포함), 심장 동맥류, 심박정지, 울혈성 심부전증, 울혈성 심근병증, 발작성 호흡곤란, 심인성 부종, 심장 비대증, 울혈성 심근병증, 좌심실 비대증, 우심실 비대증, 경색후 심장 파열, 심실 중격 파열, 심판막 질환, 심근 질환, 심근 허혈, 심낭 삼출액, 심막염(교착성 및 결핵성 포함), 심막기종, 심낭막절개술후 증후군, 폐 섬유증, 폐 심장질환, 류마티스 심장 질환, 심실 기능장애, 충혈, 심혈관 임신 합병증, 시미타 르 증후군, 심혈관 매독 및 심혈관 결핵을 포함한다.

부정맥은 동부정맥, 심방세동, 심방조동, 서맥, 기외수축, 아담스-발작 증후군, 측각차단, 동방 차단, 긴 QT 증후군, 수축동시성, 로운-가농-레빈 증후군, 마하임 유형 조기 흥분 증후군, 볼프-파킨슨-화이트 증후군, 동기능부전증증후군, 빈박 및 심실 세동을 포함한다. 빈박은 발작성 빈맥, 상실성 빈맥, 가속심실고유율동, 방실결절 재진입 빈맥, 전위성 심박 빈맥, 전위성 연결 빈맥, 동방 결절 재진입 빈맥, 동빈맥, 토르사데스 드 포인테스 및 심실성 빈맥을 포함한다.

심판막 질환은 대동맥 판막 부전증, 대동맥 판막 협착증, 이상음, 대동맥 판막 탈출증, 승모판탈출증, 삼첨판 탈출증, 승모판부전증, 승모판협착증, 폐동맥판폐쇄증, 폐판막 부전증, 폐판막 협착증, 삼첨판 폐쇄증, 삼첨판 판막 부전증 및 삼첨판 판막 협착증을 포함한다.

심근질환은 알콜성 심근병증, 울혈성 심근병증, 비대성 심근병증, 대동맥 판하부 협착증, 폐 판하부 협착증, 제한성 심근병증, 샤가스 심근병증, 심내막섬유탄성증, 심내막심근 섬유증, 케언스 증후군, 심근 재관류 손상 및 심근염증을 포함한다.

심근 허혈은 관상 질환, 예를 들어 협심증, 관상 동맥류, 관상 동맥경화증, 관장 혈전증, 관상 혈관경련, 심근 경색 및 심근 기절을 포함한다.

심혈관 질환은 또한 혈관 질환, 예를 들어 동맥류, 혈관이형성증, 혈관종증, 세균성 혈관종증, 하이펠-린다우 질환, 클리펠-트레나우나이-베버 증후군, 스투르게-베버 중후군, 혈관신경성 수종, 대동맥 질환, 다카야쓰의 동맥염증, 대동맥염 증, 레리헤 증후군, 동맥 폐쇄 질환, 동맥염증, 구관절염, 결절성 다발성 동맥염, 뇌혈관성 질환, 당뇨 혈관병증, 당뇨 망막병증, 색전증, 혈전증, 홍통증, 치핵, 간 정맥 폐쇄 질환, 고혈압, 저혈압, 허혈, 말초 혈관 질환, 정맥염, 폐 정맥-폐쇄 질환, 레이노드 질환, CREST 증후군, 망막 정맥 폐쇄증, 스시미타르 증후군, 상대정맥 증후군, 모세혈관 확장증, 혈관확장성 운동실조증, 유전성 출혈 운동실조증, 정맥류, 정맥류성정맥, 정맥류성 궤양, 혈관염 및 정맥 부전증을 포함한다.

동맥류는 박리성 동맥류, 가동맥류, 감염된 동맥류, 파열된 동맥류, 대동맥 동맥류, 뇌 동맥류, 관상 동맥류, 심장 동맥류 및 장골 동맥류를 포함한다.

동맥 폐쇄 질환은 동맥경화증, 간헐성 파행, 경동맥 협착증, 근섬유 이형성증, 장간막 혈관 폐쇄증, 모야모야 질환, 신장 동맥 폐쇄증, 망막 동맥 폐쇄증 및 폐쇄성 혈전혈관염을 포함한다.

뇌혈관 장애는 경동맥 질환, 뇌 유전분 혈관병증, 뇌 동맥류, 뇌 무산소증, 뇌 동맥경화증, 뇌 동정맥 기형, 뇌 동맥 질환, 뇌 색전증 및 혈전증, 경동맥 혈전증, 동혈전증, 발렌버그 증후군, 뇌 출혈, 경막외 혈종, 격막하 혈종, 서브아락스

노이드 출혈, 뇌 경색, 뇌 허혈(일과성 허혈을 포함), 쇄골하동맥 도류 증후군, 뇌실 백색연화증, 혈관 두통, 군집 두통, 편두통 및 척추고 뇌저동맥(기능)부전증을 포함한다.

색전증은 공기 색전증, 양수 색전증, 콜레스테롤 색전증, 청족지 증후군, 지방 색전증, 폐 색전증 및 혈전색전증을 포함한다. 혈전증은 관상 혈전증, 간 정맥 혈전증, 망막 정맥 폐쇄증, 경동맥 혈전증, 정맥동 혈전증, 발렌버그 증후군 및 혈 전정맥염을 포함한다.

허혈은 뇌 경색, 허혈성 결장염, 구획 증후군, 전방 구획 증후군, 심근 허혈, 재관류 손상 및 말초 수족 허혈을 포함한다. 혈관염은 대동맥염, 동맥염, 베체트 증후군, 추르그-스트라우스 증후군, 점막피부 임파선 증후군, 폐쇄성 혈전혈관염, 과민성 혈관염, 쇼엔레인-헤노흐 자반증, 알레르기성 피부 혈관염 및 베게너 육아종을 포함한다.

일 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 혈전성 미세혈관병증을 치료하는데 사용된다. 당해 장애는 혈전성 혈소판감소성 자반증(TTP)이다[참조 문헌: Kwaan, H.C., Semin. Hematol. 24:71(1987); Thompson et al., Blood 80:1890(1992)]. TTP-관련 치사율이 증가한다는 것이 보고되었다[U.S. centers for Disease Control(Torok et al., Am. J. Hematol. 50:84(1995)]. TTP를 앓는 환자(HIV + 및 HIV - 환자 포함) 기원의 혈장은 피부 미세혈관 기원의 사람 내피 세포의 아폽토시스를 유도하지만 대형 혈관 기원의 사람 내피 세포의 아폽토시스를 유도하지 않는다[참조 문헌: Laurence et al., Blood 87:3245(1996)]. 따라서 TTP 환자의 혈장은 직접 또는 간접적으로 아폽토시스를 유도하는 하나 이상의 인자를 함유하는 것으로 여겨진다. 본원에 참조로서 인용된 국제 특허 출원 공개 번호 제WO 97/01715호에 기술된 바와 같이, TRAIL은 TTP 환자의 혈청에 존재하고 미세혈관 내피 세포의 아폽토시스를 유도하는 역활을 할 가능성이 있다. 또 다른 혈전성 미세혈관병증은 용혈성 요독 증후군(HUS)이다[참조 문헌: Moake, J.L., Lancet, 343:393,(1994); Melnyk et al., (Arch. Intern. Med., 155:2077, (1995); Thompson et al., supra]. 따라서, 일 태양에서, 본 발명은 흔히 '성인 HUS'(심지어 어린아이에게 발병할 수 있지만)라고 언급되는 증상을 치료하기 위한 본 발명의 항체 및 항체 조성물의 용도에 관한 것이다. 유년기/설사-연관된 HUS로서 공지된 장애는 성인 HUS와는 병인학에서 상이하다. 또 다른 태양에서, 소혈관의 응고로 특징되는 증상은 본 발명의 항체 및 항체 조성물을 사용하여 치료될 수 있다. 이러한 증상은 본원에 기술된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 예를 들면, 소아 AIDS 환자의 약 5 내지 10%에서 나타나는 심장질환의 문제는 소혈관의 응고가 관여하는 것으로 여겨진다. 심장내 미세혈관 파괴가 다발성 경화증 환자에서 보고되었다. 추가의 예로서, 전신성 홍반성 루프스(SLE)의 치료가 고려된다. 일 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물, 바람직하게 본 발명의 길항성 항-TR7 항체는 혈전성 미세혈관병증을 앓는 환자에게 생체내 투여될 수 있다. 따라서 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항체 조성물 유효량을 사용함을 포함하는 혈전성 미세혈관병증을 치료하는 방법을 제공한다.

본 발명의 항체 및 항체 조성물은 특정 장애를 치료하는데 유용한 다른 제제와 함께 사용될 수 있다. 예를 들면, 문헌[참조: Laurence et al.(Blood 87:3245,1996)]에 보고된 시험관내 연구에서, 항-Fas 차단 항체, 아우린트리카복실산 또는 동결 침전물이 없는 정상 플라스마를 사용하여 미세혈관 내피 세포의 TTP-매개된 아폽토시스를 약간 감소시켰다. 따라서, 환자는 내피 세포의 Fas-리간드 매개된 아폽토시스를 억제하는 추가의 제제, 예를 들어 상기된 제제와 배합된 본 발명의 항체 또는 항체 조성물로 치료할 수 있다. 일 태양에서, 본 발명의 항체 및 항-FAS 차단 항체는 TTP 또는 HUS와 같은 혈전성 미세혈관병증에 의해 특징되는 장애를 앓는 환자 모두에게 투여된다. Fas 항원(CD95)에 대해 지시된 차단 모노클로날 항체의 예는 본원에 참조 문헌으로서 인용된 국제출원번호 제WO95/10540호에 기술되어 있다.

혈관형성의 내인성 자극인자 및 억제인자간의 천연적으로 존재하는 균형은 대부분 억제되는 영향하에 있다[참조 문헌: Rastinejad et al., Cell 56:345-355(1989)]. 정상적인 생리학적 조건하에서 혈관신생이 일어나는 희귀한 경우, 예를 들어 상처 치유, 기관 재생, 배 발육 및 암컷 번식 과정의 경우에 혈관형성이 엄격하게 조절되고 공간적으로 및 시간적으로 한정된다. 충실성 종양 성장을 특징으로하는 것과 같은 병리학적 혈관형성의 조건하에서 이들 조절 억제는 실패한다. 조절되지 않은 혈관형성은 병리학적 증세를 나타내게 되고, 많은 신생물성 및 비신생물성 질환으로 계속 진행하게 된다. 다수의 심각한 질환은 충실성 종양 성장 및 전이, 관절염, 일부 유형의 안장애, 및 건선을 포함하는 비정상적인 혈관신생이 대부분 차지하게 된다[참조 문헌: Moses et al., Biotech. 9:630-634(1991);Folkman et al., N. Engl. J. Med., 333:1757-1763(1995); Auerbach et al., J. Microbasc. Res. 29:401-411(1985); Folkman, Advances in Cancer Research, eds. Klein 및 Weinhouse, Academic Press, New York, pp. 175-203(1985); Patz, Am. J. Ophalmol. 94:715-743(1982); 및 Folkman et al., Science 221:719(1983)]. 다수의 병리학적 증상에서, 혈관형성의 과정은 질환상태에 기여한다. 예를 들면, 충실성 종양의 성장이 혈관형성에 의존한다는 것을 제안하는 중요한 데이터가 축적되었 다[참조 문헌: Folkman 및 Klagsbrun, Science 235:442-447(1987)].

본 발명은 본 발명의 항체 또는 항체 조성물을 투여하여서 혈관신생과 연관된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드로 치료될 수 있는 악성 증상 및 전이 증상은 악성 종양, 충실성 종양 및 본원에 기술되고 또한 당업계에 공지된 암을 포함하지만 이에 제한되지 않는다[참조: Fishman et al., Medicine, 2d Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia(1985)].

부가적으로, 본 발명의 항체 또는 항체 조성물로 치료될 수 있는 혈관신생과 연관된 안장애는 혈관신생 녹내장, 당뇨 망막병증, 망막모세포종, 수정체후부섬유증식증, 포도막염, 미성숙 황반 변성의 망막병증, 각막 이식 신생혈관뿐 아니라, 및 또 다른 안 염증 질환, 안 종양, 및 맥락막혈관신생 또는 홍채 혈관신생과 연관된 질환을 포함하지만 이에 제한되지 않는다[참조 문헌: Waltman et al., Am. J. Ophthal. 85:704-710(1978 및 Gartner et al., Surv. Ophthal. 22:291-312(1978)].

추가로, 본 발명의 항체 또는 항체 조성물로 치료될 수 있는 장애는 혈관종, 관절염, 건선, 혈관섬유종, 죽상경화 플라크, 상처 치유 지연, 육아, 혈우병 관절, 상처 비대, 유착 불능 골절, 오슬러-베버 증후군, 화농성 녹내장, 경피증, 트라코마 및 혈관 유착을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

본 발명의 항체 및 항체 조성물은 광범위한 질환 및/또는 증상을 진단하고 치료하거나 예방하는데 유용하다. 이러한 질환 및 증상은 암(예를 들어, 면역 세포 관련 암, 유방암, 전립선암, 난소암, 난포 임파종, p53의 돌연변이 또는 변환과 연관된 암, 뇌 종양, 방광암, 자궁암, 결장암, 직장결장암, 폐의 비-소형 세포 암종, 폐의 소형세포 암종, 위암등), 임파구증식 장애(예를 들어, 임파구병증), 미생물(예를 들어, 바이러스, 세균등) 감염(예를 들어, HIV-1 감염, HIV-2 감염, 헤르페스바이러스 감염(HSV-1, HSV-2, CMV, VZV, HHV-6, HHV-7, EBV를 포함하지만 이에 제한되지 않음), 아데노바이러스 감염, 폭스바이러스 감염, 사람 파필로마 바이러스 감염, 간염 바이러스(예를 들어, HAV, HBV, HCV등), 헬리코박터 파일로리 감염, 침입성 스타필로코시아등), 기생충 감염, 신장염, 골질환(예를 들어, 골다공증), 죽상경화, 통증, 심혈관 장애(예를 들어, 혈관신생, 저혈관형성, 혈액순환 감소(예를 들어, 허혈성 질환(예를 들어, 심근 경색, 발작등)), AIDS, 알레르기, 염증, 신경퇴행성 장애(예를 들어, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 근위축성 측상경화증, 색소성 망막염, 소뇌 퇴행), 이식 거부(급성 및 만성), 이식-대-숙주 질환, 골수이형성증으로 인한 질환(예를 들어, 재생불량성 빈혈증등), 류마티스 관절염에서의 관절 조직 파괴, 간 질환(예를 들어, 급성 및 만성 간염, 간 손상 및 경변증), 자가면역 질환(예를 들어, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 전신성 홍반성 루프스, 자가면역 림프구 증식 증후군(ALPS), 면역 복합 사구체신염, 자가면역 당뇨병, 자가면역 혈소판감소성 자반증, 그레이브 질환, 하시모토 갑상선염 등), 심근병증(확장형 심근병증), 당뇨병, 당뇨병 합병증(예를 들어, 당뇨병 신병증, 당뇨병 신경병증, 당뇨병 망막병증), 인플루엔자, 천식, 건선, 사구체신염, 패혈성 쇼크 및 궤양성 결장염을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

본 발명의 항체 및 항체 조성물은 혈관형성 및 상처 치유(예를 들어, 상처, 화상 및 골절)를 촉진시키는데 유용하다.

본 발명의 항체 및 항체 조성물은 또한 특정 항원, 예를 들어 항-바이러스 면역 반응에 대한 면역학적 반응을 증진시키기 위한 보조제로서 유용하다.

보다 일반적으로, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 면역반응을 조절(즉, 상승 또는 감소)하는데 유용하다. 예를 들면, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 수술, 외상, 방사선 치료, 화학적 치료 및 이식으로부터 회복시키거나 이를 준비하는데 유용할 수 있거나, 노령이고 면역약화된 환자의 면역반응 및/또는 회복을 촉진시키기위해 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 면역억제제로서, 예를 들면, 자가면역 장애의 치료 또는 예방에 유용하다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 질환 또는 당해 분야에 공지된 질환과 같은 만성 염증, 알레르기성 또는 자가면역 증상을 치료하거나 예방하는데 사용된다.

치료학적/예방학적 조성물 및 투여

본 발명은 본 발명의 항체(이의 단편 또는 변이체) 또는 약제학적 조성물, 바람직하게는 본 발명의 항체의 유효량을 피험체에 투여하여, 치료, 억제 및 예방하는 방법을 제공한다. 바람직한 측면에서, 항체 또는 이의 단편 또는 변이체는 실질적으로 정제된다(즉, 이의 효과를 제한하거나 목적하지 않은 부작용을 생성하는 물질이 실질적으로 제거한다). 피험체는 바람직하게 소, 돼지, 말, 닭, 고양이, 개 등을 포함하고 이에 제한되지 않는 동물이며, 바람직하게는 포유동물이고 가장 바람직하게는 사람이다.

화합물이 핵산 또는 면역글로불린을 포함하는 경우 사용될 수 있는 투여 제형 및 투여 방법은 상기한 바와 같고; 추가로 적당한 제형 및 투여 경로는 하기된 것중에서 선택될 수 있다.

다양한 전달 시스템, 예를 들면 리포좀내 캡슐화, 미세입자, 마이크로캡슐, 항체 또는 항체 단편을 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체- 매개 내포작용(endocytosis)[참조: Wu 및 Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432(1987)], 레트로바이러스 또는 기타 벡터의 일부로서 핵산의 작제가 공지되어 있고, 이를 사용하여 본 발명의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체를 투여할 수 있다. 도입 방법은 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 뇌내, 경막외 및 경구 경로를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 당해 조성물은 임의의 통상적인 경로, 예를 들어 주입 또는 일시 주사, 상피 또는 점막피부 내층(예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 또 다른 생물학적으로 활성인 제제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국소적일 수 있다. 추가로, 본 발명의 약제학적 조성물을 심실내 및 경막내 주사를 포함하는 임의의 적합한 경로로 중추 신경계에 도입하는 것이 바람직할 수 있으며; 심실내 주사는, 예를 들면, 오마야(Ommaya) 저장소와 같은 저장소에 부착된 심실내 카테터에 의해 촉진될 수 있다. 또한, 예를

들어, 흡입기 또는 분무기의 사용, 및 에어로졸화 제제를 사용한 제형화에 의해 폐로 투여될 수 있다.

구체적 태양에서, 본 발명의 약제학적 조성물을 치료를 필요로 하는 부위로 국부적으로 투여하는 것이 바람직할 수 있으며; 이는, 예를 들면, 수술동안의 국부 주입, 국소 적용, 예를 들어, 수술후 상처 드레싱을 사용하는 국소 적용, 주사, 카테터, 좌제 또는 임플란트(여기서, 임플란트는 시알레스틱 막과 같은 막을 포함하는 다공성, 비-다공성 또는 젤라틴계 물질이다) 등에 의해 성취될 수 있고 이에 대한 제한은 없다. 바람직하게, 본 발명의 항체를 포함하는 단백질을 투여하는 경우, 단백질이 흡착하지 않는 물질의 사용을 고려해야만 한다.

또 다른 태양에서, 당해 조성물은 비히클, 특히 리포좀으로 전달될 수 있다[참조 문헌: Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat *et al.* , in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353- 365 (1989); Lopez-Berestein, ibid., pp. 3 17-327; 전반적으로 상기 문헌 참조]

또 다른 태양에서, 당해 조성물은 조절된 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 일 태양에서, 펌프가 사용될 수 있다[참조: Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20 1 (1987); Buchwald *et al.* , Surgery 88:507 (1980); Saudek *et al.* , N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)]. 또 다른 태양에서, 중합성 물질이 사용될 수 있다[참조: Medical Applications of Controlled Release, Langer 및 Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984) ; Ranger and Peppas, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983); Levy *et al.* , Science 228:190 (1985); During *et al.* , Ann. Neurol. 25:35 1 (1989), Howard et al., J. Neurosurg. 7 1:105(1989)]. 또 다른 태양에서, 조절된 방출 시스템은 치료학적 표적, 즉, 뇌에 인접하게 배치될 수 있고, 따라서 전신 투여량의 일부만이 요구된다[참조: Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)].

기타 조절된 방출 시스템은 문헌[참조: Langer(Science 249:1527-1533(1990)]에서 논의된다.

본 발명의 조성물이 항체를 암호화하는 핵산인 구체적 태양에서, 핵산을 적당한 핵산 발현 벡터의 일부로서 작제하고 이를, 예를 들면, 레트로바이러스 벡터의 사용(참조: 미국 특허 제4,980,286호), 직접 주사, 미세입자 폭격(예를 들어, 유전자 건(gun); Biolistic, Dupont)의 사용, 또는 지질 또는 세포 표면 수용체 또는 형질감염 제제로 피복시키는 방법, 또는 핵내로 진입하는 것으로 공지된 호메오박스와 같은 펩티드와 연결하여 투여[참조: Joliot et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868(1991)]하는 방법으로 투여하여 세포내에 존재하게 하여서, 이의 암호화된 단백질의 발현을 촉진할 수 있다. 또한, 핵산은 세포내로 도입되고 상동성 재조합에 의해 발현용 숙주 세포 DNA내에 도입된다.

본 발명은 또한 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 조성물은 치료학적 유효량의 항체 또는 이의 단편 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 구체적 태양에서, 용어 '약제학적으로 허용되는'이란 연방 관리 기관 또는 주 정부에 의해 승인되거나 미국 약전에 등록되거나 동물, 보다 특히 사람용으로 기타 일반적으로 인정된 약전에 등록된 것을 의미한다. 용어 '담체'는 치료제와 함께 투여되는 희 석제, 보조제, 부형제 또는 비히클을 의미한다. 이러한 약제학적 담체는 물 및 오일, 예를 들어 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 기원의 오일(예를 들어, 땅콩유, 콩유, 광유 및 참깨유 등)과 같은 멸균 액체일 수 있다. 약제학적 조성물이 정맥내로 투여되는 경우 물이 바람직한 담체이다. 식염수 용액 및 덱스트로스 및 글리세롤 수용액은 또한 액체 담체, 특히 주사 용액으로서 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 부형제로는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 석회암, 실리카 겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조된 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물 및 에탄올 등이 포함된다. 경우에 따라, 당해 조성물은 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 이들 조성물은 용제, 현탁제, 유제, 정제, 환제, 캡슐제, 산제, 서방성 제제 등의 형태를 취할 수 있다. 당해 조성물은 전통적인 결합제 및 담체, 예를 들어 트리글리세리드와 함께 좌제로서 제형화될 수 있다. 경구 제형은 약제학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 사카린, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등과 같은 표준 담체를 포함할 수 있다. 적합한 약제학적 담체의 예는 문헌[참조: 'Remington's Pharmaceutical Sciences' by E.W. Martin]에 기술되어 있다. 이러한 조성물은 바람직하게는 정제된 형태로, 적합한 양의 담체와 함께, 치료학적 유효량의 항체 또는 이의 단편을 함유하여, 환자에게 적당한 투여 형태를 제공할 것이다. 당해 제형은 투여 방식에 적합해야만 한다.

바람직한 태양에서, 당해 조성물은 사람에게 정맥내로 투여되도록 변형된 약제학적 조성물로서 통상적인 절차에 따라 제형화된다. 전형적으로, 정맥내 투여용 조성물은 멸균 등장성 수성 완충액중의 용액이다. 필요한 경우, 당해 조성물은 또한 가용화제 및 주사 부위에 통증을 완화시키기 위한 리그노캄(lignocamne)과 같은 국부 마취제를 포함할 수 있다. 일반적으로, 당해 성분은 별도로 또는 단위 투여 형태로 함께 혼합되어, 예를 들면, 밀폐된 용기(예: 활성제의 양을 표기한 앰풀 또는 사쉐)내에 동결건조된 산제 또는 무수 농축물로서 제공된다. 당해 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우, 멸균 약제학적 등급의 물 또는 식염수를 함유하는 주입 병을 사용하여 분배할 수 있다. 당해 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰풀을 제공하여, 당해 성분이 투여전에 혼합될 수 있도록 할 수 있다.

본 발명의 조성물은 중성 또는 염 형태로서 제형화될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염은 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 등으로부터 유래된 것과 같은 음이온과 형성된 염, 및 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 수산화철, 이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유래된 것과 같은 양이온과 형성된 염을 포함한다.

본 발명의 폴리펩티드의 비정상적인 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 또는 장애를 치료, 억제 및 예방하는데 효과적인 본 발명의 조성물의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 추가로, 시험관내 검정은 최적의 투여량 범위를 동정하는데 임의로 사용될 수 있다. 당해 제형에 사용될 정확한 투여량은 또한 투여 경로 및 질환 또는 장애의 중증도에 따라 결정되고, 담당의사의 판단 및 각 환자의 환경에 따라 결정되어야만 한다. 유효 투여량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시 스템으로부터 유도된 투여량-반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.

항체의 경우에, 환자에게 투여되는 투여량은 전형적으로 환자의 체중당 0.1mg/kg 내지 100mg/kg이다. 바람직하게, 환자에게 투여되는 투여량은 환자의 체중당 0.1mg/kg 내지 20mg/kg, 보다 바람직하게는 1mg/kg 내지 10mg/kg(예를 들면, 3mg/kg 또는 5mg/kg)이다. 일반적으로, 사람 항체는 외래 폴리펩티드에 대한 면역 반응으로 인해 다른 종 유래의 항체 보다 인체내에서 보다 긴 반감기를 갖는다. 따라서, 사람 항체의 투여량이 낮을 수록, 보다 덜 투여할 수 있다. 추가로, 본 발명의 치료학적 또는 약제학적 조성물의 투여량 및 투여 횟수는, 예를 들면, 지질화와 같은 변형에 의해 항체의 취득 및 조직 침투(예를 들어, 뇌속으로의 침투)를 증진시킴으로써 감소될 수 있다.

본 발명의 항체는 약제학적으로 허용되는 담체중에 제형화될 수 있다. 본 발명의 항체의 제형은 완충제를 포함한다. 완충제는 당업계에 익히 공지되어 있고 통상적으로 본 발명의 용액 조성물의 목적하는 pH를 유지하도록 적용될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 제조에 사용하기 위한 적합한 완충제는, 예를 들면, 하기에 기술된 것들을 포함한다.

본 발명의 항체 조성물의 제조에 사용하기 위한 적합한 완충제는 시트레이트, 아세테이트, 포스페이트, 카보네이트, 디포스페이트, 글리실-글리신-피페라진-2HCl-NaOH; MES-NaOH-NaCl; TRIS-말산-NaOH; MES-NaOH; ACES-NaOH-NaCl; BES-NaOH-NaCl; MOPS-NaOH-NaCl; TES-NaOH-NaCl; MOPS-KOH; HEPES-NaOH-NaCl; TRIS-HCl; HEPPSO-NaOH; TAPS-NaOH-NaCl; HEPPS (EPPS)-NaOH; 시트르산-인산수소이나트륨; 보 르산-시트르산-인산이수소칼륨-디에틸- 바르비투르산-NaOH; 시트르산-탄산 나트륨; 아세트산 나트륨-아세트산; 히스티딘; 포스페이트; 하이드로젠프탈레이트 칼륨-NaOH; 카코딜산 나트륨 염-HCl; 인산 이수소 칼륨-인산수소 이나트륨;칼륨 이수소-포스페이트-NaOH; 인산 이수소 나트륨- 인산 수소 이나트륨; 이미다졸-HCl; 나트륨 테트라보레이트-보르산; 2-아미노-2-메틸-1,3-프로판디올-HCl; 디에탄올아민-HCl; 염화 칼륨-보르산-NaOH; 보르산-NaOH-KCl; 글리신-NaOH; 및 탄산나트륨-탄산수소 나트륨을 포함하나 이에 한정되지 않을 수 있다.

한 태양에서, 완충제는 시트레이트 완충제 또는 아세테이트 완충제이다. 또 다른 태양에서, 완충제는 농도가 약 1 내지 약 50 mM이고 NaCl 농도가 약 1 내지 500 mM인 아세테이트 완충제를 포함한다. 또 다른 태양에서, 완충제는 농도가 약 10 mM이고 NaCl 농도가 약 140 mM인 아세테이트 완충제를 포함한다. 적합한 아세테이트 완충제는 농도가 약 1, 20, 25, 50, 75, 100, 200, 250, 300, 400, 또는 500 mM인 아세테이트 완충제를 포함한다. 적합한 완충제 및 용액은 NaCl 농도가 약 1, 50, 75, 100, 125, 140, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 350, 400, 450, 또는 500 mM인 것을 포함한다. 추가의 적합한 완충제는 HEPES 완충제, 특히 농도가 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100 mM인 HEPES 완충제이다. 추가적 태양에서, 용액은 농도가 약 50 mM인 HEPES 완충제를 포함한다.

다른 태양에서, 본 발명의 항체는 pH 범위가 5.5 내지 6.5인 시트레이트 완충된 용액으로 제형화된다. 추가적 태양에서, 본 발명의 항체는 pH가 대략 또는 정확히 6.0인 시트레이트 완충된 용액으로 제형화된다. 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 pH가 5.5 내지 6.5의 범위이고 또한 Tween 80 또는 폴리소르베이트 80과 같은 계면활성제를 0 내지 2.0%, 바람직하게 0 내지 0.1% 및 더욱 바람직하게 0.05% 미만으로 함유하는 시트레이트 완충된 용액으로 제형화된다.

일 태양에서, 본 발명의 항체는 pH는 6.5이고, 10 mM 탄산 나트륨, 1.9% 글리신, 0.5% 수크로즈, 0.02% 폴리소르베이트 80으로 제형화된다.

다른 태양에서, 본 발명의 항체는 pH의 범위가 6.5 내지 7.5인 히스티딘 완충된 용액으로 제형화된다. 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 pH의 범위가 6.5 내지 7.5 이고 Tween 80 또는 폴리소르베이트 80과 같은 계면활성제를 0 내지 2.0%, 바람직하게 0 내지 0.1%이고, 더욱 바람직하게 0.05% 미만으로 함유하는 히스티딘 완충된 용액으로 제형화된다.

다른 태양에서, 본 발명의 항체는 pH의 범위가 7.0 내지 8.0인 포스페이트 완충된 용액으로 제형화된다. 다른 태양에서, 본 발명의 항체는 pH의 범위가 7.0 내지 8.0이고 또한 Tween 80 또는 폴리소르베이트 80과 같은 계면활성제를 0 내지 2.0%, 바람직하게 0 내지0.1%이고 및 더욱 바람직하게 0.05% 미만으로 함유하는 포스페이트 완충된 용액으로 제형화된다.

일반적으로, 환자의 것과 동일한 종인 종 기원 또는 종 반응성(항체의 경우에)의 생성물을 투여하는 것이 바람직하다. 따라서, 바람직한 태양에서, 사람 항체, 단편, 또는 변이체(예: 유도체) 또는 핵산은 치료 또는 예방용으로 사람 환자에게 투여된다.

면역분석 및 TR7 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드(이의 단편을 포함)와 관 련된 장애의 치료을 위해, TR7에 면역특이적으로 결합하는 본 발명의 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이로 이루어진 분자를 포함), 또는 TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 고 친화성 및/또는 높은 효능으로 생체내에서 억제 및/또는 중화시키는 것이 바람직하다. 이러한 항체는 바람직하게 TR7 및/또는 TR7 폴리펩티드 단편에 대해 친화성을 가질 것이다. 바람직한 결합 친화성은 5 X 10^{-2} M, 10^{-2} M, 5 X l0^{-3} M, l0^{-3} M, 5 X 10^{-4} M, 10^{-4} M, 5 X 10^{-5} M 또는 10^{-5} M 이하의 해리 상수 또는 K_D 를 포함한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 항체는 5 X 10^{-6} M, 10^{-6} M, 5 X 10^{-7} M, 10^{-7} M, 5 X 10^{-8} M 또는 10^{-8} M 이하의 해리 상수 또는 K_D 로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 보다 더욱 바람직하게는, 본 발명의 항체는 5 X l0^{-9} M, l0^{-9} M, 5 X 10^{-10} M, 10^{-10} M, 5 X 10^{-11} M, 10^{-11} M, 5 X 10^{-12} M, 10^{-12} M, 5 X $^{-13}$ M, l0^{-13} M, 5 X 10^{-14} M, 10^{-14} M, 5 X l0^{-15} M 또는 l0^{-15} M 이하의 해리 상수 또는 K_D 로 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체와 결합한다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체는 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 유도한다.

하기 보다 상세히 논의하는 바와 같이, 본 발명의 항체는 단독으로 또는 다른 조성물과 함께 사용될 수 있다. 당해 항체는 추가로 N- 또는 C-말단에서 이종 성 폴리펩티드에 재조합적으로 융합되거나 폴리펩티드 또는 다른 조성물에 화학적으로 접합(공유적 및 비-공유적 접합 포함)될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 항체는 검출 검정에서 표지로서 유용한 분자, 및 효과인자(effector) 분자, 예를 들어 이종성 폴리펩티드, 약물, 방사성핵종 또는 독소에 재조합적으로 융합되거나 접합될 수 있다[참조: PCT 공보 제WO 92/08495호; 제WO 91/14438호; 제WO 89/12624호; 미국 특허 제5,314,995호; 및 EP 제396,387호].

본 발명의 항체 및 항체 조성물은 단독으로 또는 다른 치료제, 예를 들어 화학치료제, 항생제, 항바이러스제, 항레트로바이러스제, 스테로이드 및 비스테로이드계 항염증제, 통상적인 면역치료제 및 사이토킨 등과 배합되어 투여될 수 있다. 배합물은 동시에, 예를 들어 혼합물로서, 별도이지만 동시에 또는 공동으로 투여되거나; 또는 연속적으로 투여될 수 있다. 이는 배합된 제제가 치료학적 혼합물로서 함께 투여되는 방식, 및 배합된 제제가 별도이지만 동시에 투여(예를 들어, 별개의 정맥을 통해 동일 환자에게 투여)하는 절차를 포함한다. '배합' 투여는 추가로 1차로 주어진 화합물 또는 제제중 하나를 별도로 투여한 후, 2차로 투여하는 것을 포함한다.

바람직한 태양에서, 치료학적 용도로 동물, 바람직하게 사람에게 투여되는 본 발명의 항체는 다량체성 항체이다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 동종이량체성 IgG 분자이다. 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 동종이량체성 IgG1 분자이다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 동종삼량체성 IgG 분자이다. 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 삼량체성 IgG1 분자이다. 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 고배열 다량체의 IgG 분자 (예를 들어, 사량체, 오량체 및 육량체)이다. 추가의 구체적 태양에서, 고배열 다량체의 IgG 분자를 포함하는 IgG 분자의 항체는 IgG1 분자이다.

또한, 치료학적 용도로 본 발명의 항체는 항-IgG 항체를 포함하나 이에 한정되지 않으며, 당업계에 공지된 가교제와 함께 투여될 수 있다.

항-TR4 항체, TRAIL, 아폽토시스 유도 펩티드 및/또는 화학치료제와의 배합 치료 요법

항-TR7 항체는 다른 항-TR7 항체, TRAIL 및/또는 화학치료제와 배합되어 투여될 수 있다.

구체적 태양에서, TR7에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체는 RT4에 특이적으로 결합하는 제2 항체와 함께 사용되거나 투여된다. 또 다른 태양에서, TR7 및 TR4에 특이적인 항체는 TR7 및/또는 TR4 발현 세포(예를 들어, TR7 및 TR4를 발현하는 세포)의 아폽토시스를 유도하는 효능성 항체이다. 구체적 태양에서, 항-TR7 치료 및 항-TR4 치료의 배합은 단독의 항-TR7 항체 치료 또는 항-TR4 항체 치료 보다 크게 TR7 및 TR4 발현 세포의 아폽토시스를 유도한다. 항-TR7 및 항-TR4 항체는 동시에, 연속적으로 또는 투여 섭생전반에 걸쳐 동시 또는 연속 투여를 배합하여 사용되거나 투여된다. 또 다른 구체적 태양에서, 항-TR7 및 항-TR4 항체는 본원에 기술된 바와 같은 약물(예를 들어, 하기 및 실시예 3 참조)과 같은 화학치료 약물과 배합하여 사용되거나 투여된다. 특정 태양에서, 항-TR7 및 항-TR4 항체 치료에 의한 공동상승작용적 아폽토시스의 유도는 항-TR7 및 항-TR4 항체가 화학치료제 및/또는 가교제와 배합되어 사용되거나 투여되는 경우 보다 명백하거나 보다 현저하다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 조성물은 화학치료제와 배합되어 투여된다. 본 발명의 조성물과 함께 투여될 수 있는 화학치료제로는 항생제 유도체(예를 들어, 독소루비신(아드리아마이신), 블레오마이신, 다우노루비신 및 다크티노마이신); 항에스트로겐(예를 들어, 타목시펜); 항대사물질(예를 들어, 플루오로우라실, 5-FU, 메토트렉세이트, 플록스우리딘, 인터페론 알파-2b, 글루탐산, 플리카마이신, 머캅토퓨린 및 6-티오구아닌); 세포독성 제제(예를 들어, 카르무

스틴, BCNU, 로무스틴, CCNU, 사이토신 아라비노사이드, 사이클로포스프아미드, 에스트라무스틴, 하이드록시우레아, 프로카르바진, 마이토마이신, 부설판, 시스-플라틴 및 빈크리스틴 설페이트); 호르몬(예를 들어, 메드록시프로게스테론, 에스트라무스틴 포스페이트 나트륨, 에티닐 에스트라디올, 에스트라디올, 메게스테롤 아세테이트, 메틸테스토스테론, 디에틸스틸베스트롤 디포스페이트, 클로로트리아니센 및 테스토락톤); 질소 머스타드 유도체(예를 들어, 메팔렌, 클로람부실, 메클로레타민(질소 머스타드) 및 티오테파); 스테로이드 및 배합물(예를 들어, 베타메타손 나트륨 포스페이트); 및 기타(예를 들어, 디카르바진, 아스파라기나제, 미토테인, 빈크리스틴 설페이트, 빈블라스틴 설페이트, 에토폭사이드, 토포테칸, 5-플루오로우라실, 파클리탁셀(Taxol), 시스플라틴, 시타라빈 및 IFN-감마, 이리노테칸(캄프토사르, CPT-11), 이 리노테칸 동족체 및 겜시타빈(GEMZAR ™) 및 옥사리플라틴, 니토소우레아 화합물)이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체조성물은 CHOP(사이클로포스프아미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손)과 배합하거나 임의로 CHOP의 성분과 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 리툭시마브와 배합하여 투여된다. 추가의 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 리툭스마브와 CHOP, 또는 리툭스마브와 CHOP 성분의 임의의 배합물과 함께 투여된다.

추가의 바람직한 태양에서, 본 발명의 조성물은 TRAIL 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체, 특히 TRAIL의 세포외 가용성 도메인과 배합하여 투여된다.

일 태양에서, 본 발명의 조성물은 TNF 계열의 다른 구성원 또는 TNF 수용체 계열 구성원에 특이적인 항체와 배합하여 투여된다. 본 발명의 성분과 함께 투여될 수 있는 TNF, TNF-관련 또는 TNF형 분자는 TNF-알파, 림포독소-알파(LT-알파, TNF-베타로서도 공지됨), LT-베타 (복합체 이종삼량체 LT-알파2-베타에서 발견됨), OPGL, FasL, CD27L, CD30L, CD40L, 4-IBBL, DcR3, OX40L, TNF-감마(국제 공보 제WO 96/14328호), TRAIL, AIM-II(국제 공보 제WO 97/34911), APRIL(J. Exp. Med. 188(6):1185-1190), 엔도킨-알파(국제 공보 제WO 98/07880), TR6(국제 공보 제WO 98/30694호), OPG 및 뉴트로킨 알파(국제 공보 제W0 98/18921호), OX40, 및 신경 성장 인자(NGF), 및 Fas, CD30, CD27, CD40 및 4-IBB의 가용성 형태, TR2(국제 공 보 제WO 96/34095호), DR3(국제 공보 제WO 97/33904호), TR5(국제 공보 제WO 98/30693호), TR6(국제 공보 제WO 98/30694호), TR4(국제 공보 제WO 98/41629호), TRANK, TR9(국제 공보 제WO 98/56892호), TR1O(국제 공보 제WO 98/54202호), 312C2(국제 공보 제WO 98/06842호), 및 TR12, 및 CD154, CD70, 및 CD153의 가용성 형태를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

일 태양에서, 본 발명의 항체 조성물은 아폽토시스를 유도하는 폴리펩티드와 함께 투여된다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체는 DIABLO (낮은 pI를 갖는 직접 IAP (아폽토시스 억제제) 결합 단백질) (본원에서 전문이 참고로 인용되는 GenBank 승인 번호 : 제NP_063940 호)로 또한 공지된, Smac (카스파제의 제2 미토콘드리아-유래 활성제) 단백질과 함께 투여된다. Smac은 239개의 아미노산 단백질이다. N-말단 55개의 아미노산은 미토콘드리아로 유입된 후 절단되는 미토콘드리아 표적화 서열로서 작용한다. 아폽토시스를 유도하는 폴리펩티드는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 전달될 수 있다. 예를 들면, Smac 단백질을 전달하는 한 방법은 Smac의 전장 또는 성숙한 형태(GenBank 승인 번호: 제NP_063940호의 아미노산 56-239, 미토콘드리아 프로세싱을 우회하는 원형질 형)중 하나를 암호화하는 핵산의 전달의 통한 방법이다. 또한, 본 발명의 항체 조성물은 IAP 단백질(예를 들면, GenBank 승인 번호: 제NP_063940호의 아미노산 잔기 56-62를 함유하는 것; 여기서 전문이 모두 본원에서 참고로 인용되는 문헌[참고: AVPIAQK as described in Chai et al., (2000) *Nature* 406:855-862 및 Fulda et al., (2002) *Nature Medicine* 8:808-815])을 억제할 수 있는 세포 침투성의, 합성 Smac 펩티드와 함께 투여될 수 있다 .

추가의 배합 치료

보다 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항말라리아제, 메토트렉세이트, 항 TNF 항체, ENBREL ™ 및/또는 서플라살라진과 배합하여 투여된다. 일 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 메토트렉세이트와 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항-TNF 항체와 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 메토트렉세이트 및 항-TNF 항체와 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 서플라살라진과 배합하여 투여된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 메토트렉세이트, 항-TNF 항체 및 서플라살라진과 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 ENBREL ™ 과 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 ENBREL ™ 및 메토트렉세이트와 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 ENBREL ™ , 메토트렉세이트 및 서플라살라진과 배합하여 투여된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 ENBREL ™ , 메토트렉세이트 및 서플라살라진과 배합하여 투여된다. 다른 태양에서, 하나 이상의 항말라리아제는 상기된 배합물중 하나와 배합된다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항말라리아제(예를 들어, 하이드록시클로로퀸), ENBREL ™ , 메토트렉세이트 및 서플라살라진과 배합하여 투여된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항말라리아제(예를 들어, 하이드록시클로로퀸), 서플라살라진, 항-TNF 항체 및 메토트렉세이트와 배합하여 투여된다.

본 발명의 항체(이의 항체 단편 또는 변형체를 포함하거나 이들로 이루어진 분자를 포함)는 단독으로 또는 기타 유형의 치료 또는 예방 섭생(예를 들어, 방사선 치료제, 화학치료제, 호르몬 치료제, 면역치료제, 종양 억제제, 신생혈관형성 억제제 및 염증 억제제)와 배합하여 투여될 수 있다. 당해 배합 치료제는 연속적으로 및/또는 동시에 투여될 수 있다.

본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합하여 투여될 수 있는 통상적인 비특이적 면역억제제는 스테로이드, 사이클로스포린, 사이클로스포린 유사체, 사이클로포스파미드, 사이클로포스파미드 IV, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 아자티오프린, FK-506, 15-데옥시스페르구알린 및 반응하는 T-세포의 기능을 억제하는 작용을 하는 기타 면역억제제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 면역억제제와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 투여될 수 있는 면역억제제는 ORTHOCLONE ™ (OKT3), SANDIMMUNE ™ /NEORAL ™ /SANGDYA ™ (사이클로스포린), PROGRAF ™ (타크롤리무스), CELLCEPT ™ (마이코페놀레이트), 아자티오프린, 글루코르티코스테로이 드 및 RAPAMUNE ™ (시롤리무스)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 구체적 태양에서, 면역억제제는 기관 또는 골수 이식 거부를 예방하기 위해 사용될 수 있다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 스테로이드 치료와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합하여 투여될 수 있는 스테로이드는 경구 코르티코스테로이드, 프레드니손 및 메틸프레드니솔론(예를 들어, IV 메틸프레드니솔론)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 프레드니손과 배합하여 투여된다. 추가의 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 프레드니손 및 면역억제제와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물 및 프레드니손과 함께 투여될 수 있는 면역억제제는 본원에 기술된 바와 같고 아자티오프린, 사이클로포스파미드 및 사이클로포스파미드 IV를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 메틸프레드니손과 배합하여 투여된다. 추가의 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 메틸프레드니솔론 및 면역억제제와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물 및 메틸프레드니솔론과 투여될 수 있는 면역억제제는 본원에 기술된 바와 같고 아자티오프린, 사이클로포스파미드 및 사이클로포스파미드 IV를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

본 발명은 또한 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및/또는 폴리펩티드(및/또는 이의 효능제 또는 길항제)를 기타 제안되거나 통상적인 조혈 치료제와 배합시키는 것을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및/또는 폴리펩티 드(및/또는 이의 효능제 또는 길항제)는 단독으로 적혈구 조혈 자극 효과를 나타내는 화합물, 예를 들어 에리트로포이에틴, 테스토스테론, 전구 세포 자극 인자, 인슐린 유사 성장 인자, 프로스타글란딘, 세로토닌, 사이클릭 AMP, 프로락틴 및 트리요오도티조닌과 배합될 수 있다. 또한, 예를 들면, 메텐올렌, 스타노졸롤 및 난드롤론과 같은 일반적으로 무형성 빈혈을 치료하는데 사용되는 화합물; 예를 들어, 철 제제와 같은 철 결핍 빈혈을 치료하는데 일반적으로 사용되는 화합물; 예를 들어, 비타민 B_{12} 및/또는 폴산과 같은 악성 빈혈을 치료하는데 일반적으로 사용되는 화합물 및 부신피질 스테로이드(예를 들어, 코르티코이드)와 같은 용혈성 빈혈을 치료하는데 사용되는 화합물과 본 발명의 항체 및 항체 조성물의 배합물을 포괄한다[문헌참조: 본원에 전반적으로 참조문헌으로서 인용되는, Resegotti et al., Panminerva Medica, 23:243-248 (1981); Kurtz, FEBS Letters, 14a:105-108 (1982); McGonigle et al., Kidney Int., 25:437-444 (1984); and Pavlovic-Kantera, Expt. Hematol., 8(supp. 8) 283-291 (1980)].

에리트로포이에틴의 효과를 증진시키거나 공동상승작용을 하는 화합물이 또한 본원의 보조제로서 유용하고, 아드레날린 효능제, 갑상선 호르몬, 안드로겐, 간 적혈구조혈 인자, 에리트로트로핀 및 에리트로게닌을 포함하지만 이에 제한되지 않는다[문헌참조: Dunn, 'Current Concepts in Erythropoiesis', John Wiley and Sons (Chichester, England, 1983); Kalmani, Kidney Int., 22:383-391 (1982); Shahidi, New Eng. J. Med., 289:72-80 (1973); Urabe et al., J. Exp. Med., 149:1314-1325 (1979); Billat et al., Expt. Hematol., 10:133-140 (1982); Naughton et al., Acta Haemat, 69:171-179 (1983); Cognote et al. in abstract 364, Proceedings 7th Intl. Cong. of Endocrinology (Quebec City, Quebec, July 1-7, 1984); and Rothman et al., 1982, J. Surg. Oncol., 20:105-108 (1982)]. 조혈을 자극하는 방법은 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및/또는 폴리펩티드를 함유하는 약제학적 조성물의 조혈 유효량(즉, 혈액 세포의 형성에 영향을 미치는 양)을 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및/또는 폴리펩티드 및/또는 이의 효능제 또는 길항제는 비경구, 설하, 국소적, 폐내 및 비강내를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 적합한 기술 및 본원에 추가로 논의된 기술을 사용하여 환자에게 투여된다. 약제학적 조성물은 임의로 에리트로포이에틴, 테스토스테론, 전구 세포 자극인자, 인슐린 유사 성장 인자, 프로스타글란딘, 세로토닌, 사이클릭 AMP, 프로락틴, 트리요오도티조닌, 메텐올렌, 스타노졸롤 및 난드롤론, 철 제제, 비타민 B_{12} , 폴산 및/또는 부신피질 스테로이드로 이루어진 그룹으로부터의 하나 이상의 구성체를 함유한다.

추가의 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 조혈 성장 인자와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 조혈 성장 인자는 LEUKINE ™ (SARGRAMOSTIM ™) 및 NEUPOGEN ™ (FILGRASTIM ™)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

추가의 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 단독으로 또는 항-신생 혈관형성 제제(들)와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 항-신생혈관형성 제제는 안지오스타틴(Entremed, Rockville, MD), 트로포닌-1(Boston Life Sciences, Boston, MA), 항-침투 인자, 레티노산 및 이의 유도체, 팍리탁셀(탁솔), 수라민, 메탈로프로테인아제-1의 조직 억제인자, 메탈로프로테인아제-2의 조직 억제인자, VEGI, 플라스미노겐 활성화인자 억제인자-1, 플라스미노겐 활성화인자 억제인자-2 및 다양한 형태의 라이터 'd 그룹' 전이 금속을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

라이터 'd 그룹' 전이 금속은, 예를 들면, 바나듐, 몰리브데늄, 텅스텐, 티타늄, 니오븀 및 탄탈륨 종을 포함한다. 당해 전이 금속 종은 전이 금속 착물을 형성할 수 있다. 상기 언급된 전이 금속 종의 적합한 착물은 옥소 전이 금속 착물을 포함한다.

바나듐 착물의 대표적인 예는 바나데이트 및 바나딜 착물과 같은 옥소 바나듐 착물을 포함한다. 적합한 바나데이트 착물은 메타바나데이트 및 오르토바나데이트 착물, 예를 들어 암모늄 메타바나데이트, 나트륨 메타바나데이트 및 나트륨 오르토바나데이트를 포함한다. 적합한 바나딜 착물은, 예를 들면, 바나딜 아세틸아세토네이트 및 바나딜 설페이트(바나딜 설페이트 일수화물 및 삼수화물과 같은 바나딜 설페이트 수화물을 포함)를 포함한다.

텅스텐 및 몰리브데늄 착물의 대표적인 예는 또한 옥소 착물을 포함한다. 적합한 옥소 텅스텐 착물은 텅스테이트 및 텅스텐 옥사이드 착물을 포함한다. 적합한 텅스테이트 착물은 암모늄 텅스테이트, 칼슘 텅스테이트, 나트륨 텅스테이트 이수화물 및 텅스텐산을 포함한다. 적합한 텅스텐 옥사이드는 텅스텐(IV) 옥사이드 및 텅스텐(VI) 옥사이드를 포함한다. 적합한 옥소 몰리브데늄 착물은 몰리브데이트, 몰리브데늄 옥사이드 및 몰리브데닐 착물을 포함한다. 적합한 몰리브데이트 착물은 암모늄 몰리브데이트 및 이의 수화물, 나트륨 몰리브데이트 및 이의 수화물, 및 칼륨 몰리브데이트 및 이의 수화물을 포함한다. 적합한 몰리브데늄 옥사이드는 몰리브데늄(VI) 옥사이드, 몰리브데늄(VI) 옥사이드 및 몰리브덴산을 포함한다. 적합한 몰리브데닐 착물은, 예를 들면, 몰리브데닐 아세틸아세토네이트를 포함한다. 또 다른 적합한 텅스텐 및 몰리브네늄 착물은, 예를 들면, 글리세롤, 타르타르산 및 당으로부터 유래된 하이드록소 유도체를 포함한다.

다양한 기타 항-신생혈관형성 인자가 또한 본 발명의 범위내에 사용될 수 있다. 대표적인 예는 혈소판 인자 4, 프로타민 설페이트, 황화 키틴 유도체(퀸 크랩 쉘로부터 제조됨)[문헌참조: Murata et al., Cancer Res. 51:22-26,1991]; 황화 폴리삭카라이드 펩티도글리칸 착물(SP-PG)(당해 화합물의 기능은 에스트로겐과 같은 스테로이드 및 타목시펜 시트레이트의 존재하에 증진될 수 있다), 스타우로스포린, 매트릭스 대사의 조절인자(예를 들어, 프롤린 유사체, 시스하이드록시프롤린, d,L-3,4-데하이드로프롤린, 티아프롤린, 알파, 알파-디피리딜, 아미노프로피오니트릴 푸마레이트를 포함), 4-프로필-5-(4-피리디닐)-2(3H)-옥사졸론, 메토트렉세이트, 미톡산트론, 헤파린, 인터페론, 2 마크로글로불린-혈청, ChIMP-3[문헌참조: Pavloff et al., J. Bio. Chem. 267-17321-17326, 1992], 키모스타틴[문헌참조: Tomkinson et al., Biochem J. 286:475-480, 1992], 사이클로덱스트린 테트라데카 설페이트, 에포네마이신, 캄프토테신, 푸마길린[문헌참조: Ingber et al., Nature 348:555-557, 1990], 골드 나트륨 티오말레이트[문헌 참조: 'GST'; Matsubara and Ziff, J. Clin. Invest. 79:1440-1446, 1987], 안티콜라게나제-혈청, 알파2-안티플라스민[문헌참조: Holmes et al., J. Biol. Chem. 262(4):1659-1664, 1987], 비산트렌(National Cancer Institute), 로벤자리트 이나트륨 (N-(2)-카복시페닐-4-클로로안트로닐산 이나트륨 또는 'CCA';[문헌 참조: Takeuchi et al., Agents Actions 36:312-316, 1992]; 및 BB94와 같은 메탈로프로테인아제 억제제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

또한 본 발명의 범위내에서 사용될 수 있는 추가의 항-신생혈관형성 인자는 탈리도미드(Celgene, Warren, NJ), 안지오스태틱 스테로이드, AGM-1470[문헌참조: H, Brem and J, Folkman J Pediatr. Surg. 28:445-51(1993)], 인테그린 알파 v 베타 3 길항제[문헌참조: C. Storgard et al., J Clin. Invest. 103:47-54(1999)], 카복신아미놀미다졸, 카복시아미도트리아졸(CAI)(National Cancer Institute, Bethesda, MD), 콘브레타스타틴 A-4(CA4P)(OXiGENE, Boston, MA), 스쿠알아민(Magainin Pharmaceuticals, Plymouth Meeting, PA), TNP-470(Tap Pharmaceuticals, Deerfield, IL), ZD-0101 아스트라제네카(London, UK), APRA(CT2584), 베네핀, 비로스타틴-1(SC339555), CGP-41251(PKC 412), CM101, 덱스라즈옥산(ICRF187), DMXAA, 엔도스타틴, 플라보프리디올, 게네스테인, GTE, ImmTher, 이레싸(ZD1839), 옥트레오타이드(소마토스타틴), 판레틴, 페나실아민, 포토포인트, PI-88, 프리노마스타트(AG-3340) 푸릴틴, 수라디스타(FCE26644), 타목시 펜(놀바덱스), 타자로텐, 테트라티오몰리브데이트, 젤로다(카페시타빈) 및 5-플루오로우라실을 포함한다.

본 발명의 화합물과 배합하여 투여될 수 있는 항-신생혈관형성 제제는 세포외 매트릭스의 단백질 가수분해를 억제하고, 내피 세포-세포외 매트릭스 접착 분자의 기능을 차단하며, 성장 인자와 같은 맥관 형성 유도인자의 기능을 길항시키고 증식 내피 세포상에 발현되는 인테그린 수용체를 억제하는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 기작을 통해 작용할 수 있다. 세포외 매트릭스 단백질 가수분해를 차단하고 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합하여 투여될 수 있는 항-신생혈관형성 억제제의 예는 AG-3340 (Agouron, La Jolla, CA), BAY-12-9566 (Bayer, West Haven , CT), BMS-275291 (Bristol Myers Squibb, Princeton, NJ), CGS-27032A (Novartis, East Hanover, NJ), 마리마스타트 (British Biotech, Oxford, UK) 및 메타스타트 (Aeterna, St-Foy, Quebec)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 내피 세포 세포외 매트릭스 접착 분자의 기능을 차단하여 작용하고 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합하

여 투여될 수 있는 항-신생혈관형성 억제제의 예는 EMD-121974(Merck KcgaA Darmstadt, Germany) 및 비탁신(Ixsys, La Jolla, CA/Medimmune, Gaithersburg, MD)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 직접적으로 신생혈관형성 유도 인자를 길항하거나 억제하여 작용하고 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합하여 투여될 수 있는 항-신생혈관형성 제제의 예는 안지오자임 (Ribozyme, Boulder, CO), 항-VEGF 항체 (Genentech, S. San Francisco, CA), PTK-787/ZK-225846 (Novartis, Basel, Switzerland), SU-101 (Sugen, S. San Francisco, CA), SU-5416 (Sugen/ Pharmacia Upjohn, Bridgewater, NJ) 및 SU-6668 (Sugen)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 기타 항-신생혈관형성 제제는 간접적으로 신생혈관형성을 억제시키는 작용을 한다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합하여 투여될 수 있는 신생혈관형성의 간접적인 억제제의 예는 IM-862 (Cytran, Kirkland, WA), 인터페론-알파, IL-12 (Roche, Nutley, NJ) 및 펜토산 폴리설페이트(Georgetown University, Washington, DC)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

특정 태양에서, 항-혈관신생제와 배합된 본 발명의 항체 및 항체 조성물의 용도는 암 및 기타 과증식성 장애를 치료, 예방 및/또는 경감시키기 위해 고려된다.

추가의 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항바이러스 제제와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 투여될 수 있는 항바이러스 제제는 아실클로비르, 리바비린, 아만타딘 및 레만티딘을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

특정 태양에서, 본 발명의 치료제는 항레트로바이러스 제제, 뉴클레오시드/뉴클레오티드 역전사효소 억제제(NRTI), 비-뉴클레오시드 역전사 효소 억제제(NNRTI) 및/또는 프로테아제 억제제(PI)와 배합하여 투여된다. 본 발명의 치료제와 배합되어 투여될 수 있는 NRTI는 RETROVIR ™ (지도부딘/AZT), VIDEX ™ (디다노신/ddI), HIVID ™ (잘시타빈/ddC), ZERIT ™ (스타부딘/d4T), EPIVIR ™ (라미부딘/3TC) 및 COMBIVIR ™ (지도부딘/라미부딘)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 치료제와 배합되어 투여될 수 있는 NNRTI는 VIRAMUNE ™ (네비라핀), RESCRIPTOR ™ (델라비르딘) 및 SUSTIVA ™ (에파비렌즈)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 치료제와 배합되어 투여될 수 있는 프로테아제 억제제는 CRIXIVAN ™ (인디나비르), NORVIR ™ (리토나비르), INVIRASE ™ (사퀴나비르) 및 VIRACEPT ™ (넬피나비르)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 구체적 태양에서, 항레트로바이러스 제제, 뉴클레오시드 역전사효소 억제제, 비-뉴클레오시드 역전사효소 억제제 및/또는 프로테아제 억제제는 본 발명의 치료제와 배합되어 AIDS를 치료하고/하거나 HIV 감염을 치료하거나 예방하는데 사용될 수 있다.

추가의 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항생제와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 투여될 수 있는 항생제는 아목시실린, 아미노글리코시드, 베타-락탐(글리코펩티드), 베타-락타마제, 클린다마이신, 클로람페니콜, 세팔로스포린, 시프로플록사신, 시프로플록사신, 에리트로마이신, 플루오로퀴놀론, 마크롤리드, 메트로니다졸, 페니실린, 퀴놀론, 리팜핀, 스트렙토마이신, 설폰아미드, 테트라사이클린, 트리메토프림, 트리메토프림-설팜톡사졸 및 반코마이신을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항-기회감염 제제와 배합하여 투여될 수 있다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합하여 투여될 수 있는 항-기회 제제는 TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE ™ , DAPSONE ™ , PENTAMIDINE ™ , ATOVAQUONE ™ , ISONIAZID ™ , RIFAMPIN ™ , PYRAZINAMIDE ™ , ETHAMBUTOL ™ , RIFABUTIN ™ , CLARITHROMYCIN ™ , AZITHROMYCIN ™ , GANCICLOVIR ™ , FOSCARNET ™ , CIDOFOVIR ™ , FLUCONAZOLE ™ , ITRACONAZOLE ™ , KETOCONAZOLE ™ , ACYCLOVIR ™ , FAMCICOLVIR ™ , PYRIMETHAMINE ™ , LEUCOVORIN ™ , NEUPOGEN ™ (필그라스팀/G-CSF) 및 LEUKINE ™ (사르그라모스팀/GM-CSF)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE ™ , DAPSONE ™ , PENTAMIDINE ™ 및/또는 ATOVAQUONE ™ 과 배합하여 뉴모시스티스 카리니(*Pneumocystis carinii*) 폐렴 기회 감염을 예방학적으로 치료하거나, 예방하고 진단하는데 사용된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의로 ISONIAZID ™ , RIFAMPIN ™ , PYRAZINAMIDE ™ 및/또는 ETHAMBUTOL ™ 와 배합하여 마이코박테리움 아비움 복합 기회 감염을 예방학적으로 치료하거나 예방하고/하거나 진단하는데 사용된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의로 RIFABUTIN ™ , CLARITHROMYCIN ™ 및/또는 AZITHROMYCIN ™ 과 배합하여 마이코박테리움 튜버큘로시스 기회 감염을 예방학적으로 치료하거나 예방하고/하거나 진단하는데 사용된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의로 GANCICLOVIR ™ , FOSCARNET ™ 및/또는 CIDOFOVIR ™ 과 배합하여 거대세포바이러스 기회 감염을 예방학적으로 치료하거나 예방하고/하거나 진단하는데 사용된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의로 FLUCONAZOLE ™ , ITRACONAZOLE ™ 및/또는 KETOCONAZOLE ™ 과 배합하여 진균류 기회 감염을 예방학적으로 치료하거나 예방하고/하거나 진단하는데 사용된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의로 ACYCLOVIR ™ 및/또는 FAMCICOLVIR ™ 과 배합하여 단순 포진 바이러스 I 형 및/또는 II형 기회 감염을 예방학적으로 치료하거나 예방하고/하거나 진단하는데 사용된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의로 PYRIMETHAMINE ™ 및/또는 LEUCOVORIN ™ 과 배합하여 예방학적으로 톡소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondii*) 기회 감염을 치료하거나 예방하고/하거나 진단하는데 사용된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의로 LEUCOVORIN ™ 및/또는 NEUPOGEN ™ 과 배합하여 세균 기회 감염을 예방학적으로 치료하거나

예방하고/하거나 진단하는데 사용된다.

추가의 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 단독으로 또는 항염증제와 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 항염증제는 글루코코르티코이드 및 비스테로이드 항염증제, 아미노아릴카복실산 유도체, 아릴아세트산 유도체, 아릴부티르산 유도체, 아릴카복실산, 아릴프로피온산 유 도체, 피라졸, 피라졸론, 살리실산 유도체, 티아진카복스아미드, e-아세트아미도카프론산, S-아데노실메티오닌, 3-아미노-4-하이드록시부티르산, 아믹세트린, 벤다작, 벤지드아민, 부콜롬, 디펜피르아미드, 디타졸, 에모르파존, 구아이아줄렌, 나부메톤, 니메설리드, 오르고테인, 옥사세프롤, 파라닐린, 페리속살, 피폭심, 프로퀴나존, 프록사졸 및 테니답을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

본 발명의 항체 및 항체 조성물은 단독으로 또는 또 다른 보조제와 배합하여 투여될 수 있다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 보조제는 알룸, 알룸 플러스 데옥시콜레이트(면역 Ag), MTP-PE(Biocine Corp.), QS 21(Genentech, Inc.), BCG 및 MPL을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 알룸과 배합하여 투여된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 QS-21과 배합하여 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물로 투여될 수 있는 추가의 보조제는 모노포스포릴 지질 면역조절인자, AdjuVax 100a, QS-21, QS-18, CRL1005, 알루미늄 염, MF-59 및 바이로좀 보조제 기술을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 백신은 MMR(홍역, 유행귀밑선염, 풍진), 회색질척수염, 수두, 파상풍/디프테리아, A형 간염, B형 간염, 해모필러스 B형 인플루엔자, 백일해, 폐렴, 인플루엔자, 리메 질환, 로타 바이러스, 콜레라, 황열, 일본 뇌염, 회색질척수염, 광견병, 장티푸스 및 백일해로부터 보호하는 백신 및/또는 PNEUMOVAX-23 TM 을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 배합물이 동시다발적으로, 예 를 들면, 혼합물로서, 별도이지만 동시에 또는 함께 투여될 수 있거나 연속적으로 투여될 수 있다. 이것은 배합된 제제가 치료학적 혼합물로서 함께 투여되는 방식 및 또한 배합된 제제가 별도로 그러나 동시에 투여되는 절차(동일 환자에게 별도의 정맥내 투여)를 포함한다. '배합' 투여는 추가로 처음에 주어진 화합물 또는 제제중 하나의 별도 투여에 이어서 두번째의 별도의 투여를 포함한다.

또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은, 감염증 및/또는 이와 관련된 임의의 질환, 장애 및/또는 병리상태를 치료, 예방 및/또는 진단하기 위해 PNEUMOVAX-23 TM 과 배합하여 사용한다. 일 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 임의의 그람 양성 세균 감염증 및/또는 이와 관련된 모든 질환, 장애 및/또는 병리상태를 치료, 예방 및/또는 진단하기 위해 PNEUMOVAX-23 TM 과 배합하여 사용한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 엔테로코커스(Enterococcus) 속 및/또는 스트렙토코커스(Streptococcus) 속의 하나 이상의 구성원과 관련된 감염증 및/또는 모든 질환, 장애 및/또는 병리상태를 치료, 예방 및/또는 진단하기 위해 PNEUMOVAX-23 TM 과 배합하여 사용한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 B 스트렙토코커스의 하나 이상의 구성원과 관련된 감염증 및/또는 모든 질환, 장애 및/또는 병리상태를 치료, 예방 및/또는 진단하기 위해 PNEUMOVAX-23 TM 과 배합하여 사용한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 스트렙토코커스 뉴모니애(Streptococcus pneumoniae)와 관련된 감염 증 및/또는 모든 질환, 장애 및/또는 병리상태를 치료, 예방 및/또는 진단하기 위해 PNEUMOVAX-23 TM 과 배합하여 사용한다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 CD40 리간드(CD40L), 가용성 형태의 CD40L(예: AVREND TM), CD40L의 생물학적 활성 단편, 변이체 또는 유도체, 항-CD40L 항체(예: 효능성 항체 또는 길항성 항체) 및/또는 항-CD40 항체(예: 효능성 항체 또는 길항성 항체)와 배합하여 투여한다.

또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항응고제와 배합되어 투여된다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 배합될 수 있는 항응고제로는 헤파린, 워파린 및 아스피린이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 헤파린 및/또는 워파린과 배합하여 투여한다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 워파린과 배합하여 투여한다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 워파린 및 아스피린과 배합하여 투여된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 헤파린과 배합하여 투여된다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 헤파린 및 아스피린과 배합하여 투여한다.

또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항카르디올리핀 항체의 생성을 억제하는 제제와 배합하여 투여한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 인지질-결합 혈장 단백질 베타 2-당단백질 I(b2GPI)에 결합하는 항카르디올리핀 항체의 능력을 차단하고/하거나 감소시키는 제제와 배합하여 투여한다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 항말라리아제와 배합하여 투여한다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 항말라리아제로는 하이드록시클로로퀸, 클로로퀸 및/또는 퀴나크린이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 NSAID와 배합하여 투여한다.

비배타적인 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개 또는 그 이상의 하기 약제와 배합하여 투여한다: NRD-101 (Hoechst Marion Roussel), 디클로페낙(Dimethaid), 옥사프로진 칼륨(Monsanto), 메카세르민(Chiron), T-614 (Toyama), 페메트렉세드 이나트륨(Eli Lilly), 아트렐레우톤(Abbott), 발데콕시브(Monsanto), 엘테낙(Byk Gulden), 캄파쓰, AGM-1470 (Takeda), CDP-571 (Celltech Chiroscience), CM-101 (CarboMed), ML-3000 (Merckle), CB-2431 (KS Biomedix), CBF-BS2 (KS Biomedix), IL-1Ra 유전자 치료제 (Valentis), JTE-522 (Japan Tobacco), 파클리탁셀(Angiotech), DW-166HC (Dong Wha), 다르부펠론 메실레이트(Warner-Lambert), 가용성 TNF 수용체 1 (synergen; Amgen), IPR-6001 (Institute for Pharmaceutical Research), 트로케이드 (Hoffman-La Roche), EF-5 (Scotia Pharmaceuticals), BIIL-284 (Boehringer Ingelheim), BIIF-1149 (Boehringer Ingelheim), 류코박스 (Inflammatics), MK-663 (Merck), ST-1482 (Sigma-Tau) 및 부틱소코르트 프로피오네이트(WarnerLambert).

바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 하기의 약제와 배합하여 투여한다: 메토트렉세이트, 서플라살라진, 나트륨 아우로티오말레이트, 아우라노핀, 사이클로스포린, 페니실라민, 아자티오프린, 항말라리아 약제(예: 본원에 기술된 바와 같음), 사이클로포스프아미드, 클로람부실, 골드, ENBREL ™ (Etanercept), 항-TNF 항체, LJP 394(La Jolla Pharmaceutical Company, San Diego, California) 및 프레드니솔론.

부가적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 단독으로 또는 하나 이상의 정맥내 면역글로불린 제제와 배합하여 투여한다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 정맥내 면역 글로불린 제제로는 GAMMAR ™, IVEEGAM ™, SANDOGLOBULIN ™, GAMMAGARD S/D ™ 및 GAMIMUNE ™ 이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 이식 치료(예를 들어, 골수 이식)에서 정맥내 면역 글로불린 제제와 배합하여 투여한다.

CD40 리간드(CD40L), 가용성 형태의 CD40L(예: AVREND ™), CD40L의 생물학적 활성 단편, 변이체 또는 유도체, 항-CD40L 항체(예: 효능성 항체 또는 길항성 항체) 및/또는 항-CD40 항체(예:, 효능성 항체 또는 길항성 항체).

부가적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 사이토킨과 배합하여 투여한다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 사이토킨으로는 GM-CSF, G-CSF, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL10, IL12, IL13, IL15, 항-CD40, CD40L, IFN-알파, IFN-베타, IFN-감마, TNF-알파 및 TNF-베타가 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 TRAIL 수용체와 함께 투여한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 IL-1 알파, IL-1 베타, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21 및 IL-22를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 인터류킨과 함께 투여할 수 있다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 IL4 및 IL10과 배합하여 투여한다. 다른 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 IL2와 배합하여 투여된다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 G-CSF와 배합하여 투여된다.

일 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 하나 이상의 케모킨과 배합하여 투여한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은, 감마 인터페론 유도성 단백질-10(γIP-10), 인터류킨-8(IL-8), 혈소판 인자-4(PF4), 호중구 활성화 단백질(NAP-2), GRO-α, GRO-β, GRO-γ, 호중구-활성화 펩티드(ENA-78), 과립구 화학유인성 단백질-2(GCP-2), 및 간질 세포-유래된 인자-1(SDF-1, 또는 프리-B 세포 자극 인자(PBSF))로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 α(CxC) 케모킨; 및/또는 RNATES(활성화시 조절되고, 발현되고 분비된 정상 T), 대식세포 염증성 단백질-1 알파(MIP-1α), 대식세포 염증성 단백질-1 베타(MIP-1β), 단핵구 화학주성 단백질-1(MCP-1), 단핵구 화학주성 단백질-2(MCP-2), 단핵구 화학주성 단백질-3(MCP-3), 단핵구 화학주성 단백질-4(MCP-4) 대식세포 염증성 단백질-1 감마(MIP-1γ), 대식세포 염증성 단백질-3 알파(MIP-3α), 대식세포 염증성 단백질-3 베타 (MIP-3β), 대식세포 염증성 단백질-4(MIP-4/DC-CK-1/PARC), 에오탁신, 엑서더스(Exodus) 및 I-309로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 β(CC)케모킨; 및/또는 γ(C) 케모킨, 림포탁틴과 배합하여 투여한다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 IFN-감마 및/또는 카스파제 활성 특히 카스파제-8 활성을 증가시키는 제제와 배합하여 투여된다.

또 다른 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 케모킨 베타-8, 케모킨 베타-1 및/또는 대식세포 염증 단백질-4와 함께 투여한다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 케모킨 베타-8과 함께 투여한다.

부가적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 IL-4 길항제와 배합하여 투여한다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 IL-4 길항제로는 가용성 IL-4 수용체 폴리펩티드, 다량체 형태의 가용성 IL-4 수용체 폴리펩티드, IL-4에 의해 유발된 생물학적 시그날을 전달하지 않으면서 IL-4 수용체와 결합하는 항-IL4-수용체, IL-4가 하나 이상의 IL-4 수용체에 결합하는 것을 차단하는 항-IL4 수용체, 및 IL-4 수용체에 결합하지만 IL-4에 의해 유도된 생물학적 시그날을 전달하지 않는 IL-4의 뮤테인이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게, 이러한 방법에 따라 사용되는 항체는 모노클로날 항체(항체 단편, 예를 들어, 본원에 기술된 단편을 포함)이다.

부가적 태양에서, 본 발명의 항체 및 항체 조성물은 섬유아세포 성장 인자와 배합하여 투여한다. 본 발명의 항체 및 항체 조성물과 함께 투여될 수 있는 섬유아세포 성장 인자로는 FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14 및 FGF-15가 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.

조성물의 치료학적 또는 예방학적 용도의 입증

본 발명의 화합물은 바람직하게는 사람에게 사용하기 전에 목적하는 치료학적 또는 예방학적 활성에 대해 시험관내 및 생체내에서 순차적으로 시험된다. 예를 들면, 본 발명의 특정 항체 또는 조성물의 투여가 요구되는지를 결정하는데 사용될 수 있는 시험관내 검정법은, 환자 조직 샘플을 배양물중에 성장시키고 본 발명의 항체 또는 조성물에 노출시키거나 투여하여 당해 조직 샘플에 대한 본 발명의 항체 또는 조성물의 효과를 관찰하는 시험관내 세포 배양 검정법을 포함한다. 다양한 구체적 태양에서, 시험관내 검정은 환자의 장애와 관련된 세포 유형의 대표적인 세포를 이용하여 수행하여, 본 발명의 항체 또는 조성물이 이러한 세포 유형에 목적하는 효과를 갖는지의 여부를 결정할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 항체 또는 조성물은 또한 사람에게 투여하기 전 시험관내 검정 및 동물 모델 시스템에서 시험된다.

치료에 사용하기 위한 본 발명의 항체 또는 조성물은 적합한 동물 모델 시스템(래트, 마우스, 닭, 소, 원숭이 및 래빗을 포함하지만 이에 제한되지 않는다)에서 이의 독성에 대해 시험될 수 있다. 항체 또는 조성물의 독성에 대한 생체내 시험을 위해, 당업계에 공지된 임의의 동물 모델 시스템을 사용할 수 있다.

본 발명의 항체 또는 조성물은 시험관내, 생체외 및 생체내 검정법에서 종양 형성을 감소시키는 이의 능력에 대해 시험될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 조성물은 또한 시험관내 및 생체내 검정에서 바이러스 복제를 억제하거나 바이러스 집적을 감소시키는 이의 능력에 대해 시험될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 조성물은 또한 당업자에게 공지된 시험관내 및 생체내 검정에서 세균의 수를 감소시키는 이의 능력에 대해 시험될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 조성물은 또한 암, 면역 장애(예를 들어, 염증 질환), 신경학적 장애 또는 감염성 질환과 관련된 하나 이상의 증상을 완화시키는 이의 능력에 대해 시험될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 조성물은 또한 시간의 경과에 따라 감염성 질환을 감소시키는 이의 능력에 대해 시험될 수 있다. 추가로, 본 발명의 항체 또는 조성물은 암, 면역 장애 또는 감염성 질환을 포함한 질환 또는 장애를 앓고 있는 동물의 생존기간을 증가시키는 이의 능력에 대해 시험될 수 있다. 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 본 발명의 항체 또는 조성물의 기능을 생체내에서 분석할 수 있다.

바이러스 감염을 치료하거나 예방하는데 있어서의 효능은, 본 발명의 항체 또는 조성물이 바이러스의 복제를 억제하거나, 바이러스의 전파를 억제하거나 숙주내에 바이러스가 확립되는 것을 방지하거나, 질환 증상을 예방하거나 개선하거나 완화시키는 능력을 탐지함으로써 입증될 수 있다. 이러한 치료는, 본 발명의 항체 또는 조성물의 투여 후, 예를 들면, 바이러스 집적이 감소하거나, 하나 이상의 증상이 개선되거나, 사망률 및/또는 질병률이 감소하는 경우, 치료효과가 있는 것으로서 간주된다.

본 발명의 항체 또는 조성물은, 면역 세포, 바람직하게 사람 면역 세포(예를 들어, T 세포, B 세포 및 천연 킬러 세포)를 본 발명의 항체 또는 조성물 또는 대조군 화합물과 접촉시키고 본 발명의 항체 또는 조성물이 면역 세포의 생물학적 활성을 조절(즉, 증가 또는 감소)하는 능력을 결정하는 방법으로, 면역 세포의 생물학적 활성을 조절하는 이의 능력에 대해 시험될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 조성물이 면역 세포의 생물학적 활성을 조절하는 능력은, 항원의 발현을 탐지하거나 면역 세포의 증식(즉, B 세포 증식)을 탐지하거나 시그날 전달 분자의 활성화를 탐지하거나 면역 세포의 효과인자의 기능을 탐지하거나 면역 세포의 분화를 탐지함으로써 평가될 수 있다. 당업자에게 공지된 기술은 이들 활성을 측정하는데 사용될 수 있다. 예를 들면, 세포 증식은 ^3H-티미딘 혼입 검정 및 트립판 블루 세포 계수에 의해 평가될 수 있다. 항원 발현은, 예를 들면, 웨스턴 블롯, 면역조직화학적 방사선면역분석법, ELISA(효소 결합된 면역흡착 분석), '샌드위치' 면역분석법, 면역침전분석법, 침강소 반응, 겔 확산 침강소 반응, 면역확산 분석법, 집괴 분석법, 보체-고정 분석법, 면역방사선측정 분석법, 형광 면역분석법, 단백질 A 면역분석법 및 FACS 분석법과 같은 기술을 사용하는 경쟁적 및 비-경쟁적 검정 시스템을 포함하나 이에 한정되지 않는면 면역분석법에 의해 평가될 수 있다. 시그날 전달 분자의 활성화는, 예를 들면, 키나제 분석법 및 전기영동 전이 분석법(EMSA)에 의해 검정될 수 있다. 바람직한 태양에서, B-세포 증식을 유도하는 본 발명의 항체 또는 조성물의 능력이 측정된다. 또 다른 바람직한 태양에서, 면역글로불린 발현을 조절하는 본 발명의 항체 또는 조성물의 능력이 측정된다.

패널/혼합물

본 발명은 또한 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체(항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 scFv 및 기타 분자를 포함)의 혼합물로서, 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상의 상이한 본 발명의 항체를 갖는 혼합물을 제공한다. 구체적 태양에서, 본 발명은 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 2개 이상, 바람직하게는 4개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 10개 이상, 12개 이상, 15개 이상, 20개 이상 또는 25개 이상의 상이한 항체의 혼합물(당해 혼합물중의 1개 이상, 2개 이상, 4개 이상, 6개 이상 또는 10

개 이상의 항체는 본 발명의 항체이다)을 제공한다. 구체적 태양에서, 당해 혼합물의 각각의 항체는 본 발명의 항체이다.

본 발명은 또한 TR7 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체(항체 단편 또는 이의 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 scFv 및 기타 분자를 포함)의 패널로서, 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상의 상이한 본 발명의 항체를 갖는 패널을 제공한다. 구체적 태양에서, 본 발명은 TRAIL 수용체에 대해 상이한 친화성, TRAIL 수용체에 대해 상이한 특이성 또는 상이한 해리 속도를 갖는 항체의 패널을 제공한다. 본 발명은 10개 이상, 바람직하게는 25개 이상, 50개 이상, 75개 이상, 100개 이상, 125개 이상, 150개 이상, 175개 이상, 200개 이상, 250개 이상, 300개 이상, 350개 이상, 400개 이상, 450개 이상, 500개 이상, 550개 이상, 600개 이상, 650개 이상, 700개 이상, 750개 이상, 800개 이상, 850개 이상, 900개 이상, 950개 이상 또는 1000개 이상의 항체의 패널을 제공한다. 항체의 패널은, 예를 들면 ELISA와 같은 검정을 위한 96웰 플레이트에 사용될 수 있다.

본 발명은 하나 이상의 항체(본 발명의 항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)를 포함하는 조성물을 추가로 제공한다. 일 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VH 도메인의 VH CDR1의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VH 도메인의 VH CDR2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VH 도메인의 VH CDR3의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다.

하나 이상의 항체(본 발명의 항체 단편 또는 변이체를 포함하거나 이로 이루어진 분자를 포함)를 포함하는 조성물을 제공하는 본 발명의 다른 태양은 아래에 기술된다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VL CDR1 도메인의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VL CDR2의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다. 바람직한 태양에서, 본 발명의 조성물은 표 1에 언급된 하나 이상의 scFv 또는 이의 변이체의 하나 이상의 VL CDR3 도메인의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하거나 이로 이루어진 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 이상의 항체를 포함한다.

키트

본 발명은 또한 본 발명의 약제학적 조성물의 하나 이상의 성분으로 충전된 하나 이상의 용기를 포함하는 약제학적 팩 또는 키트를 제공한다. 약제 또는 생물학적 생성물의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 지시된 형태의 통지서가 상기 용기에 임의적으로 포함될 수 있고, 이러한 통지서는 사람 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매의 기관에 의한 승인을 반영한다.

본 발명은 상기 방법에 사용될 수 있는 키트를 제공한다. 일 태양에서, 키 트는 하나 이상의 용기내에 본 발명의 항체, 바람직하게 정제된 항체를 포함한다. 또 다른 태양에서, 키트는 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합하는 항체 단편을 함유한다. 구체적 태양에서, 본 발명의 키트는 실질적으로 분리된 TR7 폴리펩티드 또는 이의 단편 또는 변이체를 대조군으로서 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 키트는 임의의, 일부 또는 모든 TRAIL 수용체와 반응하지 않는 대조군 항체를 추가로 포함한다. 또 다른 구체적 태양에서, 본 발명의 키트는 항체가 TR7 폴리펩티드에 결합하는 것을 검출하기 위한 수단을 함유한다(예를 들어, 항체는 형광 화합물, 효소 기질, 방사성 화합물 또는 발광 화합물과 같은 검출가능한 기질에 접합될 수 있거나, 또는 제1 항체를 인지하는 제2항체는 검출가능한 기질에 접합될 수 있다). 구체적 태양에서, 당해 키트는 재조합적으로 생성되거나 화학적으로 합성된 TRAIL 수용체를 포함할 수 있다. 당해 키트에 제공된 TR7는 또한 고체 지지체에 부착될 수 있다. 보다 바람직한 태양에서, 상기된 키트의 검출 수단은 TR7가 부착된 고체 지지체를 포함한다. 이러한 키트는 또한 비-부착된 리포터 표지된 항-사람 항체를 포함할 수 있다. 이러한 태양에서, TR7에 대한 항체의 결합은 상기 리포터-표지된 항체의 결합에 의해 검출될 수 있다.

부가적 태양에서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드의 항원을 함유하는 혈청을 스크리닝하는데 사용하기 위한 진단용 키트를 포함한다. 당해 진단용 키트는 TRAIL 수용체와 특이적으로 면역반응성인 실질적으로 분리된 항체, 및 당해 항체에 대한 TR7 폴리펩티드의 결합을 검출하기 위한 수단을 포함한다. 일 태양에서, 항체는 고체 지지체에 부착된다. 구체적 태양에서, 당해 항체는 모노클로날 항체일 수 있다. 키트의 검출 수단은 제2의 표지된 모노클로날 항체를 포함할 수 있다. 달리, 또는 추가로, 당해 검출 수단은 표지된 경쟁 항원을 포함할 수 있다.

하나의 진단 태양에서, 시험 혈청은 본 발명의 방법에 의해 수득된 표면- 결합된 TRAIL 수용체를 갖는 고체상 시약과 반응한다. TR7 폴리펩티드가 특정 항체에 결합된 후, 결합하지 않은 혈청 성분을 세척하여 제거하고, 리포터-표지된 항-사람 항체를 첨가하고, 결합되지 않은 항-사람 항체를 세척하여 제거하고, 시약을 리포터-표지된 항-사람 항체와 반응시켜, 고체 지지체상에 결합된 항-TR7 항체의 양에 비례하여 리포터를 시약에 결합시킨다. 전형적으로, 상기 리포터는 적합한 형광성, 발광성 또는 발색 기질의 존재하에 고체 상을 항온처리함으로써 검출되는 효소이다.

상기 검정에서 고체 표면 시약은 단백질 물질을 고체 지지체 물질, 예를 들어 중합체 비드, 침지 스틱, 96웰 플레이트 또는 필터 물질에 부착시키는 공지된 기술에 의해 제조된다. 이들 부착 방법은 일반적으로 지지체에의 단백질의 비특이적 흡착, 또는 고체 지지체상의 화학적 반응성 그룹, 예를 들어 활성화된 카복실, 하이드록실 또는 알데하이드 그룹에의 전형적으로 유리 아민 그룹을 통해 단백질의 공유 결합을 포함한다. 달리, 스트렙트아비딘 피복된 플레이트를 비오틴화된 항원(들)과 함께 사용할 수 있다.

따라서, 본 발명은 상기 진단 방법을 수행하기 위한 검정 시스템 또는 키트를 제공한다. 당해 키트는 일반적으로 표면-결합된 재조합 TRAIL 수용체를 갖는 지지체 및 표면-결합된 항-TR7 항체를 검출하기 위한 리포터-표지된 항-사람 항체 를 포함한다.

TRAIL 수용체의 태반 발현

전체 태반 및 태반의 대식세포 및 영양모세포(trophoblast) 세포주에서, 종양 괴사 패밀리 수용체 및 리간드의 발현을 조심스럽게 조사하였다. TR7 및 TR5를 발현하지만 TR10은 발현하지 않는 영양모세포는 재조합 TRAIL에 의한 사멸에 전적으로 내성이 있는 반면에, TR4, TR7 및 TR10을 발현하지만 TR5를 발현하지 않는 대식세포는 민감하였다[참조 문헌: Phillips et al., J. Immunol 15: 6053-9 (1999); 이의 전문이 본원에 참조로서 인용된다]. 따라서, 본원에 기술된 항-TR7 항체를 사용하는 방법은 또한 태반 및 태반의 세포 유형(예: 대식세포 및 영양모세포)상에 사용되어, 태반 또는 태반 세포 유형의 질환 및 장애를 예방, 치료, 진단, 경감 또는 모니터할 수 있다.

유전자 치료

구체적 태양에서, 항체 또는 이의 기능성 유도체를 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 투여하여, 유전자 치료에 의해 TRAIL 수용체 및/또는 이의 리간드(예: TRAIL)의 비정상적인 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 또는 장애를 치료, 억제 또는 예방한다. 유전자 치료는 발현되거나 발현 가능한 핵산을 피험체에게 투여하여 수행하는 치료법을 의미한다. 본 발명의 이러한 태양에서, 핵산은 치료 효과를 매개하는 암호화된 단백질을 생성한다.

당업계에서 이용가능한 임의의 유전자 치료 방법이 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 예시적 방법은 하기에 기술되어 있다.

유전자 치료 방법에 대해서는 문헌[참조: Goldspiel *et al.* , Clinical Pharmacy 12:488-505 (1993); Wu and Wu, Biotherapy *3:87-95* (1991); Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596 (1993); Mulligan, Science 260:926-932 (1993); and Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 (1993); May, TIBTECH 1 *l (5):155-215* (1993)]을 참조한다. 사용될 수 있는 재조합 DNA 기술중 당업계에 통상적으로 공지된 방법이 문헌[참조:Ausubel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley amp; Sons, NY (1993); and Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)]에 기술되어 있다.

바람직한 측면에서, 본 발명의 조성물은 항체를 암호화하는 핵산을 포함하거나 또는 이로 이루어지고, 당해 핵산은 적합한 숙주에서 항체 또는 이의 단편 또는 키메라 단백질 또는 중쇄 또는 경쇄를 발현하는 발현 벡터의 일부이다. 특히, 이러한 핵산은 항체 암호화 영역에 작동가능하게 연결된 프로모터, 바람직하게는 이종성 프로모터를 가지며, 당해 프로모터는 유도성이거나 구성적이고, 임의로 조직-특이적이다. 또 다른 구체적 태양에서, 항체 암호화 서열 및 임의의 다른 목적하는 서열이 게놈내의 목적하는 부위에서 상동성 재조합을 촉진하는 영역에 의해 플랭킹됨으로써, 항체 암호화 핵산이 염색체내에서 발현될 수 있는 핵산 분자가 사용된다[참조 문헌: Koller 및 Smithies, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932- 8935; Zijlstan et al., Nature 342:435-438(1989)]. 구체적 태양에서, 발현된 항체 분자는 scFv이고; 또는 핵산 서열은 항체의 중쇄 및 경쇄 모두, 또는 항체의 단편 또는 이의 변이체를 암호화하는 서열을 포함한다.

핵산을 환자에게 전달하는 방법은 환자가 직접적으로 핵산 또는 핵산-함유 벡터에 노출되는 경우에 직접적으로 수행되거나, 세포는 우선 생체내에서 핵산으로 형질전환되고 이어서 환자에게 이식되는 경우 간접적으로 수행될 수 있다. 이들 2개의 방법은 각각 생체내 또는 생체외 유전자 치료로서 공지되어 있다.

구체적 태양에서, 핵산 서열은 직접적으로 생체내 투여되고, 그곳에서 발현되어 암호화된 생성물이 생성된다. 이는 당업계에 공지된 수 많은 방법, 예를 들어, 이들을 적합한 핵산 발현 벡터의 일부로서 작제하고 이를 투여하여 세포내

에 있도록 하는 방법, 예를 들어, 결손 또는 약독화된 레트로바이러스 또는 기타 바이러스 벡터(문헌참조: 미국 특허 제4,980,286호)를 사용하여 감염시키는 방법 또는 나출된 DNA를 직접 주사하는 방법 또는 미세입자 폭격을 사용하는 방법(예를 들어, 유전자 건: Biolistic, Dupont) 또는 지질 또는 세포-표면 수용체 또는 형질감염 제제로 피복시키는 방법, 리포좀, 미세입자 또는 미세캡슐내에 캡슐화화시키는 방법, 또는 핵속으로 진입하는 것으로 공지된 펩티드에 연결시켜 투여하는 방법, 수용체-매개된 내포작용으로 리간드 피험체와 결합하여 투여하는 방법(참조 문헌: Wu and Wu, J. Biol. Chem. 262:4492-4432(1987))(이를 사용하여 수용체를 특이적으로 발현하는 세포 유형을 표적화할 수 있다)에 의해 수행될 수 있다. 또 다른 태양에서, 리간드가 엔도좀을 붕괴시키는 용해성 바이러스 펩티드를 포함함으로써, 핵산 이 리소좀 분해를 회피할 수 있도록 하는 핵산-리간드 복합체가 형성될 수 있다. 또 다른 태양에서, 핵산은 세포 특이적 취득 및 발현을 위해 특정 수용체를 표적화하여 생체내에서 표적화될 수 있다[참조: PCT 공개공보 제WO 92/06180호, 제WO 92/22715호, 제WO92/20316호, 제WO93/14188호 및 제WO 93/20221호]. 달리, 핵산은 세포내로 도입될 수 있고, 상동성 재조합에 의해 발현용 숙주 세포 DNA내에 혼입될 수 있다[참조 문헌: Koller and Smithies, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935(1989); Zijlstra et al., Nature 342:435-438(1989)].

구체적 태양에서, 발명의 항체 또는 이의 단편 또는 변이체를 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 바이러스 벡터를 사용한다. 예를 들면, 레트로바이러스 벡터를 사용할 수 있다[참조: Miller et al., Meth. Enzymol. 217:581-599(1993)]. 이들 레트로바이러스 벡터는 정확하게 바이러스 게놈을 패키징하고 숙주 세포 DNA내로 통합시키는데 필요한 성분을 함유한다. 유전자 치료에 사용되는 항체를 암호화하는 핵산 서열은 유전자가 환자에게 용이하게 전달되도록 하는 하나 이상의 벡터내로 클로닝된다. 레트로바이러스에 대한 보다 상세한 내용은 문헌[참조: Boesen et al., Biotherapy 6:29 1-302(1994)]에서 찾아볼 수 있으며, 이에는 mdr 1 유전자를 조혈 줄기세포로 전달하여 줄기세포가 화학치료에 보다 내성을 가지도록 하기 위한 레트로바이러스 벡터의 용도가 기술되어 있다. 유전자 치료에서 레트로바이러스 벡터의 용도를 설명하는 기타 참조 문헌은 다음과 같다: Clowes *et al.* , J. Clin. Invest. 93:644-651(1994); Klein *et al.* , Blood 83:1467-1473 (1994); Salmons and Gunzberg, Human Gene Therapy 4:129-141 (1993) and Grossman and Wilson, Curr. Opin. in Genetics and Devel. 3:110-114 (1993).

아데노바이러스는 유전자 치료에서 사용될 수 있는 기타 바이러스 벡터이다. 아데노바이러스는 특히 유전자를 호흡 상피로 전달하는데 매력적인 비히클이다. 아데노바이러스는 천연적으로 호흡 상피를 감염시키고, 그곳에서 경미한 질환을 유발한다. 아데노바이러스-이용한 전달 시스템을 위한 기타 표적으로는 간, 중추 신경계, 내피 세포 및 근육이 있다. 아데노바이러스는 분열하지 않는 세포를 감염시킬 수 있는 잇점을 갖는다. 문헌[참조: Kozarsky and Wilson, Current Opinion in Genetics and Development 3:499-503(1993)]은 아데노바이러스-이용 유전자 치료법의 검토를 제공하고 있다. 문헌[참조: Bout et al., Human Gene Therapy 5:3-10(1994)]은 유전자를 뱅골 원숭이의 호흡 상피에 전달하는 아데노바이러스 벡터의 용도를 입증하였다. 유전자 치료에 있어서 아데노바이러스가 사용되는 기타 예는 문헌[참조: Rosenfeld *et al.* , Science 252:431-434 (1991); Rosenfeld *et al.* , Cell 68:143- *155* (1992); Mastrangeli *et al.* , J. Clin. Invest. 91:225-234 (1993); PCT Publication W094/12649; and Wang, *et al.* , Gene Therapy 2:775-783 (1995)]에서 찾아볼 수 있다. 바람직한 태양에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다.

또한, 아데노-연관된 바이러스(AAV)가 유전자 치료에 사용하기 위해 제안되었다[참조: Walsh et al., Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 204:289-300(1993); 미국 특허 제5,436,146호].

유전자 치료법에 대한 기타 접근법은 전기천공, 리포펙션(lipofection), 인 산칼슘 매개된 형질감염 또는 바이러스 감염과 같은 방법에 의해 조직 배양에서 유전자를 세포로 전달하는 방법을 포함한다. 통상적으로, 전달 방법은 선별가능 마커를 세포로 전달하는 것을 포함한다. 이어서, 세포를 선별조건하에 두고, 전달된 유전자를 취득하여 이를 발현하는 세포를 분리한다. 이어서, 이들 세포를 환자에게 전달한다.

상기 태양에서, 핵산은 생성된 재조합 세포의 생체내 투여전에 세포로 도입된다. 이러한 도입은, 형질감염, 전기천공, 미세주입, 핵산 서열을 함유하는 바이러스 또는 박테리오파아지 벡터를 사용한 감염, 세포 융합, 염색체-매개된 유전자 전달, 마이크로셀-매개된 유전자 전달, 스페로플라스트 융합 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 외래 유전자를 세포속에 도입하기 위한 수 많은 기술이 당업계에 공지되어 있고[참조: Loeffler and Behr, Meth. Enzymol. 217:599-618 (1993); Cohen *et al.* , Meth. Enzymol. 217:618-644 (1993); Clin. Pharma. Ther. 29:69-92m (1985)], 수용 세포의 필요한 발육 및 생리적 기능이 붕괴되지 않는 경우, 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 당해 기술은, 핵산이 세포에 의해 발현될 수 있도록, 바람직하게는 유전되어 이의 세포 후손에 의해 발현될 수 있도록, 핵산을 안정하게 세포로 전달하는 것을 제공해야 한다.

수득한 재조합 세포는 당업계에 공지된 다양한 방법에 의해 환자에게 전달될 수 있다. 재조합 혈액 세포(예를 들어, 조혈 줄기세포 또는 전구세포)는 바람직하게 정맥내로 투여된다. 사용될 세포의 양은 목적하는 효과, 환자 상태 등에 따라 결정되고, 당업자에 의해 결정될 수 있다.

유전자 치료를 목적으로 핵산이 도입될 수 있는 세포는 임의의 목적하는 이용가능 세포 유형을 포함하고, 상피 세포, 내피 세포, 각질세포, 섬유아세포, 근육 세포, 간세포; T 림프구, B 림프구, 단핵구, 대식세포, 호중구, 호산구, 거대핵세포, 과립구와 같은 혈액 세포; 다양한 줄기세포 또는 전구 세포, 특히, 예를 들어 골수, 탯줄 혈액, 말초 혈액, 태아

간 등으로부터 수득되는 바와 같은 조혈 줄기세포 또는 전구세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

바람직한 태양에서, 유전자 치료에 사용되는 세포는 환자로부터 유래한 자가세포이다.

재조합 세포가 유전자 치료에 사용되는 태양에서, 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산 서열을 세포내에 도입하여, 이들이 당해 세포 또는 이의 후손에 의해 발현될 수 있도록 하고, 이어서 재조합 세포를 치료 효과를 위해 생체내에 투여한다. 구체적 태양에서, 줄기세포 또는 전구세포를 사용한다. 시험관내에서 분리되고 유지될 수 있는 임의의 줄기세포 및/또는 전구세포가 본 발명의 태양에 따라 잠재적으로 사용될 수 있다[참조: PCT 공개공보 제WO94/08598호; Stemple and Anderson, Cell 7 1:973-985 (1992); Rheinwald, Meth. Cell Bio. 21A:229 (1980); and Pittelkow and Scott, Mayo Clinic Proc. 61:771 (1986)].

구체적 태양에서, 유전자 치료 목적을 위해 도입되는 핵산은 암호화 영역에 작동가능하게 연결된 유도성 프로모터를 포함하여, 핵산의 발현이 전사의 적당한 유도인자의 존재 또는 부재를 조절함으로써 조절될 수 있도록 한다.

실시예

실시예 1: TR7 결합 폴리펩티드의 친화성 및 특이성의 Biacore 분석

재료

BIAcore 2000 장치,

BIAcore 2000 콘트롤 소프트웨어, 버젼 3.1.1

BIA평가, 버젼 3.1

BIAcore CM5 센서 칩(Sensor Chip), Cat # BR-1000-14 Lot# 0364 (BIAcore)

HBS-EP 완충액

아민 커플링 Kit Cat# BR-1000-50 (BIAcore)

EDC, #1048-950345 (BIAcore)

NHS, #1048-950345 (BIAcore)

에탄올아민, #1048-950345 (BIAcore)

lOmM 아세테이트, pH 4.0 Cat# BR1003-50 Lot#1821-9503844 (BIAcore)

TRAIL-FLAG (Alexis Biochemicals Cat# 522-003-C010 #L04793/a)

모든 실험 온도는 25℃이었다.

일반적인 방법

다음 프로토콜은 TR7 폴리펩티드에 대한 항-TR7 항체 친화성을 결정하는데 사용될 수 있는 프로토콜의 예이다. 또한, 다음 프로토콜은 본 발명의 항체의 특이성을 결정하는데 사용될 수 있다.

TR4, TR5, TR7 및 TR1O (Fc 융합 단백질 형태)을 BIAcore 센서 칩의 각각의 유동 세포 상에 고정시킨다. TR7-Fc 융합 단백질은 TR7(서열 번호 3)의 잔기 E52-G184를 포함한다. 이러한 단백질은 GP 시그날 펩티드를 사용하는 바큘로바이러스 발현 시스템에서 발현된다. 따라서, 이러한 융합 단백질의 해독후 프로세싱은 Fc 영역에 융합된 TR5(서열 번호 3)의 잔기 E52-G184에 융합된 GP 시그날 펩티드(Ala-Asp-Pro)의 마지막 3개의 잔기를 포함하는 TR7-Fc 융합 단백질을 생성시킨다. TR4-Fc 융합 단백질은 TR4(서열 번호 1)의 잔기 M1-I240를 포함한다. 당해 융합 단백질의 해독 후 프로세싱은 TR4(서열 번호 1)의 잔기 A109-I240을 포함하는 TR4-Fc 융합 단백질을 생성시킨다. TR5-Fc 융합 단백질은 TR5(서열 번호 2)의 잔기 R70-S282를 포함한다. 당해 단백질은 GP 시그날 펩티드를 사용하는 바큘로바이러스 발현 시스템에서 발현된다. 따라서, 이러한 융합 단백질의 해독 후 프로세싱은 Fc 영역에 융합된

TR5(서열번호 2)의 R70-S282에 융합된 GP 시그날 펩티드의 마지막 3개의 잔기(Ala-Asp-Pro)를 포함하는 TR5-Fc 융합 단백질을 생성시킨다. TR10-Fc 융합 단백질은 TR10(서열 번호 4)의 잔기 M1-G204를 포함한다. 이러한 융합 단백질의 해독 후 프로세싱은 TR10(서열 번호 4)의 잔기 A56-G204를 포함하는 TR10-Fc 융합 단백질을 생성시킨다.

아민 커플링을 이용하여 CM5 센서 칩 상에서 덱스트란 매트릭스에 각각의 수용체(Fc)를 공유결합시킨다. 당해 커플링에 최적인 pH는 pH 4 내지 7 범위의 예 비농축 시험을 사용하여 분석하고 결합 기울기를 기준으로 하여 측정한다.

실제 커플링은 수동 주입 방식을 사용하여 수행한다. 2000RU의 표적 수준을 모든 유동 세포에 대한 목표로서 설정한다(이는 수용체의 분자량에 따라 2000 내지 3100의 범위일 수 있다). 고정화를 위한 모든 수용체의 농도는 10mM 아세테이트 중 10ug/ml이었다(pH 4.0). 전체 고정화 실험을 5㎕/min에서 수행한다. EDC/NHS 주입을 위한 접촉 시간은 7분이다. 에탄올아민을 7분 동안 주입한다.

스크리닝을 하기 방법으로 수행할 수 있다. 전체 결합 주기에 대한 유속은 25㎕/min이다. scFv에 상응하는 항체를 HBS-EP에 희석시키고, 고정화된 TRAIL 수용체와 함께 4개의 모든 세포를 통해 유동시킨다. 각각의 샘플을 4분 동안 수용체와 접촉시킨다. 25mM NaOH 15㎕를 사용하여 재생을 수행한다. 성공적인 재생은 항체를 제거할 뿐만 아니라 고정화된 수용체를 변성시키지 않는 것으로 간주된다.

이러한 스크리닝 실험을 위한 양성 대조군은 가용성 TRAIL 리간드의 동일(유속 및 시간)한 주입이다. 농도는 1㎍/ml이다. 음성 대조군은 항체 희석액의 HBS-EP 중의 1:10 희석액이다. BIA평가(evaluation) 소프트웨어 패키지를 사용하여 데이터를 분석할 수 있다.

항 TR7 항체의 Biacore 분석

상기 기재된 일반적인 방법을 기준으로 한 하기 실험에서, TR7에 대한 특정 항체(본 발명의 scFv에 상응함)의 친화도를, 음성 대조군으로서 실험상의 유동 세포 및 TR2-Fc(TR2의 아미노산 1-192를 포함함, 또한 헤르페스 바이러스 출입 매개 체[Herpes Virus Entry Mediator; HVEM로 공지됨]; 전문에 본원에서 참고로 인용되는 제WO96/34095호에 기재되어 있음)중의 TR7-Fc 수용체를 사용하는 '이중 표준 공제(double reference subtraction)' 방법을 사용하여 결정하였다.

TR7-Fc 및 TR2-Fc는 BIAcore CM5 센서 칩(BIAcore, Cat# BR-1000-14)의 각각의 유동 세포 상에 고정시켰다. 아민 커플링(BIAcore, Cat# BR-1000-50)을 이용하여 센서 칩 상의 덱스트란 매트릭스에 각각의 수용체를 공유결합시켰다. 당해 커플링에 최적인 pH는 pH 4 내지 7 범위의 예비농축 시험을 사용하여 분석하고 결합 기울기를 기준으로 하여 pH 4가 되게 결정하였다. 실제 커플링은 수동 주입 방식을 사용하여 수행하였다. 200 상대 단위(RU)의 표적 수준은 모든 유동 세포에 대한 목표로서 설정하였다. 1000 RU의 반응은 단백질에 대한 약 1 ng/mm ^{2} 의 표면 농도에서의 변화에 상응한다. TR7 및 TR2 융합 단백질의 분자량은 거의 동일하였다. 고정화를 위한 모든 수용체의 농도는 10mM 아세테이트 중 5ug/ml이고 pH 4.0이었다(BIAcore, Cat# BR-1003-49). 전체 실험을 유속 5㎕/min에서 수행하였다다. N-에틸-N'(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 하이드로클로라이드/에탄올아민 하이드로클로라이드-NaOH, pH 8.5 (EDC/NHS) 주입에 대한 접촉 시간은 3분이었다. 에탄올아민을 3분 동안 주입하였다.

CM005G08 반응속도의 분석을 2000 콘트롤 소프프웨어, 버젼 3.1.1이 장착된 BIAcore 2000 기구를 사용하여 수행하였다. 전체 결합 주기에 대한 유속은 25 ㎕/분이었다. 정제된 항체를 0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% 계면활성제 P20, (HBS-EP 유동 완충액; BIAcore, Cat# BR-1001-88)중에 3.75 ㎍/mL (25 nM) 내지 0.023 ㎍/mL (0.015 nM)으로 희석시켰다. 3회 반복하여, 각각의 농도 샘플을 5분의 결합 단계 동안 모든 수용체와 접촉시켰다. CM005G08의 해리 속도를 10분간 HBS-EP 완충액의 존재하에 복합체를 세척함으로써 결정하였다. 50 ㎕/분의 유속에서 25mM NaOH의 다양한 용적(5-12 ㎕)을 사용하여 각각의 주기 끝에서 재생시켰다. 전체 분석 동안 25℃에서 온도를 일정하게 유지하였다.

BIA 평가 소프트웨어, 버젼 3.1.을 사용하여 결합 데이터를 분석하였다. 1:1 Langmuir 결합 모델을 사용하였다. 비교적 높은 결합 및 해리 속도에 기인하여 결합 및 분리 단계에 대한 분리 곡선 보정을 전체 보정 대신에 사용하였다. 이중 표준 공제[참고: Myszka, (1999) Improving Biosensor Analysis.J. Molec. Recognition 12, 1-6]로 지칭되는, 대조군 유동 세포뿐 아니라 완충액 주입을 공제함으로써 비-특이적 효과에 대한 결합 데이터를 보정하였다. 다음 기호 및 정의를 결합 파라미터[참고: BIAevaluation Software Handbook v.3.0, 1997, BIAcore]를 특정화하는데 사용하였다.

RU BIA 코어 기구로부터 1차 판독은 공명 시그날의 강도를 나타내고 센서 칩에 결합된 물질의 질량에 비례한다.

RL 칩에 결합된 TR7 양을 특징화하는 공명 시그날 수치.

ka ($M^{-1} s^{-1}$) 결합 속도 상수

kd (s^{-1}) 해리 속도 상수

KA (1/M) 평형 결합 상수

KD (M) 평형 해리 상수

Rmax (RU) 분석물에 대한 칩의 최대 결합 용량

CM005G08 또는 덱스트란 매트릭스 상에 공유적으로 고정된 TR7에 대한 TRAIL의 상이한 배치의 결합의 운동 속도 파라미터의 정확한 측정을 확실히 하기 위하여, 각각의 실험 동안 3개의 분리된 유동을 수행하였다. 센서 칩의 농도 및 유속을 항체의 2가 결합 및 대량 전이 한계 효과를 피하기 위해서 예비 최적화 실험에 기초하여 선택하였다. 공명 시그날이 대조 단백질 TR2-Fc에 결합하는 CM005G08에서 관찰되지 않았기 때문에 관찰된 결합은 TR7에 특이적이었다(도 A.1). 상기 결합은 일차 반응 속도를 따르고 1:1 Langmuir 결합 모델에 맞춘다. TRAILR2에 대한 항체의 전체 친화도 평가는 3가지의 독립적 실험에 기초하였다. 모든 운동 속도 파라미터는 평균치 ±3가지 개별적 실험의 STD로서 나타내었다. CM005G08의 2개의 독립적인 묶은 각각 $2.66x10^{-3} \pm 0.12x10^{-3}$ 1/s 및 $2.68 x10^{-3} \pm 0.05 x10^{-3}$ 1/s의 해리 속도를 수반하는 0.25 ±0.013 nM 및 0.33 ±0.003 nM의 KD 수치로 특징화시켰다. TRAIL은 주로 더 늦은 해리 속도(kd = $1.37x10^{-4} \pm 0.10x10^{-4}$ 1/s) 때문에 CM005G08에 비교하여 더 높은 전체 친화성(KD = 0.04 ±0.003 nM)을 가진 TR7에 결합한다.

실시예 2: TR7에 대한 비오틴화된-TRAIL의 결합 억제

I. 재료:

10X PBS (Quality Biological Cat 130-069-161, Lot 708712)

임물론(Immulon) 4 마이크로플레이트 (Dynex Cat 3855, Lot ND540319)

소 혈청 알부민 분획 V (Sigma, #58H0456)

트리 하이드록시 메틸 아미노 메탄 (TRIS BASE)

Tween 20 (Sigma)

염소 항-사람 Fc (Sigma, I-2136, #89H4871)

TR-7:Fc (상기 기재된 바와 같음)

비오틴화된 TRAIL (AM100200-Peprotech)

HRP-스트렙트아비딘 (Vector, #L0328)

TMB 퍼옥시다제 마이크로웰 기질 시스템 (KPL, Kirkegaard amp; Perry Laboratories, Inc.)

H_2SO_4 (Fisher)

96 웰 희석 플레이트 (Costar)

II. 완충액:

피복 완충액 (1X PBS)

차단 완충액 (PBS 중 3% BSA)

다용도 희석제 (PBST 중 1% BSA)

세척 완충액 (0.1% Tween 20 및 lx PBS)

III. 방법

염소 항-사람 Fc를 피복 완충액 중 0.1μg/ml로 희석시킨다. 임물론(Immulon) 4 마이크로플레이트를 염소 항-사람 Fc 용액의 웰당 100㎕로 피복시키고 4℃에서 밤새 배양한다. 피복 용액을 플레이트로부터 경사분리시키고 차단 용액을 웰당 200㎕로 분배시킨다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 항온처리한다. 1시간 동안 항온처리한 후, 차단 용액을 플레이트로부터 경사분리시키고 1μg/ml의 TR7-Fc를 웰당 100㎕로 분배한 후, 실온에서 2시간 동안 항온처리한다. 항온처리 후, 플레이트를 Wheaton 매니폴드를 사용하여 수동으로 5회 세척한다.

본 발명의 scFv에 상응하는 항체는 희석제를 사용하여 저 결합성의 희석 플레이트에서 (미리) 제조한다. 항체를 중복 제조하고 원액 농도로부터 2.5배 희석시켜 7개의 이후의 웰에 사용한다. 정제된 형태의 항체를 이용할 수 있는 경우, 개시 농도는 5μg/ml이다. 양성 대조군(TR7-Fc)을 5μg/ml로부터 희석시킨다. 100㎕를 ELISA 플레이트로 옮기고 실온에서 30분 동안 예비항온처리한다. 비오틴화된 TRAIL 20㎕를 상층액 100㎕에 5μg/ml로 가하고 혼합한다. 배합한 120㎕를 실온에서 2시간 동안 항온처리한다.

2시간 항온처리한 후, 세척 주기를 반복한 후, 플레이트를 경사분리시키고 블로팅한다. HRP-스트렙트아비딘을 1: 2000으로 희석시키고 100㎕/웰을 분배한다. 실온에서 1시간 동안 항온처리한다. 반면에, 동량의 TMB 퍼옥시다제 기질 및 퍼옥시다제 용액 B를 회수하고 용액들을 실온으로 평형화시킨다.

1시간 항온처리한 후, 플레이트를 경사분리시키고 PBST로 5회 세척한 후, 블로팅한다. TMB 퍼옥시다제 기질 및 퍼옥시다제 용액 B를 배합하고 100㎕를 각각의 웰에 분배한다. 실온에서 15분 동안 색상이 나타났다. 색상 발현은 각각의 웰에 1M H_2SO_4 50㎕를 첨가하여 퀀칭시킨다. Molecular Devices로부터 구입한 분광계를 사용하여 450nm에서 플레이트를 즉시 판독한다.

이어서, IC-50, 즉 플래토(plateau) 결합의 50% 억제를 나타내는 정제된 항체의 농도를 측정한다. 비교용으로 TR7 폴리펩티드를 당해 검정에서 샘플로서 사용할 수 있다.

상기 기술된 검정을 사용하여, CM005G08 scFv의 VH 및 VL 도메인을 포함하는 전체 IgG1 항체는 비오틴화된 TRAIL과 TR7의 결합을 상당히 억제하여, CM005G08 및 TRAIL이 TR7에 대한 결합을 경쟁한다고 지시하는 것으로 나타났다. CM005G08의 2개의 몫에 대한 IC-50 수치는 TRAIL에 대한 IC-50의 1.77 nM와 비교하면 5.30 및 6.89 nM이었다. IC-50 수치에서의 차이는 CM005G08이 TRAIL보다 TR7에 대해 더 낮은 결합 친화성을 가진다는 사실을 반영한다.

실시예 3: 아폽토시스를 유도하는 항-TRAIL-TR7 항체의 능력에 대한 검정

일반적인 방법:

항-TR7 항체를, 단독으로 또는 사이클로헥스이미드, 화학요법제 또는 가교제와 배합하여, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 유도하는 이의 능력에 대해 시험한다. 간단히 말하면, TR7 발현 세포주인 SW480, MDA-MB-231 및 Colo205의 TR7 매개된 아폽토시스를 유도하는 항체의 활성을 시험한다. TR7를 발현하지 않는 세포주를 음성 대조군으로서 사용할 수 있다.

아폽토시스를 유도하기 위해, MDA-MB-231, SW480 또는 Colo205 세포를 지정된 농도의 본 발명의 모노클로날 항체 또는 사람 대조군 항체와 함께 항온처리한다. 검정 1일 전에, 세포(1.5×10^5 MDA-MB-231 세포/ml, 4×10^5 SW480 세포/ml 또는 4×10^5 Colo205 세포/ml; 100ul/웰)를 96웰 플레이트에 씨딩(seeding)하고 밤새 부착되도록 한다. 다음 날, 시험 항체를 사이클로헥스이미드(1.0 내지 2.0 μg/㎖, Sigma R75010-7)의 존재 또는 부재하에 첨가한다. 일부 시험에서, 항-TR7 모노클로날 항체의 능력을 rhuTRAIL-FLAG 단백질(Alexis Biochemicals) 또는 HGS에서 생성된 표지되지 않은 가용성 rhuTRAIL과 비교한다. RrhuTRAIL-FLAG을 2μg/ml의 항-FLAG 증강제 항체의 존재하에 지정된 농도로 사용한다. 제2 가교의 효과를, 모노클로날 항체가 단독으로 또는 제2 염소-항-사람 Ig Fc 특이적 항체(SIGMA)의 존재하에 세포를 사멸시키는 능력을 측정함으로써 평가할 수 있다. 제2 가교결합 항체를 시험 모노클로날 항체로서 동등한 농도로 세포에 첨가한다.

MDA-MB-231 또는 SW480을 사용하여 37℃에서 16 내지 18시간 동안 검정한 후, 시약 Alamar Blue (Biosource, cat. # DAL1100)를 제조자의 의해 제시된 조건하에 사용하여 생존률을 나타낸다. 530nm 여기 및 590nm 방출에서 CytoFluor 형광 판독기를 사용하여 Alamar Blue 형광을 검출한다. 결과를 항체로 미처리한 세포에 대한 생존률(%)로서 나타낸다. Colo205를 사용하여 37℃에서 48시간 동안 검정한 후, 비색계 시약 CellTiter 96 ^{R} Aq$_{ueous}$ One Solution (Promega, cat. # G3581)을 제조자의 의해 제시된 조건하에 사용하여 생존률을 나타낸다. 490nm에서 96-웰 SPECTRAmax Plus ^{384} 분자 기구 플레이트 판독기(또는 동일물)를 사용하여 흡수치를 검출한다.

당해 검정에서 사용(또한 본 발명의 항체와 함께 치료 섭셍에 사용)할 수 있는 기타 화학요법제는, 예를 들면, 5-플루오로우라실, 에토포시드, 탁솔, 시스플라틴, 시타바린(시토사르), IFN 감마, 캄프토테신, 이리노테칸(캄프토사르, CPT-11), 아드리아마이신(독소루비신), 메토트렉세이트, 파라플라티닌, 인터페론-알파, 인터페론-베타, 파클리탁셀, 도세탁셀, NF-카파-B 억제제 SN50, 및 겜시타빈(GEMZAR ™)을 포함한다. 당해 검정에서 사용할 수 있는 기타 세포주는, 예를 들면, 사람 섬유육종 세포주 HT-1080; 사람 자궁 경부암 세포주 ME-180 및 HeLa; 사람 악성 흑색종 세포주 RPMI-7951, SK-MEL-1 및 G361; 사람 성인 T세포 백혈병 세포주 Jurkat; 사람 자궁암 세포주 SK-UT-1 및 RL-95; 사람 폐암 세포주 SK-MES-1, 사람 결장암 세포주, LS174T, HT29, 및 HCT116, su.86.86 및 CFPAC 췌장암 세포주, 사람 난소암 세포주 TOV21G, 및 사람 간암 세포주 HepG2 및 SNU449 및 사람 신경모세포종 세포주 SK-N-SH를 포함한다. 당해 암 세포주가 유래되는 조직에 상응하는 조직의 암은 본 발명에 따르는 치료학적 조성물로 치료할 수 있다.

항-TR7 항체의 분석

상기 검정을 사용하여, 전체 IgG1 분자로 전환된 본 발명의 수 개의 scFv를, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 유도하는 능력에 대해 시험하였다. scFVs CM083C12, CM014C10, CM088F10, CM084G02, CM084A02 CM005G08 및 CM059H03에 상응하는 IgG1 항체를 상기 기술된 검정으로 시험하였다. 부적절한 특이성의 사람 IgG1 항체를 음성 대조군으로 사용하고 TRAIL을 양성 대조군으로 사용하였다.

CM005G08, CM084A02, 및 CM084G02의 IgG1 형태는 1㎍/ml 사이클로헥스이미드의 존재하에 사람 결장암 세포주, SW480, 및 사람 유방암 세포주, MDA-MB231, 세포의 아폽토시스를 유발한다. 사이클로헥스이미드의 부재하에 TRAIL이 MDA-MBA-231 세포를 사멸시킬 수 있다는 예외를 가진 본 검정에서, 사이클로헥스이미드의 부재하에, 항-TR7 항체 또는 TRAIL에 의한 MDA-MB231 또는 SW480 세포가 거의 사멸하지 않은 것으로 관찰되었다. 사람 결장암 세포주 Colo205으로, 항-TR7 항체를 시험하고, CM005G08, CM084A02 및 CM059H03이 사이클로헥스이미드 및 부가적 가교제의 부재하에 아폽토시스를 유도하였다. TRAIL은 또한 Colo205 세포주에서 아폽토시스를 유도하였다 (도 1A-1D 참고, 및 데이터는 생략됨). 시험된 세포주의 생존률을 감소시키는 항-TR7 항체의 능력을 가교제의 첨가로 향상시켰다(데이터는 생략됨).

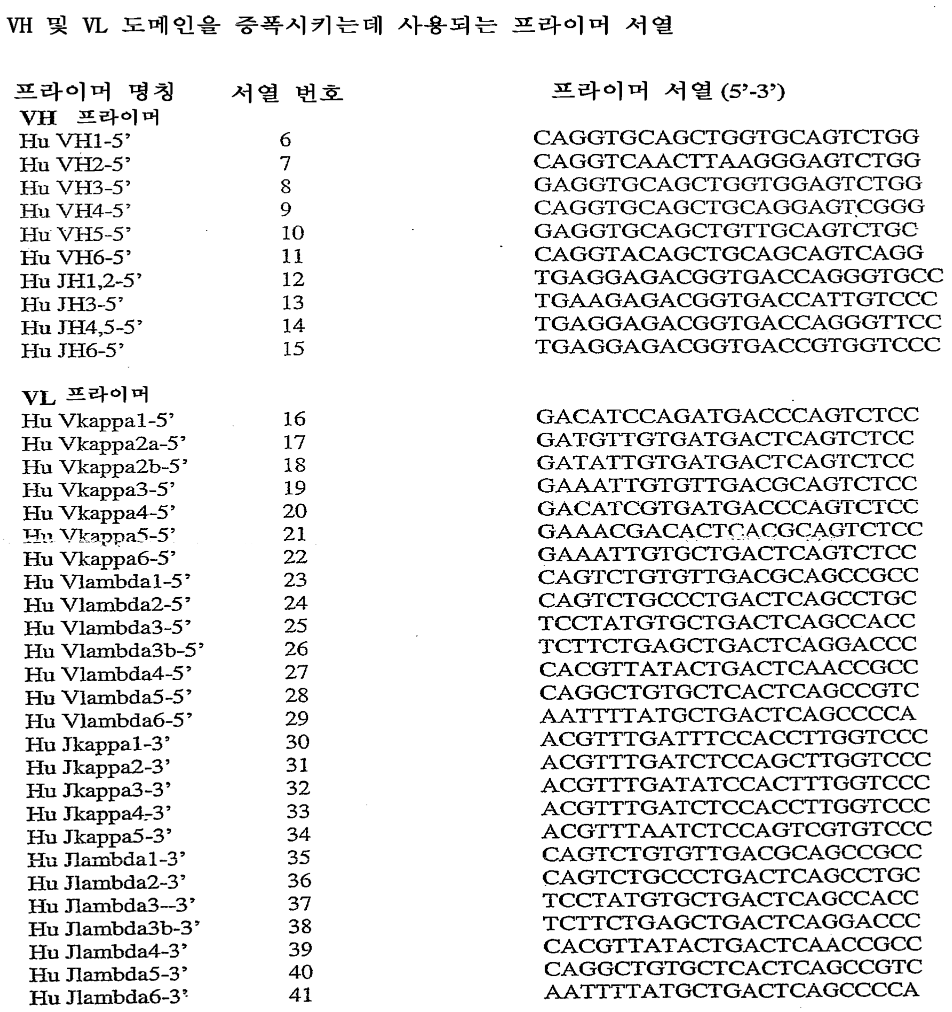
추가로, 본 실시예에 기재된 검정을, TRAIL 수용체 발현 세포 상의 하나 이상의 항-TRAIL 수용체 항체의 효과를 시험하는데 사용할 수도 있다. 예를 들면, TR4에 특이적으로 결합하는 항체 및 TR7에 특이적으로 결합하는 항체 모두를 사용 하여 세포를 처리할 수 있다. 위에서와 같이, 당해 시험은 하나 이상의 화학요법제 또는 가교제의 존재 또는 부재하에 수행할 수 있다. 당해 실험의 또 다른 변형법에서, 본 발명의 항체를 TRAIL의 존재하에 사용되는 경우 아폽토시스 유도 효과에 대해 시험할 수 있다. 단독의 항-TR4 또는 항-TR7만으로 처리하는 경우에 비해 항-TR4 및 항-TR7로 이중 처리하는 경우에 유도된 아폽토시스의 양이 상승될 수 있다. 이러한 효과는 화학요법제 및/또는 가교제의 존재하에 시험을 수행하는 경우 더 명백해질 수 있다.

실시예 4: VH 및 VL 도메인의 동정 및 클로닝

특정 항체를 발현하는 세포주로부터의 클론 VH 및 VL 도메인을 동정하는 방법은 항체 발현 세포주로부터 제조된 cDNA 상에서 VH 및 VL 특이적 프라이머를 사용하여 PCR을 수행하는 것이다. 간단히 말하면, RNA를 세포주로부터 분리하고 EBV 세포주에 의해 발현된 항체의 VH 및 VL 도메인을 증폭하도록 고안된 RT-PCR을 위한 주형으로서 사용한다. 세포를 TRIzol ® 시약(Life Technologies, Rockville. MD) 중에서 분해하고 1/5 용적의 클로로포름으로 추출할 수 있다. 클로로포름의 첨가 후, 용액을 실온에서 10분 동안 배양하고 테이블탑 원심분리기에서 4℃에서 15분 동안 14,000rpm으로 원심분리한다. 상층액을 수집하고 RNA를 동일 용적의 이소프로판올을 사용하여 침전시킨다. 침전된 RNA를 테이블탑 원심분리기에서 4℃에서 15분 동안 14,000rpm으로 원심분리하여 펠렛화한다. 원심분리 후, 상층액을 버리고 75% 에탄올로 세척한다. 세척 후, 다시 RNA를 4℃에서 5분 동안 800rpm으로 원심분리한다. 상층액을 버리고 펠렛을 공기건조시킨다. RNA를 DEPC 물에 용해시키고 60℃에서 10분 동안 가열한다. RNA의 양을 광학 밀도 측정법을 사용하여 측정할 수 있다.

cDNA를 당업계에 익히 공지된 방법에 따라, 역전사효소 및 무작위적 헥사머 프라이머를 사용하여 RNA 1.5 내지 2.5㎍으로부터 합성할 수 있다. 이어서, cDNA를 VH 및 VL 도메인의 PCR 증폭용 주형으로서 사용한다. VH 및 VL 유전자를 증폭시키는 데 사용된 프라이머를 표 6에 나타낸다. 전형적으로 PCR 반응은 단일 5' 프라이머 및 단일 3' 프라이머를 사용한다. 간혹 이용가능한 RNA 주형의 양이 한정될 때 또는 더 높은 효능을 위해, 5' 및/또는 3' 프라이머 그룹을 사용할 수 있다. 예를 들면, 간혹 모든 5개의 VH-5' 프라이머 및 모든 JH3' 프라이머를 단일 PCR 반응에 사용한다. PCR 반응은, 1X PCR 완충액, 2mM의 각각의 DNTP, 0.7단위의 고 충실도(High Fidelity) Taq 폴리머라제, 5' 프라이머 혼합물, 3' 프라이머 혼합물 및 7.5㎕의 cDNA를 함유하는 50㎕ 용적중에서 수행한다. VH 및 VL 모두의 5' 및 3' 프라이머 혼합물을, 각각 22pmole 및 28pmole의 각각의 개별적인 프라이머와 함께 풀링(pooling)함으로써 제조할 수 있다. PCR 조건은 다음과 같다: 96℃에서 5분; 이어서 94℃에서 1분, 50℃에서 1분, 및 72℃에서 1분으로 구성된 주기 25회; 이어서 72℃에서 10분으로 구성된 연장 주기. 반응 종료 후, 샘플 튜브를 4℃에서 저장하였다.

[표 6]



VH 및 VL 도메인을 증폭시키는데 사용되는 프라이머 서열

프라이머 명칭	서열 번호	프라이머 서열 (5'-3')
VH 프라이머		
Hu VH1-5'	6	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGG
Hu VH2-5'	7	CAGGTCAACTTAAGGGAGTCTGG
Hu VH3-5'	8	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGG
Hu VH4-5'	9	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGG
Hu VH5-5'	10	GAGGTGCAGCTGTTGCAGTCTGC
Hu VH6-5'	11	CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGG
Hu JH1,2-5'	12	TGAGGAGACGGTGACCAGGGTGCC
Hu JH3-5'	13	TGAAGAGACGGTGACCATTGTCCC
Hu JH4,5-5'	14	TGAGGAGACGGTGACCAGGGTTCC
Hu JH6-5'	15	TGAGGAGACGGTGACCGTGGTCCC
VL 프라이머		
Hu Vkappa1-5'	16	GACATCCAGATGACCCAGTCTCC
Hu Vkappa2a-5'	17	GATGTTGTGATGACTCAGTCTCC
Hu Vkappa2b-5'	18	GATATTGTGATGACTCAGTCTCC
Hu Vkappa3-5'	19	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCC
Hu Vkappa4-5'	20	GACATCGTGATGACCCAGTCTCC
Hu Vkappa5-5'	21	GAAACGACACTCACGCAGTCTCC
Hu Vkappa6-5'	22	GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCC
Hu Vlambda1-5'	23	CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCC
Hu Vlambda2-5'	24	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGC
Hu Vlambda3-5'	25	TCCTATGTGCTGACTCAGCCACC
Hu Vlambda3b-5'	26	TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCC
Hu Vlambda4-5'	27	CACGTTATACTGACTCAACCGCC
Hu Vlambda5-5'	28	CAGGCTGTGCTCACTCAGCCGTC
Hu Vlambda6-5'	29	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCA
Hu Jkappa1-3'	30	ACGTTTGATTTCCACCTTGGTCCC
Hu Jkappa2-3'	31	ACGTTTGATCTCCAGCTTGGTCCC
Hu Jkappa3-3'	32	ACGTTTGATATCCACTTTGGTCCC
Hu Jkappa4-3'	33	ACGTTTGATCTCCACCTTGGTCCC
Hu Jkappa5-3'	34	ACGTTTAATCTCCAGTCGTGTCCC
Hu Jlambda1-3'	35	CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCC
Hu Jlambda2-3'	36	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGC
Hu Jlambda3--3'	37	TCCTATGTGCTGACTCAGCCACC
Hu Jlambda3b-3'	38	TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCC
Hu Jlambda4-3'	39	CACGTTATACTGACTCAACCGCC
Hu Jlambda5-3'	40	CAGGCTGTGCTCACTCAGCCGTC
Hu Jlambda6-3'	41	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCA

이어서 PCR 샘플을 1.3% 아가로스 겔 상에서 전기영동시킨다. 예상되는 크기의 DNA 밴드(VH 도메인의 경우 506개의 염기 쌍, VL 도메인의 경우 344개의 염기쌍)를 겔로부터 절단하고, 당업계의 익히 공지된 방법으로 정제할 수 있다. 정제된 PCR 생성물을 PCR 클로닝 벡터(TA vector, Invitrogen Inc., Carlsbad, CA)에 연결시킬 수 있다. 클로닝된 개개의 PCR 생성물을 이. 콜라이의 형질감염시키고 청색/백색 선별을 한 후 분리할 수 있다. 이어서, 클로닝된 PCR 생성물을 당업계에 통상적으로 공지된 방법을 사용하여 서열화할 수 있다.

실시예 5: 항-TR7 항체는 누드 마우스의 종양 세포 성장을 지연시킨다

9주된 무흉선 마우스 암컷(Balb/c nu/nu 마우스, 20-25g 체중, 뉴욕, 게르만타운에 소재한 Taconic사로부터 구입)의 옆구리에 0일에 대수기 성장중의 10^7 Colo 205 (결장직장 선암종, ATCC No. CCL-222) 종양 세포를 피하 주사하였다. 종양 크기가 대략 100 mm^3 인 시점에서 항체를 처리하기 전에,종양을 5일간 성장시켰다.

CM005G08 (항-TR7 항체, 표 1 참고) 또는 T1014G03 (예를 들어, 전문이 본원에서 인용되는 미국 특허원 제60/341,237에 기술된 항-TR4 항체) 중 하나로부터 VH 및 VL 도메인 모두를 포함하는 항체, 또는 항체 CM005G08 및 T1014G03 모두 또는 PBS 희석액 단독으로 마우스를 처리하였다. 본 실시예 및 하기 실시예 6 및 8에서, CM005G08 또는 T1014G03에서의 VH 및 VL 도메인 모두를 포함하는 항체를 각각 'CM005G08' 또는 'T1014G03'로 지칭할 것이다. 상기 항체 치료는 다음과 같다: 부하 투여량(loading dose): 1주일 간격으로 2회의 유지 투여량 0.2mg (10mg/kg)으로 정맥내 투여를 동반한 종양 세포 투여 6일 후 0.4mg (20 mg/kg)으로 정맥내 투여. 종양 크기를 11, 14, 18, 21 및 25일에 측정하였다. 종양 용적을 칼리퍼(caliper) 및 공식 (너비^2 x 길이)/2를 사용하여 2개의 축상에 종양 치수를 3배로 측정함으로써 계산하였다. 14일까지, T1014G03 단독으로만 처리된 마우스는 대조 군 PBS-처리 그룹에 비해 현저히 작은 종양을 가졌다. 18일까지, CM005G08 또는 CM005G08 및 T1014G03으로 처리된 마우스는 촉진 가능한 종양을 가지지 않았다(데이터는 생략됨).

상기 기술된 검정을 또한 화학요법제와 함께 하나 이상의 항-TRAIL수용체 항체로 처리한 효과를 시험하는데 사용할 수 있다. 본 검정(및 본 발명의 항체와 함께 치료 처방)에서 사용될 수 있는 화학요법제는, 예를 들면, 5-플루오로우라실, 에토포시드, 탁솔, 시스플라틴, 사이타바린 (사이토사르), IFN 감마, 캄프토테신, 이리노테칸 (캄프토사르, CPT-11), 아드리아마이신 (독소루비신), 메토트렉세이트, 파라플라티닌, 인터페론-알파, 팍리탁셀, 도세탁셀, NF-카파-B 억제제 SN50, 및 겜시타빈 (Gemzar ™)을 포함한다. 본 검정에 사용될 수 있는 기타 세포주는, 예를 들면, 사람 결장암 세포주 SW480, LS174T, 및 HCT116; 사람 유방암 세포주 MDA-MB-231 (하기 실시예 8 참고); 사람 경부암 세포주 Hela; 사람 폐암 세포주 SK-MES-1; CFPAC, HPAF-II, MPANC-96 및 su.86.86 및 췌장암 세포주; 사람 간암 세포주 SNU449, Hep3B2.1-7 및 HepG2; 및 사람 난소암 세포주 OV90, Caov-3, TOV21G, 및 SKOV3를 포함한다. 이러한 암 세포주가 유래된 조직에 상응하는 조직의 암을 본 발명에 따른 치료학적 조성물로 처리할 수 있다.

당해 실험의 또다른 변형에서, 본 발명의 항체를 TRAIL과 함께 투여할 수 있다. 항체 단독 치료와 비교하여 종양 세포의 성장을 억제하는 배합물 치료법의 능력을 상기 기술된 방법을 사용하고, 배합물 치료법과 항-TR4, 항-TR7, 또는 항-TR4 및 항-TR7 중 하나로써 치료된 결과 사이에 수득된 결과를 비교하여 검정할 수 있다.

실시예 6: 항-TR7 항체는 누드 마우스의 종양 세포 성장을 지연시킨다

SW480 (결장직장 선암종) 종양 세포주를 기탁기관[American Type Culture Collection]으로부터 받은 지시에 따라 태아 소 혈청, 글루타민 및 항생제로 보충된 Leibovitz의 L-15 배지 중에서 시험관내 유지하였다. 3 내지 10회 계대배양한 세포를 생체내 연구를 위해 사용하였다. 종양 세포를 T-150 플라스크로부터 수거하고 멸균 PBS로 세정한 후, 밀도 5 x 10^4 세포/ul로 멸균 염수에 재현탁시켰다.

SW480 종양 세포를 Swiss 무흉선 마우스(생후 6 내지 8주됨, 20-25g 체중, 뉴욕, 게르만타운에 소재한 Taconic사로부터 구입)의 상부 등 또는 옆구리에, 동물당 2개 부위에, 부위당 10^7 개 세포의 밀도로 피하 이식하였다. 예방적(신생(de novo)) 종양 모델에서, 화학요법제와 항체 치료를 종양 세포 접종 24시간 후 개시하였다.

무관한 특이성을 가진 T1014G03, CM005G08 또는 IgG1 대조군 항체를 1, 3 및 5일 마다 10mg/kg의 투여량으로 복강내(i.p.)로 투여한 후 매주 3회의 추가 투여를 하였다. 항체 및 대조군 치료의 효과를 3-4일 간격으로 칼리퍼를 사용하여 2개의 축상에 종양의 크기를 측정함으로써 평가하였다.

T1014G03 및 CM005G08 치료 모두는 대조군 IgG1 치료와 비교하여 종양 형성 을 현저히 감소시켰다 (도 2 참조).

상기 기재된 검정을 또한 생체내 종양 세포의 성장에 대한 하나 이상의 항-TR7 및/또는 TR4 항체의 치료 효과를 시험하는 데에도 사용할 수 있다. 예를 들면, 종양 세포를 주사한 동물을 TR4와 특이적으로 결합하는 항체 및 TR7과 특이적으로 결합하는 항체 모두를 사용하여 치료할 수 있다. 위에서와 같이, 당해 실험은 하나 이상의 화학요법제의 존재 또는 부재하에 수행할 수 있다. 본 발명의 또 다른 변형법에서, 본 발명의 항체를 TRAIL과 함께 투여할 수 있다. 위에 상술한 방법을 사용하여, 종양 세포의 성장을 억제하는 이러한 배합물 치료의 능력을 단지 항체만을 사용하는 치료와 비교하여 검정할 수 있고, 배합물 치료로부터 수득된 결과를 항-TR4 항체 또는 항-TR7 항체만의 치료로부터 수득된 결과와 비교할 수 있다.

실시예 7: 사람 간세포에 대한 항-TR7 항체의 효과

하기 프로토콜은 본 발명의 항-TR7 항체의 효과가 사람의 1차 간세포의 생존률에, 예를 들면, 카스파제 활성화 또는 세포 생존률을 측정함으로써 어떠한 효과를 가지는지를 예시한다.

사람 간세포를 15.6, 62.5, 250 또는 1000ng/mL의 TRAIL(아미노산 잔기 114-281, Biomol Research Laboratories Inc, Plymouth Meeting, PA), 62.5, 125, 250 또는 1000ng/ml의 이소형 대조군 mAb(hIgG $_1$, CAT002) 또는 62.5, 125, 250 또는 1000ng/ml의 항-TR7 항체로 처리한다. 카스파제 활성화를 처리한지 6시간 후에 결정하고, 생존률은 처리한 지 24시간 후에 결정한다.

카스파제 활성을 카스파제 기질 로다민 접합된 DEVD를 사용하는 형광측정법(fluorimetric assay)[예: 균질 형광측정 카스파제 검정(Roche Molecular Biochemicals (Indianapolis, IN))]을 사용하여 측정한다. ALAMAR Blue ™ (Biosource International, Camarillo, CA) 검정을 사용하여 세포 생존률을 결정한다.

실시예 8: MDA-MB-231 유방암 모델에 대한 항-TR7 항체의 효과

MDA-MB-231 세포주는 TR7를 발현하는 사람 유방 선암종 세포주이다. 이러한 발견에 기초하여, 무흉선 마우스에서 MDA-MB-231 모델을 선재하는 종양 용적을 감소시키는 CM005G08 (IgG1 형태)의 생체내 효능을 시험하기 위해 선택하였다.

본 실험의 목적은 CM005G08이 단일 제제로서 사용되는 경우 투여량 의존 방식으로 무흉선 마우스에서 이미 확립된 MDA-MB-231 종양의 성장 패턴을 바꿀 수 있는지 여부를 조사하는 것이었다. MDA-MB-231 종양에 대한 CM005G08의 효과를 평가하기 위해서, CM005G08를 음성 대조군 항체 (CAT002)와 비교하여 단독으로 다양한 농도에서 시험하였다. Swiss 누드 마우스를 각각 10마리가 함유된 6 그룹으로 나누었다. 0일에, 마우스의 하부 오른쪽 유방 부위(서혜부)에 1 x 10 ^{6} MDA-MB-231 세포를 피하(SC)로 주사하였다. 6, 11, 16 및 21일에, 마우스의 2개 그룹에 10 또는 0.1 mg/kg의 투여량으로 음성 대조군 항체(CAT002)를 정맥내 (IV) 주사하고, 4개의 그룹에 10, 5, 1, 및 0.1 mg/kg의 투여량으로 CM005G08를 IV 주사하였다. 종양 용적을 종양 접종 후 46일까지 주당 2회 측정하였다.

1.0 내지 10 mg/kg의 투여량에서 CM005G08은 투여량 의존 양식으로 종양 성장을 억제하였다. 전체 46일 기간에 걸친 종양 성장의 분석은 음성 대조군 항체 그룹 모두와 비교하여 10, 5 및 1 mg/kg으로 CM005G08이 투여된 마우스에서 종양 진행이 매우 현저히 연기하였다. 실험의 마지막에서, 46일에서 종양 용적의 분석은 CM005G08의 10 및 5 mg/kg으로 처리된 마우스가 10 mg/kg (각각, p = 0.0025 및 p = 0.0036)에서 음성 대조군 그룹과 비교하여 종양 용적에서 현저히 감소하는 것을 나타내었다. 0.1 mg/kg의 CM005G08이 투여된 마우스는 당해 실험에서 어떤 유익한 효과를 보이지 않았다. 이러한 데이터는 CM005G08이 단독으로 투여량 의존 양식에서 종양 성장을 유효하게 지연시킬 수 있음을 제시한다.

명백히, 본 발명을 앞의 기재사항 및 실시예에서 특별히 기재한 바와 다르게 수행할 수 있다. 본 발명의 다수의 변형 및 변경은 위의 교시의 견지에서 가능하며, 따라서 첨부된 청구의 범위 내에 포함된다.

발명의 배경, 상세한 설명 및 실시예에서의 각각의 인용 문헌(특허, 특허원, 저널 기사, 초록, 실험 매뉴얼, 책 또는 다른 기재사항)의 전체 기재사항은 본원에 참고로 인용된다.

추가로, 이와 함께 제출된 컴퓨터 및 서류 형태의 서열 목록은 전문이 본원에 참고로 인용된다.

다음의 미국 특허원 각각은 전문이 본원에 참고로 인용된다(명세서, 서열 목 록 및 도면 포함): 미국 가출원 제60/341,237호(2001년 12월 20일 출원), 제60/369,877호(2002년 4월 5일 출원), 제60/384,828호(2002년 6월 4일 출원), 제60/396,591호(2002년 7월 18일 출원), 제60/403,370호(2002년 8월 15일 출원), 제60/425,737호(2002년 11월 13일 출원).

출원인인 파일 참고 번호: PF585PCT

기탁된 미생물 또는 기타 생물학적 물질에 관한 정보

(PCT 규칙 13bis)

A. 하기에 기재된 정보는 명세서의 제21면 및 제22면의 표 1, 및 제23면 67문단에서 언급된 기탁된 생물학적 물질에 관한 것이다.

B. 기탁 확인

추가의 기탁은 다음장에 표시된다 □

기탁 기관의 명칭: **아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션**

기탁 기관의 주소: **미국 버지니아주 20110-2209**

마나사스 유니버시티 불러바드 10801

	수탁번호	**기탁일**		**수탁번호**	**기탁일**
1	PTA-4178	2002년 3월 25일	2	PTA-4539	2002년 7월 10일
3	PTA-4376	2002년 5월 21일	4	PTA-4547	2002년 7월 17일
5	97920	1997년 3월 7일	6	97853	1997년 1월 21일
7	97798	1996년 11월 20일	8	209040	1997년 5월 15일

캐나다

출원인은 캐나다 특허가 출원을 기초로 허여되거나, 출원이 거절 또는 포기되어 더 이상 회복될 수 없거나 취하될 때까지 특허청장은 단지 본원에 언급된 생물학적 기탁물의 시료를 특허청장이 지명한 독립적인 전문가에게만 분양할 것을 신청하며, 이에 따라 출원인은 국제특허원의 공표를 위한 기술적 준비가 완료되기 이전에 국제사무국에 서면으로 알려야한다.

노르웨이

출원인은 본 문서로서 본원이 노르웨이 특허청에 의해 공개되거나 공개되지 않고 최종 결정될 때까지 시료의 분양은 단지 당해 분야의 전문가에게만 이루어질 것을 신청한다. 이 신청서는 출원이 노르웨이 특허 조항의 섹션 22 및 33(3)에 의거 일반대중에 의해 입수가능한 시점 이전에 노르웨이 특허청에 제출되어야 한다. 만일 이러한 신청서가 출원인에 의해 제출된 경우, 이는 제3자가 시료의 분양을 신청했을 때 그 전문가가 사용할 수 있음을 부여하는 것이다. 그 전문가는 노르웨이 특허청에서 인정하고 작성한 전문가 목록에 들어 있는 자 또는 개별적인 경우로 출원인에 의해 인정된 자일 수 있다.

호주

출원인은 본 문서로서 미생물 시료의 분양은 단지 특허 승인 이전 또는 출원의 소멸, 거절 또는 취하 전에 본 발명에 이해 없이 전문수신인에게 이루어질 수 있음을 고시한다(호주 특허 규정의 규칙 3.25(3)).

핀란드

출원인은 본 문서로서 출원이 관계기관(National Board of Patents and Regulations)에 의해 공개되거나 공개되지 않고 최종 결정될 때까지 시료의 분양은 단지 당해 분야의 전문가에게 이루어질 것을 신청한다.

영국

출원인은 본 문서로서 미생물의 시료 분양은 단지 전문가에 이루어질 것을 신청한다. 이 신청서는 출원의 국제 공개에 대한 기술적 준비가 완료되기 전에 국제사무국에 출원인에 의해 제출되어야 한다.

덴마크

출원인은 본 문서로서 본원이 덴마크 특허청에 의해 공개되거나 공개되지 않고 최종 결정될 때까지 시료의 분양은 단지 당해 분야의 전문가에게만 이루어질 것을 신청한다. 이 신청서는 출원이 덴마크 특허 조항의 섹션 22 및 33(3)에 의거 제3자에 의해 입수가능한 시점이전에 노르웨이 특허청에 제출되어야 한다. 만일 이러한 신청서가 출원인에 의해 제출된 경우, 이는 제3자가 시료의 분양을 신청했을 때 그 전문가가 사용할 수 있음을 부여하는 것이다. 그 전문가는 덴마크 특허청에서 인정하고 작성한 전문가 목록에 들어 있는 자 또는 개별적인 경우로 출원인 에 의해 인정된 자일 수 있다.

스웨덴

출원인은 본 문서로서 본원이 스웨덴 특허청에 의해 공개되거나 공개되지 않고 최종 결정될 때까지 시료의 분양은 단지 당해 분야의 전문가에게만 이루어질 것을 신청한다. 이 신청서는 우선일로부터 16개월이 만료되기 이전에 국제사무국에 출원인에 의해(바람직하게는 PCT 출원인 가이드 제1권 부록 Z에 복사된 서식 PCT/RO/134를 이용) 제출되어야 한다. 만일 이러한 신청서가 출원인에 의해 제출된 경우, 이는 제3자가 시료의 분양을 신청했을 때 그 전문가가 사용할 수 있음을 부여하는 것이다. 그 전문가는 스웨덴 특허청에서 인정하고 작성한 전문가 목록에 들어 있는 자 또는 개별적인 경우로 출원인에 의해 인정된 자일 수 있다.

네덜란드

출원인은 본 문서로서 네덜란드 특허의 승인일 또는 출원이 거절, 취하 또는 소멸된 날까지 미생물은 특허 규칙 31F(1)에 규정된 바에 따라 단지 전문가에게 그 시료를 분양할 것을 신청한다. 이 신청서는 출원이 네덜란드 특허 조항의 섹션 22C 또는 섹션 25에 의거 제3자에 의해 입수 가능한 양 시점 중 빠른 날 이전에 출원인에 의해 네덜란드 공업소유청에 제출되어야 한다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

(a) 서열번호 42 내지 56중 어느 하나의 VHCDR1, VHCDR2 또는 VHCDR3의 아미노산 서열 및

(b) 서열번호 42 내지 56중 어느 하나의 VLCDR1, VLCDR2 또는 VLCDR3의 아미노산 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 제2 아미노산 서열과 95% 이상 동일한 제1 아미노산 서열을 포함하는, TR7에 면역특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 2.

제1항에 있어서, 제2 아미노산 서열이 서열번호 42 내지 56중 어느 하나의 VHCDR3의 아미노산 서열로 이루어진 항체 또는 이의 단편.

청구항 3.

제1항에 있어서, TR1, TR5, TR4 및 TR10에 결합하는 능력에 비해 TR7에 우선적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 4.

제1항에 있어서, 세포의 표면상에 발현된 TR7에 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 5.

(a) 서열번호 42 내지 56중 어느 하나의 VH 도메인과 90% 이상 동일한 아미노산 서열;

(b) 서열번호 42 내지 56중 어느 하나의 VL 도메인과 90% 이상 동일한 아미노산 서열; 또는

(c) (a) 및 (b) 둘 모두를 포함하는, TR7에 면역특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 6.

제5항에 있어서, VH 도메인은 서열번호 42의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖고, VL 도메인은 서열번호 42의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 7.

제5항에 있어서, VH 도메인은 서열번호 50의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖고, VL 도메인은 서열번호 50의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 8.

제5항에 있어서, VH 도메인은 서열번호 56의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖고, VL 도메인은 서열번호 56의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 9.

제5항에 있어서, TR1, TR5, TR4 및 TR10에 결합하는 능력에 비해 TR7에 우선적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 10.

제5항에 있어서, 세포의 표면상에 발현된 TR7에 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 11.

제5항에 있어서,

(a) 서열번호 42 내지 56중 어느 하나의 VH 도메인의 아미노산 서열;

(b) 서열번호 42 내지 56중 어느 하나의 VL 도메인의 아미노산 서열; 또는

(c) (a) 및 (b) 둘 모두를 포함하는, TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 12.

제11항에 있어서, VH 도메인은 서열번호 42의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖고, VL 도메인은 서열번호 42의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 13.
제11항에 있어서, VH 도메인은 서열번호 50의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖고, VL 도메인은 서열번호 50의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 14.
제11항에 있어서, VH 도메인은 서열번호 56의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖고, VL 도메인은 서열번호 56의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 15.
제11항에 있어서, TR1, TR4, TR5 및 TR10에 결합하는 능력에 비해 TR7에 우선적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 16.
제11항에 있어서, 세포의 표면상에 발현된 TR7에 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 17.
제5항에 있어서,

(a) 전체 면역글로불린 분자,

(b) scFv,

(c) 모노클로날 항체,

(d) 사람 항체,

(e) 키메라 항체,

(f) 사람화된 항체,

(g) Fab 단편,

(h) Fab' 단편,

(i) F(ab') $_2$,

(j) Fv 및

(k) 디설파이드 연결된 Fv로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 항체 또는 이 의 단편.

청구항 18.
제5항에 있어서,

(a) 사람 IgM 불변 도메인,

(b) 사람 IgG1 불변 도메인,

(c) 사람 IgG2 불변 도메인,

(d) 사람 IgG3 불변 도메인,

(e) 사람 IgG4 불변 도메인 및

(f) 사람 IgA 불변 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 19.

제5항에 있어서,

(a) 사람 Ig 카파 불변 도메인, 및

(b) 사람 Ig 람다 불변 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 경쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 20.

제5항에 있어서,

(a) 10^{-7} M(포함) 내지 10^{-8} M의 해리 상수(K_D), 및

(b) 10^{-8} M(포함) 내지 10^{-9} M의 해리 상수(K_D)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 해리 상수(K_D)를 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 21.

제5항에 있어서, 10^{-9} M 이하의 해리 상수(K_D)를 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 22.

제21항에 있어서, 10^{-9} M(포함) 내지 10^{-10} M의 K_D 를 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 23.

제21항에 있어서, 10^{-10} M(포함) 내지 10^{-11} M의 K_D 를 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 24.

제21항에 있어서, 10^{-11} M(포함) 내지 10^{-12} M의 K_D 를 갖는 항체 또는 이의 단편.

청구항 25.

제5항에 있어서, 검출가능한 표지에 접합된 항체 또는 이의 단편.

청구항 26.

제25항에 있어서, 검출가능한 표지가 방사선표지인 항체 또는 이의 단편.

청구항 27.

제26항에 있어서, 방사선표지가 ^{125}I, ^{131}I, ^{111}In, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{177}Lu, ^{166}Ho 또는 ^{153}Sm인 항체 또는 이의 단편.

청구항 28.

제25항에 있어서, 검출가능한 표지가 효소, 형광성 표지, 발광성 표지 또는 생물발광성 표지인 항체 또는 이의 단편.

청구항 29.

제5항에 있어서, 비오틴화된 항체 또는 이의 단편.

청구항 30.

제5항에 있어서, 치료제 또는 세포 독성제에 접합된 항체 또는 이의 단편.

청구항 31.

제30항에 있어서, 치료제 또는 세포 독성제가,

(a) 항대사물,

(b) 알킬화제,

(c) 항생제,

(d) 성장 인자,

(e) 사이토킨,

(f) 신생혈관형성 억제제,

(g) 유사분열 억제제,

(h) 안트라사이클린,

(i) 독소, 및

(j) 아폽토시스 제제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 항체 또는 이의 단편.

청구항 32.

제5항에 있어서, 고체 지지체에 부착된 항체 또는 이의 단편.

청구항 33.

제5항에 있어서, 웨스턴 블롯에서 TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 34.

제5항에 있어서, ELISA에서 TR7에 면역특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 35.

제11항의 항체 또는 이의 단편을 생산하는 분리된 세포.

청구항 36.

제5항에 있어서, TR7에 결합하는 TRAIL의 능력을 억제하지 않는 항체 또는 이의 단편.

청구항 37.

제5항에 있어서, TR7의 효능제인 항체 또는 이의 단편.

청구항 38.

제5항에 있어서, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 39.

제38항에 있어서, 동일한 농도의 TRAIL 폴리펩티드가 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 것 보다 더 월등히 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 40.

제38항에 있어서, 항체 가교 시약의 존재 또는 부재하에서 마찬가지로 동일하게 TR7 발현 세포의 아폽토시스를 자극하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 41.

제38항에 있어서, 간독성이 아닌 항체 또는 이의 단편.

청구항 42.

제5항에 있어서, TRAIL 수용체 발현을 상향조절하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 43.

제5항에 있어서, TR7에 결합하는 TRAIL를 억제하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 44.

제5항에 있어서, TR7의 길항제인 항체 또는 이의 단편.

청구항 45.

제5항에 있어서, TR7 발현 세포의 아폽토시스를 억제하는 항체 또는 이의 단 편.

청구항 46.

제5항에 있어서, TRAIL 수용체 발현을 하향조절하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 47.

제11항의 항체 또는 이의 단편과 동일한 TR7 폴리펩티드상의 에피토프에 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 48.

제12항의 항체 또는 이의 단편과 동일한 TR7 폴리펩티드상의 에피토프에 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 49.

제13항의 항체 또는 이의 단편과 동일한 TR7 폴리펩티드상의 에피토프에 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 50.

제14항의 항체 또는 이의 단편과 동일한 TR7 폴리펩티드상의 에피토프에 결합하는 항체 또는 이의 단편.

청구항 51.

제5항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체중의 항체 또는 이의 단편.

청구항 52.

제5항의 항체 또는 이의 단편 또는 이러한 항체 또는 이의 단편을 함유하는 조성물을 동물에게 투여함을 포함하여, 암을 치료, 예방 또는 경감하는 방법.

청구항 53.

제52항에 있어서, 동물이 사람인 방법.

청구항 54.

제52항에 있어서, 암이 결장암인 방법.

청구항 55.

제52항에 있어서, 암이 유방암인 방법.

청구항 56.

제52항에 있어서, 암이 자궁암인 방법.

청구항 57.

제52항에 있어서, 암이 췌장암인 방법.

청구항 58.

제52항에 있어서, 암이 폐암인 방법.

청구항 59.

제52항에 있어서, 암이 위장암인 방법.

청구항 60.

제52항에 있어서, 암이 카포시 육종인 방법.

청구항 61.

제52항에 있어서, 암이 중추 신경계의 암인 방법.

청구항 62.

제61항에 있어서, 중추 신경계의 암이 수모세포종인 방법.

청구항 63.

제61항에 있어서, 중추 신경계의 암이 신경모세포종인 방법.

청구항 64.

제61항에 있어서, 중추 신경계의 암이 교모세포종인 방법.

청구항 65.
제52항에 있어서, 항체 또는 이의 단편이 화학치료제와 함께 투여되는 방법.

청구항 66.
제65항에 있어서, 화학치료제가

(a) 이리노테칸;

(b) 파클리탁셀(TAXOL) ^{R}, 및

(c) 겜시타빈으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 67.
제5항의 항체 또는 이의 단편 또는 이러한 항체 또는 이의 부분을 함유하는 조성물을 동물에게 투여함을 포함하여,

(a) 이식편 대 숙주 질환(GVHD);

(b) AIDS, 및

(c) 신경퇴행성 장애로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 질환 또는 장애를 치료, 예방 또는 경감하는 방법.

청구항 68.
제67항에 있어서, 동물이 사람인 방법.

청구항 69.
TR7 발현 세포의 성장을 억제하거나 TR7 발현 세포를 사멸시키는데 유효량의 제5항의 항체 또는 이의 단편 또는 이러한 항체 또는 이의 단편을 함유하는 조성물을, TR7 수용체 발현 세포의 성장 억제 또는 TR7 수용체 발현 세포의 사멸이 요구되는 동물에게 투여함을 포함하여, TR7 발현 세포의 성장을 억제하거나 TR7 발현 세포를 사멸시키는 방법.

청구항 70.
(a) 제5항의 항체 또는 이의 단편을 사용하여 개체로부터의 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 발현을 검정하는 단계, 및

(b) TR7 폴리펩티드의 수준을 TRAIL 수용체 폴리펩티드의 표준 수준과 비교하는 단계를 포함하여, TR7 폴리펩티드의 발현을 검출하는 방법.

청구항 71.
(a) 제5항의 항체 또는 이의 단편을 사용하여 개체로부터의 생물학적 샘플중의 TR7 폴리펩티드의 발현을 검정하는 단계, 및

(b) TR7 폴리펩티드의 수준을 TR7 폴리펩티드의 표준 수준과 비교하는 단계를 포함하여, 암 및 기타 과증식성 장애를 검출, 진단, 예후 또는 모니터하는 방법.

청구항 72.
제5항의 항체 또는 이의 단편을 포함하는 키트.

청구항 73.
제72항에 있어서, 대조군 항체를 포함하는 키트.

청구항 74.
제72항에 있어서, 항체 또는 이의 단편이 검출가능한 표지에 커플링되거나 접합된 키트.

청구항 75.
ATCC 수탁번호 제PTA-4178호의 세포주에 의해 발현된 항체.

청구항 76.

ATCC 수탁번호 제PTA-4539호의 세포주에 의해 발현된 항체.

청구항 77.

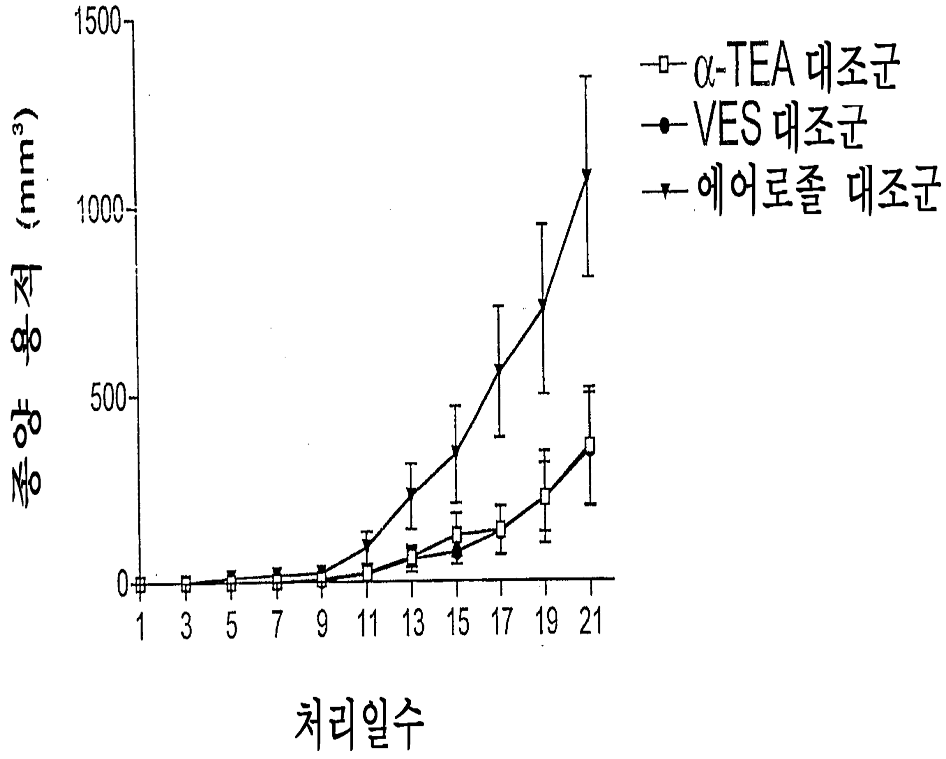
ATCC 수탁번호 제PTA-4376호의 세포주에 의해 발현된 항체.

청구항 78.

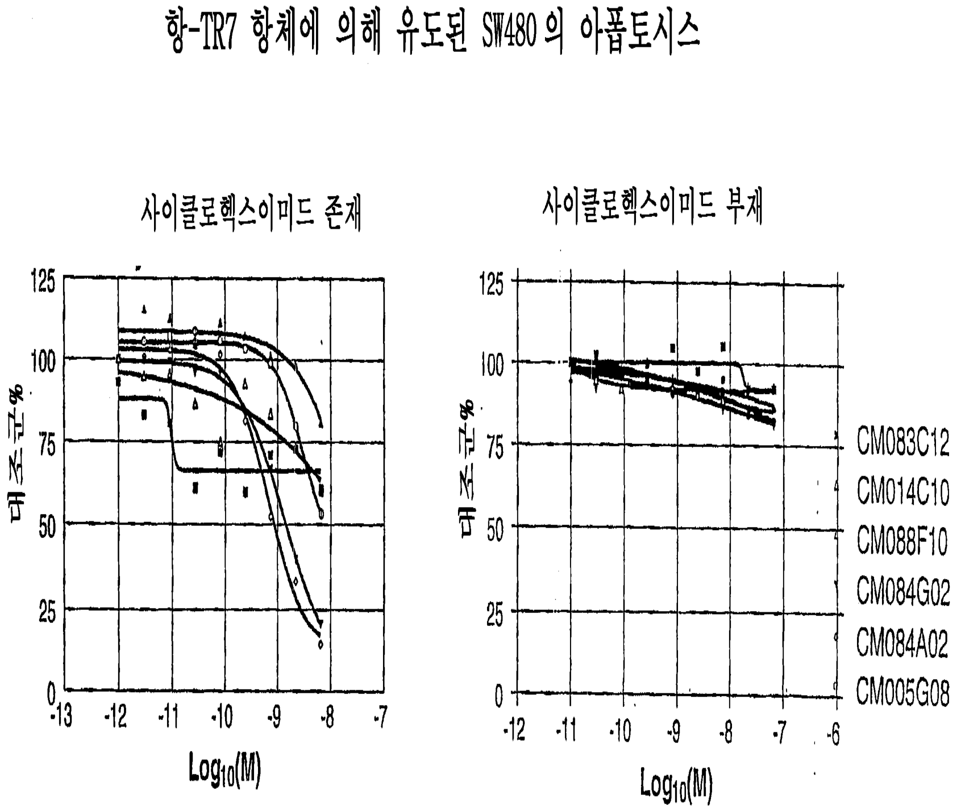
ATCC 수탁번호 제PTA-4547호의 세포주에 의해 발현된 항체.

도면

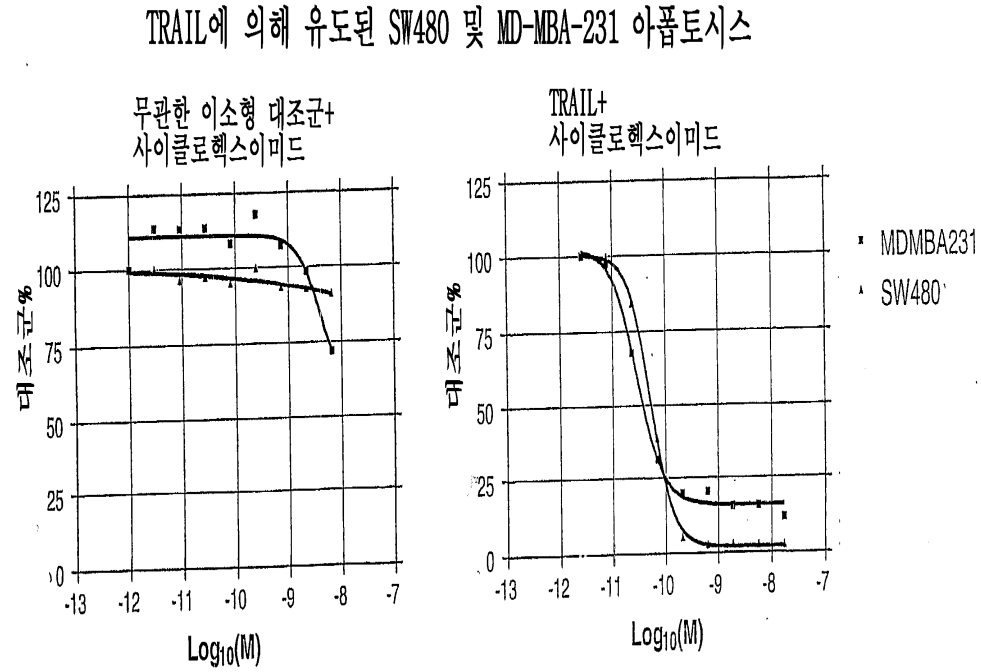
도면1A



도면1B


항-TR7 항체에 의해 유도된 SW480 의 아폽토시스
사이클로헥스이미드 존재
사이클로헥스이미드 부재
대조군%
125
100
75
50
25
0
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10(M)
CM083C12
CM014C10
CM088F10
CM084G02
CM084A02
CM005G08

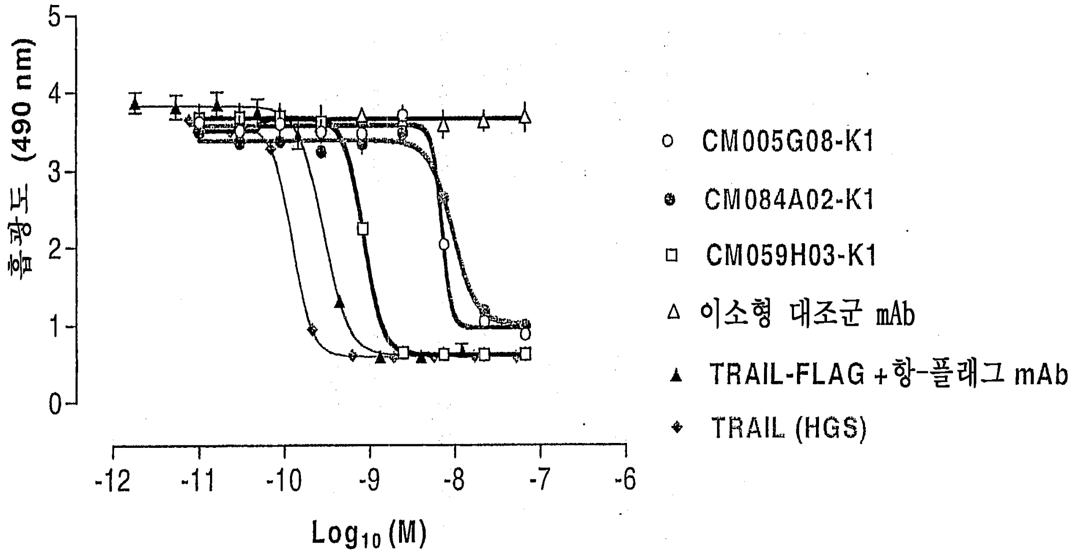
도면1C


TRAIL에 의해 유도된 SW480 및 MD-MBA-231 아폽토시스
무관한 이소형 대조군+
사이클로헥스이미드
TRAIL+
사이클로헥스이미드
대조군%
125
100
75
50
25
0
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
Log10(M)
MDMBA231
SW480

도면1D

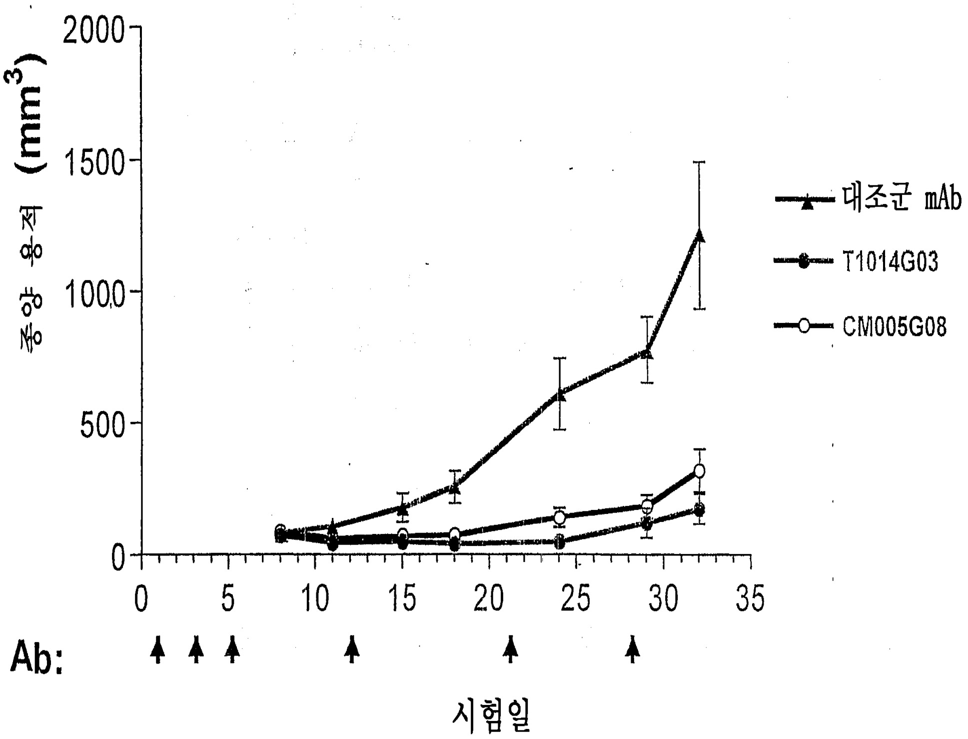
항-TR7 항체에 의해 유도된 Colo205의 아폽토시스

사이클로헥스이미드 또는 제2 가교제 부재시



도면2

신생 SW480 종양 성장에 대한 항-TR4 또는 항-TR7 항체 처리의 효과



<110> Human Genome Sciences, Inc.

<120> Antibodies that Immunospecifically Bind to TRAIL Receptors

<130> PF585PCT

<150> US 60/341,237
<151> 2001-12-20

<150> US 60/369,877
<151> 2002-04-05

<150> US 60/384,828
<151> 2002-06-04

<150> US 60/396,591
<151> 2002-07-18

<150> US 60/403,370
<151> 2002-08-15

<150> US 60/425,737
<151> 2002-11-13

<160> 72

<170> KopatentIn Ver. 1.71

<210> 1
<211> 468
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Met Ala Pro Pro Pro Ala Arg Val His Leu Gly Ala Phe Leu Ala Val
  1               5                  10                  15
```

Thr Pro Asn Pro Gly Ser Ala Ala Ser Gly Thr Glu Ala Ala Ala Ala

20 25 30

Thr Pro Ser Lys Val Trp Gly Ser Ser Ala Gly Arg Ile Glu Pro Arg

35 40 45

Gly Gly Gly Arg Gly Ala Leu Pro Thr Ser Met Gly Gln His Gly Pro

50 55 60

Ser Ala Arg Ala Arg Ala Gly Arg Ala Pro Gly Pro Arg Pro Ala Arg

65 70 75 80

Glu Ala Ser Pro Arg Leu Arg Val His Lys Thr Phe Lys Phe Val Val

85 90 95

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

100 105 110

Leu His Asp Gln Ser Ile Gly Thr Gln Gln Trp Glu His Ser Pro Leu

115 120 125

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

130 135 140

Cys Asn Arg Cys Thr Glu Gly Val Gly Tyr Thr Asn Ala Ser Asn Asn

145 150 155 160

Leu Phe Ala Cys Leu Pro Cys Thr Ala Cys Lys Ser Asp Glu Glu Glu

165 170 175

Arg Ser Pro Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Ala Cys Gln Cys Lys Pro

180 185 190

Gly Thr Phe Arg Asn Asp Asn Ser Ala Glu Met Cys Arg Lys Cys Ser

195 200 205

Thr Gly Cys Pro Arg Gly Met Val Lys Val Lys Asp Cys Thr Pro Trp
210 215 220

Ser Asp Ile Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Asn Gly His Asn Ile
225 230 235 240

Trp Val Ile Leu Val Val Thr Leu Val Val Pro Leu Leu Leu Val Ala
245 250 255

Val Leu Ile Val Cys Cys Cys Ile Gly Ser Gly Cys Gly Gly Asp Pro
260 265 270

Lys Cys Met Asp Arg Val Cys Phe Trp Arg Leu Gly Leu Leu Arg Gly
275 280 285

Pro Gly Ala Glu Asp Asn Ala His Asn Glu Ile Leu Ser Asn Ala Asp
290 295 300

Ser Leu Ser Thr Phe Val Ser Glu Gln Gln Met Glu Ser Gln Glu Pro
305 310 315 320

Ala Asp Leu Thr Gly Val Thr Val Gln Ser Pro Gly Glu Ala Gln Cys
325 330 335

Leu Leu Gly Pro Ala Glu Ala Glu Gly Ser Gln Arg Arg Arg Leu Leu
340 345 350

Val Pro Ala Asn Gly Ala Asp Pro Thr Glu Thr Leu Met Leu Phe Phe
355 360 365

Asp Lys Phe Ala Asn Ile Val Pro Phe Asp Ser Trp Asp Gln Leu Met
370 375 380

```
Arg Gln Leu Asp Leu Thr Lys Asn Glu Ile Asp Val Val Arg Ala Gly
385                 390                 395                 400

Thr Ala Gly Pro Gly Asp Ala Leu Tyr Ala Met Leu Met Lys Trp Val
                405                 410                 415

Asn Lys Thr Gly Arg Asn Ala Ser Ile His Thr Leu Leu Asp Ala Leu
            420                 425                 430

Glu Arg Met Glu Glu Arg His Ala Lys Glu Lys Ile Gln Asp Leu Leu
        435                 440                 445

Val Asp Ser Gly Lys Phe Ile Tyr Leu Glu Asp Gly Thr Gly Ser Ala
    450                 455                 460

Val Ser Leu Glu
465



<210> 2
<211> 299
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2
Met Gln Gly Val Lys Glu Arg Phe Leu Pro Leu Gly Asn Ser Gly Asp
  1               5                  10                  15

Arg Ala Pro Arg Pro Pro Asp Gly Arg Gly Arg Val Arg Pro Arg Thr
             20                  25                  30

Gln Asp Gly Val Gly Asn His Thr Met Ala Arg Ile Pro Lys Thr Leu
         35                  40                  45
```

Lys Phe Val Val Val Ile Val Ala Val Leu Leu Pro Val Leu Ala Tyr

50 55 60

Ser Ala Thr Thr Ala Arg Gln Glu Glu Val Pro Gln Gln Thr Val Ala

65 70 75 80

Pro Gln Gln Gln Arg His Ser Phe Lys Gly Glu Glu Cys Pro Ala Gly

85 90 95

Ser His Arg Ser Glu His Thr Gly Ala Cys Asn Pro Cys Thr Glu Gly

100 105 110

Val Asp Tyr Thr Asn Ala Ser Asn Asn Glu Pro Ser Cys Phe Pro Cys

115 120 125

Thr Val Cys Lys Ser Asp Gln Lys His Lys Ser Ser Cys Thr Met Thr

130 135 140

Arg Asp Thr Val Cys Gln Cys Lys Glu Gly Thr Phe Arg Asn Glu Asn

145 150 155 160

Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Ser Arg Cys Pro Ser Gly Glu Val

165 170 175

Gln Val Ser Asn Cys Thr Ser Trp Asp Asp Ile Gln Cys Val Glu Glu

180 185 190

Phe Gly Ala Asn Ala Thr Val Glu Thr Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met

195 200 205

Asn Thr Ser Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Asn

210 215 220

Thr Ser Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Thr Thr
225   230   235   240

Ser Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Thr Thr Ser
                245   250   255

Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Thr Thr Ser Pro
            260   265   270

Gly Thr Pro Ala Ser Ser His Tyr Leu Ser Cys Thr Ile Val Gly Ile
        275   280   285

Ile Val Leu Ile Val Leu Leu Ile Val Phe Val
    290   295

<210> 3
<211> 411
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3
Met Glu Gln Arg Gly Gln Asn Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Arg Lys
  1   5   10   15

Arg His Gly Pro Gly Pro Arg Glu Ala Arg Gly Ala Arg Pro Gly Pro
             20   25   30

Arg Val Pro Lys Thr Leu Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Leu Leu
         35   40   45

Val Ser Ala Glu Ser Ala Leu Ile Thr Gln Gln Asp Leu Ala Pro Gln
     50   55   60

```
Gln Arg Ala Ala Pro Gln Gln Lys Arg Ser Ser Pro Ser Glu Gly Leu
 65                  70                  75                  80

Cys Pro Pro Gly His His Ile Ser Glu Asp Gly Arg Asp Cys Ile Ser
                 85                  90                  95

Cys Lys Tyr Gly Gln Asp Tyr Ser Thr His Trp Asn Asp Leu Leu Phe
            100                 105                 110

Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val Glu Leu Ser Pro
        115                 120                 125

Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu Glu Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Arg Thr Gly Cys
145                 150                 155                 160

Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro Trp Ser Asp Ile
                165                 170                 175

Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Ile Ile Ile Gly Val Thr Val Ala
            180                 185                 190

Ala Val Val Leu Ile Val Ala Val Phe Val Cys Lys Ser Leu Leu Trp
        195                 200                 205

Lys Lys Val Leu Pro Tyr Leu Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Asp Pro Glu Arg Val Asp Arg Ser Ser Gln Arg Pro Gly Ala Glu Asp
225                 230                 235                 240

Asn Val Leu Asn Glu Ile Val Ser Ile Leu Gln Pro Thr Gln Val Pro
```

245 250 255

Glu Gln Glu Met Glu Val Gln Glu Pro Ala Glu Pro Thr Gly Val Asn

260 265 270

Met Leu Ser Pro Gly Glu Ser Glu His Leu Leu Glu Pro Ala Glu Ala

275 280 285

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

290 295 300

Pro Thr Glu Thr Leu Arg Gln Cys Phe Asp Asp Phe Ala Asp Leu Val

305 310 315 320

Pro Phe Asp Ser Trp Glu Pro Leu Met Arg Lys Leu Gly Leu Met Asp

325 330 335

Asn Glu Ile Lys Val Ala Lys Ala Glu Ala Ala Gly His Arg Asp Thr

340 345 350

Leu Tyr Thr Met Leu Ile Lys Trp Val Asn Lys Thr Gly Arg Asp Ala

355 360 365

Ser Val His Thr Leu Leu Asp Ala Leu Glu Thr Leu Gly Glu Arg Leu

370 375 380

Ala Lys Gln Lys Ile Glu Asp His Leu Leu Ser Ser Gly Lys Phe Met

385 390 395 400

Tyr Leu Glu Gly Asn Ala Asp Ser Ala Met Ser

405 410

<210> 4

<211> 386

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Gly Leu Trp Gly Gln Ser Val Pro Thr Ala Ser Ser Ala Arg Ala

1 5 10 15

Gly Arg Tyr Pro Gly Ala Arg Thr Ala Ser Gly Thr Arg Pro Trp Leu

20 25 30

Leu Asp Pro Lys Ile Leu Lys Phe Val Val Phe Ile Val Ala Val Leu

35 40 45

Leu Pro Val Arg Val Asp Ser Ala Thr Ile Pro Arg Gln Asp Glu Val

50 55 60

Pro Gln Gln Thr Val Ala Pro Gln Gln Gln Arg Arg Ser Leu Lys Glu

65 70 75 80

Glu Glu Cys Pro Ala Gly Ser His Arg Ser Glu Tyr Thr Gly Ala Cys

85 90 95

Asn Pro Cys Thr Glu Gly Val Asp Tyr Thr Ile Ala Ser Asn Asn Leu

100 105 110

Pro Ser Cys Leu Leu Cys Thr Val Cys Lys Ser Gly Gln Thr Asn Lys

115 120 125

Ser Ser Cys Thr Thr Thr Arg Asp Thr Val Cys Gln Cys Glu Lys Gly

130 135 140

Ser Phe Gln Asp Lys Asn Ser Pro Glu Met Cys Arg Thr Cys Arg Thr

145 150 155 160

Gly Cys Pro Arg Gly Met Val Lys Val Ser Asn Cys Thr Pro Arg Ser
165 170 175

Asp Ile Lys Cys Lys Asn Glu Ser Ala Ala Ser Ser Thr Gly Lys Thr
180 185 190

Pro Ala Ala Glu Glu Thr Val Thr Thr Ile Leu Gly Met Leu Ala Ser
195 200 205

Pro Tyr His Tyr Leu Ile Ile Ile Val Val Leu Val Ile Ile Leu Ala
210 215 220

Val Val Val Val Gly Phe Ser Cys Arg Lys Lys Phe Ile Ser Tyr Leu
225 230 235 240

Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly Gly Pro Glu Arg Val His Arg
245 250 255

Val Leu Phe Arg Arg Arg Ser Cys Pro Ser Arg Val Pro Gly Ala Glu
260 265 270

Asp Asn Ala Arg Asn Glu Thr Leu Ser Asn Arg Tyr Leu Gln Pro Thr
275 280 285

Gln Val Ser Glu Gln Glu Ile Gln Gly Gln Glu Leu Ala Glu Leu Thr
290 295 300

Gly Val Thr Val Glu Ser Pro Glu Glu Pro Gln Arg Leu Leu Glu Gln
305 310 315 320

Ala Glu Ala Glu Gly Cys Gln Arg Arg Arg Leu Leu Val Pro Val Asn
325 330 335

Asp Ala Asp Ser Ala Asp Ile Ser Thr Leu Leu Asp Ala Ser Ala Thr

340 345 350

Leu Glu Glu Gly His Ala Lys Glu Thr Ile Gln Asp Gln Leu Val Gly

355 360 365

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

370 375 380

Cys Leu

385

<210> 5

<211> 401

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Asn Lys Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser Ile

1 5 10 15

Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His Tyr Asp

20 25 30

Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro Pro Gly Thr

35 40 45

Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr Val Cys Ala Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu Gln Tyr Val Lys Gln Glu

85 90 95

Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr

100 105 110

Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe

115 120 125

Gly Val Val Gln Ala Gly Thr Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg

130 135 140

Cys Pro Asp Gly Phe Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys

145 150 155 160

Arg Lys His Thr Asn Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys

165 170 175

Gly Asn Ala Thr His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr

180 185 190

Gln Lys Cys Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg

195 200 205

Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val

210 215 220

Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile

225 230 235 240

Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys Leu

245 250 255

Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile Ile Gln

260 265 270

Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile Gly His Ala
275 280 285

Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly
290 295 300

Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys
305 310 315 320

Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn
325 330 335

Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser
340 345 350

Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr
355 360 365

Ile Arg Phe Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu
370 375 380

Phe Leu Glu Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys
385 390 395 400

Leu

<210> 6
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 6
caggtgcagc tggtgcagtc tgg 23

<210> 7
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 7
caggtcaact taagggagtc tgg 23

<210> 8
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 8
gaggtgcagc tggtggagtc tgg 23

<210> 9
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 9

caggtgcagc tgcaggagtc ggg 23

<210> 10

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 10

gaggtgcagc tgttgcagtc tgc 23

<210> 11

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 11

caggtacagc tgcagcagtc agg 23

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 12

tgaggagacg gtgaccaggg tgcc 24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 13

tgaagagacg gtgaccattg tccc 24

<210> 14

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 14

tgaggagacg gtgaccaggg ttcc 24

<210> 15
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 15
tgaggagacg gtgaccgtgg tccc 24

<210> 16
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 16
gacatccaga tgacccagtc tcc 23

<210> 17
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 17
gatgttgtga tgactcagtc tcc 23

<210> 18

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 18

gatattgtga tgactcagtc tcc 23

<210> 19

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 19

gaaattgtgt tgacgcagtc tcc 23

<210> 20

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 20
gacatcgtga tgacccagtc tcc   23

<210> 21
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 21
gaaacgacac tcacgcagtc tcc   23

<210> 22
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 22
gaaattgtgc tgactcagtc tcc   23

<210> 23
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 23
cagtctgtgt tgacgcagcc gcc 23

<210> 24
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 24
cagtctgccc tgactcagcc tgc 23

<210> 25
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 25
tcctatgtgc tgactcagcc acc 23

<210> 26
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 26

tcttctgagc tgactcagga ccc 23

<210> 27

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 27

cacgttatac tgactcaacc gcc 23

<210> 28

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 28

caggctgtgc tcactcagcc gtc 23

<210> 29

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 29

aattttatgc tgactcagcc cca 23

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 30

acgtttgatt tccaccttgg tccc 24

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 31

acgtttgatc tccagcttgg tccc 24

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 32

acgtttgata tccactttgg tccc 24

<210> 33

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 33

acgtttgatc tccaccttgg tccc 24

<210> 34

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 34

acgtttaatc tccagtcgtg tccc 24

<210> 35
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 35
cagtctgtgt tgacgcagcc gcc 23

<210> 36
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 36
cagtctgccc tgactcagcc tgc 23

<210> 37
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 37
tcctatgtgc tgactcagcc acc 23

<210> 38
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 38
tcttctgagc tgactcagga ccc 23

<210> 39
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 39
cacgttatac tgactcaacc gcc 23

<210> 40
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 40

caggctgtgc tcactcagcc gtc 23

<210> 41

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 41

aattttatgc tgactcagcc cca 23

<210> 42

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM005G08 scFv

<400> 42

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Glu Arg Pro Gly Gly
  1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
             20                  25                  30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
         35                  40                  45
```

Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Ile Leu Gly Ala Gly Arg Gly Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly

100 105 110

Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile

180 185 190

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

195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser

210 215 220

Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Thr Val Leu Gly

<210> 43
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> CM005A08 scFv

<400> 43
Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr His Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ser Ser Ser Arg Ser Ala Ala Tyr Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro

130 135 140

Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly

180 185 190

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

195 200 205

Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn

210 215 220

Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys

225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly

245

<210> 44

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM014C10 scFv

<400> 44

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Glu Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
             20                  25                  30

Thr Leu His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
         35                  40                  45

Gly Arg Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Asn Phe
     50                  55                  60

Gln Gly Arg Leu Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Thr Thr Ala Tyr
 65                  70                  75                  80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

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

Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly
145                 150                 155                 160

Gly Ser Asn Ile Gly Arg Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
```

165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Ile Leu Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Glu Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Thr Val Leu Gly
245

<210> 45
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> CM029B01 scFv

<400> 45
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Val His Arg Pro Gly Arg Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile

180 185 190

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

195 200 205

Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser

210 215 220

Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Thr Val Leu Gly

<210> 46
<211> 235
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> CM033D06 scFv

<400> 46
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Arg Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Ser Glu Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Asn Ser Gly Val Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asn Gly Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

```
Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

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

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Thr
145                 150                 155                 160

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Val Tyr
                165                 170                 175

Ala Lys Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
        195                 200                 205

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys His Ser Arg Asp Ser Ser Gly Trp Val
    210                 215                 220

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
225                 230                 235
```

<210> 47

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM013A11 scFv

<400> 47

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1   5   10   15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Pro Asp
            20   25   30

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

Gly Val Ile Ser Phe Asp Gly Ser Gln Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50   55   60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95

Ala Arg Ala Pro Ala Arg Phe Phe Pro Leu His Phe Asp Ile Trp Gly
            100   105   110

Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115   120   125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Ser Ser Glu Leu Thr Gln
    130   135   140

Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys
145   150   155   160

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr His Tyr Ala Ser Trp Tyr His Gln Arg
                165   170   175

Pro Gly Arg Ala Pro Val Leu Val Asn Tyr Pro Lys Asp Ser Arg Pro

180 185 190

Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala

195 200 205

Ser Leu Thr Ile Ile Gly Ala Gln Ala Ala Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr

210 215 220

Cys Gln Ser Arg Asp Ser Ser Gly Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys

225 230 235 240

Val Thr Val Leu Gly

245

<210> 48

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM013F04 scFv

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly

145 150 155 160

Thr Ser Ser Asp Ile Gly Asn Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln

165 170 175

His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Val Asn Glu Arg

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Asn Asn Ala Val Ile Phe Gly Gly Gly

225 230 235 240

Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly

245

<210> 49

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM088F10 scFv

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Phe Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Arg Ser Asp Ile Gly Gly Tyr

165 170 175

Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

180 185 190

Leu Ile Tyr Asp Val Tyr Asn Arg Pro Ser Gly Ile Ser Asp His Phe

195 200 205

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

210 215 220

Gln Ser Glu Asp Asp Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Tyr

225 230 235 240

His Thr Trp Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

245 250 255

<210> 50

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM084A02 scFv

<400> 50

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Val Asn Tyr
20 25 30

Phe Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Met Ile Asn Pro Ser Gly Gly Thr Thr Lys Asn Arg Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Arg Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Asp Phe Lys Gly Thr Asp Ile Leu Phe Arg Asp Trp Gly Arg
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

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

Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Ser Ile Ser Cys Ser Gly
145 150 155 160

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Ile Trp Tyr Gln Gln Leu
165 170 175

Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Met Tyr Ser Asn Asp Arg Arg Pro
180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala
195 200 205

Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly His Tyr Val Phe Gly Thr
225 230 235 240

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
245

<210> 51
<211> 243
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> CM087C06 scFv

<400> 51
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Ser Thr Phe Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

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

Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn
145 150 155 160

Ile Gly Ser Arg Pro Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala
165 170 175

Pro Lys Leu Leu Ile Gln Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro
180 185 190

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile
195 200 205

Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp
210 215 220

Asp Asp Ser Leu Thr Gly Tyr Val Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Thr
225 230 235 240

Val Leu Gly

<210> 52

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM055A01 scFv

<400> 52

```
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Ala Val Val Gln Pro Gly Arg
  1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
             20                  25                  30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Ile Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
     50                  55                  60

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

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

Ala Arg Glu Arg Leu Arg Gly Leu Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
```

115 120 125

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

Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser
145 150 155 160

Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
165 170 175

Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
180 185 190

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
195 200 205

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser
210 215 220

Gly Asn His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
225 230 235 240

<210> 53
<211> 243
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> CM085C11 scFv

<400> 53
Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ala Ser Gly Pro Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Met Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro

180 185 190

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

195 200 205

Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Leu Gly

<210> 54

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM089A03 scFv

<400> 54

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Phe Ile Pro Lys Phe Gly Thr Thr Asn His Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Asp Ser Thr Asn Thr Val 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 Gly Ala Tyr Cys Gly Gly Gly Arg Cys Tyr Leu Tyr Gly
            100                 105                 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ala
    130                 135                 140

Val Val Ile Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val
145                 150                 155                 160

Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly His Tyr
                165                 170                 175

Pro Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr Leu Ile
            180                 185                 190

Tyr Asp Thr Ser Asn Lys Arg Ser Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro
    210                 215                 220

Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Leu Val Ser Tyr Ser Gly Ser Leu
225                 230                 235                 240

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
                245                 250
```

<210> 55

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM075A01 scFv

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Lys Gly Ala Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Ala Leu Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu

```
    130                 135                 140

Ser Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Ser
145                 150                 155                 160

Val Ala Arg Asn Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala
                165                 170                 175

Pro Thr Ile Val Ile Tyr Glu Asp Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro
            180                 185                 190

Gly Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Arg Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu
        195                 200                 205

Thr Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220

Ser Tyr Asn Tyr Asn Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
225                 230                 235                 240

Val Leu Gly
```

<210> 56

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CM059H03 scFv

<400> 56

```
Glu 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 Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Asn Asn Tyr Arg Phe Gly Tyr Phe Asp Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Glu Thr Thr Leu Thr Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser

180 185 190

Arg Ala Ile Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg

245

<210> 57

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM005G08 scFv

<400> 57

gaggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggt gtggaacggc cggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatggca tgagctgggt ccgccaagct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctctggt attaattgga atggtggtag cacaggatat 180

gcagactctg tgaagggccg agtcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaatcctg 300

ggtgccggac ggggctggta cttcgatctc tgggggaagg ggaccacggt caccgtctcg 360

agtggtggag gcggttcagg cggaggtggc agcggcggtg gcggatcgtc tgagctgact 420

caggaccctg ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca ggatcacatg ccaaggagac 480

agcctcagaa gctattatgc aagctggtac cagcagaagc caggacaggc ccctgtactt 540

gtcatctatg gtaaaaacaa ccggccctca gggatcccag accgattctc tggctccagc 600

tcaggaaaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagatga ggctgactat 660

tactgtaact cccgggacag cagtggtaac catgtggtat tcggcggagg gaccaagctg 720

accgtcctag gt 732

<210> 58

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM005A08 scFv

<400> 58

gaggtgcagc tggtggagac cgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct atcactgtgc gagagggggt 300

tatagcagca gccggtccgc tgcttatgat atctggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360

tcttcaggtg gaggcggttc aggcggaggt ggcagcggcg gtggcggatc gtctgagctg 420

actcaggacc ctgctgtgtc tgtggccttg ggacagacgg tcaggatcac atgccaagga 480

gacagcctca gaagctatta tgcaagctgg taccagcaga agccaggaca ggcccctgta 540

cttgtcatct atggtaaaaa caaccggccc tcagggatcc cagaccgatt ctctggctcc 600

agctcaggaa acacagcttc cttgaccatc actggggctc aggcggaaga tgaggctgac 660

tattactgta actcccggga cagcagtggt aaccatgtgg tattcggcgg agggaccaag 720

ctgaccgtcc taggt 735

<210> 59

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM014C10 scFv

<400> 59

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagatt 60

tcctgcgagg gttctggata caccttcaat agttacactc tccattggtt gcgccaggcc 120

cccggacaga ggcttgagtg gatgggacgg atcaacgctg gcaatggtaa cacaaaatat 180
tcacagaact tccagggcag actcagcatt accagggaca catccgcgac cacagcctac 240
atggagttga gcagcctgag atctgaagac acgggtgttt attactgtgc gagggtcttc 300
acctactctt tcggaatgga cgtctggggc agaggaaccc tggtcaccgt ctcgagtgga 360
ggcggcggtt caggcggagg tggctctggc ggtggcggaa gtgcacagtc tgtgctgact 420
cagccaccct cagcgtctgg gacccccggg cagagggtca ccatctcttg ttctggaggc 480
ggttccaata tcggaaggaa ttctgtgtcc tggtaccagc aactcccagg gacggccccc 540
aaactcatct tgtatagcaa taatcagcgg ccctcagggg tccctgaccg attctctggc 600
tccaagtctg gcacgtcagc atccctggcc atcagtggac tccggtccga ggatgaggct 660
ctttattact gtgcagcatg ggatgacagc ctgagtggtg gcgtgttcgg cggagggacc 720
aagctgaccg tcctaggt 738

<210> 60
<211> 732
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding CM029B01 scFv

<400> 60
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtccac 300
aggccaggga ggagtggtta ttttgactac tggggccggg gtaccctggt caccgtctcc 360
tcaggtggag gcggttcagg cggaggtggc agcggcggtg gcggatcgtc tgagctgact 420
caggaccctg ctgtgtctgt ggccttggga cagacagtca ggatcacatg ccaaggagac 480
agcctcagaa gctattatgc aagctggtac cagcagaagc caggacaggc ccctgtactt 540
gtcatctatg gtaaaaacaa ccggccctca gggatcccag accgattctc tggctccagc 600
tcaggaaaca cagcttcctt gaccatcact ggggctcagg cggaagatga ggctgactat 660
tactgtaact cccgggacag cagtggtaac catgtggtat tcggcggagg gaccaagctg 720
accgtcctag gc 732

<210> 61

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM033D06 scFv

<400> 61

caggtacagc tgcagcagtc aggggccgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgagggtc 60

tcctgccagg cctctggata cagcctcagc gaatactata tccactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatggggtgg ctgaatccta acagtggtgt cacagactac 180

gcacagaagt ttcagggccg cgtctccatg accagggaca cgtcaatcag tacagcctac 240

atggaactga gtagtctgac ttttaacgac acggccgtct atttctgtgc gcggggtaat 300

ggcgactact ggggcaaagg aaccctggtc accgtctccc caggtggagg cggttcaggc 360

ggaggtggca gcggcggtgg cggatcgtct gagctgactc aggaccctgc tgtgtctgtg 420

gccttgggac agacagtcag gatcacttgc caaggagaca gtctcagaag ctattacaca 480

aactggttcc agcagaagcc aggacaggcc cctctacttg tcgtctatgc taaaaataag 540

cggccctcag ggatcccaga ccgattctct ggctccagct caggaaacac agcttccttg 600

accatcactg gggctcaggc ggaagatgag gctgactatt actgtcattc ccgggacagc 660

agtggttggg tgttcggcgg agggaccaag ctgaccgtcc taggt 705

<210> 62

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM013A11 scFv

<400> 62

caggtccagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cctgacgcca tgcactgggt ccgccaggct 120 ccaggcaagg ggctggagtg gatgggagtt atttcgtttg atggaagcca aacattctac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attcccagaa tacactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag atctgatgac acggctgtct attactgtgc gagagccccc 300

gcgcgttttt ttcctcttca ctttgacatc tggggccggg ggacaatggt caccgtctcg 360

agtggaggcg gcggttcagg cggaggtggc tctggcggtg gcggaagtgc actttcttct 420

gagctgactc aggaccctgc tgtgtctgtg gccttgggac agacagtccg gatcacctgc 480

cagggggaca gcctcagaac gcattatgca agctggtacc accagaggcc agggcgggcc 540

cctgtccttg tcaactatcc taaagacagt cggccctcgg ggatcccaga ccgattttct 600

ggctccagct caggcaacac agcttctttg accatcattg gggctcaggc ggcagatgag 660

ggtgactact attgtcagtc acgggacagc agtggtgttc ttttcggcgg agggaccaag 720

gtcaccgtcc taggt 735

<210> 63

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM013F04 scFv

<400> 63

gaggtgcagc tggtggagtc cgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggatttt 300

tctggctacg gtgactactt ggactactgg ggcaagggca ccctggtcac cgtctcgagt 360

ggaggcggcg gttcaggcgg aggtggctct ggcggtggcg gaagtgcaca atctgccctg 420

actcagcctc cctccgcgtc cggatctcct ggacagtcag tcaccatctc ctgcactggc 480

accagcagtg acattggtaa ttataactat gtctcctggt accaacaaca cccaggcaaa 540

gcccccaaac tcatgattta tgaagtcaat gagcggccct caggggtccc tgatcgcttc 600

tctggctcca agtctggcaa cacggcctcc ctgaccgtct ctgggctccg gcctgaggat 660

gaggctgatt attactgcag ctcatatgca ggcaacaacg ccgtaatttt cggcggaggg 720

acccagctca ccgtcctagg t 741

<210> 64

<211> 765

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM088F10 scFv

<400> 64

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcact acccatgcta tgcattgggt gcgccaggcc 120

cccggacaaa gccttgagtg gatgggatgg atcaacactg gcaatggtaa cacaaaatat 180

tcacagagtt tccagggcag agtcagcatt accagagaca catccgcgaa cacagcctac 240

atggaattga gcagccttaa atctgaagac acggctatgt attactgtgc gagggctagt 300

cgtgatagta gtggttatta ctacgttccc cccggcgatt tttttgatat ctggggccaa 360

ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt 420

ggcggaagtg cacagtctgc cctgactcag cctgcctccg tgtctgggtc tcctggacag 480

tcgatcacca tctcctgcac tggaagcaga agtgacattg gtggttataa ctttgtctcc 540

tggtaccaac aacacccagg caaagccccc aaactcctga tctatgatgt ctataatcgg 600

ccctcaggaa tttctgatca cttctctggc tccaagtctg acaacacggc ctccctgacc 660

atctctggcc tccagtctga ggacgacgct gattattact gcagttcata tgcaggctac 720

cacacctgga ttttcggcgg ggggaccaag gtcaccgtcc taggt 765

<210> 65

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM084A02 scFv

<400> 65

gaggtccagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaactt 60 tcctgcaagg catctggata caccccttgtc aactacttta tgcactgggt acgacaggcc 120

cctggacaag ggcctgagtg gatgggaatg atcaacccta gtggtggtac tacaaagaac 180

agacagaagt tccaggacag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag aacagtctat 240

atggagttga gtggtctgac atctgaagac acggccgtct attactgtgc gaccgacttt 300

aaggggaccg atattctctt ccgggactgg ggccggggca ccctggtcac cgtctcgagt 360

ggaggcggcg gttcaggcgg aggtggctct ggcggtggcg gaagtgcaca gtctgtgttg 420

acgcagccgc cctccgcgtc tgggaccccc gggcagaggg tctccatctc ttgttctggc 480

agcagctcca atatcggaag taatactgtc atctggtacc agcaactccc aggaacggcc 540

cccaaactcc tcatgtatag taatgatcgc cggccctcag ggtccctga ccgattctct 600

ggctccaagt ctggcacctc agcctccctg gccatcagtg ggctccagtc tgaggatgag 660

gctgattatt actgtgcaac atgggatgac agcctgaatg gccattatgt cttcggaact 720

gggaccaagc tgaccgtcct aggt 744

<210> 66

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM087C06 scFv

<400> 66

cagatgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgagctggat ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc aagaggagga 300

tccacttttg atatctgggg ccgggggaca atggtcaccg tctcgagtgg aggcggcggt 360

tcaggcggag gtggctctgg cggtggcgga agtgcacagc ctgtgctgac tcagccaccc 420

tcagcgtctg ggacccccgg gcagagggtc accatctctt gttctggaag caactccaac 480

atcggaagca ggcctgtaaa ttggtaccag cagctcccag gaacggcccc caaactcctc 540

attcaaggta acaatcagcg gccctcaggg gtccctgacc gattctctgg ctccaagtct 600

ggcacctcag cctccctggc catcagtggg ctccagtctg aggatgaggc tgattattac 660

tgtgcagctt gggatgacag cctgactggt tatgtcttcg gacctgggac caagctgacc 720 gtcctaggt 729

<210> 67

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM055A01 scFv

<400> 67

cagatgcagc tggtgcagtc tgggggagcc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cttctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtat taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaacgg 300

ttacggggcc tcgacccctg gggccagggg acaatggtca ccgtctcgag tggtggaggc 360

ggttcaggcg gaggtggcag cggcggtggc ggatcgtctg agctgactca ggaccctgct 420

gtgtctgtgg ccttgggaca gacagtcagg atcacatgcc aaggagacag cctcagaagc 480

tattatgcaa gctggtacca gcagaagcca ggacaggccc ctgtactcgt catctatggt 540

aaaaacaacc ggccctcagg gatcccagac cgattctctg gctccagctc aggaaacaca 600

gcttccttga ccatcactgg ggctcaggcg gaagatgagg ctgactatta ctgtaactcc 660

cgggacagca gtggtaacca tgtggtattc ggcggaggga ccaagctgac cgtcctaggt 720

<210> 68

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM085C11 scFv

<400> 68

gaggtgcagc tggtggagac cgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc ccctattaca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctagagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag tatatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccctat attactgtgc gagaggggca 300

tctggccctg actactgggg cagagggaca atggtcaccg tctcgagtgg aggcggcggt 360

tcaggcggag gtggctctgg cggtggcgga agtgcacagt ctgtgttgac gcagccgccc 420

tcagtgtctg cggccccagg acagaaggtc accatctcct gctctggaag cacctccaac 480

attgggaata attatgtatc ctggtaccag caggtcccag gaacagcccc caaactcctc 540

atttatgaca ataataagcg accctcaggg attcctgacc gattctctgg ctccaagtct 600

ggcacgtcag ccaccctggg catcaccggg ctccagactg gggacgaggc cgattattac 660

tgcggaacat gggatagtag cctgagtgct ctggtattcg gcggagggac caaggtcacc 720

gtcctaggt 729

<210> 69

<211> 759

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> DNA encoding CM089A03 scFv

<400> 69

caggtacagc tgcagcagtc aggggctgag gtgaagaccc ctgggtcctc ggtgaaagtc 60

tcctgcaagg cttctggagg caccttcagg aacaacgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag gccttgagtg gatgggaggg ttcatcccta agtttggaac aacaaaccac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacgatg accgcggacg actccacgaa cacagtctac 240

atggaactga gcagtctgag atctgaggac acggccgtgt attattgtgc gaggggggc 300

gcatattgtg gtggtggtag atgctatctt tacggtatgg acgtctgggg ccagggaacc 360

ctggtcaccg tctcgagtgg aggcggcggt tcaggcggag gtggctctgg cggtggcgga 420

agtgcacagg ctgtggtgat ccaggagccc tcactgactg tgtccccagg agggacagtc 480

actctcacct gtggctccag cactggagct gtcaccagtg gtcattatcc ctactggttc 540

cagcagaagc ctggccaagc ccccaggaca ctgatttatg acacaagtaa taaacgctcc 600

tggacccctg cccggttctc aggctccctc cttgggggca aagctgccct gaccctttcg 660

ggtgcgcagc ctgaggatga ggctgaatat tactgcttgg tctcctatag tggttctctt 720 gtggtattcg gcggagggac caagctgacc gtcctaggt 759

<210> 70
<211> 729
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding CM075A01 scFv

<400> 70
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgt caaaggagct 300
tggcttgact actggggccg ggggacaatg gtcaccgtct cgagtggagg cggcggttca 360
ggcggaggtg gctctggcgg tggcggaagt gcacttaatt ttatgctgac tcagccccac 420
tctgtgtcgg agtctccggg gaagacggta accatctcct gcaccggcag cagtggcagt 480
gttgccagaa actatgtgca gtggtaccaa cagcgcccgg gcagtgcccc caccattgtt 540
atttatgagg ataaccgaag accctctggg gtccctggtc ggttctctgg ctccatcgac 600
aggtcctcca attctgcctc cctcaccatc tcaggactgc agactgagga cgaggctgac 660
tactactgtc agtcttataa ttacaacact tgggtgttcg gcggagggac caagctgacc 720
gtcctaggt 729

<210> 71
<211> 741
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding CM059H03 scFv

<400> 71

gaagtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaggg cttctggtta cacctttacc agctacggta tcacctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggaaa gacaaactat 180

gtacaggagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240

atggagctga cgagcctgag atctgacgac acggccgtat attactgtgc gagacgggga 300

aacaactata ggttcggtta ttttgacttc tggggccagg gcaccctggt caccgtctcg 360

agtggaggcg gcggttcagg cggaggtggc tctggcggtg gcggaagtgc acttgaaacg 420

acactcacgc agtctccagg caccctgtct ttgtctccag gggaaagagc caccctctcc 480

tgcagggcca gtcagagtat tagtagcagt aacttagcct ggtaccagca gaaacctggc 540

cgggctccca ggctcctcat ctatggtgcg tccagcaggg ccattggcat cccagacagg 600

ttcagtggca gtgggtctgg gacagacttc actctcacca tcagcagact ggaggctgaa 660

gattttgcag tgtattactg tcagcagtat ggtagctctc cgatcacctt cggccaaggg 720

acacgactgg agattaaacg t 741

<210> 72

<211> 281

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys

1 5 10 15

Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala

20 25 30

Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys

35 40 45

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

50 55 60

Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val

65 70 75 80

Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser

85 90 95

Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro

100 105 110

Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly

115 120 125

Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu

130 135 140

Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly

145 150 155 160

His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile

165 170 175

His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe

180 185 190

Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln

195 200 205

Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys

210 215 220

Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr

225 230 235 240

Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile

245 250 255

Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala

260 265 270

Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly

275 280