



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0093751
(43) 공개일자 2024년06월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) A61K 45/06 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 45/06 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7016376(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년12월19일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2019-7020530
원출원일자(국제) 2017년12월19일
심사청구일자 2020년12월17일
- (85) 번역문제출일자 2024년05월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2017/058159
- (87) 국제공개번호 WO 2018/116178
국제공개일자 2018년06월28일
- (30) 우선권주장
62/437,622 2016년12월21일 미국(US)
62/520,854 2017년06월16일 미국(US)

- (71) 출원인
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
- (72) 발명자
웬, 벤
미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펄서날 지노믹스, 인크. 내
보이타노, 앤서니 이.
미국 92129 캘리포니아주 샌디에고 캘버리 코트 13037
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이상영

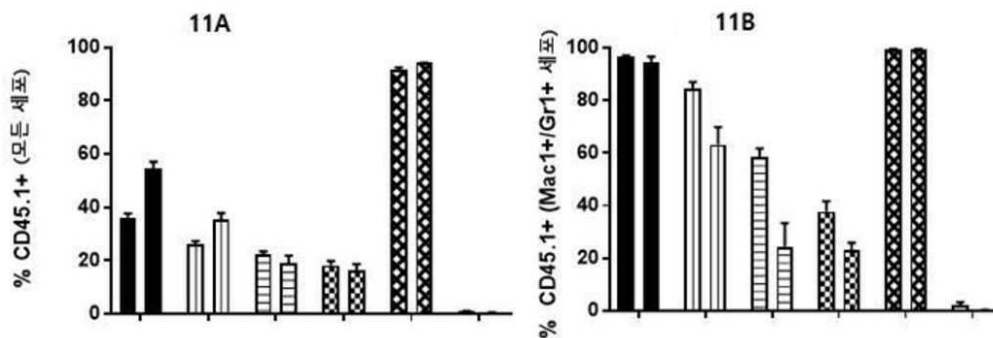
전체 청구항 수 : 총 50 항

(54) 발명의 명칭 조혈줄기세포를 제거하기 위한 항체 약물 접합체

(57) 요약

본 발명은 항체 약물 접합체를 제공하는데, 이때, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편은 약물 모이어티에, 선택적으로 링커를 통해, 결합된다. 또한, 본 발명은 항체 약물 접합체를 포함하는 약학적 조성물 및 이의 제조 방법 및 필요로 하는 환자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위하여 이러한 약학적 조성물을 이용하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도11



(52) CPC특허분류

A61K 47/6817 (2017.08)

A61K 47/6889 (2017.08)

A61P 43/00 (2018.01)

C07K 16/2803 (2013.01)

(72) 발명자

버거, 매튜

미국 02139 매사추세츠주 캠프리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내

셀리티, 수잔 이.

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크. 내

쿠크, 마이클 피.

미국 02445 매사추세츠주 브루클라인 유니버시티 애비뉴 135 #1

피너, 카트린

독일 82152 플라네그 제멜바이스트라쎄 7 모르포시스 아게 내

가이에르스탄거, 베른하르트 휴베르트

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크. 내

진, 윤호

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크. 내

리-희폴리히, 시 뚜엔

미국 02139 매사추세츠주 캠프리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 내

팜, 홍응옥 티

미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크. 내

슬라이어, 슈 호

미국 94530 캘리포니아주 엘세리토 몬테 비스타 애비뉴 2649

티소트, 카트린

독일 82152 플라네그 제멜바이스트라쎄 7 모르포시스 아게 내

우노, 테츠오

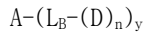
미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 디비에이 지노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치 파운데이션 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 지노믹스, 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I의 집합체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염;



[화학식 I]

(화학식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고;

L_B 는 링커이고;

D는 세포독성제이고;

n은 1 내지 10의 정수이고,

y는 1 내지 10의 정수임).

청구항 2

제1항에 있어서, n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8인, 집합체.

청구항 3

제1항에 있어서, y는 1, 2, 3 또는 4인, 집합체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 D는 아우리스타틴, 아마니틴, 메이탄시노이드 또는 사포린으로부터 독립적으로 선택된 세포독성제인, 집합체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 D는 아우리스타틴, 아마니틴 또는 메이탄시노이드로부터 독립적으로 선택된 세포독성제인, 집합체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 D는 아우리스타틴 또는 아마니틴으로부터 독립적으로 선택된 세포독성제인, 집합체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L_B 는 절단 가능한 링커 또는 절단 불가능한 링커로부터 독립적으로 선택되는 것인, 집합체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L_B 는 절단 가능한 링커인, 집합체.

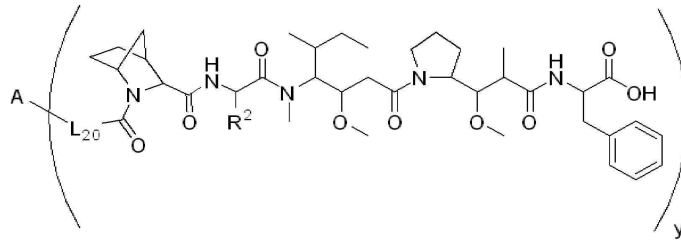
청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L_B 는 절단 불가능한 링커인, 집합체.

청구항 10

화학식 C의 구조를 갖는 접합체:

[화학식 C]



(화학식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고;

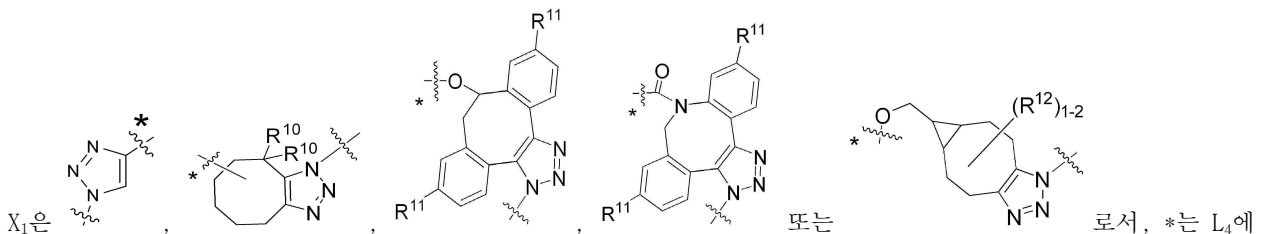
y는 1 내지 10의 정수이고;

R^2 는 C_1 - C_6 알킬이고;

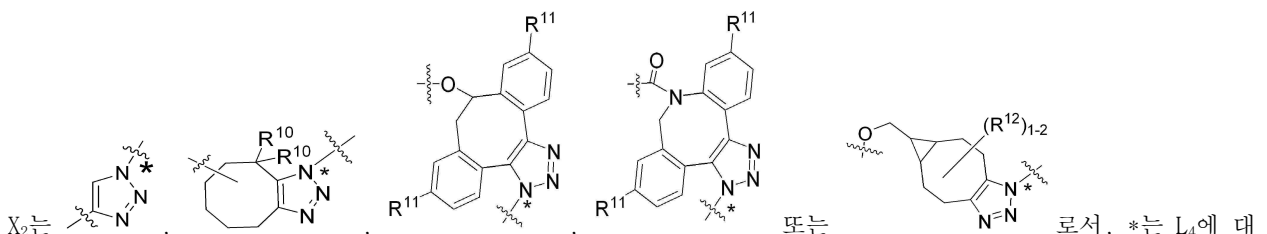
L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고;

L_1 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mX_1(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $X_3X_4C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mC(R_7)_2-$, $-(CH_2)_mC(R_7)_2SS(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$ 또는 $-(CH_2)_mX_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;

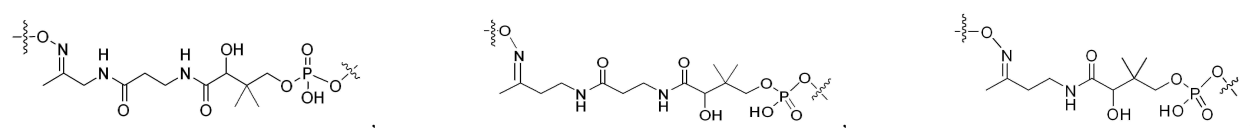
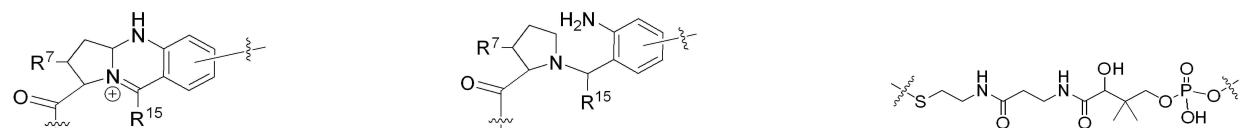
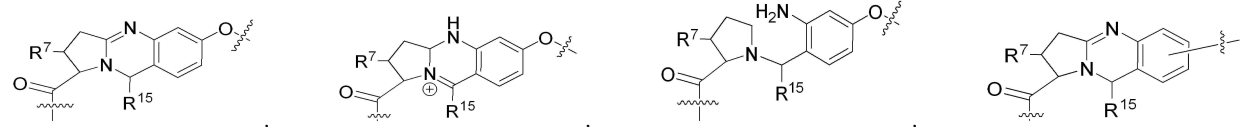
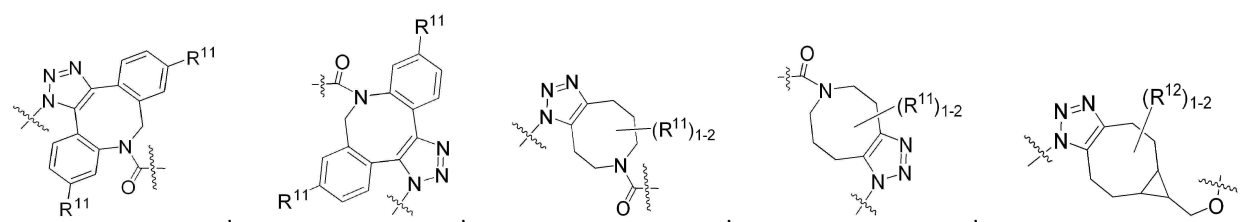
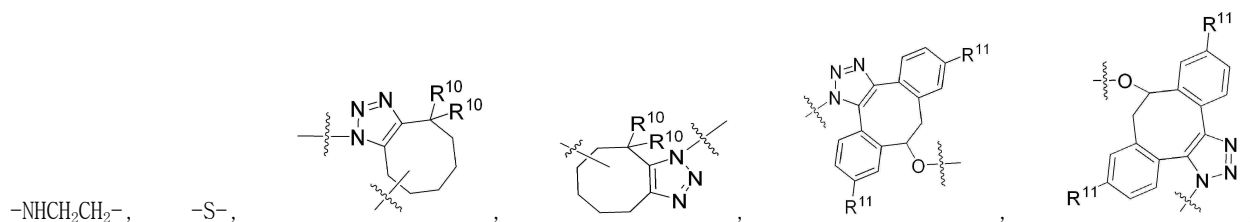
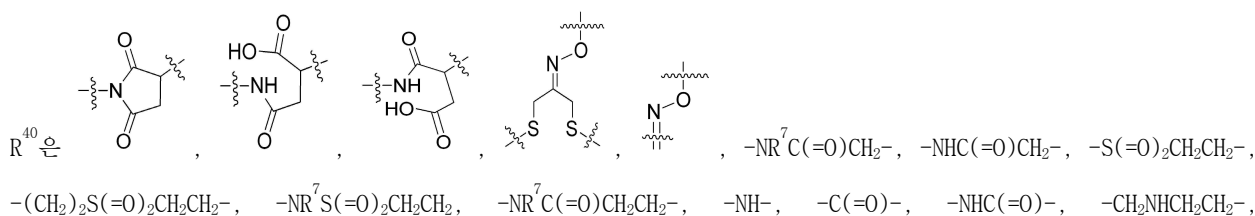
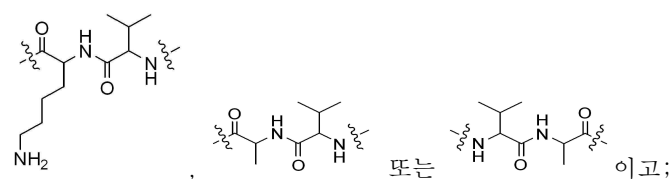
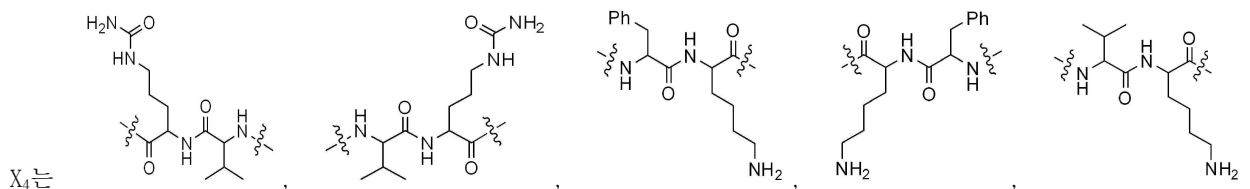
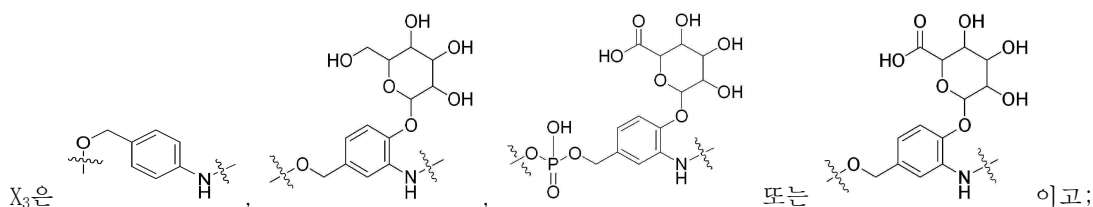
L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;

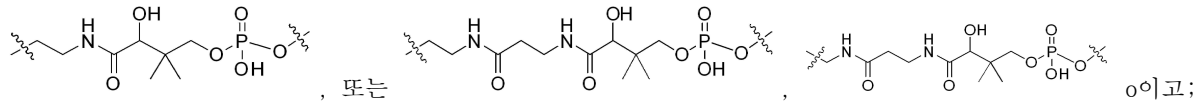


대한 부착점을 나타내고;



한 부착점을 나타내고;





각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R^{12} 는 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

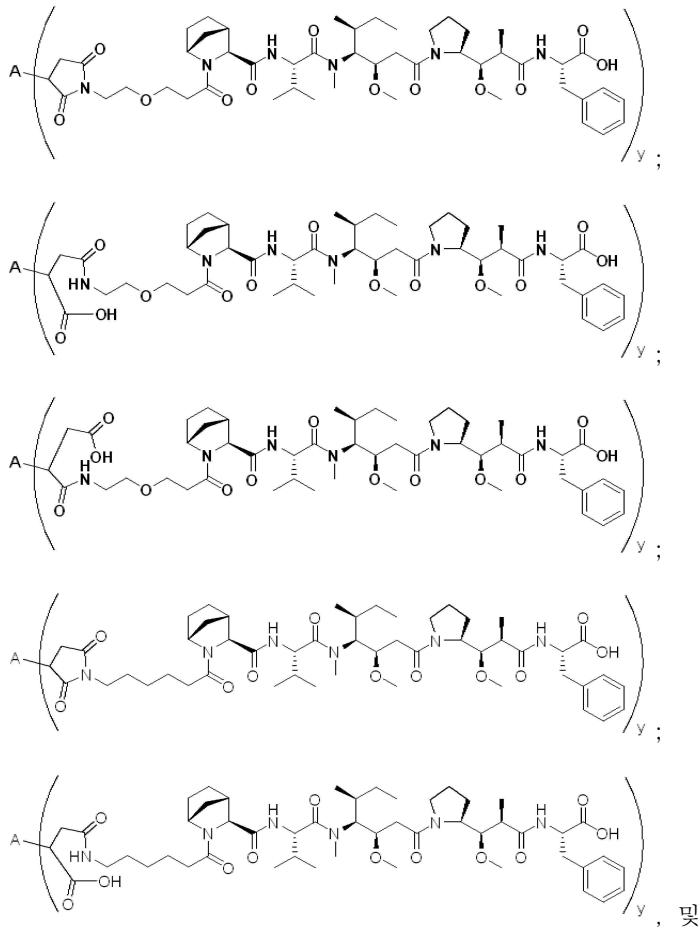
각각의 R^{15} 는 H, -CH₃ 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

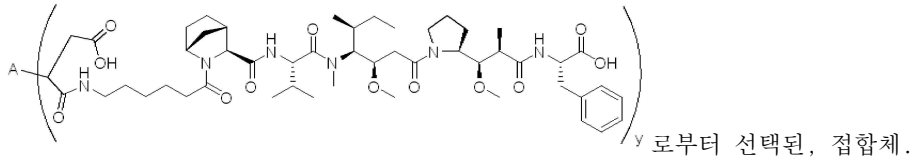
각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

청구항 11

제10항에 있어서,

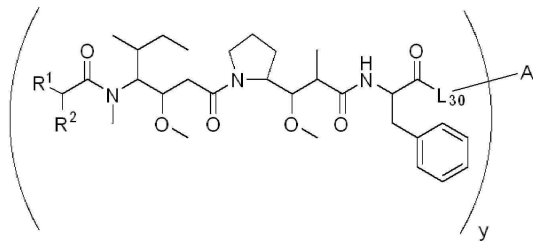




청구항 12

화학식 D의 구조를 갖는 집합체:

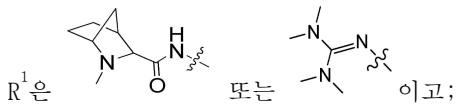
[화학식 D]



(화학식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고;

y는 1 내지 10의 정수이고;

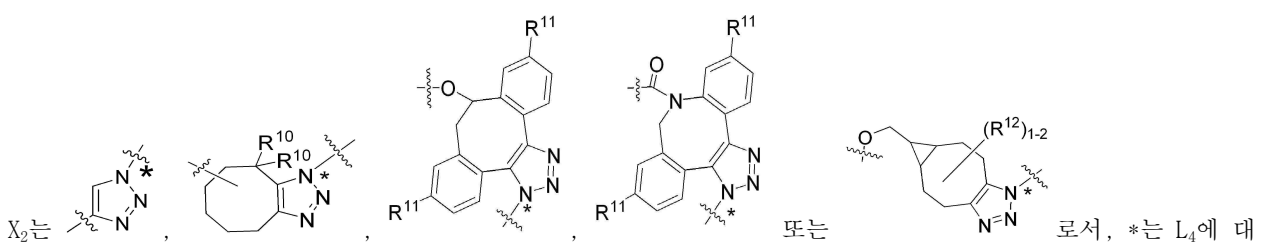
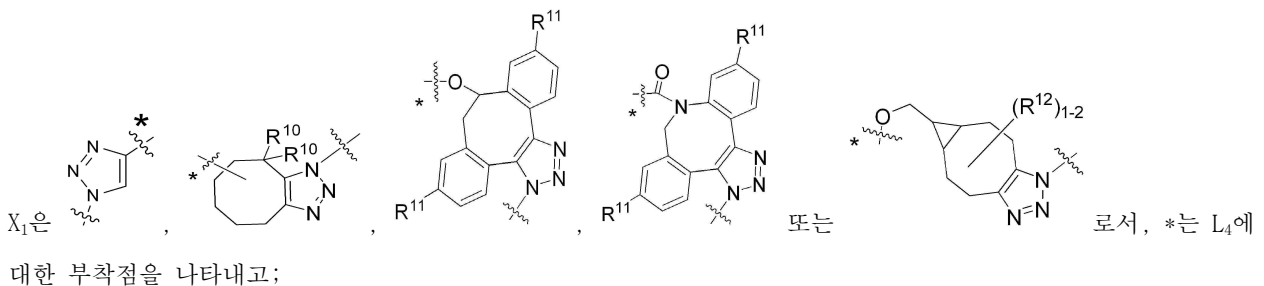


R^2 는 C_1 - C_6 알킬이고;

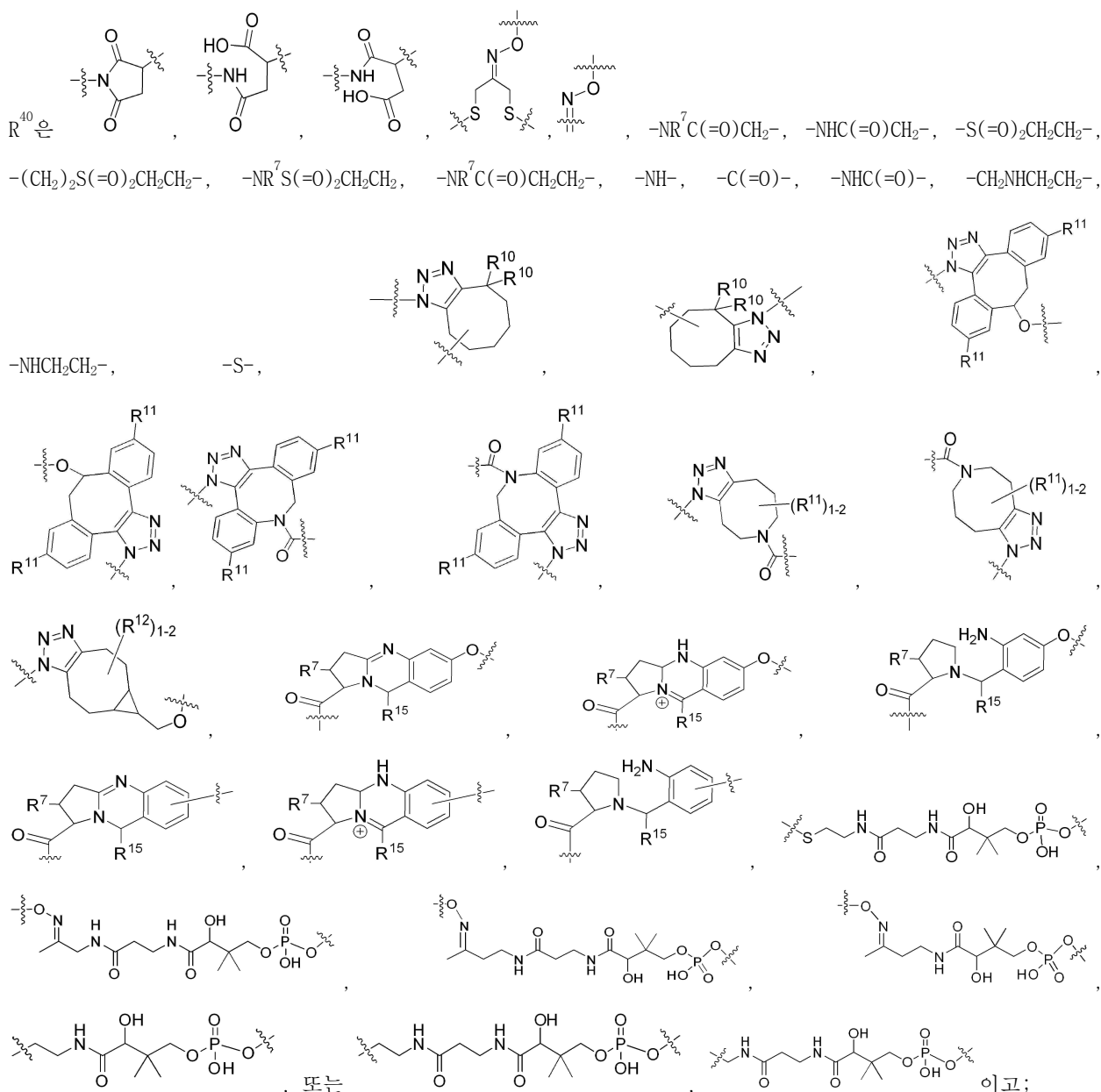
L_{30} 은 $-L_5R^{40}$ 이고;

L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;

L_5 는 $-NHS(=O)_2(CH_2)_mX_1L_4$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-NH(CH_2)_m-$, $-NH(CH_2)_mX_1(CH_2)_m-$, $-NH(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-NH(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $-NH(CH_2)_nC(R_7)_2-$, $-NH(CH_2)_mC(R_7)_2SS(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$ 또는 $-NH(CH_2)_mX_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;



한 부착점을 나타내고;



각각의 R⁷은 H 및 C₁-C₆알킬로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R¹⁰은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R¹¹은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 R¹²는 H, C₁₋₆알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알킬로부터 독립적으로 선택되고;

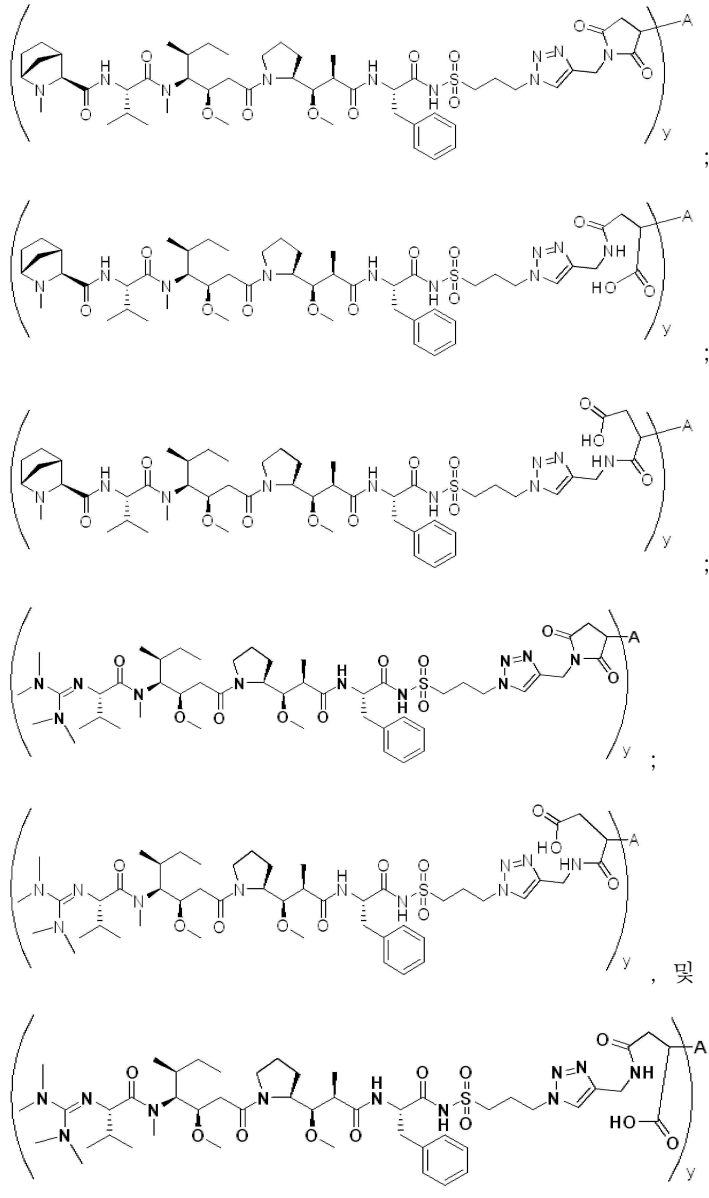
각각의 R¹⁵는 H, -CH₃ 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

각각의 m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

청구항 13

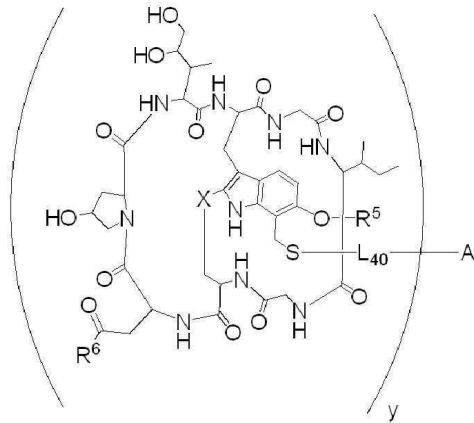
제12항에 있어서,



청구항 14

화학식 E의 구조를 갖는 접합체:

[화학식 E]



(화학식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고;

y는 1 내지 10의 정수이고;

X는 S(=O), S(=O)₂ 또는 S이고;

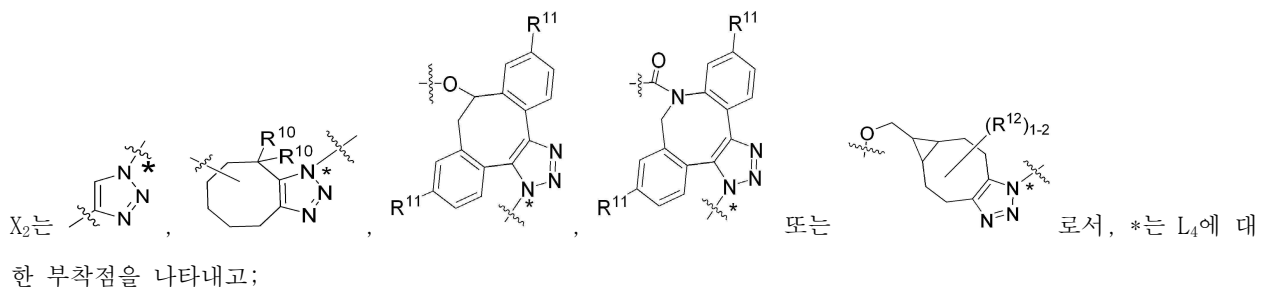
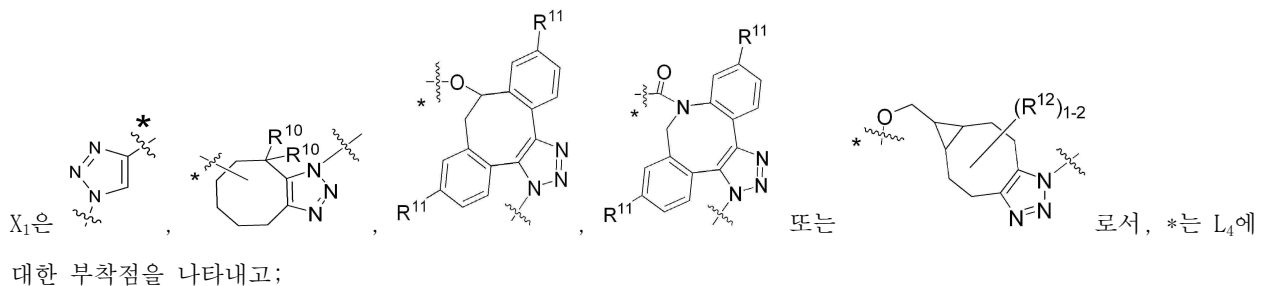
R⁵는 H, -CH₃ 또는 -CD₃이고;

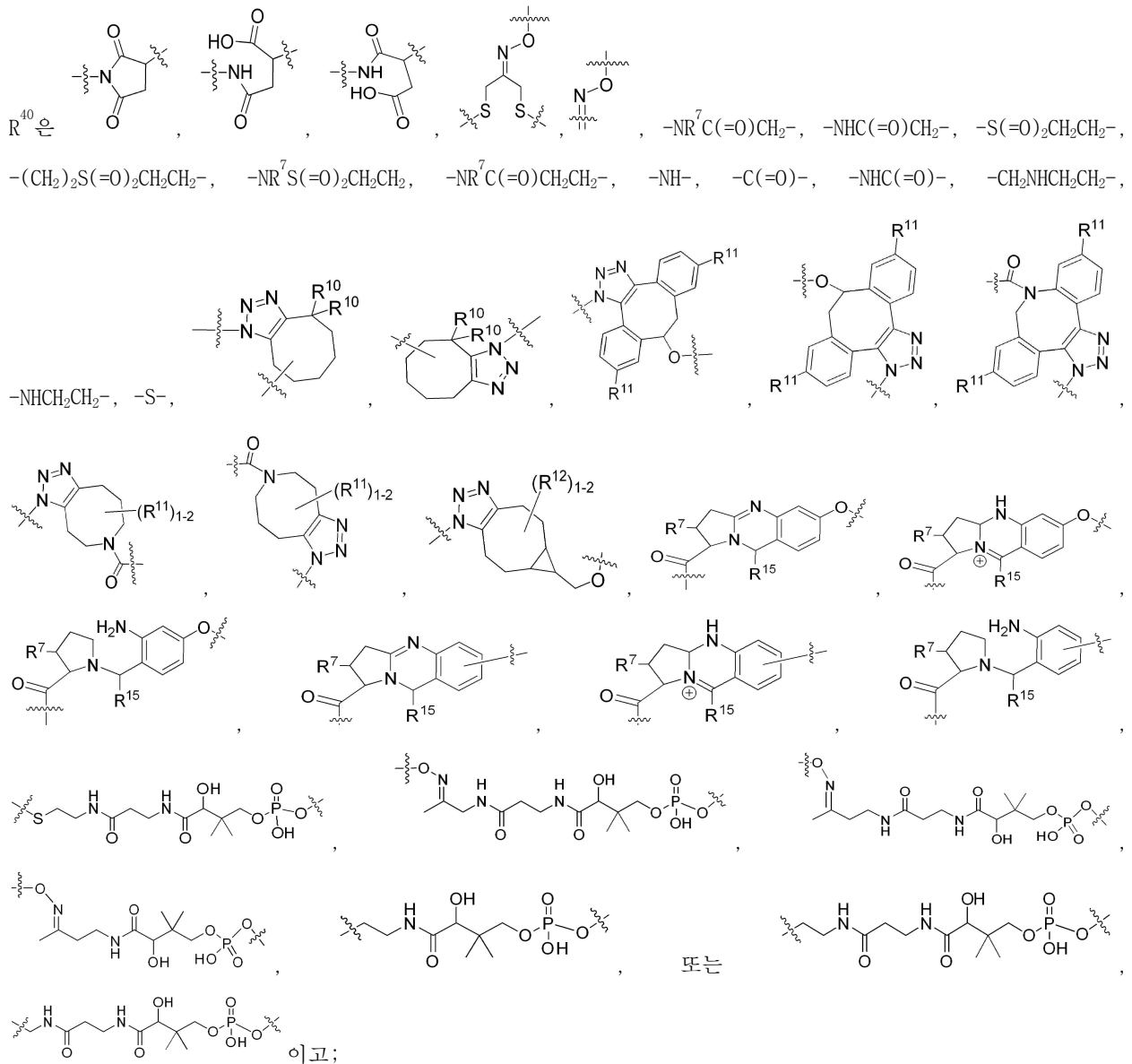
R⁶은 -NH₂ 또는 -OH이고;

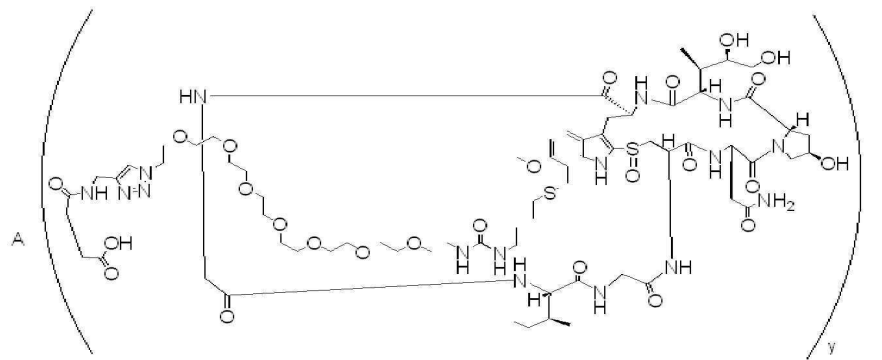
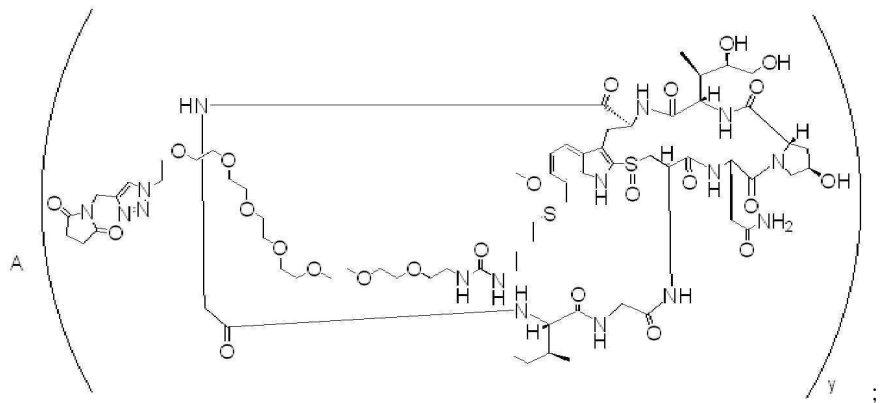
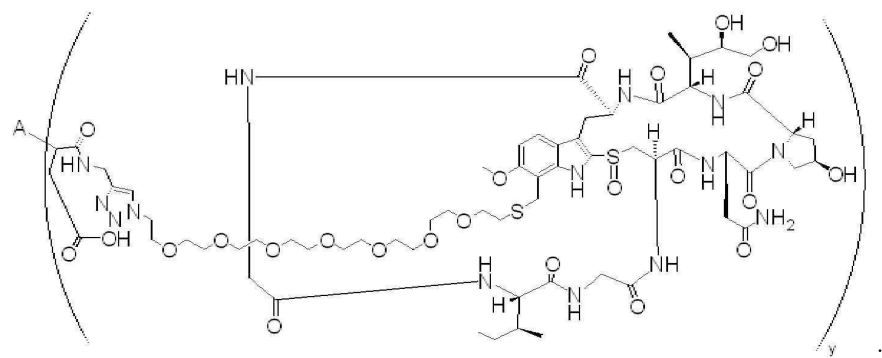
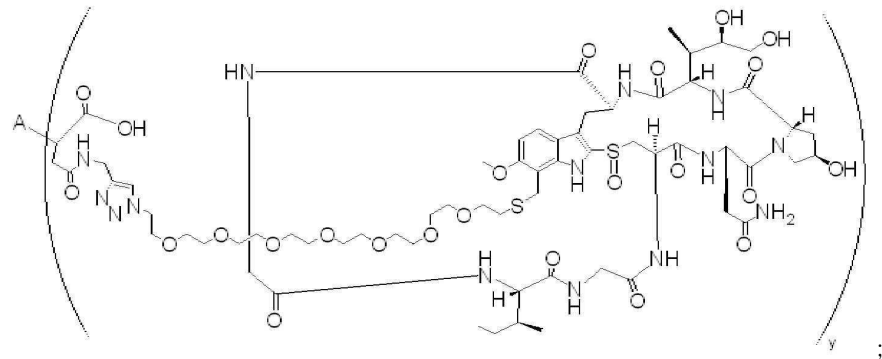
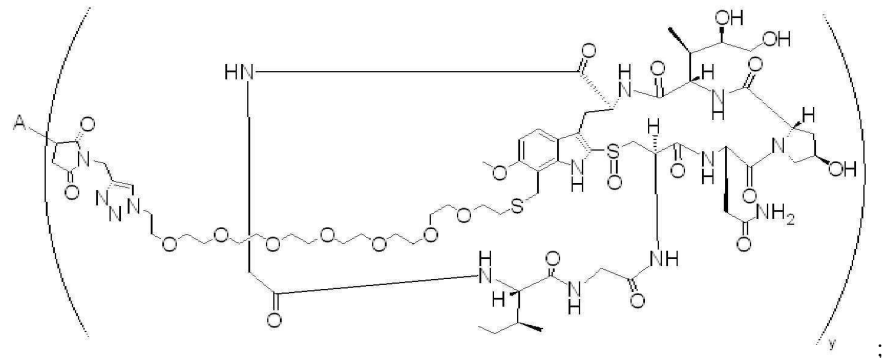
L₄₀은 -L₆R⁴⁰이고;

L₆은 $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-\text{L}_4\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-\text{L}_4\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_1(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2-$ 또는 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ 이고;

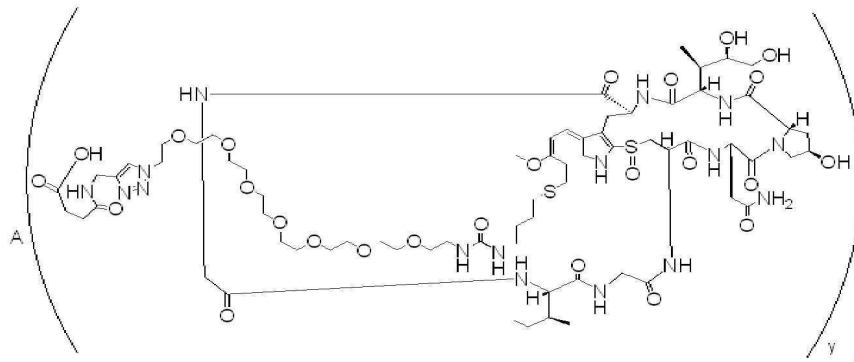
L₄는 $-(\text{CH}_2)_m$ 이고;







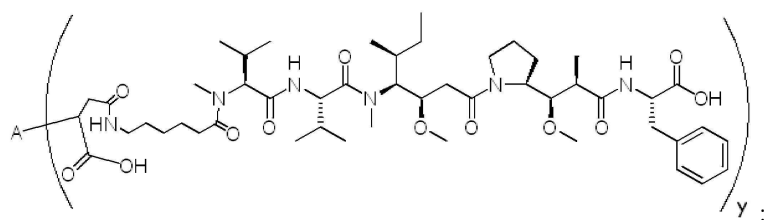
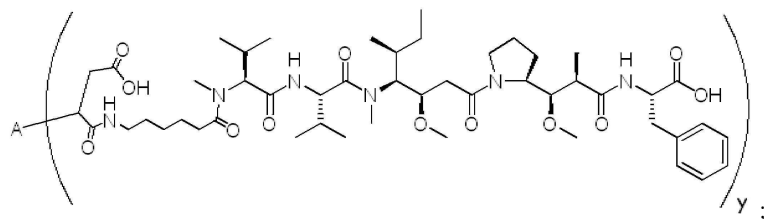
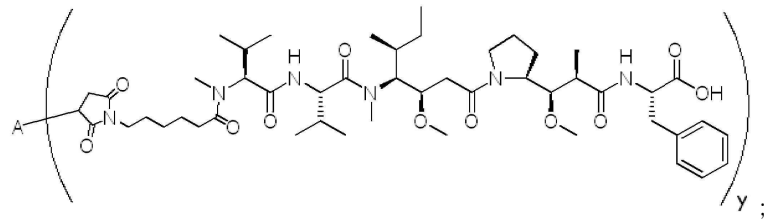
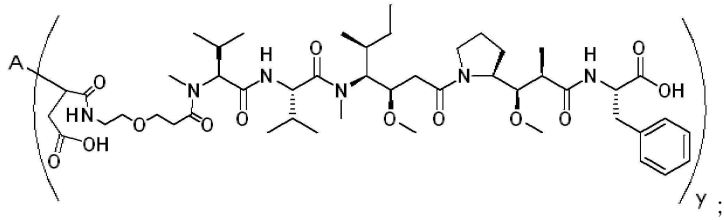
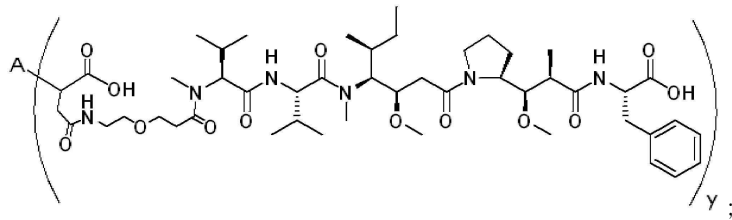
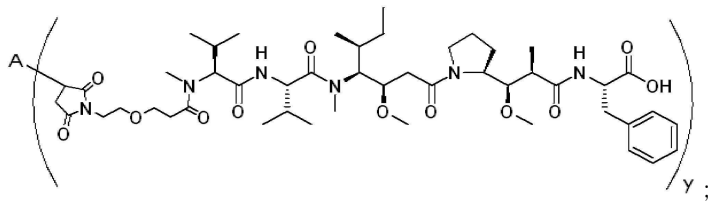
및

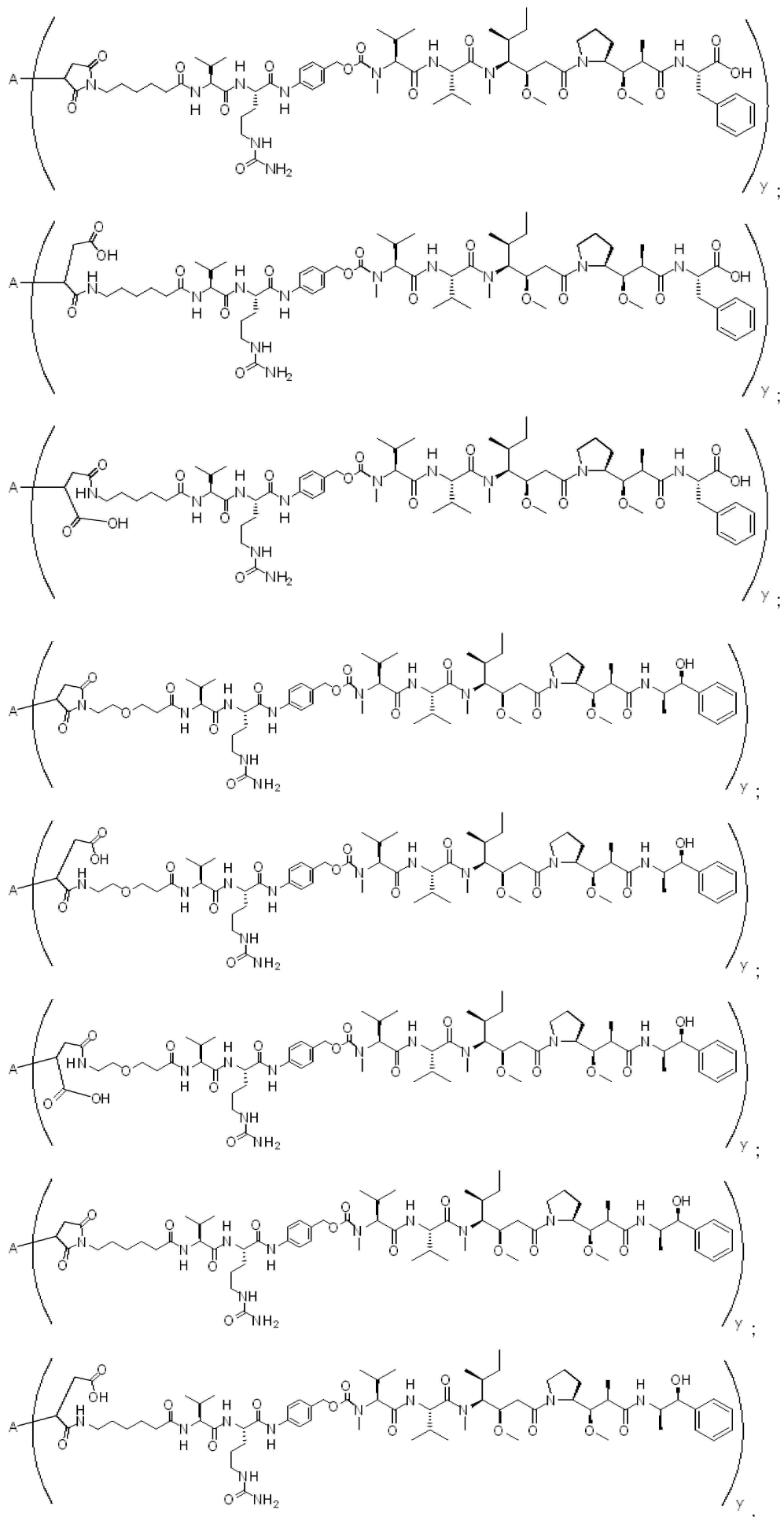


로부터 선택된, 접합체.

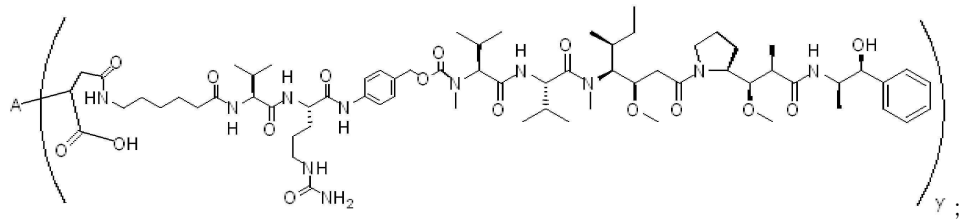
청구항 16

다음으로부터 선택된 접합체:





및



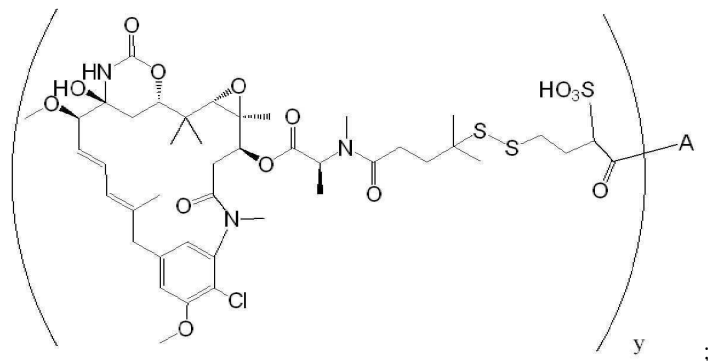
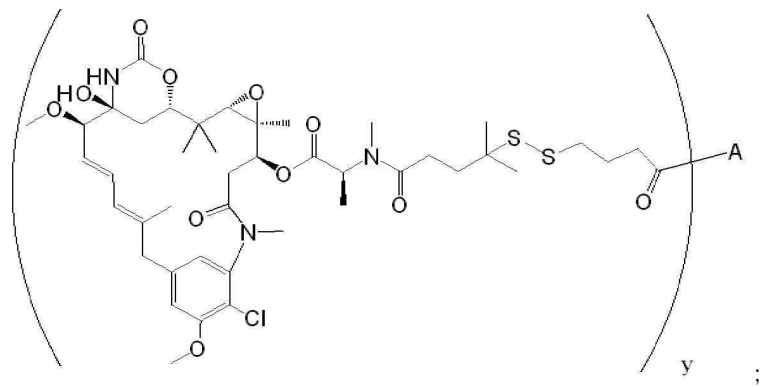
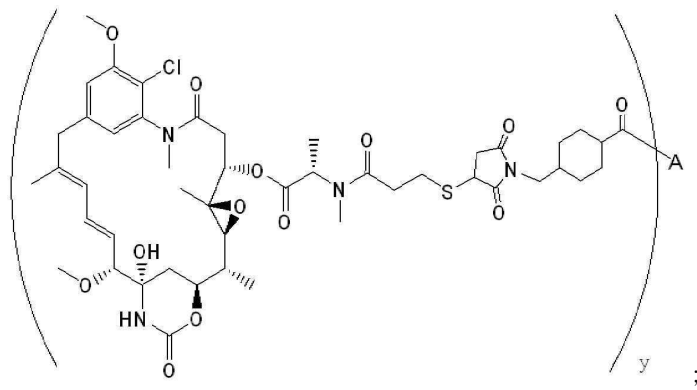
(화학식에서,

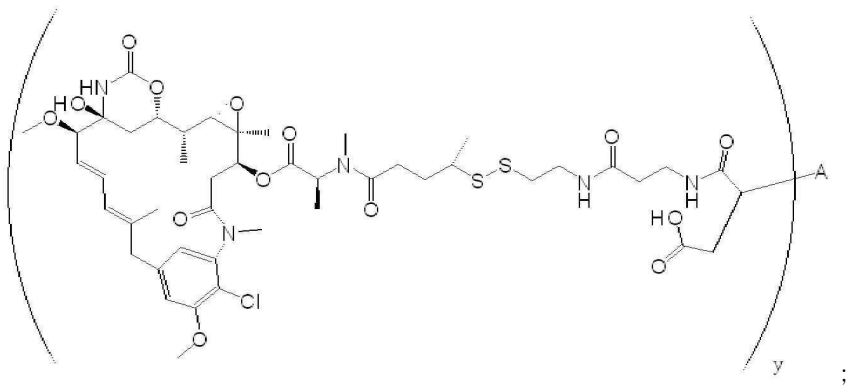
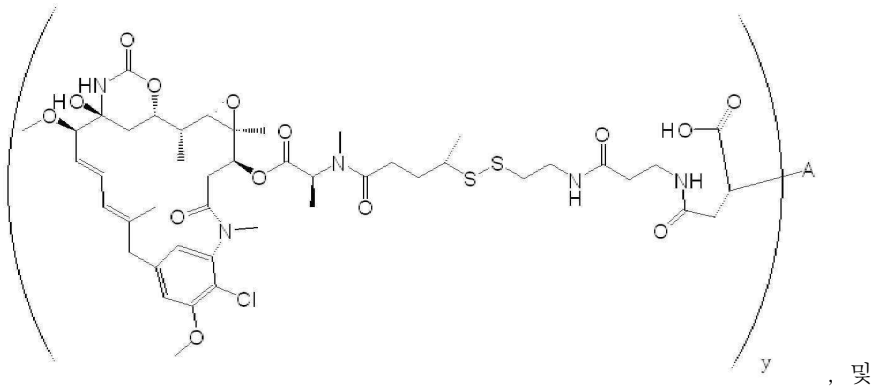
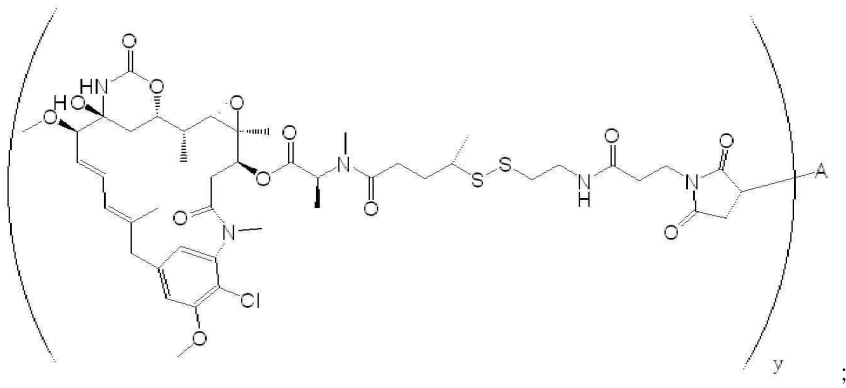
A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고,

y는 1 내지 10의 정수임).

청구항 17

다음으로부터 선택된 집합체:





(화학식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고,

y는 1 내지 10의 정수임).

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 인간 cKIT의 세포 외 도메인(서열번호 112)에 특이적으로 결합하는 것인, 접합체.

청구항 19

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 인간 cKIT의 도메인 1 내지 3의 에피토프(서열번호 113)에 특이적으로 결합하는 것인, 접합체.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 Fab 또는 Fab'인, 접합체.

청구항 21

제1항 내지 제17항 또는 제20항 중 임의의 항에 있어서, 항체 단편은 다음 중 임의의 것으로부터 선택되는

것인, 집합체:

- (1) (i) (a) 서열번호 1의 HCDR1(중쇄 상보성 결정 영역 1), (b) 서열번호 2의 HCDR2(중쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3(중쇄 상보성 결정 영역 3)을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 16의 LCDR1(경쇄 상보성 결정 영역 1), (e) 서열번호 17의 LCDR2(경쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3(경쇄 상보성 결정 영역 3)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (2) (i) (a) 서열번호 4의 HCDR1, (b) 서열번호 5의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 19의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 21의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (3) (i) (a) 서열번호 6의 HCDR1, (b) 서열번호 2의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 16의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (4) (i) (a) 서열번호 7의 HCDR1, (b) 서열번호 8의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 9의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 22의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (5) (i) (a) 서열번호 27의 HCDR1, (b) 서열번호 28의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 29의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 42의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 43의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (6) (i) (a) 서열번호 30의 HCDR1, (b) 서열번호 31의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 29의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 44의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 45의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (7) (i) (a) 서열번호 32의 HCDR1, (b) 서열번호 28의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 29의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 42의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 43의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (8) (i) (a) 서열번호 33의 HCDR1, (b) 서열번호 34의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 35의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 46의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 43의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (9) (i) (a) 서열번호 1의 HCDR1, (b) 서열번호 51의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 16의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (10) (i) (a) 서열번호 4의 HCDR1, (b) 서열번호 52의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 19의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 21의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (11) (i) (a) 서열번호 6의 HCDR1, (b) 서열번호 51의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 16의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (12) (i) (a) 서열번호 7의 HCDR1, (b) 서열번호 53의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 9의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 22의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (13) (i) (a) 서열번호 60의 HCDR1, (b) 서열번호 61의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 75의 LCDR1, (e) 서열번호 76의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 77의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (14) (i) (a) 서열번호 63의 HCDR1, (b) 서열번호 64의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 78의 LCDR1, (e) 서열번호 79의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 80의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';

- (15) (i) (a) 서열번호 65의 HCDR1, (b) 서열번호 61의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 75의 LCDR1, (e) 서열번호 76의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 77의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (16) (i) (a) 서열번호 66의 HCDR1, (b) 서열번호 67의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 68의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 81의 LCDR1, (e) 서열번호 79의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 77의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (17) (i) (a) 서열번호 86의 HCDR1, (b) 서열번호 87의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 88의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 101의 LCDR1, (e) 서열번호 102의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (18) (i) (a) 서열번호 89의 HCDR1, (b) 서열번호 90의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 88의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 104의 LCDR1, (e) 서열번호 105의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 106의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (19) (i) (a) 서열번호 91의 HCDR1, (b) 서열번호 87의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 88의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 101의 LCDR1, (e) 서열번호 102의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (20) (i) (a) 서열번호 92의 HCDR1, (b) 서열번호 93의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 94의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 107의 LCDR1, (e) 서열번호 105의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (21) 서열번호 10을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열번호 23을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (22) 서열번호 36을 포함하는 VH 및 서열번호 47을 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (23) 서열번호 54를 포함하는 VH 및 서열번호 23을 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (24) 서열번호 69를 포함하는 VH 및 서열번호 82를 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (25) 서열번호 95를 포함하는 VH 및 서열번호 108을 포함하는 VL을 포함하는 Fab 또는 Fab';
- (26) 서열번호 14를 포함하는 중쇄 및 서열번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';
- (27) 서열번호 40을 포함하는 중쇄 및 서열번호 49를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';
- (28) 서열번호 58을 포함하는 중쇄 및 서열번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';
- (29) 서열번호 73을 포함하는 중쇄 및 서열번호 84를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';
- (30) 서열번호 99를 포함하는 중쇄 및 서열번호 110을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab';
- (31) 서열번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열번호 122를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (32) 서열번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열번호 123을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (33) 서열번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열번호 128을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (34) 서열번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열번호 129를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (35) 서열번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열번호 134를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (36) 서열번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열번호 135를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (37) 서열번호 136을 포함하는 중쇄 및 서열번호 140을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (38) 서열번호 141을 포함하는 중쇄 및 서열번호 145를 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (39) 서열번호 119, 120 또는 121로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;
- (40) 서열번호 125, 126 또는 127로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 49의 아미노산 서

열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(41) 서열번호 131, 132 또는 133으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab;

(42) 서열번호 137, 138 또는 139로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab; 또는

(43) 서열번호 142, 143 또는 144로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 Fab.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 인간 또는 인간화 Fab 또는 Fab'인, 접합체.

청구항 23

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 Fab'이고, 링커(L_B)는 Fab'의 힌지 영역의 네이티브 시스테인 잔기에 부착된 것인, 접합체.

청구항 24

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 불변 영역 내로 도입된 적어도 하나의 비 네이티브 시스테인을 포함하고, 링커(L_B)는 비 네이티브 시스테인에 부착된 것인, 접합체.

청구항 25

제10항 또는 제11항 또는 제14항 또는 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 Fab'이고, L₂₀은 Fab'의 힌지 영역의 네이티브 시스테인 잔기에 부착된 것인, 접합체.

청구항 26

제10항 또는 제11항 또는 제14항 또는 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 불변 영역 내로 도입된 적어도 하나의 비 네이티브 시스테인을 포함하고, L₂₀은 비 네이티브 시스테인에 부착된 것인, 접합체.

청구항 27

제12항 또는 제13항에 있어서, 항체 단편은 Fab'이고, L₃₀은 Fab'의 힌지 영역의 네이티브 시스테인 잔기에 부착된 것인, 접합체.

청구항 28

제12항 또는 제13항에 있어서, 항체 단편은 불변 영역 내로 도입된 적어도 하나의 비 네이티브 시스테인을 포함하고, L₃₀은 비 네이티브 시스테인에 부착된 것인, 접합체.

청구항 29

제24항, 제26항 또는 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 단편은 다음 위치 중 하나 이상에 시스테인을 포함하는 것인, 접합체(모든 위치는 EU 넘버링에 의한 것임):

- (a) 중쇄의 위치 152,
- (b) 카파 경쇄의 위치 114 또는 165, 또는
- (c) 람다 경쇄의 위치 143.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 접합체의 반감기가 약 24 내지 48시간 미만인, 접합체.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 비만세포 탈과립을 유도하지 않는, 접합체.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 33

제32항에 있어서, 또 다른 치료제를 더 포함하는 약학적 조성물.

청구항 34

제32항에 있어서, 조성물은 동결건조물인, 약학적 조성물.

청구항 35

필요로 하는 환자에서 조혈줄기세포를 제거하는 방법으로, 환자에 유효량의 제1항 내지 제31항 중 임의의 항의 접합체 또는 제32항 또는 제33항의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 환자는 조혈줄기세포 이식 수용자인 것인, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 방법은 환자에 대한 조혈줄기세포 이식 전에 수행되는 것인, 방법.

청구항 38

조혈줄기세포 이식 환자의 컨디션 조절 방법으로, 유효량의 제1항 내지 제31항 중 임의의 항의 접합체 또는 제32항 또는 제33항의 약학적 조성물을 투여하는 단계, 및 환자에 조혈줄기세포 이식을 수행하기 전에 충분한 시간을 허용하여 접합체가 환자의 순환으로부터 제거되게 하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 39

제35항 내지 제38항 중 임의의 항에 있어서, 환자는 유전성 면역결핍 질환, 자가면역 장애, 조혈 장애, 또는 선천 대사장애를 앓는 것인, 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 조혈 장애는 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프모구 백혈병(ALL), 급성 단핵구 백혈병(AMoL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 림프성 백혈병(CLL), 골수증식 질환, 골수형성이상 증후군, 다발 골수종, 비호지킨 림프종, 호지킨병, 재생불량 빈혈, 진정 적혈구계 무형성증, 발작성 야간 헤모글로빈뇨증, 판코니 빈혈, 증중성 지중해빈혈, 겸상 적혈구빈혈, 증중 복합 면역결핍병, 비스코트 올드리치 증후군, 적혈구포식성 림프조직구증으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 41

제39항에 있어서, 선천 대사장애는 점액 다당류증, 고세병, 이염색백색질장애, 또는 부신백색질형성장애로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 42

제35항 내지 제38항 중 임의의 항에 있어서, 환자는 증중 재생불량 빈혈(SAA), 비스코트 올드리치 증후군, 후를러 증후군, FHL, CGD, 코스트만 증후군, 증중 면역결핍 증후군(SCID), 기타 자가면역 장애, 예컨대, SLE, 다발 경화증, IBD, 크론병, 쇼그렌 증후군, 혈관염, 루푸스, 증중 근육무력증, 베게너병, 선천 대사장애 및/또는 기타 면역결핍병으로부터 선택된 비 악성 질환 또는 병태를 앓는 것인, 방법.

청구항 43

제35항 내지 제38항 중 임의의 항에 있어서, 환자는 골수형성이상 증후군(MDS), 급성 림프모구 백혈병(ALL), 급

성 골수성 백혈병(AML), 급성 단핵구 백혈병(AMoL), 만성 림프성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 털세포 백혈병(HCL), T 세포 전립프구성 백혈병(T-PLL), 대과립 림프구성 백혈병, 성인 T 세포 백혈병, 전구체 T 세포 백혈병/림프종, 버킷 림프종, 소포 림프종, 광범위 큰 B 세포 림프종, 외투세포 림프종, B 세포 만성 림프성 백혈병/림프종, MALT 림프종, 군상 식육종, 달리 명시되지 않은 말초 T 세포 림프종, 호지킨 림프종의 결절 경화 형태, 호지킨 림프종의 혼합 세포종실성 아형으로부터 선택된 악성 질환 또는 병태를 앓는 것인, 방법.

청구항 44

제1항 내지 제31항 중 임의의 항의 집합체 또는 제31항 또는 제32항의 약학적 조성물의, 이를 필요로 하는 환자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위한 용도.

청구항 45

제1항 내지 제31항 중 임의의 항의 집합체 또는 제31항 또는 제32항의 약학적 조성물의, 이를 필요로 하는 환자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위한 의약 제제에 있어서의 용도.

청구항 46

인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편으로, 다음 중 임의의 것으로부터 선택되는 것인, 항체 또는 항체 단편:

- (1) (i) (a) 서열번호 1의 HCDR1(중쇄 상보성 결정 영역 1), (b) 서열번호 2의 HCDR2(중쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3(중쇄 상보성 결정 영역 3)을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 16의 LCDR1(경쇄 상보성 결정 영역 1), (e) 서열번호 17의 LCDR2(경쇄 상보성 결정 영역 2), 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3(경쇄 상보성 결정 영역 3)을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (2) (i) (a) 서열번호 4의 HCDR1, (b) 서열번호 5의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 19의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 21의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (3) (i) (a) 서열번호 6의 HCDR1, (b) 서열번호 2의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 3의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 16의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (4) (i) (a) 서열번호 7의 HCDR1, (b) 서열번호 8의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 9의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 22의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 18의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (5) (i) (a) 서열번호 27의 HCDR1, (b) 서열번호 28의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 29의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 42의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 43의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (6) (i) (a) 서열번호 30의 HCDR1, (b) 서열번호 31의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 29의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 44의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 45의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (7) (i) (a) 서열번호 32의 HCDR1, (b) 서열번호 28의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 29의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 42의 LCDR1, (e) 서열번호 17의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 43의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (8) (i) (a) 서열번호 33의 HCDR1, (b) 서열번호 34의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 35의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 46의 LCDR1, (e) 서열번호 20의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 43의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (9) (i) (a) 서열번호 60의 HCDR1, (b) 서열번호 61의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 75의 LCDR1, (e) 서열번호 76의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 77의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (10) (i) (a) 서열번호 63의 HCDR1, (b) 서열번호 64의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄

- 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 78의 LCDR1, (e) 서열번호 79의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 80의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (11) (i) (a) 서열번호 65의 HCDR1, (b) 서열번호 61의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 75의 LCDR1, (e) 서열번호 76의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 77의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (12) (i) (a) 서열번호 66의 HCDR1, (b) 서열번호 67의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 68의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 81의 LCDR1, (e) 서열번호 79의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 77의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (13) (i) (a) 서열번호 86의 HCDR1, (b) 서열번호 87의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 88의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 101의 LCDR1, (e) 서열번호 102의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (14) (i) (a) 서열번호 89의 HCDR1, (b) 서열번호 90의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 88의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 104의 LCDR1, (e) 서열번호 105의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 106의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (15) (i) (a) 서열번호 91의 HCDR1, (b) 서열번호 87의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 88의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 101의 LCDR1, (e) 서열번호 102의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (16) (i) (a) 서열번호 92의 HCDR1, (b) 서열번호 93의 HCDR2, 및 (c) 서열번호 94의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 (ii) (d) 서열번호 107의 LCDR1, (e) 서열번호 105의 LCDR2, 및 (f) 서열번호 103의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (17) 서열번호 10을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열번호 23을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (18) 서열번호 36을 포함하는 VH 및 서열번호 47을 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (19) 서열번호 69를 포함하는 VH 및 서열번호 82를 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (20) 서열번호 95를 포함하는 VH 및 서열번호 108을 포함하는 VL을 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (21) 서열번호 14를 포함하는 중쇄 및 서열번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (22) 서열번호 40을 포함하는 중쇄 및 서열번호 49를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (23) 서열번호 73을 포함하는 중쇄 및 서열번호 84를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (24) 서열번호 99를 포함하는 중쇄 및 서열번호 110을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (25) 서열번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열번호 122를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (26) 서열번호 118을 포함하는 중쇄 및 서열번호 123을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (27) 서열번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열번호 128을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (28) 서열번호 124를 포함하는 중쇄 및 서열번호 129를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (29) 서열번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열번호 134를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (30) 서열번호 130을 포함하는 중쇄 및 서열번호 135를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (31) 서열번호 136을 포함하는 중쇄 및 서열번호 140을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (32) 서열번호 141을 포함하는 중쇄 및 서열번호 145를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체 또는 항체 단편;
- (33) 서열번호 12를 포함하는 중쇄 및 서열번호 25를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;
- (34) 서열번호 38을 포함하는 중쇄 및 서열번호 49를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체;
- (35) 서열번호 71을 포함하는 중쇄 및 서열번호 84를 포함하는 경쇄를 포함하는 항체; 또는

(36) 서열번호 97을 포함하는 중쇄 및 서열번호 110을 포함하는 경쇄를 포함하는 항체.

청구항 47

제46항의 항체 또는 항체 단편을 암호화하는 핵산.

청구항 48

제47항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 49

제48항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 50

항체 또는 항체 단편의 생산 방법으로, 제49항의 숙주 세포를 배양하는 단계 및 배양물로부터 항체 또는 항체 단편을 회수하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] [관련 출원에 대한 상호 참조]

[0002] 본 출원은, 그 전체 내용이 본 설명에 참조로 포함된, 2016년 12월 21일에 출원된 미국 가출원 번호 62/437,622의 이익 및 2017년 6월 16일에 출원된 미국 가출원 번호 62/520,854의 이익을 주장한다.

[0003] [기술분야]

[0004] 본 개시는 항-cKIT 항체 약물 접합체, 및 이를 필요로 하는 환자, 예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위한 그것들의 용도를 대상으로 한다.

[0005] [서열 목록]

[0006] 본 출원은 ASCII 서식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이는 본 설명에 전체가 참조로 포함된다. 2017년 12월 14일자로 생성된 상기 ASCII 사본은 파일명이 PAT057400-WO-PCT_SL.txt이며, 크기가 209,938 바이트이다.

배경 기술

[0007] cKIT(CD117)는 리간드인 줄기세포인자(SCF)와 결합하는 단일 막관통 수용체 티로신 키나아제이다. SCF는 cKIT의 동종이량체화를 유도하고, 이는 이의 티로신 키나아제 활성을 활성화시키고, PI3-AKT 및 MAPK 경로를 통해 신호를 전달한다(Kindblom et al., Am J. Path. 1998 152(5):1259). cKIT는 처음에 고양이과 레트로바이러스에 의해 발현된 말단 절단 형태로 종양 유전자로 발견되었다(Besmer et al., Nature 1986 320:415-421). 상응하는 인간 유전자의 클로닝은 cKIT가 수용체 티로신 키나아제의 III형 클래스의 구성원임을 증명하였는데, 이러한 클래스는 패밀리 구성원 중에 FLT3, CSF-1 수용체 및 PDGF 수용체를 포함시킨다. cKIT는 조혈세포, 생식세포, 비만세포 및 멜라닌 세포의 발달에 요구된다. 골수에서 조혈 전구세포, 예컨대, 조혈줄기세포(HSC)는 세포 표면 상에 높은 수준의 cKIT를 발현한다. 또한, 피부의 비만세포, 멜라닌 세포, 그리고 소화관의 카잘의 사이질세포가 cKIT를 발현한다.

[0008] 조혈줄기세포(HSC)는 이식 수용자에서 모든 혈액세포 및 면역세포를 재생시킬 수 있어, 치료적 잠재성이 크다. 조혈줄기세포 이식은 백혈병, 림프종, 및 기타 생명을 위협하는 질환의 치료법으로 널리 사용된다. 그러나 불량한 생착, 면역거부반응, 이식편 대 숙주 질환(GVHD), 또는 감염을 포함한 많은 위험이 이러한 이식과 관련이 있다. 동종이체 조혈줄기세포 이식은 일반적으로 이식편의 면역거부반응을 방지하기 위하여 세포 감소 치료를 통한 수용자의 컨디션 조절을 요구한다. 현재의 컨디션 조절 계획은 종종 숙주에 치명적이어서 이식 환자의 대형 집단에 사용이 금지되고/금지되거나 이식편 대 숙주 질환을 방지하기 위하여 충분한 양으로 제공될 수 없다. 따라서, 컨디션 조절 및 이식 방법을 개선하고, 조혈줄기세포 이식과 관련된 위험을 감소시키고, 다양한 장애에 대한 조혈줄기세포 이식의 효율을 증가시킬 필요가 있다.

발명의 내용

[0009] 본 개시는 항체 약물 접합체를 제공하는데, 이때, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)에, 선택적으로 링커를 통해, 결합된다. 이러한 항체 약물 접합체는 선택적으로 세포독성제를 cKIT를 발현하는 세포, 예컨대, 조혈줄기세포에 전달하여, 환자, 예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자에서 이러한 세포를 선택적으로 제거할 수 있다. 바람직하게는, cKIT 항체 약물 접합체는 약물동역학 특성이 있어, 장기간 환자의 순환 내에 존재하지 않고/않거나 활성을 나타내지 않을 것이므로, 조혈줄기세포 이식 전에 조혈줄기세포 이식 수용자의 컨디션 조절에 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)에, 선택적으로는 링커를 통해, cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본 설명에 제공된다. 놀랍게도, 본 발명자는 전장 항-cKIT 항체(예컨대, 전장 IgG), F(ab')₂ 단편, 및 이의 독소 접합체는 비만세포 탈과립을 유발하지만, 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 비만세포 탈과립을 유발하지 않으며, 심지어 환자가 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 Fab 단편을 인식하는 기존의 항-약물 항체를 가졌을 경우에 관찰될 수 있는 바와 같이 가고 및/또는 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 그러하다는 점을 발견하였다. 또한, 본 개시는 항체 약물 접합체를 포함하는 약학적 조성물 및 이의 제조 방법 및 필요로 하는 환자, 예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위하여 이러한 약학적 조성물을 이용하는 방법을 제공한다.

[0010] 일 양태에서, 본 개시는 화학식 I의 접합체를 대상으로 한다:

[0011] [화학식 I]

[0012] $A-(L_B-(D))_n)_y$

[0013] (화학식에서,

[0014] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편이고;

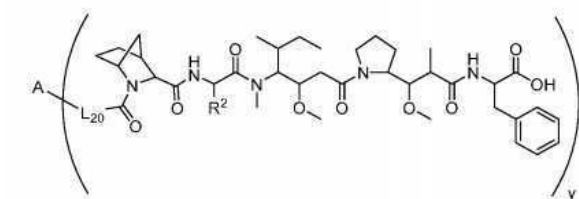
[0015] L_B는 링커이고;

[0016] D는 세포독성제이고;

[0017] n은 1 내지 10의 정수이고, y는 1 내지 10의 정수임).

[0018] 일 양태에서, 본 개시는 화학식 C의 구조를 갖는 접합체를 대상으로 한다:

[0019] [화학식 C]

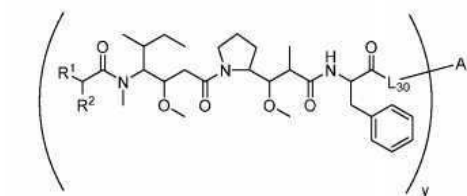


[0020]

[0021] (화학식에서, A, L₂₀, y 및 R²는 본 설명에 정의된 바와 같음).

[0022] 일 양태에서, 본 개시는 화학식 D의 구조를 갖는 접합체를 대상으로 한다:

[0023] [화학식 D]

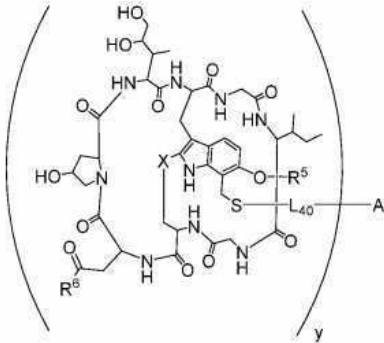


[0024]

[0025] (화학식에서, A, L₃₀, y, R¹ 및 R²는 본 설명에 정의된 바와 같음).

[0026] 일 양태에서, 본 개시는 화학식 E의 구조를 갖는 접합체를 대상으로 한다:

[0027] [화학식 E]



[0028] (화학식에서, A, L₄₀, y, X, R⁵ 및 R⁶은 본 설명에 정의된 바와 같음).

[0030] 또 다른 양태에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 및 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이 본 설명에 제공된다. 이러한 항-cKIT 항체 및 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 본 설명에 기술된 접합체 중 임의의 접합체에 이용될 수 있다.

[0031] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT의 세포 외 도메인(서열번호 112)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이다.

[0032] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT의 도메인 1 내지 3(서열번호 113)의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이다.

[0033] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기술된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이다.

[0034] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 1의 HCDR1; 서열번호 2의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LCDR3을 포함한다.

[0035] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 4의 HCDR1; 서열번호 5의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 19의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 21의 LCDR3을 포함한다.

[0036] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 6의 HCDR1; 서열번호 2의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LCDR3을 포함한다.

[0037] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 7의 HCDR1; 서열번호 8의 HCDR2; 서열번호 9의 HCDR3; 서열번호 22의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LCDR3을 포함한다.

[0038] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 27의 HCDR1; 서열번호 28의 HCDR2; 서열번호 29의 HCDR3; 서열번호 42의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 43의 LCDR3을 포함한다.

[0039] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 30의 HCDR1; 서열번호 31의 HCDR2; 서열번호 29의 HCDR3; 서열번호 44의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 45의 LCDR3을 포함한다.

[0040] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호

32의 HCDR1; 서열번호 28의 HCDR2; 서열번호 29의 HCDR3; 서열번호 42의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 43의 LCDR3을 포함한다.

- [0041] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 33의 HCDR1, 서열번호 34의 HCDR2; 서열번호 35의 HCDR3; 서열번호 46의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 43의 LCDR3을 포함한다.
- [0042] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 1의 HCDR1, 서열번호 51의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0043] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 4의 HCDR1, 서열번호 52의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 19의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 21의 LCDR3을 포함한다.
- [0044] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 6의 HCDR1, 서열번호 51의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0045] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 7의 HCDR1, 서열번호 53의 HCDR2; 서열번호 9의 HCDR3; 서열번호 22의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LCDR3을 포함한다.
- [0046] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 60의 HCDR1, 서열번호 61의 HCDR2; 서열번호 62의 HCDR3; 서열번호 75의 LCDR1; 서열번호 76의 LCDR2; 및 서열번호 77의 LCDR3을 포함한다.
- [0047] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 63의 HCDR1, 서열번호 64의 HCDR2; 서열번호 62의 HCDR3; 서열번호 78의 LCDR1; 서열번호 79의 LCDR2; 및 서열번호 80의 LCDR3을 포함한다.
- [0048] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 65의 HCDR1, 서열번호 61의 HCDR2; 서열번호 62의 HCDR3; 서열번호 75의 LCDR1; 서열번호 76의 LCDR2; 및 서열번호 77의 LCDR3을 포함한다.
- [0049] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 66의 HCDR1, 서열번호 67의 HCDR2; 서열번호 68의 HCDR3; 서열번호 81의 LCDR1; 서열번호 79의 LCDR2; 및 서열번호 77의 LCDR3을 포함한다.
- [0050] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 86의 HCDR1, 서열번호 87의 HCDR2; 서열번호 88의 HCDR3; 서열번호 101의 LCDR1; 서열번호 102의 LCDR2; 및 서열번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0051] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 89의 HCDR1, 서열번호 90의 HCDR2; 서열번호 88의 HCDR3; 서열번호 104의 LCDR1; 서열번호 105의 LCDR2; 및 서열번호 106의 LCDR3을 포함한다.
- [0052] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 91의 HCDR1, 서열번호 87의 HCDR2; 서열번호 88의 HCDR3; 서열번호 101의 LCDR1; 서열번호 102의 LCDR2; 및 서열번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0053] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 92의 HCDR1, 서열번호 93의 HCDR2; 서열번호 94의 HCDR3; 서열번호 107의 LCDR1; 서열번호 105의 LCDR2; 및 서열번호 103의 LCDR3을 포함한다.
- [0054] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

- [illegible]

- [0076] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 142, 143 또는 144로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0077] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0078] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0079] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0080] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0081] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0082] 일부 구현예에서, 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)에, 선택적으로는 링커를 통해, cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')(항-cKIT Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본 설명에 제공된다. 항-cKIT Fab 또는 Fab'는 본 설명에 기술된 Fab 또는 Fab' 중 임의의 Fab 또는 Fab', 예컨대, 표 1의 Fab 또는 Fab' 중 임의의 Fab 또는 Fab'일 수 있다. 본 설명에 기술된 바와 같이, 이러한 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 시험관 내 및 생체 내에서 인간 HSC 세포를 제거할 수 있지만, 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 비만세포 탈과립을 유발하지 않는다.

도면의 간단한 설명

- [0083] 도 1은 모든 시험한 항-cKIT Fab'-(1) DAR4 접합체(접합체의 세부 사항에 대해서는 표 2 참조)가 대략 동일한 효력으로 시험관 내에서 인간 줄기세포 및 전구세포(cKIT⁺ / CD90⁺ 세포)를 살상했음을 보여주는 선 그래프이다: J3(사각형); J2(삼각형); J1(역삼각형). 대조군 ADC인 J6(다이아몬드)은 PBS 대조군(원형)과 비교하여 인간 HSC를 살상하지 않았다.
- 도 2는 J4(사각형) 및 J5(삼각형) 항-cKIT 접합체 둘 다 마우스의 장기 HSC(cKIT⁺ 세포)를 살상하였음을 보여주는 선 그래프이다. J5(삼각형)는 이 마우스 HSC 살상 분석에서 J4(사각형)보다 효력이 강했다. 대조군 ADC인 J6(다이아몬드)은 PBS 대조군(원형)과 비교하여 마우스 HSC를 살상하지 않았다.
- 도 3의 A 내지 L은 인간 말초 혈액 HSC 유래 비만세포 및 베타-헥소스아미니다아제 방출을 (405 nm에서의 흡광도에서 620 nm에서의 기준 흡광도 기반 기준선을 감하여 평가한) 판독치로 사용한, 시험관 내 인간 비만세포 탈과립 분석의 대표적인 결과를 보여주는 선 그래프이다. 여기에 나타난 데이터는 SCF 부존재 하에 수집된 것이다. 도 3의 A는 다양한 항-cKIT 클론: 항-cKIT Ab4/Fab'4(원형), 항-cKIT Ab3/Fab'3(사각형), 항-cKIT Ab2/Fab'2(삼각형), 항-cKIT Ab1/Fab'1(역삼각형) 및 대조군 항-Her2 Ab/Fab'(다이아몬드)에 대한 항-cKIT Fab'-(1) DAR4 접합체(폐쇄된 부호, 실선) 또는 전장 항-cKIT 항체(개방된 부호, 파선)의 적정을 보여주는 선 그래프이다. 도 3의 B는 비만세포 탈과립에 대한 양성 대조군으로서 항-IgE의 적정을 보여주는 선 그래프이다. 비만세포 탈과립은 시험한 모든 농도의 항-IgE에 대해 관찰되었다. 도 3의 C 내지 J는 (x-축 상에서 적정된) 항체 시험 작용제 상의 Fab 부분에 대해 특이적인 항체를 이용하여 시험 작용제가 가교되었을 때 다양한 농도의 (표 2에 기술된) 항-cKIT Fab'-(1) DAR4 접합체 또는 (표 8에 기술된) 전장 IgG 항-cKIT Ab 대조군에 의해 촉발된 비만세포 탈과립 수준을 보여주는 선 그래프이다: 부존재(개방된 다이아몬드 및 파선); 0.006 nM(삼각형); 0.098 nM(다이아몬드); 1.56 nM(원형); 및 25 nM(사각형). 도 3의 C 및 D는 모든 시험한 농도에서 J4 접합체에 의해서는 비만세포 탈과립이 유발되지 않았으나(도 3의 C), 전장 항-cKIT Ab4는 가교 시 비만세포 탈과립을 유발하였음을 보여준다(도 3의 D). 도 3의 E 및 F는 모든 시험한 농도에서 J1 접합체에 의해서는 비만세포 탈과립이 유발되지 않았으나(도 3의 E), 전장 항-cKIT Ab1은 가교 시 비만세포 탈과립을 유발하였음을 보여준다(도 3의 F). 도 3의 G 및 H는 모든 시험한 농도에서 J2 접합체에 의해서는 비만세포 탈과립이 유발되지 않았으나(도 3의 G), 전장 항-cKIT Ab2는 가교 시 비만세포 탈과립을 유발하였음을 보여준다(도 3의 H). 도 3의 I 및 J는 모든 시험한 농도에서 J3 접합체에 의해서는 비만세포 탈과립이 유발되지 않았으나(도 3의 I), 전장 항-cKIT Ab3은 가교 시 비만세포 탈과립을 유발하였음을 보여준다(도 3의 J). 도 3의 K 및 L은 가교 시 대조군 접합체 J6

(도 3의 K) 또는 전장 항-Her2 항체(도 3의 L)에 의해 유발된 비만세포 탈과립이 없음을 보여주는 선 그래프이다.

도 4는 다양한 작용제 처리 후의 인간화 NSG 마우스의 골수에 존재하는 인간 HSC의 상대적인 개수를 보여주는 점 도표이다. J7 접합체는 PBS 대조군(원형)에 비해 인간 HSC(사각형)를 고갈시켰으나, 대조군 J8 접합체(다이아몬드)는 골수에서 인간 HSC를 고갈시키지 않았다.

도 5는 다양한 작용제 처리 후의 인간화 NSG 마우스의 골수에 존재하는 인간 HSC의 상대적인 개수를 보여주는 점 도표이다. 항-cKIT Fab'-(1) DAR4 접합체는 PBS 대조군(원형)에 비해 인간 HSC를 고갈시켰다. 시험한 (표 2에 기술된) 항-cKIT 접합체는 다음과 같았다: J3(사각형); J2(삼각형); J1(역삼각형). J6으로 처리한 대조군 마우스(다이아몬드)는 골수에서 인간 HSC가 고갈되지 않았다.

도 6은 다양한 작용제 처리 후의 C57B1/6 마우스의 골수에 존재하는 HSC의 상대적인 개수를 보여주는 막대 그래프이다. 막대 A = J4 접합체 처리 마우스, 막대 B = J5 접합체 처리 마우스, 막대 C = PBS 처리 마우스.

도 7의 A 내지 I는 인간 말초 혈액 HSC 유래 비만세포 및 베타-헥소스아미니다아제 방출을 (405 nm에서의 흡광도에서 620 nm에서의 기준 흡광도 기반 기준선을 감하여 평가한) 판독치로 사용한, 시험관 내 인간 비만세포 탈과립 분석의 대표적인 결과를 보여주는 선 그래프이다. 여기에 나타난 데이터는 SCF 부존재 하에 수집된 것이다. 선 그래프는 (x-축 상에서 적정된) 항체 시험 작용제 상의 Fab 부분에 대해 특이적인 항체를 이용하여 시험 작용제가 가교되었을 때 다양한 농도: 0.006 nM(삼각형); 0.098 nM(다이아몬드); 1.6 nM(원형); 및 25 nM(사각형)의 항체 또는 항체 단편에 의해 촉발된 비만세포 탈과립 수준을 보여준다. **도 7의 A 내지 C**는 전장 항-cKIT Ab4(HC-E152C-S375C)(도 7의 A) 및 화합물 (4)와 접합된 항-cKIT F(ab'4)₂(HC-E152C) 단편(도 7의 B)은 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 Fab4(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 7의 C)을 보여준다. **도 7의 D 내지 F**는 전장 항-cKIT Ab3(HC-E152C-S375C)(도 7의 D) 및 화합물 (5)와 접합된 F(ab'3)₂(HC-E152C) 단편(도 7의 E)이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 화합물 (4)에 접합된 Fab3(E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 7의 F)을 보여준다. **도 7의 G 내지 I**는 가교되었을 때 항-Her2 항체(HC-E152C-S375C)(도 7의 G), 화합물 (4)에 접합된 항-Her2-F(ab')₂(HC-E152C) 단편(도 7의 H), 또는 화합물 (7)에 접합된 항-Her2-Fab(HC-E152C) 단편(도 7의 I)에 의해 유발된 비만세포 탈과립이 전혀 없음을 보여주는 선 그래프이다.

도 8의 A 내지 O는 인간 말초 혈액 HSC 유래 비만세포 및 베타-헥소스아미니다아제 방출을 (405 nm에서의 흡광도에서 620 nm에서의 기준 흡광도 기반 기준선을 감하여 평가한) 판독치로 사용한, 시험관 내 인간 비만세포 탈과립 분석의 대표적인 결과를 보여주는 선 그래프이다. 여기에 나타난 데이터는 SCF 부존재 하에 수집된 것이다. 선 그래프는 (x-축 상에서 적정된) 항체 시험 작용제 상의 Fab 부분에 대해 특이적인 항체를 이용하여 시험 작용제가 가교되었을 때 다양한 농도: 0.006 nM(삼각형); 0.098 nM(다이아몬드); 1.6 nM(원형); 및 25 nM(사각형)의 항체 또는 항체 단편에 의해 촉발된 비만세포 탈과립 수준을 보여준다. 참조를 위하여, 가교제 항체 단편을 각 그래프에 표시하였다(개방된 다이아몬드, 파선). **도 8의 A 내지 C**는 전장 항-cKIT Ab4(도 8의 A) 및 항-cKIT F(ab'4)₂ 단편(도 8의 B)이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 항-cKIT Fab4(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 8의 C)을 보여준다. **도 8의 D 내지 F**는 전장 항-cKIT Ab1(도 8의 D) 및 항-cKIT F(ab'1)₂ 단편(도 8의 E)이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 항-cKIT Fab1(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 8의 F)을 보여준다. **도 8의 G 내지 I**는 전장 항-cKIT Ab2(도 8의 G) 및 항-cKIT F(ab'2)₂ 단편(도 8의 H)이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 항-cKIT Fab2(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 8의 I)을 보여준다. **도 8의 J 내지 L**은 전장 항-cKIT Ab3(도 8의 J) 및 항-cKIT F(ab'3)₂ 단편(도 8의 K)이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 항-cKIT Fab3(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음(도 8의 L)을 보여준다. **도 8의 M 내지 O**는 가교되었을 때 항-Her2 항체(도 8의 M), 항-Her2-F(ab')₂ 단편(도 8의 N), 또는 항-Her2-Fab(HC-E152C) 단편(도 8의 O)에 의해 유발된 비만세포 탈과립이 전혀 없음을 보여주는 선 그래프이다.

도 9의 A 내지 C는 인간 세포를 이용한 시험관 내 살상 분석 결과를 나타낸다. 동원된 말초 혈액 HSC를 성장 인자 및 언급된 시험 작용제와 함께 7일 동안 배양하고, 유세포분석 및 세포 수로 생존능을 측정하였다. 항-cKit

Fab' DAR4 시험 작용제를 상이한 Fab들: 항-cKIT Fab'1(도 9의 A), Fab'2(도 9의 B), 또는 Fab'3(도 9의 C)으로 제조하였다. 시험한 페이로드는 C1(개방형 사각형), mc-MMAF(개방형 원형), C5(다이아몬드) 또는 C2(삼각형)였다. 데이터는 동일한 시험에서 측정된 3 반복에 대한 평균과 표준 편차, 그리고 3 매개변수 반응 곡선 적합을 나타낸다.

도 10의 A 내지 D는 이식된 마우스로부터 취한 혈액 샘플에서 공여자 세포 키메라즘 확립의 시간 경과를 보여주는 선 그래프이다. C57BL/6J 마우스(항-cKit 처리군의 경우 n=5, PBS 처리군의 경우 n=2)에 7일에 걸쳐 주입된 10 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-C1(삼각형), 20 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-C1(원형), 또는 PBS(사각형)를 투여한 다음, 이를 후 CD45.1+ 공여자 세포를 이식하였다. 대조군 동물 두 마리에는 이식 하루 전에 1100라드를 조사하였다(다이아몬드). 선 그래프는 각 시점에 취한 혈액 샘플의 FACS 분석에 의해 모든 세포(도 10의 A), 골수 세포(도 10의 B), B 세포(도 10의 C) 또는 T 세포(도 10의 D)의 모집단에서 측정된 공여자 세포(CD45.1+)의 비율을 보여준다. 데이터는 평균과 표준 오차를 나타낸다.

도 11의 A 또는 B는 이식된 마우스로부터 취한 혈액 샘플에서 공여자 세포 키메라즘을 보여주는 막대 그래프이다. C57BL/6J 마우스(항-cKit 처리군의 경우 n=5 또는 PBS 처리군의 경우 n=2)에 5일에 걸쳐 주입된 10 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-C1(가로 줄무늬), 20 mg/kg 항-cKit Fab'5-DAR4-C1(세로 줄무늬), 40 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-C1(민무늬), 40 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-mc-MMAF(체크무늬), 또는 PBS(개방형, 검은색 테두리)를 투여한 다음, 하루 뒤에 CD45.1+ 공여자 세포를 이식하였다. 대조군 동물 두 마리에는 이식 하루 전에 1100라드를 조사하였다(교차된 평행선). 그래프는 이식 후 28일(각 군의 왼쪽 막대) 또는 56일(각 군의 오른쪽 막대)에 취한 혈액 샘플의 FACS 분석에 의한 모든 세포(도 11의 A) 또는 골수 세포(도 11의 B)의 모집단에서 측정된 공여자 세포(CD45.1+)의 비율을 보여준다. 데이터는 평균과 표준 오차를 나타낸다.

도 12의 A 또는 B는 이식된 마우스로부터 취한 혈액 샘플에서 공여자 세포 키메라즘 확립의 시간 경과를 보여주는 선 그래프이다. C57BL/6J 마우스(항-cKit 처리군의 경우 n=5 또는 PBS 처리군의 경우 n=2)에 300라드를 조사하고, 3일 후 투여하지 않거나(사각형) 또는 3일에 걸쳐 주입된 10 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-C1(삼각형) 또는 20 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-C1(원형)을 투여한 다음, 이를 후에 CD45.1+ 공여자 세포를 이식하였다. 동물 5마리로 이루어진 추가군에는 3일에 걸쳐 주입된 10 mg/kg 항-cKit-Fab'5-DAR4-C1(개방형 사각형)만을 투여한 다음, 이를 후에 이식하였다. 대조군 동물 두 마리에는 이식 하루 전에 1100라드를 조사하였고(다이아몬드), 대조군 동물 두 마리는 이식 전에 처리하지 않았다(개방형 다이아몬드). 선 그래프는 각 시점에 취한 혈액 샘플의 FACS 분석에 의해 모든 세포(도 12의 A) 또는 골수 세포(도 12의 B)의 모집단에서 측정된 공여자 세포(CD45.1+)의 비율을 보여준다. 데이터는 평균과 표준 오차를 나타낸다.

도 13은 다양한 작용제 처리 후의 인간화 NSG 마우스의 골수에 존재하는 인간 HSC의 상대적인 개수를 보여주는 점 도표이다. 항-cKIT Fab'-DAR4 접합체는 PBS 대조군(다이아몬드)에 비해 인간 HSC를 고갈시켰다. 시험한 (표 2에 기술된) 항-cKIT 접합체는 다음과 같았다: JW(원형); JX(사각형); JY(삼각형); JZ(역삼각형).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0084]

본 개시는 항체 약물 접합체를 제공하는데, 이때, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)에, 선택적으로 링커를 통해, 결합된다. 이러한 항체 약물 접합체는 선택적으로 세포독성제를 cKIT를 발현하는 세포, 예컨대, 조혈줄기세포에 전달하여, 환자, 예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자에서 이러한 세포를 선택적으로 제거할 수 있다. 바람직하게는, cKIT 항체 약물 접합체는 약물동역학 특성이 있어, 장기간 환자의 순환 내에 존재하지 않고/않거나 활성을 나타내지 않을 것이므로, 조혈줄기세포 이식 전에 조혈줄기세포 이식 수용자의 컨디션 조절에 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)에, 선택적으로는 링커를 통해, cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본 설명에 제공된다. 놀랍게도, 본 발명자는 전장 항-cKIT 항체(예컨대, 전장 IgG), F(ab')₂ 단편, 및 이의 독소 접합체는 비만세포 탈과립을 유발하지만, 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 비만세포 탈과립을 유발하지 않으며, 심지어 환자가 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 Fab 단편을 인식하는 기존의 항-약물 항체를 가졌을 경우에 관찰될 수 있는 바와 같이 가고 및/또는 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 그러하다는 점을 발견하였다. 또한, 본 개시는 항체 약물 접합체를 포함하는 약학적 조성물 및 이의 제조 방법 및 필요로 하는 환자, 예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위하여 이러한 약학적 조성물을 이용하는 방법을 제공한다.

[0085]

정의

- [0086] 달리 언급되지 않는 한, 본 설명에 사용된 다음의 용어 및 어구는 다음의 의미를 갖는다:
- [0087] 용어 "알킬"은 특정 개수의 탄소 원자를 갖는 1가 포화 탄화수소쇄를 지칭한다. 예를 들어, C₁₋₆ 알킬은 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알킬기를 지칭한다. 알킬기는 직선형 또는 분지형일 수 있다. 대표적인 분지형 알킬기는 1, 2 또는 3개의 분지를 갖는다. 알킬기의 예는 메틸, 에틸, 프로필(n-프로필 및 이소프로필), 부틸(n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 및 t-부틸), 펜틸(n-펜틸, 이소펜틸 및 네오펜틸) 및 헥실을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0088] 본 설명에 사용된 용어 "항체"는 항원과 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자로부터 유래된 단백질, 또는 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 항체는 다클론성 또는 단일클론성, 다중 또는 단일쇄, 또는 온전한 면역글로불린일 수 있고, 천연 공급원으로부터 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 자연 발생적인 "항체"는 이황화 결합에 의해 상호 연결된 적어도 2개의 무거운(H)쇄 및 2개의 가벼운(L)쇄를 포함하는 당단백질이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본 설명에서 VH로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 세 개의 도메인 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본 설명에서 VL로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인 CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 추가변성의 영역들로 더 세분될 수 있으며, 이들 사이에는 프레임워크 영역(FR)으로 불리는 더 보존된 영역들이 산재되어 있다. 각각의 VH 및 VL은 다음 순서로 아미노-말단으로부터 카복시-말단으로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호 작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 이펙터 세포) 및 고전적 보체 시스템의 첫 번째 구성요소(C1q)를 포함한, 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 단클론 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 낙타과 항체, 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 임의의 이소형(예컨대, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스(예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 서브클래스의 항체일 수 있다.
- [0089] "상보성 결정 도메인" 또는 "상보성 결정 영역"("CDR")은 상호 교환적으로 VL 및 VH의 추가변 영역을 지칭한다. CDR은 표적 단백질에 대한 특이성을 보유하는 항체쇄의 이러한 표적 단백질 결합 부위이다. 각각의 인간 VL 또는 VH에는 3개의 CDR(N-말단으로부터 순차적으로 넘버링된 CDR1 내지 3)이 존재하고, 이들은 가변 도메인의 약 15 내지 20%를 구성한다. CDR은 그것들의 영역 및 순서에 의해 지칭될 수 있다. 예를 들어, "VHCDR1" 또는 "HCDR1" 둘 다는 중쇄 가변 영역의 첫 번째 CDR을 지칭한다. CDR은 표적 단백질의 에피토프에 대해 구조적으로 상보적이며, 따라서 결합 특이성의 직접적인 원인이 된다. VL 또는 VH의 나머지 스트레치(stretch), 소위 프레임워크 영역은 아미노산 서열의 보다 적은 변형을 보인다(Kuby, Immunology, 4th ed., Chapter 4. W.H. Freeman & Co., New York, 2000).
- [0090] 주어진 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 다수의 잘 알려진 체계 중 임의의 것을 사용하여 결정될 수 있는데, 이는 문헌[Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD]("Kabat" 넘버링 체계), 문헌[Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273, 927-948]("Chothia" 넘버링 체계) 및 ImMunoGenTics(IMG) 넘버링(Lefranc, M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999); Lefranc, M.-P. *et al.*, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)("IMG" 넘버링 체계)에 기재된 것들이 포함된다. 예를 들어, 고전적인 형식의 경우, Kabat 하에서, 중쇄 가변 도메인(VH) 내의 CDR 아미노산 잔기는 31~35(HCDR1), 50~65(HCDR2), 및 95~102(HCDR3)로 넘버링되고; 경쇄 가변 도메인(VL) 내의 CDR 아미노산 잔기는 24~34(LCDR1), 50~56(LCDR2), 및 89~97(LCDR3)로 넘버링된다. Chothia 하에서, VH 내의 CDR 아미노산은 26~32(HCDR1), 52~56(HCDR2), 및 95~102(HCDR3)로 넘버링되고; VL 내의 아미노산 잔기는 26~32(LCDR1), 50~52(LCDR2), 및 91~96(LCDR3)으로 넘버링된다. Kabat 및 Chothia 둘 모두의 CDR 정의를 조합함으로써, CDR은 인간 VH 내의 아미노산 잔기 26~35(HCDR1), 50~65(HCDR2), 및 95~102(HCDR3) 및 인간 VL 내의 아미노산 잔기 24~34(LCDR1), 50~56(LCDR2), 및 89~97(LCDR3)로 이루어진다. IMG 하에 VH 내의 CDR 아미노산 잔기는 대략 26~35(CDR1), 51~57(CDR2) 및 93~102(CDR3)로 넘버링되고, VL 내의 CDR 아미노산 잔기는 대략 27~32(CDR1), 50~52(CDR2), 및 89~97(CDR3)("Kabat"에 따른 넘버링)로 넘버링된다. IMG 하에, 항체의 CDR 영역은 IMG/DomainGap Align 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0091] 경쇄 및 중쇄는 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 나뉜다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 이용된다. 이 점과 관련하여, 경쇄(VL) 및 중쇄(VH) 부분의 가변 도메인이 항원 인식 및 특이성을 결정한다는 점이 인정될 것이다. 역으로, 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 불변 도메인(CH1, CH2 또는 CH3, 및 일부 경우, CH4)은 분비, 태반 통과 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합, FcRn 수용체 결합, 반감기, 약물동역학 등과 같은 중요한 생물

학적 성질을 부여한다. 관례상, 불변 영역 도메인의 넘버링은 불변 영역 도메인이 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노-말단으로부터 멀어질수록 증가된다. N 말단은 가변 영역이고, C 말단에는 불변 영역이 있으며; CH3 및 CL 도메인은 실제로 각각 중쇄 및 경쇄의 카복시 말단 도메인을 포함한다.

[0092] 본 설명에 사용된 용어 "항체 단편" 또는 "항원 결합 단편"은 항원(예컨대, cKIT)의 에피토프와 (예컨대, 결합, 입체 장애, 안정화/탈안정화, 공간 분포에 의해) 특이적으로 상호 작용하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 부분을 지칭한다. 항체 단편의 예는, VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가 단편인 Fab 단편; VL, VH, CL, CH1 도메인, 및 힌지 영역으로 구성된 1가 단편인 Fab' 단편; 힌지 영역에서 이황화 다리에 의해 연결된 두 개의 Fab 단편을 포함한 2가 단편인 F(ab')₂ 단편; 이황화 다리에 의해 연결된 단일 중쇄 및 단일 경쇄를 포함하는 절반 항체; Fc 영역에 연결된 Fab 단편을 포함하는 한팔(one-arm) 항체; CH3 도메인 이량체에 연결된 두 개의 Fab 단편을 포함하는 CH2 도메인 결실 항체(Glaser, J Biol Chem. 2005; 280(50):41494-503 참조); 단쇄 Fv(scFv); 이황화 연결된 Fv(sdFv); VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; 항체의 단일 팔의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; VH 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward *et al.*, Nature 341:544-546, 1989); 및 항체의 단리된 상보성 결정 영역(CDR) 또는 기타 에피토프 결합 단편을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예를 들어, Fab 단편은 항체의 중쇄의 아미노산 잔기 1~222(EU 넘버링)를 포함할 수 있으나, Fab' 단편은 항체의 중쇄의 아미노산 잔기 1~236(EU 넘버링)을 포함할 수 있다. 항체의 Fab 또는 Fab' 단편은 재조합에 의해 또는 모 항체의 효소적 소화에 의해 생성될 수 있다. 재조합에 의해 생성된 Fab 또는 Fab'는 시스테인(Junutula, J. R.; et al., Nature biotechnology 2008, 26, 925), 피롤린-카복시-리신(Ou, W. et al., Proc Natl Acad Sci USA 2011;108(26):10437-42) 또는 비천연 아미노산(예를 들어, Tian, F. et al., Proc Natl Acad Sci USA 2014, 111, 1766, Axup, J. Y. et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2012, 109, 16101)과 같은, 위치 특이적 접합을 위한 아미노산을 도입하기 위하여 조작될 수 있다. 이와 유사하게, 돌연변이 또는 펩티드 태그가 포스포판테테인 트랜스퍼라아제(Grunewald, J. et al., Bioconjugate chemistry 2015, 26, 2554), 포밀 글리신 형성 효소(Drake, P. M. et al., Bioconjugate chemistry 2014, 25, 1331), 트랜스글루타미나아제(Strop, P. et al., Chemistry & biology 2013, 20, 161), 소르타제(sortase)(Beerli, R. R.; Hell, T.; Merkel, A. S.; Grawunder, U. PloS one 2015, 10, e0131177)를 통한 접합 또는 기타 효소적 접합 전략을 촉진하기 위하여 첨가될 수 있다. 나아가, Fv 단편의 두 도메인 VL 및 VH가 별도의 유전자에 의해 암호화될 수 있지만, 그것들은, VL 및 VH 영역이 짝을 지어 (단쇄 Fv("scFv")로 알려져 있는) 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇄로서 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해, 재조합 방법을 이용하여, 연결될 수 있다; 예컨대, 문헌[Bird *et al.*, Science 242:423-426, 1988]; 및 [Huston *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 85 : 5879-5883, 1988] 참조. 이러한 단쇄 항체 또한, 용어 "항원 결합 단편"에 포괄된다. 이들 항원 결합 단편은 당업자에게 알려진 통상적인 기법을 사용하여 얻어지며, 이들 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성을 위해 스크리닝된다.

[0093] 항체 단편 또는 항원 결합 단편은 또한, 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스 scFv 내에 통합될 수 있다(예를 들어, 문헌[Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005] 참조). 항원 결합 단편은 폴리펩티드, 예컨대 피브로넥틴 III형(Fn3)을 기반으로 한 스캐폴드 내로 그래프트될 수 있다(피브로넥틴 폴리펩티드 모노바디를 기술한 미국 특허 번호 6,703,199 참조).

[0094] 항체 단편 또는 항원 결합 단편은, 상보성 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성하는 한 쌍의 텐덤 Fv 단편(VH-CH1-VH-CH1)을 포함하는 단쇄 분자 내로 통합될 수 있다(Zapata *et al.*, Protein Eng. 8:1057-1062, 1995; 및 미국 특허 번호 5,641,870).

[0095] 본 설명에 사용된 용어 "단클론 항체" 또는 "단클론 항체 조성물"은 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나 동일한 유전적 출처로부터 유래하는 항체 및 항원 결합 단편을 포함한 폴리펩티드를 지칭한다. 이 용어는 또한, 단일 분자 조성물의 항체 분자들의 제제를 포함한다. 단클론 항체 조성물은 특정 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타낸다.

[0096] 본 설명에 사용된 용어 "인간 항체"는 프레임워크 영역 및 CDR 영역이 인간 기원의 서열들로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 항체를 포함한다. 또한, 항체가 불변 영역을 함유하면, 불변 영역 또한, 이러한 인간 서열, 예를 들어, 인간 생식계열 서열, 또는 인간 생식계열 서열의 돌연변이 버전, 또는 인간 프레임워크 서열 분석으로부터 유래된 공통 프레임워크 서열을 함유하는 항체(예를 들어, 문헌[Knappik *et al.*, J. Mol. Biol. 296:57-86, 2000]에 기술된 바와 같음)로부터 유래된다.

[0097] 본 개시의 인간 항체는 인간 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관 내 무작위 또는 위

치 특이적 돌연변이 유발에 의하거나 생체 내에서의 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이, 또는 안정성 또는 제작을 촉진하기 위한 보존적 치환)를 포함할 수 있다.

[0098] 본 설명에 사용된 용어 "인식하다"는 에피토프가 선형인지 입체적인지와 관계 없이, 자신의 에피토프를 확인하고 이와 상호 작용하는(예를 들어, 결합하는) 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭한다. 용어 "에피토프"는 본 개시의 항체 또는 항원 결합 단편이 특이적으로 결합하는 항원 상의 위치를 지칭한다. 에피토프는 인접한 아미노산들로부터 또는 단백질의 3차 접힘에 의해 병치된 인접하지 않은 아미노산들로부터 형성될 수 있다. 인접한 아미노산들로부터 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 대한 노출 시 유지되는 반면, 3차 접힘에 의해 형성된 에피토프는 변성 용매 처리 시 전형적으로 상실된다. 에피토프는 독특한 공간적 입체 형태로 적어도 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개 또는 15개의 아미노산을 전형적으로 포함한다. 에피토프의 공간적 입체 형태를 결정하는 방법은 당해 분야의 기술, 예를 들어, x선 결정학 및 2차원 핵자기 공명을 포함한다(예를 들어, 문헌[Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조). "파라토프"는 항원의 에피토프를 인식하는 항체의 부분이다.

[0099] 항원(예를 들어, 단백질)과 항체, 항체 단편 또는 항체-유래 결합제 사이의 상호 작용을 기술하는 맥락에서 사용될 때 어구 "특이적으로 결합한다" 또는 "선택적으로 결합한다"는 단백질 및 기타 생물체제의 비균질 집단, 예를 들어, 생물학적 샘플, 예를 들어, 혈액, 혈청, 혈장 또는 조직 샘플 내의 항원의 존재를 결정짓는 결합 반응을 지칭한다. 따라서, 특정한 지정된 면역검정 조건 하에, 특정한 결합 특이성이 있는 항체 또는 결합제는 특정 항원에 배경값의 적어도 2배로 결합하고, 샘플 내에 존재하는 다른 항원에는 실질적으로 유의미한 양으로 결합하지 않는다. 일 양태에서, 지정된 면역검정 조건 하에, 특정한 결합 특이성이 있는 항체 또는 결합제는 특정 항원에 배경값의 적어도 10배로 결합하고, 샘플 내에 존재하는 다른 항원에는 실질적으로 유의미한 양으로 결합하지 않는다. 이러한 조건 하에서의 항체 또는 결합제에 대한 특이적인 결합은 이 항체 또는 결합제가 특정 단백질에 대한 이의 특이성에 대해 선별되었음을 요구할 수 있다. 원한다면 또는 적합하다면, 이러한 선택은 다른 종(예를 들어, 마우스 또는 랫트) 또는 다른 하위 유형으로부터의 분자와 교차 반응하는 항체를 제외시키는 것에 의해 달성될 수 있다. 대안적으로, 일부 양태에서, 특정한 원하는 분자와 교차 반응하는 항체 또는 항체 단편이 선별된다.

[0100] 본 설명에 사용된 용어 "친화도"는 단일 항원성 위치에서의 항체와 항원 사이의 상호 작용의 강도를 지칭한다. 각각의 항원성 위치 내에서, 항체 "팔"의 가변 영역은 다수의 위치에서 약한 비 공유 결합력을 통해 항원과 상호 작용하는데, 상호 작용이 많을수록, 친화도가 강하다.

[0101] 용어 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다. 그러나 하나의 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원에 대해 교차 반응성을 가질 수 있다. 또한, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0102] 용어 "상응하는 인간 생식계열 서열"은 인간 생식계열 면역글로불린 가변 영역 서열에 의해 암호화되는 모든 다른 공지된 가변 영역 아미노산 서열과 비교하여 기준 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위 서열과 가장 높게 결정된 아미노산 서열 동일성을 공유하는 인간 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위 서열을 암호화하는 핵산 서열을 지칭한다. 상응하는 인간 생식계열 서열은 또한, 모든 다른 평가된 가변 영역 아미노산 서열과 비교하여 기준 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위 서열과 아미노산 서열 동일성이 가장 높은 인간 가변 영역 아미노산 서열 또는 하위 서열을 지칭할 수 있다. 상응하는 인간 생식계열 서열은 프레임워크 영역 단독, 상보성 결정 영역 단독, 프레임워크 및 상보성 결정 영역, (위에 정의된 바와 같은) 가변 절편, 또는 가변 영역을 포함하는 서열 또는 하위 서열의 기타 조합일 수 있다. 본 설명에 기술된 방법을 이용하여, 예를 들어, 2개의 서열을 BLAST, ALIGN, 또는 당해 분야에 공지된 또 다른 정렬 알고리즘을 사용하여 정렬하여, 서열 동일성을 결정할 수 있다. 상응하는 인간 생식계열 핵산 또는 아미노산 서열은 기준 가변 영역 핵산 또는 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 나타낼 수 있다.

[0103] 다양한 면역검정 형식을 이용하여 특정 단백질과 특이적으로 면역반응성을 나타내는 항체를 선별할 수 있다. 예를 들어, 고체상 ELISA 면역검정은 단백질과 특이적으로 면역반응성을 나타내는 항체를 선별하는데 통상적으로 사용된다(예를 들어, 특이적 면역반응성을 결정하는 데 사용될 수 있는 면역검정 형식 및 조건에 대한 설명은 문헌[Harlow & Lane, Using Antibodies, A Laboratory Manual (1998)] 참조). 전형적으로, 특이적 또는 선택적 결합 반응은 배경 신호에 비해 적어도 2배, 더욱 전형적으로는 배경에 대해 적어도 10 내지 100배의 신호를 생성할 것이다.

[0104] 용어 "평균 해리 상수(KD [M])"는 결합 속도 상수(k_a , [s^{-1} , M^{-1}])로 나눈 해리 속도 상수(k_d , [s^{-1}])를

지칭한다. 당해 분야의 임의의 공지된 방법을 이용하여 평형 해리 상수를 측정할 수 있다. 본 개시의 항체는 일반적으로 평형 해리 상수가 약 10^{-7} 또는 10^{-8} M 미만, 예를 들어, 약 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만, 일부 양태에서는 약 10^{-11} M, 10^{-12} M 또는 10^{-13} M 미만일 것이다.

[0105] 용어 "생체이용률"은 환자에 투여된 주어진 양의 약물의 전신 이용률(즉, 혈액/혈장 수준)을 지칭한다. 생체이용률은 투여된 투여 형태로부터 일반 순환에 도달하는 약물의 시간(속도) 및 총량(정도)의 측정치를 가리키는 절대적인 용어이다.

[0106] 본 설명에서 사용된 어구 "본질적으로 ~로 이루어지는"은 방법 또는 조성물에 포함된 활성 약제의 종류뿐만 아니라 방법 또는 조성물의 의도된 목적에 대해 불활성인 임의의 부형제도 지칭한다. 일부 양태에서, 어구 "본질적으로 ~로 이루어지는"은 본 개시의 항체 약물 접합체 이외의 1종 이상의 추가 활성제의 포함을 명백하게 배제한다. 일부 양태에서, 어구 "본질적으로 ~로 이루어지는"은 본 개시의 항체 약물 접합체 및 제2의 공동-투여 작용제 이외의 1종 이상의 추가 활성제의 포함을 명백하게 배제한다.

[0107] 용어 "아미노산"은 자연 발생, 합성, 및 비천원 아미노산뿐만 아니라 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체도 지칭한다. 자연 발생 아미노산은 유전 암호에 의해 암호화되는 것들뿐만 아니라 추후에 변형된 아미노산, 예를 들어, 하이드록시프롤린, γ -카복시글루타메이트, 및 0-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 즉 수소, 카복실 기, 아미노 기 및 R 기에 결합된 α -탄소가 있는 화합물, 예를 들어, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설푼산, 메티오닌 메틸 설푼산을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R 기(예를 들어, 노르류신) 또는 변형된 펩티드 골격을 갖지만, 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반적인 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화학적 화합물을 지칭한다.

[0108] 용어 "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산 및 핵산 서열에 적용된다. 특정 핵산 서열과 관련하여, 보존적으로 변형된 변이체는 동일하거나 본질적으로 동일한 아미노산을 암호화하는 핵산을 지칭하거나, 또는 핵산이 아미노산을 암호화하지 않는 경우에는 본질적으로 동일한 서열을 지칭한다. 유전 암호의 축퇴성으로 인해, 다수의 기능적으로 동일한 핵산이 임의의 주어진 단백질을 암호화한다. 예를 들어, GCA, GCC, GCG 및 GCU 코돈 모두 알라닌 아미노산을 암호화한다. 따라서, 알라닌이 코돈에 의해 특정되는 모든 위치에서, 이 코돈은 암호화되는 폴리펩티드를 바꾸지 않으면서 기술된 상응하는 코돈 중 임의의 것으로 변경될 수 있다. 이러한 핵산 변이는 "침묵 변이"이고, 이는 보존적으로 변형된 변이의 한 종류이다. 폴리펩티드를 암호화하는 본 설명의 모든 핵산 서열은 또한, 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 설명한다. 당업자는 핵산 내의 각각의 코돈(통상적으로 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG, 그리고 통상적으로 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG 제외)이 기능적으로 동일한 분자를 생성하도록 변형될 수 있음을 인식할 것이다. 따라서, 폴리펩티드를 암호화하는 핵산의 각각의 침묵 변이가 각각의 기술된 서열에 내포된다.

[0109] 폴리펩티드 서열에 대해, "보존적으로 변형된 변이체"는 화학적으로 유사한 아미노산으로의 아미노산 치환을 초래하는, 폴리펩티드 서열에 대한 개별적인 치환, 결실 또는 부가를 포함한다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당해 분야에 잘 알려져 있다. 이러한 보존적으로 변형된 변이체는 다형성 변이체, 중간 상동체, 및 대립유전자에 대해 부가적이고, 이를 배제하지 않는다. 다음의 8개 군이 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 함유한다: 1) 알라닌(A), 글리신(G); 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E); 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q); 4) 아르기닌(R), 리신(K); 5) 이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 발린(V); 6) 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 트립토판(W); 7) 세린(S), 트레오닌(T); 및 8) 시스테인(C), 메티오닌(M)(예를 들어, 문헌 [Creighton, Proteins (1984)] 참조). 일부 양태에서, 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특성에 유의미하게 영향을 미치거나 또는 이를 유의미하게 변경하지 않는 아미노산 변형을 지칭하는데 사용된다.

[0110] 본 설명에서 사용된 용어 "최적화된"은 생산 세포 또는 유기체, 일반적으로는 진핵생물 세포, 예를 들어, 효모 세포, 피키아(Pichia) 세포, 진균 세포, 트리코데르마(Trichoderma) 세포, 중국 햄스터 난소 세포(CHO) 또는 인간 세포에서 선호되는 코돈을 사용하여 아미노산 서열을 암호화하도록 변경된 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 최적화된 뉴클레오티드 서열은 "모" 서열로도 공지되어 있는 출발 뉴클레오티드 서열에 의해 본래 암호화된 아미노산 서열을 완전히 또는 가능한 한 많이 유지하도록 조장된다.

[0111] 2종 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서 용어 "동일한 비율" 또는 "동일성(%)"은 2개 이상의 서열 또는 하위 서열이 동일한 정도를 지칭한다. 비교되는 영역에 걸쳐 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열이 동일하다면

2개의 서열은 "동일"하다. 다음의 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하여 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의해 측정하였을 때, 비교창 또는 지정된 영역에 걸친 최대 상응성을 비교 및 정렬한 경우, 2개의 서열에 소정의 백분율(즉, 소정의 영역에 걸쳐, 또는 특정되지 않은 경우 전체 서열에 걸쳐, 60% 동일성, 선택적으로는 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일성)의 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드가 있으면 2개의 서열은 "실질적으로 동일"하다. 선택적으로, 동일성은 적어도 약 30개의 뉴클레오티드(또는 10개의 아미노산) 길이의 영역에 걸쳐, 또는 더욱 바람직하게는 100개 내지 500개 또는 1000개 이상의 뉴클레오티드(또는 20개, 50개, 200개 이상의 아미노산) 길이의 영역에 걸쳐 존재한다.

[0112] 서열 비교를 위해, 전형적으로 하나의 서열이 기준 서열로서 작용하고, 여기에 시험 서열이 비교된다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우에, 시험 및 기준 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우에 하위 서열 좌표가 지정되고, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터가 지정된다. 디폴트 프로그램 파라미터가 사용될 수 있거나, 대안적인 파라미터가 지정될 수 있다. 그런 다음, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 파라미터에 기초하여, 기준 서열에 대한 시험 서열의 서열 동일성(%)을 계산한다.

[0113] 본 설명에서 사용된 "비교창"은 20개 내지 600개, 일반적으로는 약 50개 내지 약 200개, 더욱 일반적으로는 약 100개 내지 약 150개로 이루어진 군으로부터 선택된 인접한 위치의 개수 중 임의의 하나의 절편에 대한 조회를 포함하고, 여기에서 서열은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후에 인접한 위치의 개수가 동일한 기준 서열과 비교될 수 있다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은, 예를 들어 문헌[Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482c (1970)]의 국소 상동성 알고리즘, 문헌[Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)]의 상동성 정렬 알고리즘, 문헌[Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)]의 유사성 검색 방법에 의해, 이들 알고리즘의 컴퓨터 구현(Wisconsin Genetics 소프트웨어 패키지(미국 위스콘신 주 매디슨 사이언스 드라이브 575 소재 Genetics Computer Group)의 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA)에 의해, 또는 수동 정렬 및 육안 검사(예를 들어, 문헌[Brent *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, 2003])에 의해 수행될 수 있다.

[0114] 서열 동일성(%) 및 서열 유사성(%)을 결정하는 데 적합한 알고리즘의 두 가지 예는 각각 문헌[Altschul *et al.*, Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 1977]; 및 문헌[Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990]에 기술된 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립생물공학정보센터(National Center for Biotechnology Information)를 통해 공개적으로 이용 가능하다. 이러한 알고리즘은 먼저 데이터베이스 서열 내의 동일한 길이의 워드(word)와 정렬될 때 약간의 양의 값의 역치 점수 T와 매치되거나 이를 충족시키는, 질의 서열 내의 길이 W의 짧은 워드들을 확인함으로써 고득점 서열 쌍(HSP)을 확인하는 것을 수반한다. T는 이웃 워드 점수 역치라 지칭된다(Altschul *et al.*, 위 참조). 이러한 초기 이웃 워드 히트(hit)는 이를 함유하는 더 긴 HSP를 찾는 검색 개시를 위한 시드(seed)로서 작용한다. 누적 정렬 점수가 증가될 수 있는 한, 워드 히트는 각 서열을 따라 양 방향으로 확장된다. 뉴클레오티드 서열에 대해, 파라미터 M(한 쌍의 매치되는 잔기에 대한 보상 점수; 항상 > 0) 및 N(미스매치된 잔기에 대한 페널티 점수; 항상 < 0)을 사용하여 누적 점수가 계산된다. 아미노산 서열에 대해서는, 채점 행렬이 누적 점수를 계산하는 데 사용된다. 누적 정렬 점수가 이의 최대 달성 값으로부터 X의 양만큼 하락하거나; 하나 이상의 음의 채점 잔기 정렬의 축적으로 인해 누적 점수가 0 이하가 되거나; 또는 어느 한쪽 서열의 끝에 도달했을 때, 각 방향으로의 워드 히트의 확장이 정지된다. BLAST 알고리즘 파라미터 W, T, 및 X가 정렬의 감도 및 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램(뉴클레오티드 서열의 경우)은 디폴트로서 워드 길이(W) 11, 기대값(E) 또는 10, M=5, N=-4 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다. 아미노산 서열의 경우, BLASTP 프로그램은 디폴트로서 워드 길이 3, 및 예상값(E) 10, 및 BLOSUM62 채점 행렬(문헌[Henikoff and Henikoff, (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915] 참조) 정렬 (B) 50, 기대값(E) 10, M=5, N=-4, 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다.

[0115] BLAST 알고리즘은 또한, 2개의 서열 간의 유사성의 통계 분석을 수행한다(예컨대, 문헌[Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787, 1993] 참조). BLAST 알고리즘이 제공하는 유사성의 한 척도는 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 간의 매치가 우연히 일어날 확률의 지표를 제공하는 최소 합계 확률(P(N))이다. 예를 들어, 기준 핵산에 대한 시험 핵산의 비교에서 최소 합계 확률이 약 0.2 미만, 더욱 바람직하게는 약 0.01 미만, 가장 바람직하게는 약 0.001 미만이면 핵산은 기준 서열과 유사한 것으로 간주된다.

[0116] 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성(%)은 또한, 문헌[E. Meyers and W. Miller, Comput. Appl. Biosci. 4:11-17, (1988)]의 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있는데, 이는 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 이용하여 ALIGN 프로그램(버전 2.0) 내로 혼입된 것이다. 또한, 두 아미노산 서열들 사이의 동일성(%)은 문헌[Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:444-453, (1970)]의 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있는

데, 이는 블라섬(Blossom) 62 행렬 또는 PAM250 행렬, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지(www.gcg.com에서 이용 가능함) 내의 GAP 프로그램 내로 혼입된 것이다.

[0117] 위에서 언급된 서열 동일성(%) 이외에, 2개의 핵산 서열 또는 폴리펩티드가 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는, 아래에 기술된 바와 같이, 제1 핵산에 의해 암호화되는 폴리펩티드가 제2 핵산에 의해 암호화되는 폴리펩티드에 대해 생성된 항체와 면역학적으로 교차 반응성을 나타낸다는 점이다. 따라서, 예를 들어, 2개의 펩티드가 보존적 치환에 의해서만 상이한 경우에, 폴리펩티드는 전형적으로 제2의 폴리펩티드와 실질적으로 동일하다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는, 아래에 기술된 바와 같이, 2개의 분자 또는 이들의 상보물이 엄격한 조건 하에 서로 혼성화된다는 점이다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는, 서열을 증폭시키는 데 동일한 프라이머가 사용될 수 있다는 점이다.

[0118] 용어 "핵산"은 본 설명에서 용어 "폴리뉴클레오티드"와 상호 교환적으로 사용되고, 단일- 또는 이중-가닥 형태의 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드 및 이의 중합체를 지칭한다. 이러한 용어는 합성, 자연 발생적, 및 비 자연 발생적이고, 기준 핵산과 결합 성질이 유사하며, 기준 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는, 공지된 뉴클레오티드 유사체 또는 변형된 골격 잔기 또는 연결을 함유하는 핵산을 포괄한다. 이러한 유사체의 예는 포스포로티오에이트, 포스포르아미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2-O-메틸 리보뉴클레오티드, 펩티드-핵산(PNA)을 제한 없이 포함한다.

[0119] 달리 지시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한, 명시적으로 지시된 서열뿐만 아니라 이의 보존적으로 변형된 변이체(예를 들어, 축퇴성 코돈 치환) 및 상보적 서열을 암시적으로 포괄한다. 구체적으로는, 아래에서 상술되는 바와 같이, 축퇴성 코돈 치환은 1개 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(Batzer *et al.*, (1991) Nucleic Acid Res. 19:5081; Ohtsuka *et al.*, (1985) J. Biol. Chem. 260:2605-2608; 및 Rossolini *et al.*, (1994) Mol. Cell. Probes 8:91-98).

[0120] 핵산의 맥락에서 용어 "작동 가능하게 연결된"은 2개 이상의 폴리뉴클레오티드(예를 들어, DNA) 절편 간의 기능적인 관계를 지칭한다. 전형적으로, 이는 전사된 서열에 대한 전사 조절 서열의 기능적 관계를 지칭한다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서 서열이 적절한 숙주 세포 또는 기타 발현 시스템에서의 암호화 서열의 전사를 자극하거나 조절할 경우, 이 서열이 암호화 서열에 작동 가능하게 연결된 것이다. 일반적으로, 전사된 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터 전사 조절 서열은 전사된 서열에 물리적으로 인접해 있다. 즉, 이들은 시스(cis)-작용성이다. 그러나 일부 전사 조절 서열, 예컨대 인핸서는 자신이 전사를 강화하는 암호화 서열에 물리적으로 인접해 있거나 이에 근접하여 위치할 필요가 없다.

[0121] 용어 "폴리펩티드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하도록 본 설명에서 상호 교환적으로 사용된다. 이 용어는 자연 발생 아미노산 중합체 및 비 자연 발생 아미노산 중합체뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산의 인공적인 화학적 모방체인 아미노산 중합체에도 적용된다. 달리 지시되지 않는 한, 특정 폴리펩티드 서열은 또한, 이의 보존적으로 변형된 변이체를 암시적으로 포함한다.

[0122] 본 설명에서 사용된 용어 "접합체" 또는 "항체 약물 접합체"는 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 또 다른 작용제, 예컨대 화학요법제, 독소, 면역요법제, 영상화 프로브 등의 연결을 지칭한다. 이러한 연결은 공유 결합, 또는 비 공유적 상호 작용, 예컨대 정전기력을 통한 비 공유적 상호 작용일 수 있다. 당해 분야에 공지된 다양한 링커가 접합체를 형성하기 위해 사용될 수 있다. 추가적으로, 접합체는 접합체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드로부터 발현될 수 있는 융합 단백질 형태로 제공될 수 있다. 본 설명에 사용된 "융합 단백질"은 본래는 별개의 (펩티드 및 폴리펩티드를 포함하는) 단백질을 암호화하는 2개 이상의 유전자 또는 유전자 단편의 연결을 통해 생성된 단백질을 지칭한다. 융합 유전자의 번역은 본래의 단백질 각각으로부터 유래된 기능적 성질이 있는 단일 단백질을 초래한다.

[0123] 용어 "대상체"는 인간 및 비 인간 동물을 포함한다. 비 인간 동물은 모든 척추동물, 예를 들어, 포유동물 및 비 포유동물, 예컨대 비 인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류, 및 파충류를 포함한다. 언급된 경우를 제외하고, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 본 설명에서 상호 교환적으로 사용된다.

[0124] 본 설명에 사용된 용어 "독소", "세포독소" 또는 "세포독성제"는 세포의 성장 및 증식에 해롭고, 세포 또는 악성 종양의 감소, 억제, 또는 파괴 작용을 할 수 있는 임의의 작용제를 지칭한다.

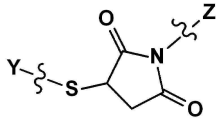
[0125] 본 설명에 사용된 용어 "항암제"는 세포독성제, 화학요법제, 방사선요법 및 방사선요법제, 표적화된 항암제, 및

면역요법제를 포함하나 이에 한정되지 않는, 암과 같은 세포 증식성 장애를 치료하는 데 사용될 수 있는 임의의 작용제를 지칭한다.

- [0126] 본 설명에 사용된 용어 "약물 모이어티" 또는 "페이로드(payload)"는 항체 또는 항원 결합 단편에 접합된 화학적 모이어티를 지칭하고, 임의의 치료제 또는 진단제, 예를 들어, 항암제, 항염증제, 항감염제(예를 들어, 항진균제, 항박테리아제, 항기생충제, 항바이러스제), 또는 마취제를 포함할 수 있다. 특정 양태에서, 약물 모이어티는 Eg5 억제제, V-ATPase 억제제, HSP90 억제제, IAP 억제제, mTor 억제제, 미세관 안정화제, 미세관 탈안정화제, 아우리스타틴, 돌라스타틴, 메이탄시노이드, MetAP(메티오닌 아미노펩티다아제), 단백질 CRM1의 핵 유출의 억제제, DPPIV 억제제, 미토콘드리아에서의 포스포릴 전달 반응의 억제제, 단백질 합성 억제제, 키나아제 억제제, CDK2 억제제, CDK9 억제제, 프로테아솜 억제제, 키네신 억제제, HDAC 억제제, DNA 손상제, DNA 알킬화제, DNA 삽입제, DNA 작은 홈 결합제, RNA 중합효소 억제제, 아마니틴, 스플라이스 억제제, 국소이성질화효소 억제제 및 DHFR 억제제로부터 선택된다. 이들 각각을 본 개시의 항체 및 방법에 적합한 링커에 부착시키는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Singh et al., (2009) Therapeutic Antibodies: Methods and Protocols, vol. 525, 445-457] 참조. 또한, 페이로드는 생물물리학적 프로브, 형광단, 스핀 표지, 적외선 프로브, 친화성 프로브, 킬레이터, 분광 프로브, 방사성 프로브, 지질 분자, 폴리에틸렌 글리콜, 중합체, 스핀 표지, DNA, RNA, 단백질, 펩티드, 표면, 항체, 항체 단편, 나노입자, 양자점, 리포솜, PLGA 입자, 당류 또는 다당류일 수 있다.
- [0127] 용어 "암"은 원발성 악성 종양(예를 들어, 종양 세포가 원래의 종양 위치 이외의 대상체의 신체 내의 위치로 이동하지 않은 종양) 및 2차 악성 종양(예를 들어, 종양 세포가 원래 종양의 위치와 상이한 2차 위치로 이동하는 것인 전이로부터 발생된 종양)을 포함한다.
- [0128] 용어 (KIT, PBT, SCFR, C-Kit, CD117로도 알려져 있는) "cKIT"는 수용체 티로신 키나아제 III 패밀리의 구성원인 티로신 키나아제 수용체를 지칭한다. 인간 cKIT 이소형의 핵산 및 아미노산 서열은 공지되어 있고, 다음의 수탁번호로 GenBank에 공개되었다:
- [0129] NM_000222.2 → NP_000213.1 비만/줄기세포 성장 인자 수용체 Kit 이소형 1 전구체;
- [0130] NM_001093772.1 → NP_001087241.1 비만/줄기세포 성장 인자 수용체 Kit 이소형 2 전구체.
- [0131] 구조적으로, cKIT 수용체는 I형 막관통 단백질이고, 신호 펩티드, 세포 외 도메인 내의 5개의 Ig-유사 C2 도메인을 함유하며, 이의 세포 내 도메인에 단백질 키나아제 도메인을 가지고 있다. 본 설명에 사용된 용어 "cKIT"는 cKIT 단백질의 모든 자연 발생적인 이소형, 또는 이의 변이체를 집합적으로 지칭하는 데 사용된다.
- [0132] 용어 "변이체"는 기준 폴리펩티드에 대해 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나, 실질적으로 동일한 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되며, 기준 폴리펩티드의 1가지 이상의 활성을 나타낼 수 있는 폴리펩티드를 지칭한다. 예를 들어, 변이체는 기준 폴리펩티드의 1가지 이상의 활성을 보유하면서, 기준 폴리펩티드에 대해 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타낼 수 있다.
- [0133] 본 설명에 사용된 바와 같이, 임의의 질병 또는 장애의 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"라는 용어는, 일 양태에서, 질병 또는 장애를 호전시키는 것(즉, 질병 또는 이의 임상적 증상 중 적어도 하나의 발달을 둔화 또는 정지 또는 감소시키는 것)을 지칭한다. 또 다른 양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 환자가 식별할 수 없을 것들을 포함한 적어도 하나의 물리적 파라미터를 경감 또는 호전시키는 것을 지칭한다. 또 다른 양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 물리적으로, (예를 들어, 식별 가능한 증상의 안정화), 생리적으로, (예를 들어, 물리적 파라미터의 안정화), 또는 둘 다에 의해, 질병 또는 장애를 조절하는 것을 지칭한다. 또 다른 양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질병 또는 장애의 발병 또는 발달 또는 진행을 예방 또는 지연시키는 것을 지칭한다.
- [0134] 용어 "치료적으로 허용 가능한 양" 또는 "치료적 유효 용량"은 상호 교환적으로 원하는 결과(즉, 종양 크기 감소, 종양 성장 억제, 전이 방지, 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기생충 감염의 억제 또는 방지)를 일으키는 데 충분한 양을 지칭한다. 일부 양태에서, 치료적으로 허용 가능한 양은 바람직하지 않은 부작용을 유도하거나 야기하지 않는다. 치료적으로 허용 가능한 양은, 먼저 낮은 용량을 투여한 후, 원하는 효과가 달성될 때까지 그 용량을 점증적으로 증가시켜 결정할 수 있다. 본 개시의 분자의 "치료적 유효 투여량"은 각각 암과 관련된 증상을 포함한 질병 증상의 발병을 방지하거나 이의 중증도의 감소를 초래할 수 있다.
- [0135] 용어 "동시 투여(co-administer)"는 개체의 혈액 중 2종의 활성제의 동시적인 존재를 지칭한다. 동시 투여되는

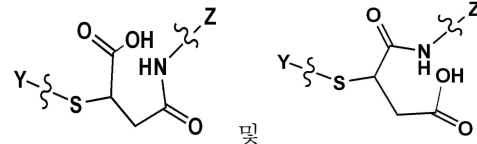
활성제는 동시에 또는 순차적으로 전달될 수 있다.

[0136] 본 발명에 사용된 용어 '티올-말레이미드'는 다음의 일반 화학식을 갖는, 티올과 말레이미드의 반응에 의해 형성된 기를 지칭한다:



[0137]

[0138] (화학식에서 Y 및 Z는 티올-말레이미드 연결을 통해 연결되는 기로, 링커 성분, 항체 또는 페이로드를 포함할



수 있다). 티올-말레이미드는 다음의 고리 개방형 구조 및 를 형성할 수 있다.

[0139] 본 설명에 사용된 "절단 가능한"은 공유 연결에 의해 두 모이어티를 연결하지만 쪼개져서 생리적으로 관련 있는 조건 하에서 모이어티 사이의 공유 연결을 절단하는 연결 기 또는 링커 성분을 지칭하며, 전형적으로 절단 가능한 연결 기는 세포 외부에 있을 때보다는 세포 내 환경에서 더욱 빠르게 생체 내 절단되어, 페이로드의 방출이 표적화된 세포 내부에서 우선적으로 발생하게 한다. 절단은 효소적 또는 비 효소적일 수 있으나, 일반적으로는 항체를 분해하지 않고 항체로부터 페이로드를 방출시킨다. 절단은 연결 기 또는 링커 성분의 어떤 부분이 페이로드에 부착된 채로 둘 수 있거나, 연결 기의 임의의 잔기 없이 페이로드를 방출시킬 수 있다.

[0140] 본 설명에 사용된 "절단 불가능한"은 생리학적 조건 하에서 특별히 분해에 취약하지 않은 연결 기 또는 링커 성분을 지칭하며, 예컨대, 이는 적어도 접합체의 항체 또는 항원 결합 단편 부분만큼 안정적이다. 이러한 연결 기는 때때로 '안정적'이라 지칭되는데, 항체 또는 항원 결합 단편 그 자체가 적어도 부분적으로 분해될 때까지 항체 또는 항원 결합 단편에 페이로드가 연결된 상태를 유지하도록 그것들이 분해에 대해 충분히 저항성을 나타냄을 의미한다. 즉, 항체 또는 항원 결합 단편의 분해가 생체 내에서 연결 기의 절단에 선행한다. 안정적 또는 절단 불가능한 연결 기를 갖는 ADC의 항체 부분의 분해는 연결 기의 일부 또는 전부, 예컨대, 항체로부터의 1개 이상의 아미노산 기가, 페이로드 또는 생체 내로 전달되는 약물 모이어티에 부착된 채로 둘 수 있다.

[0141] **링커-약물 모이어티($L_n-(D)_n$)**

[0142] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L_B)에 공유적으로 부착된 1개 이상의 세포독소를 포함하며, 이때, 1개 이상의 세포독소는 아우리스타틴, 아마니틴, 메이탄시노이드 및 사포린으로부터 독립적으로 선택된다.

[0143] 또 다른 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L_B)에 공유적으로 부착된 1개 이상의 세포독소를 포함하며, 이때, 1개 이상의 세포독소는 아우리스타틴 및 아마니틴으로부터 독립적으로 선택된다.

[0144] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L_B)에 공유적으로 부착된 1개 이상의 세포독소를 포함하며, 이때, 링커(L_B)는 절단 가능한 링커이고, 1개 이상의 세포독소는 아우리스타틴, 아마니틴, 메이탄시노이드 및 사포린으로부터 독립적으로 선택된다.

[0145] 또 다른 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L_B)에 공유적으로 부착된 1개 이상의 세포독소를 포함하며, 이때, 링커(L_B)는 절단 가능한 링커이고, 1개 이상의 세포독소는 아우리스타틴 및 아마니틴으로부터 독립적으로 선택된다.

[0146] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L_B)에 공유적으로 부착된 1개 이상의 세포독소를 포함하며, 이때, 링커(L_B)는 절단 불가능한 링커이고, 1개 이상의 세포독소는 아우리스타틴, 아마니틴, 메이탄시노이드 및 사포린으로부터 독립적으로 선택된다.

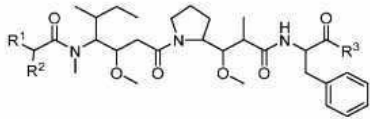
[0147] 또 다른 양태에서, 약물 모이어티(D)는 사포린, 섬자리공 항바이러스 단백질(pokeweed antiviral protein,

PAP), 브리오딘 1, 부가닌, 젤로닌, 리신(ricin), 아브린, 겨우살이 렉틴(mistletoe lectin), 모데신, 볼켄신, 아스파린, 모모르딘, 에볼린, 비스쿠민, 시가 독소(Shiga toxin), 디프테리아 독소(DT), 또는 슈도모나스 외독소(PE)로부터 선택된 단백질 독소이다. 이러한 단백질 독소는 리보솜을 불활성시켜 세포를 살상하거나 신장 인자 2(EF2) 기능을 방해하여 단백질 합성을 억제할 수 있다(문헌[Kreitman et al., Immunotoxins for targeted cancer therapy, The AAPS Journal 2006; 8 (3) Article 63; Gadadhar and Karande, Targeted Cancer Therapy: History and Development of Immunotoxins, Chapter 1 of Resistance to Immunotoxins in Cancer Therapy, pp 1-31] 참조). 일부 구현예에서, 단백질 독소는 사포린이다. 이러한 단백질 독소는 절단 가능한 또는 절단 불가능한 링커(L_B)에 공유적으로 부착될 수 있다.

[0148] 또 다른 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 링커(L_B)에 공유적으로 부착된 1개 이상의 세포독소를 포함하며, 이때, 링커(LB)는 절단 불가능한 링커이고, 1개 이상의 세포독소는 아우리스타틴 또는 아마니틴으로부터 독립적으로 선택된다.

[0149] 일 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 화학식 A의 구조를 갖는 화합물, 또는 이의 입체 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염이다

[0150] [화학식 A]



[0151]

[0152] (화학식에서,

[0153] R¹은 이고, R³은 -OH;

[0154] 또는

[0155] R¹은 또는 이고, R³은 -L₅R¹⁴ 이고;

[0156] R²는 C₁-C₆알킬이고;

[0157] R⁴는 -L₁R¹⁴, -L₂R²⁴, -L₂R³⁴ 또는 -L₃R⁴⁴이고;

[0158] L₁은 $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_1(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{X}_4\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{X}_4\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ 또는 $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$ 이고;

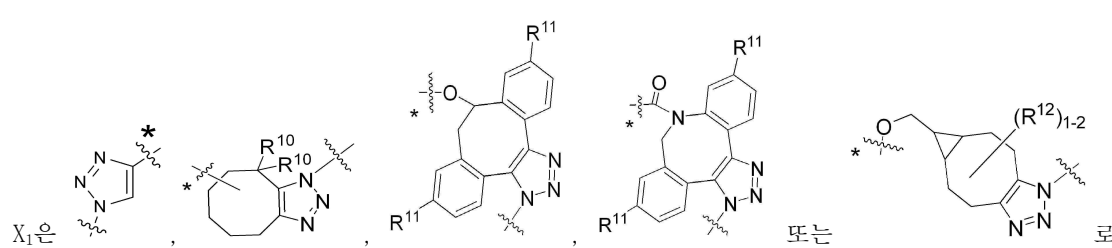
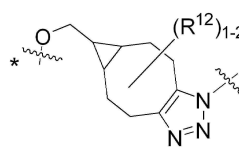
[0159] L₂는 $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_1(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{X}_4\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{X}_4\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ 또는 $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$ 이고;

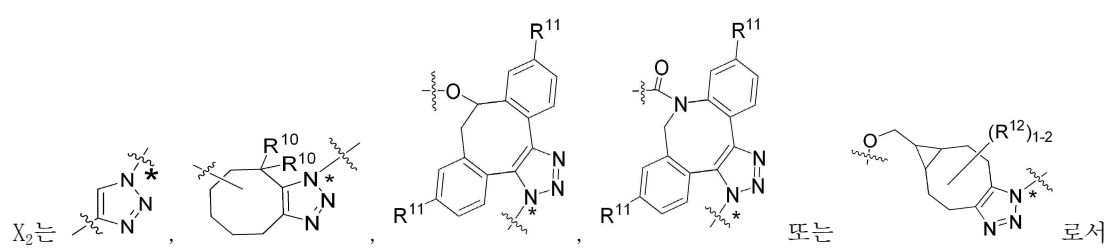
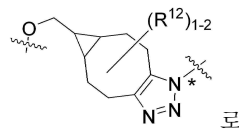
[0160] L₃은 $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_1(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$,

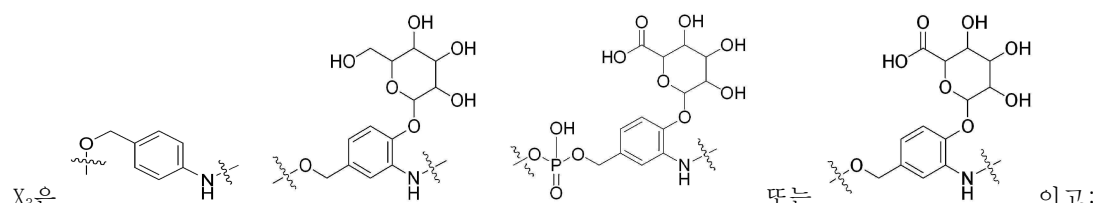
$-(\text{CH}_2)_m\text{p}(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{X}_4\text{C}(=\text{O})((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{X}_4\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$,
 $-\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ 또는
 $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-$ 이고;

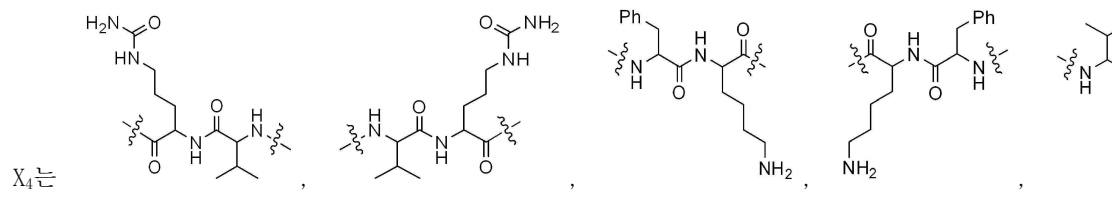
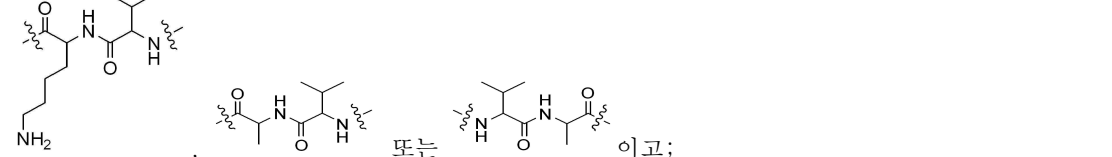
[0161] L_4 는 $-(\text{CH}_2)_m-$ 이고;

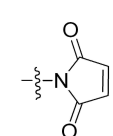
[0162] L_5 는 $-\text{NHS}(=\text{O})_2(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4$, $-\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$,
 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_m\text{X}_1(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$,
 $-\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m$, $-\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{R}_7)_2-$,
 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ 또는 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_m\text{X}_3\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-$ 이고;

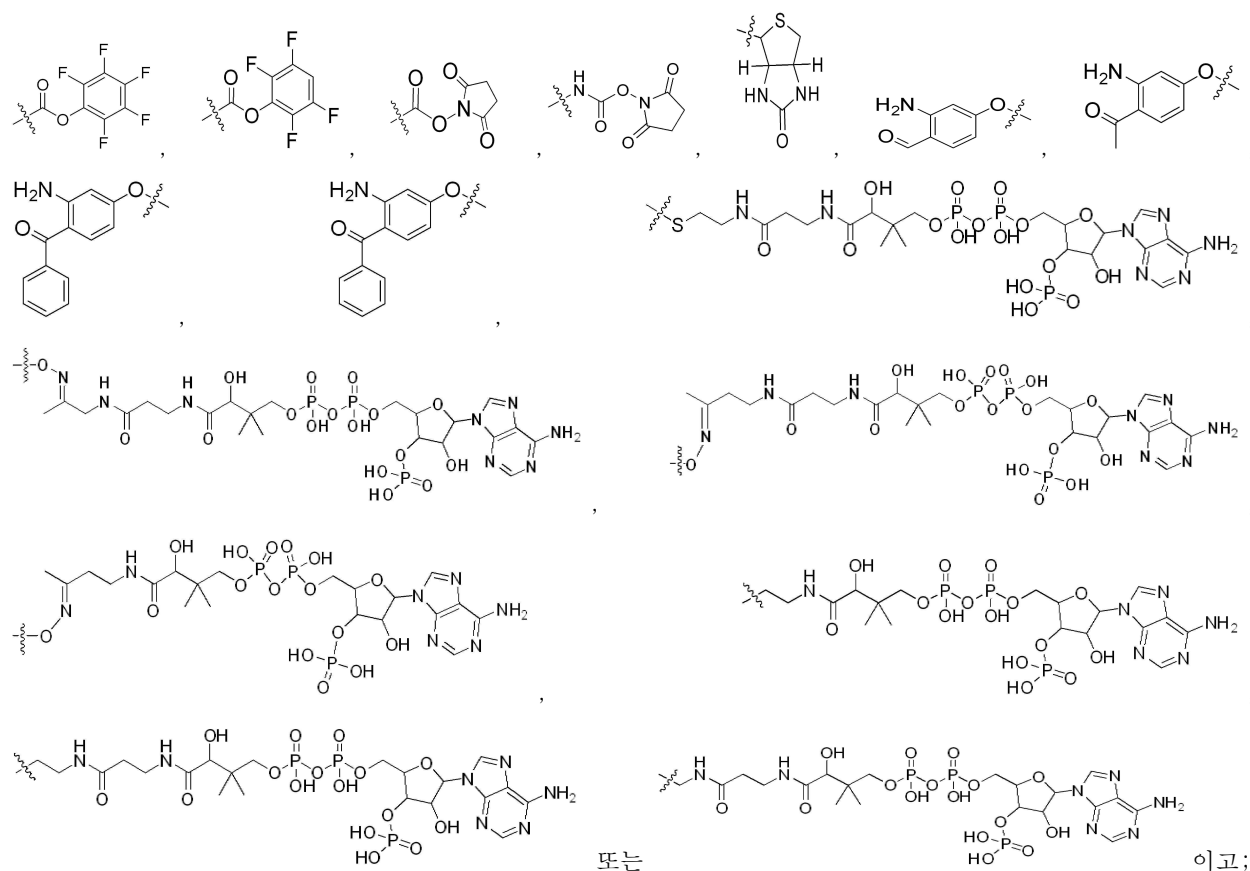
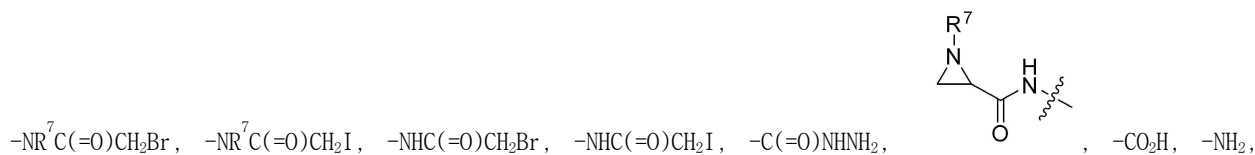
[0163] X_1 은  또는  로서, *는 L_4 에
 대한 부착점을 나타내고;

[0164] X_2 는  또는  로서, *는 L_4 에 대
 한 부착점을 나타내고;

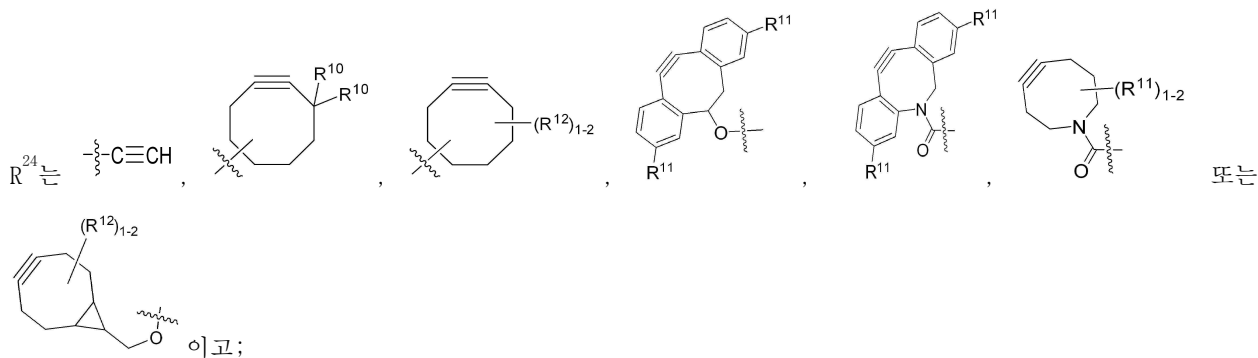
[0165] X_3 은  이고;

[0166] X_4 는  ,
 이고;

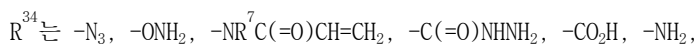
[0167] R^{14} 는  , $-\text{N}_3$, $-\text{ONH}_2$, $-\text{NR}^7\text{C}(=\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$, SH , $-\text{SSR}^{13}$, $-\text{S}(=\text{O})_2(\text{CH}=\text{CH}_2)$, $-\text{NR}^7\text{S}(=\text{O})_2(\text{CH}=\text{CH}_2)$,



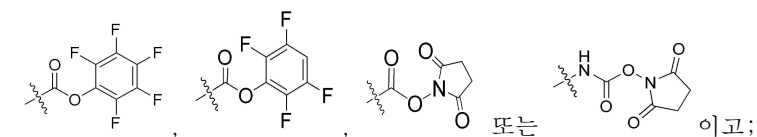
[0168]



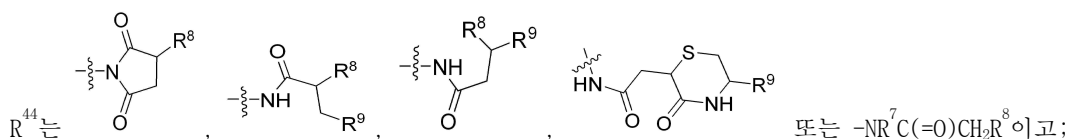
[0169]



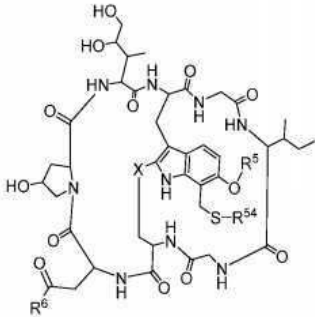
[0170]



[0171]



- [0172] 각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0173] R^8 은 $-S(CH_2)_nCHR^9NH_2$ 이고;
- [0174] R^9 는 $-C(=O)OR^7$ 이고;
- [0175] 각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;
- [0176] 각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;
- [0177] 각각의 R^{12} 는 H, C_1 -알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0178] R^{13} 은 2-피리딜 또는 4-피리딜이고;
- [0179] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0180] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).
- [0181] 또 다른 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 화학식 B의 구조를 갖는 화합물, 또는 이의 입체 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염이다
- [0182] [화학식 B]



- [0183]
- [0184] (화학식에서,
- [0185] R^{54} 는 $-L_6R^{14}$, $-L_7R^{24}$, $-L_7R^{34}$ 또는 $-L_6R^{44}$ 이고;
- [0186] X는 $S(=O)$, $S(=O)_2$ 또는 S이고;
- [0187] R^5 는 H, $-CH_3$ 또는 $-CD_3$ 이고;
- [0188] R^6 은 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이고;
- [0189] L_6 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mX_1(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-((CH_2)_mO)_pCH_2C(=O)NH(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mC(R_7)_2-$ 또는 $-(CH_2)_mC(R_7)_2SS(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$ 이고;
- [0190] L_7 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mX_1(CH_2)_m-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$,

$$-((\text{CH}_2)_m\text{O})_p\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-, -(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2-, \text{또는 } -(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-\text{ㅇ} \text{고};$$

[0191]
$$\begin{aligned} & \text{L}_8 \text{은} \quad -((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-, \quad -((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-, \quad -\text{L}_4\text{NHC(=O)NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-, \quad -\text{L}_4\text{NHC(=O)NH} \\ & ((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-, \quad -((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-, \quad -(\text{CH}_2)_m-, \quad -(\text{CH}_2)_m\text{X}_1(\text{CH}_2)_m-, \quad -(\text{CH}_2)_m\text{NHC(=O)(CH}_2)_m-, \\ & -(\text{CH}_2)_m\text{NHC(=O)(CH}_2)_m\text{C(=O)NH(CH}_2)_m-, \quad -((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{NHC(=O)(CH}_2)_m-, \quad -((\text{CH}_2)_m\text{O})_p\text{CH}_2)_m\text{C(=O)NH(CH}_2)_m-, \\ & -(\text{CH}_2)_m\text{C(R}_7)_2- \text{ 또는 } -(\text{CH}_2)_m\text{C(R}_7)_2\text{SS(CH}_2)_m\text{NHC(=O)(CH}_2)_m- \text{을 포함한다;} \end{aligned}$$

[0192] L_4 는 $-(CH_2)_m-$ 이고;

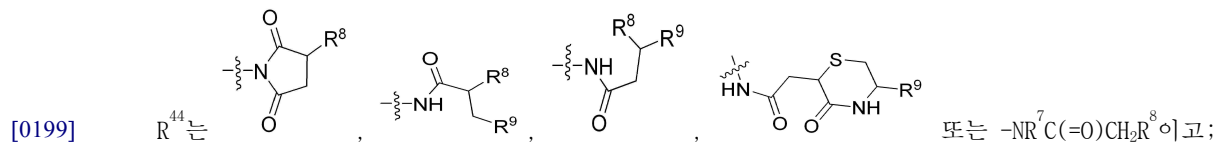
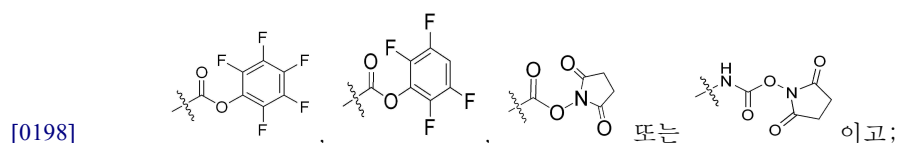
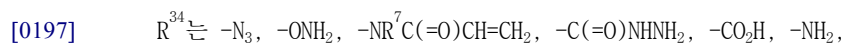
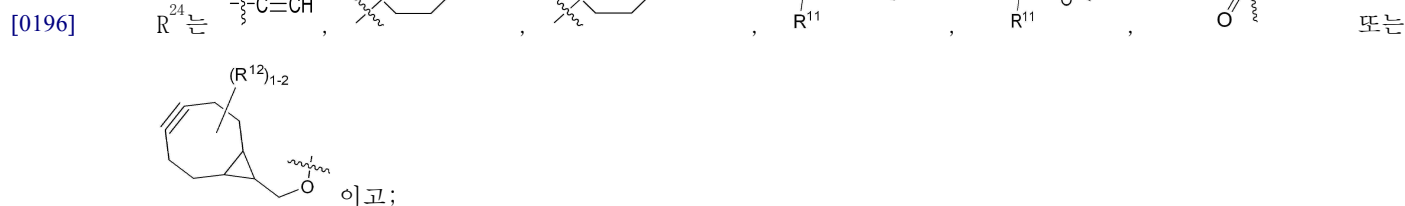
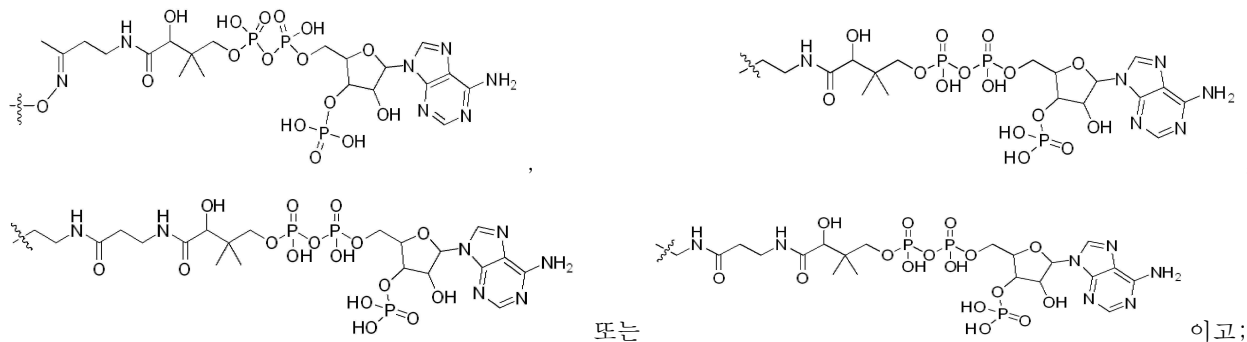
[0193] X₁은 , , R¹¹ , R¹¹  또는 로서, *는 L₄에 대한 부착점을 나타내고;

[0194] X_2 는 , , , 또는 또는 로서, *는 L₄에 대한 부착점을 나타내고;

[0195] $R^{14} \text{---} \overset{\overset{O}{\parallel}}{C}$, $-N_3$, $-ONH_2$, $-NR^7C(=O)CH=CH_2$, SH , $-SSR^{13}$, $-S(=O)_2(CH=CH_2)$, $-NR^7S(=O)_2(CH=CH_2)$,

$-\text{NR}^7\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{NR}^7\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NHNH}_2$, , $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{NH}_2$,

The image displays a collection of chemical structures, including monomers and polymers, arranged in two rows. The top row features several monomers: a pentafluorophenyl ester, a hexafluorophenyl ester, a succinimide, a carbamate-linked succinimide, a thiazolidine derivative, a 4-aminophenyl ether, and a 4-aminophenyl ether with a vinyl group. The bottom row shows two complex polymers, each consisting of a poly(ether amide) backbone with a pendant 2-aminophenyl ether group, and a complex molecule featuring a thiazolidine ring, a carbamate, a hydroxyl group, and a phosphate group.



[0200] 각각의 R⁷은 H 및 C₁-C₆알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0201] $R^8 \xrightarrow{\circ} -S(CH_2)_nCHR^9NH_2\circ]$ 고 ;

[0202] $R^9 \text{---} C(=O)OR^7$ 인 경우;

[0203] 각각의 R¹⁰은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0204] 각각의 R¹¹은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되
 고;

[0205] 각각의 R¹²는 H, C₁₋₆알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0206] R^{13} 은 2-페리딜 또는 4-페리딜이고;

[0207] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

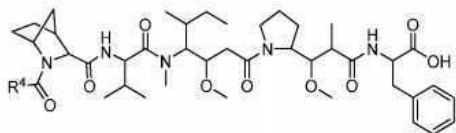
[0208] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0209] 본 발명의 링커-약물 모이어티의 일부 양태 및 예는 다음의 추가적인, 열거된 구현예의 목록으로 제공된다. 각

구현예에 명시된 특징은 본 발명의 추가적인 구현예를 제공하기 위하여 다른 명시된 특징과 조합될 수 있음이 인정될 것이다.

[0210] 구현예 1. 화학식 A-1 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는 화학식 A의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[0211] [화학식 A-1]

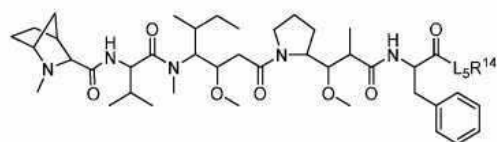


[0212]

(화학식에서, R^4 는 위에서 정의된 바와 같음).

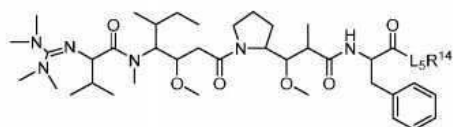
[0214] 구현예 2. 화학식 A-2 또는 화학식 A-3 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는 화학식 A의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[0215] [화학식 A-2]



[0216]

[화학식 A-3]

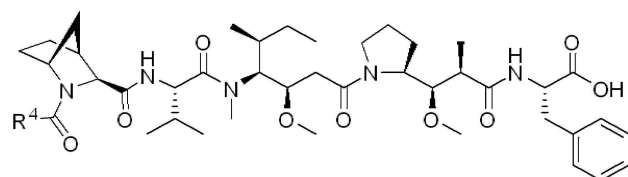


[0218]

(화학식에서, L_5 및 R^{14} 는 위에서 정의된 바와 같음).

[0220] 구현예 3. 화학식 A-1a 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는 화학식 A의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[0221] [화학식 A-1a]

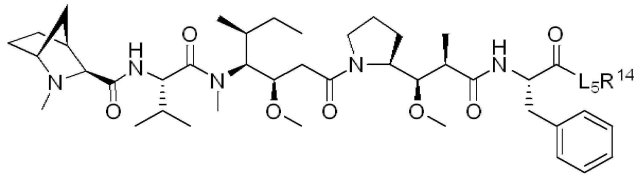


[0222]

(화학식에서, R^4 는 위에서 정의된 바와 같음).

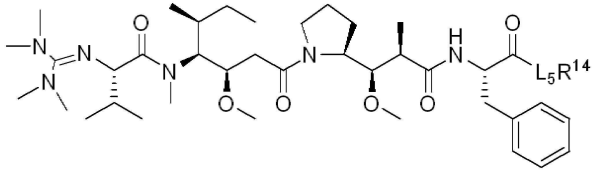
[0224] 구현예 4. 화학식 A-2a 또는 화학식 A-3a 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는 화학식 A의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[0225] [화학식 A-2a]



[0226]

[0227] [화학식 A-3a]



[0228]

[0229] (화학식에서, L_5 및 R^{14} 는 위에서 정의된 바와 같음).

[0230] 구현예 5. 화학식 A, 화학식 A-1 또는 화학식 A-1a의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염

[0231] (화학식에서,

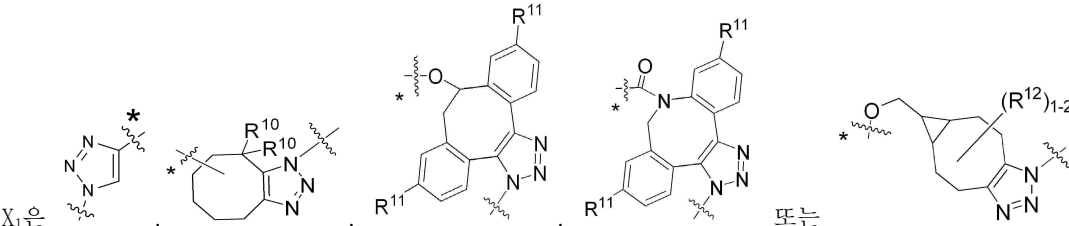
[0232] R^4 는 $-L_1R^{14}$, $-L_2R^{24}$, $-L_2R^{34}$ 또는 $-L_3R^{44}$ 이고;

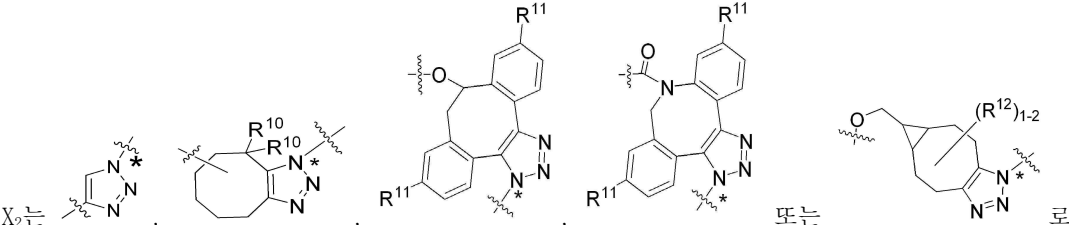
[0233] L_1 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;

[0234] L_2 는 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;

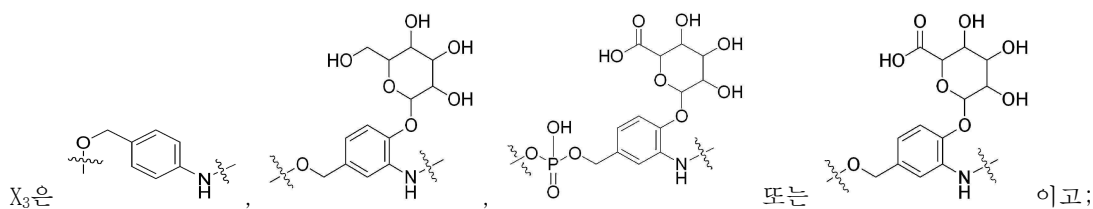
[0235] L_3 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;

[0236] L_4 는 $-(CH_2)_m-$ 이고;

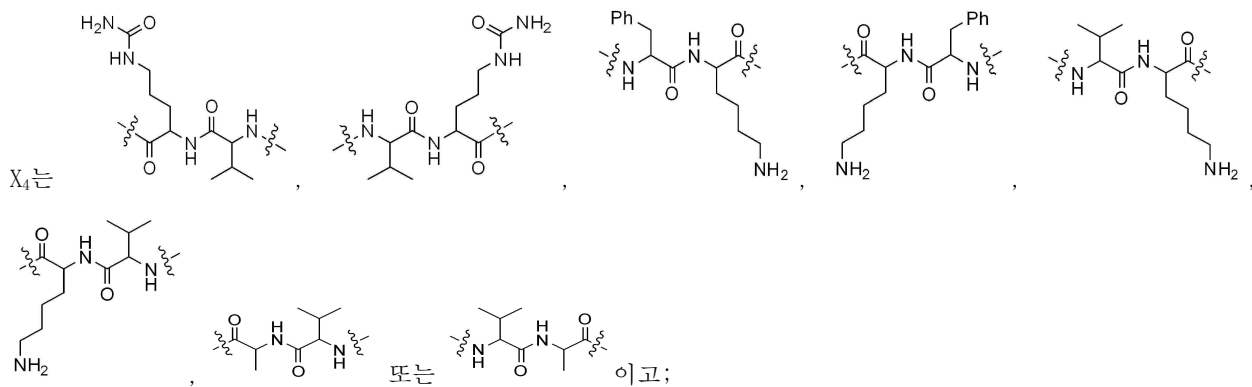
[0237] X_1 은  로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

[0238] X_2 는  로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

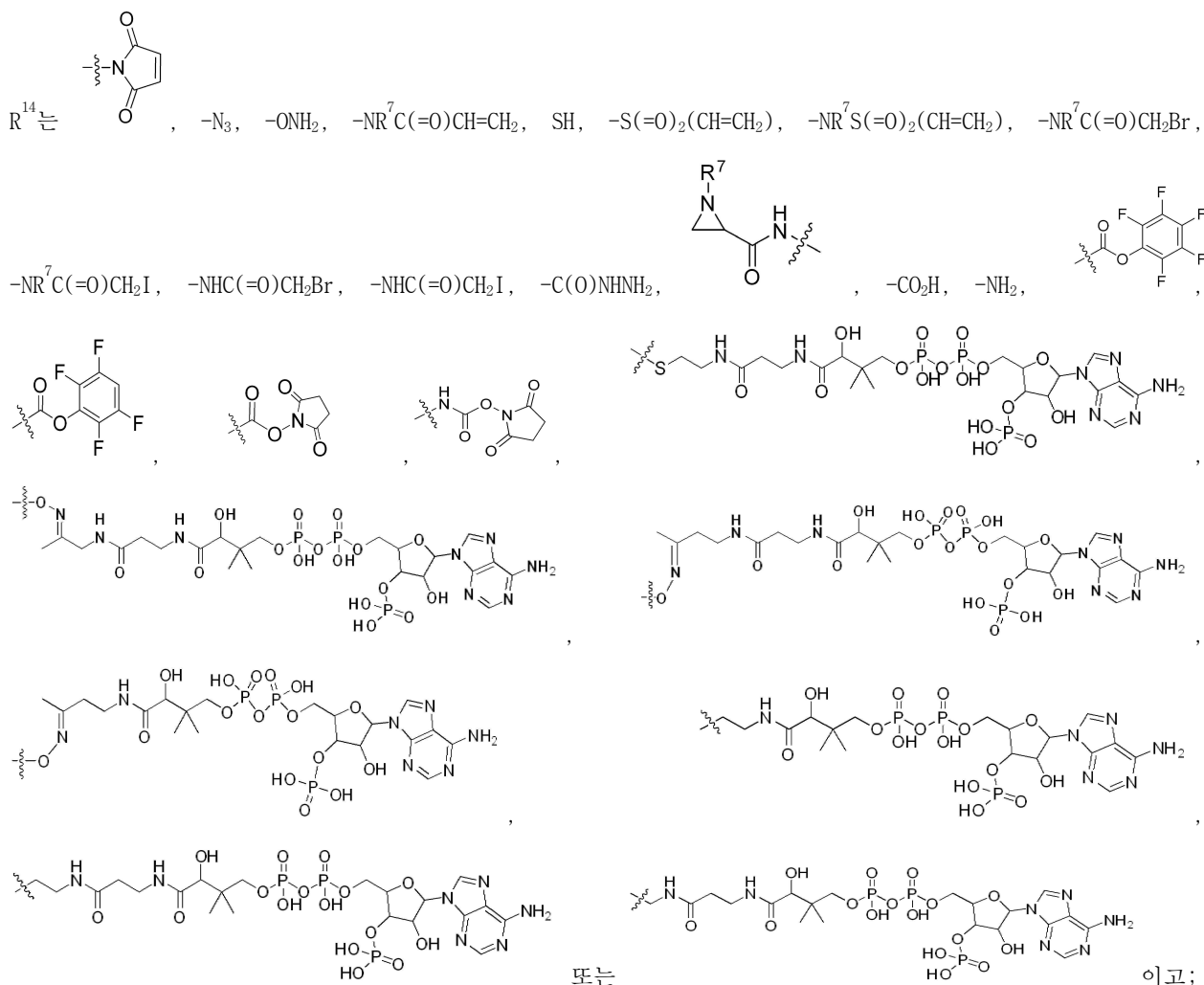
[0239]



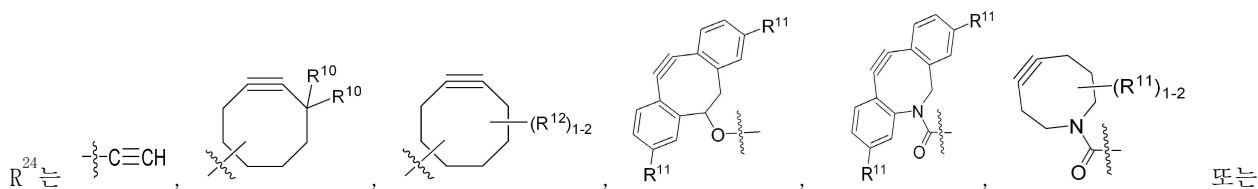
[0240]

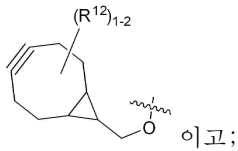


[0241]



[0242]





[0243] R^{34} 는, $-N_3$, $-ONH_2$, $-NR^7C(=O)CH=CH_2$, $-C(O)NHNH_2$, $-CO_2H$, $-NH_2$,

[0244] 이 고;

[0245] R^{44} 는 또는 $-NR^7C(=O)CH_2R^8$ 이 고;

[0246] 각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0247] R^8 은 $-S(CH_2)_nCHR^9NH_2$ 이 고;

[0248] R^9 는 $-C(=O)OR^7$ 이 고;

[0249] 각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0250] 각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0251] 각각의 R^{12} 는 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0252] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0253] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0254] 구현예 6. 화학식 A, 화학식 A-2, 화학식 A-3, 화학식 A-2a, 또는 화학식 A-3a의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염

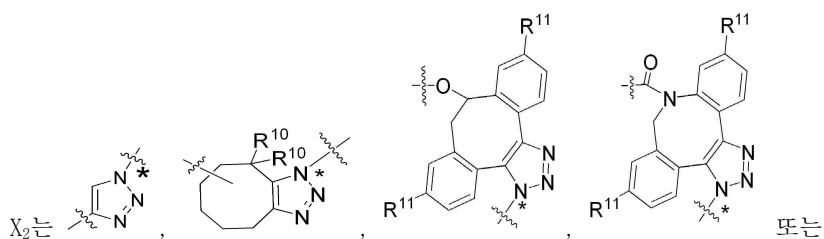
[0255] (화학식에서,

[0256] L_4 는 $-(CH_2)_m-$ 이 고;

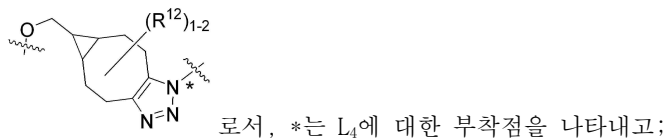
[0257] L_5 는 $-NHS(=O)_2(CH_2)_mX_1L_4$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4^-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4^-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 또는 $-NH(CH_2)_m-$ 이 고;

[0258] X_1 은 또는 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

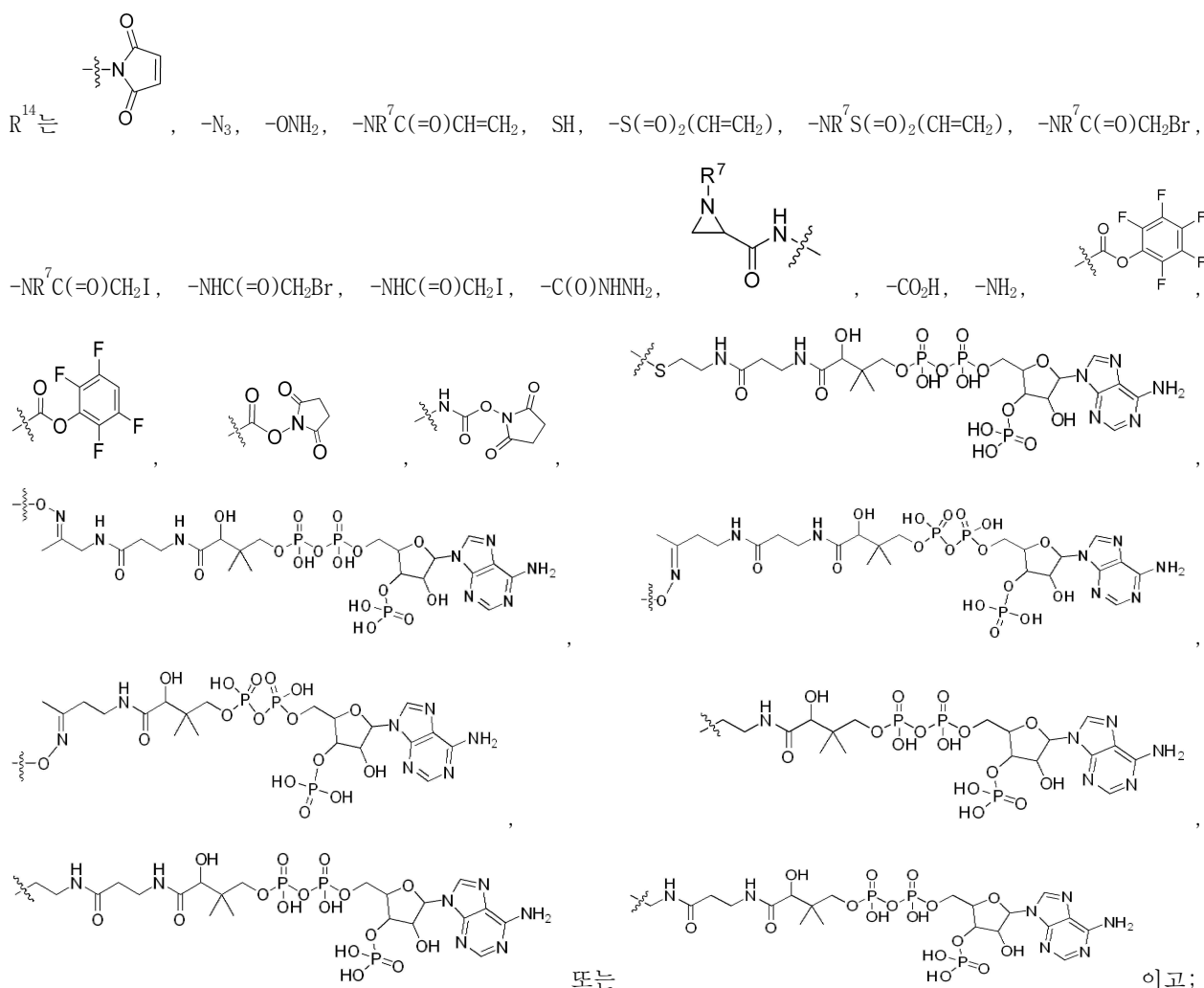
[0259]



[0260]



[0261]



[0262]

각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0263]

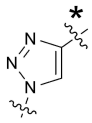
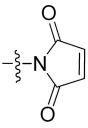
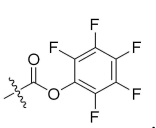
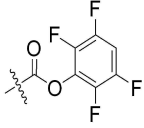
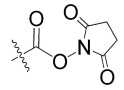
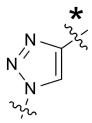
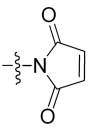
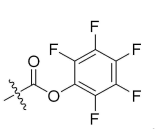
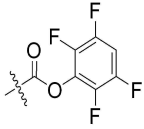
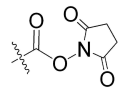
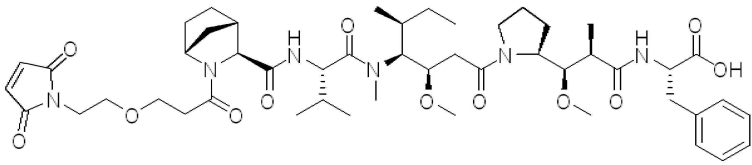
각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

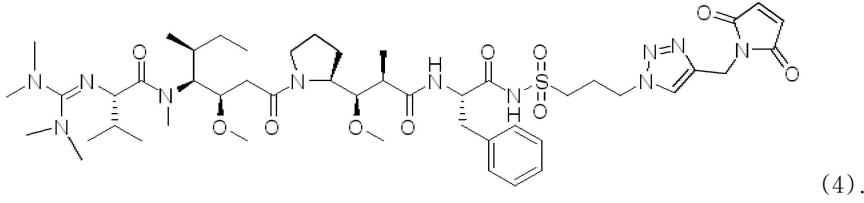
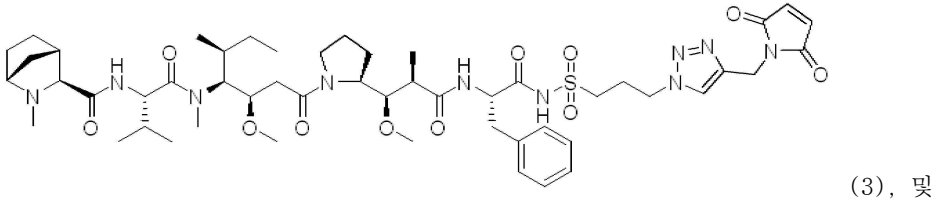
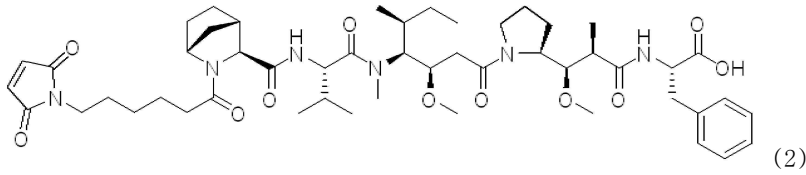
[0264]

각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0265]

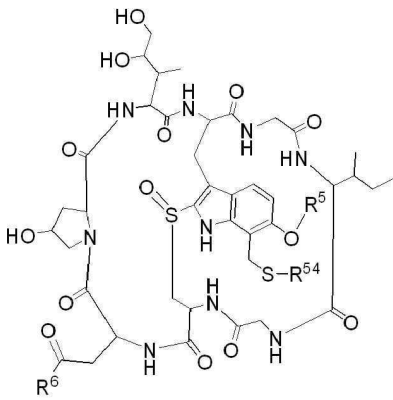
각각의 R^{12} 는 H, C_1 - C_6 알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

- [0266] 각각의 m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0267] 각각의 p 는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).
- [0268] 구현예 7. 화학식 A, 화학식 A-1, 또는 화학식 A-1a의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염
- [0269] (화학식에서,
- [0270] R^4 는 $-L_1R^{14}$ 이고;
- [0271] L_1 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 또는 $-(CH_2)_m-$ 이고;
- [0272] L_4 는 $-(CH_2)_m-$ 이고;
- [0273] L_5 는 $-NHS(=O)_2(CH_2)_mX_1L_4$ 이고;
- [0274] X_1 은  로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;
- [0275] R^{14} 는 , $-ONH_2$, ,  또는  이고;
- [0276] 각각의 m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0277] 각각의 p 는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).
- [0278] 구현예 8. 화학식 A, 화학식 A-2, 화학식 A-3, 화학식 A-2a, 또는 화학식 A-3a의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염
- [0279] (화학식에서,
- [0280] L_4 는 $-(CH_2)_m-$ 이고;
- [0281] L_5 는 $-NHS(=O)_2(CH_2)_mX_1L_4$ 이고;
- [0282] X_1 은  로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;
- [0283] R^{14} 는 , $-ONH_2$, ,  또는  이고;
- [0284] 각각의 m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0285] 각각의 p 는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).
- [0286] 구현예 9. 다음으로부터 선택된 화학식 A의 화합물:
- [0287]  (1);



구현예 10. 화학식 B-1 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는 화학식 B의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

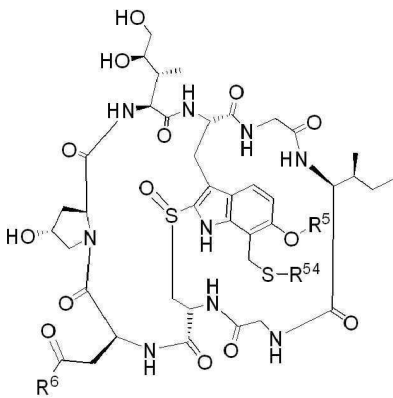
[화학식 B-1]



(화학식에서, R^{54} , R^5 및 R^6 은 위에서 정의된 바와 같음).

구현예 11. 화학식 B-1a 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 구조를 갖는 화학식 B의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 B-1a]



(화학식에서, R^{54} , R^5 및 R^6 은 위에서 정의된 바와 같음).

[0299] 구현예 12. 화학식 B, 화학식 B-1 또는 화학식 B-1a의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염

[0300] (화학식에서,

[0301] R^{54} 는 $-L_6R^{14}$, $-L_7R^{24}$, $-L_7R^{34}$ 또는 $-L_8R^{44}$ 이고;

[0302] R^5 는 H, $-CH_3$ 또는 $-CD_3$ 이고;

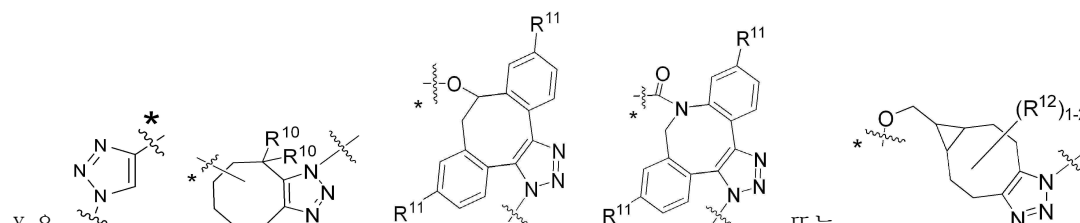
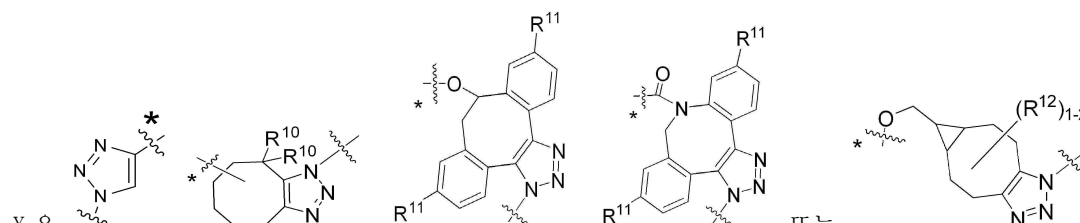
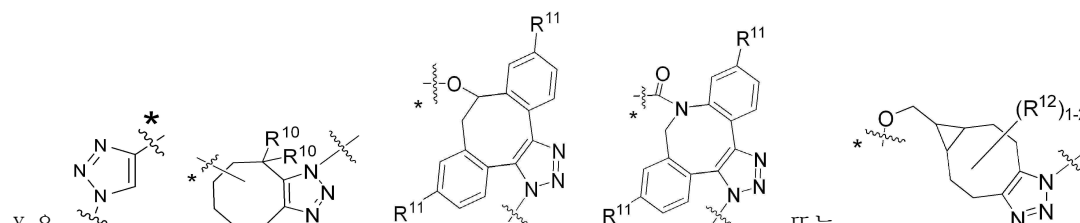
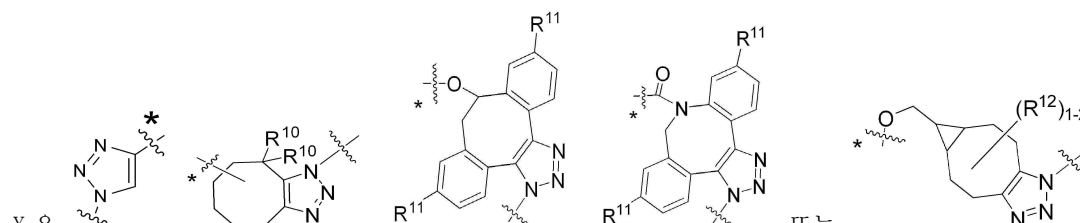
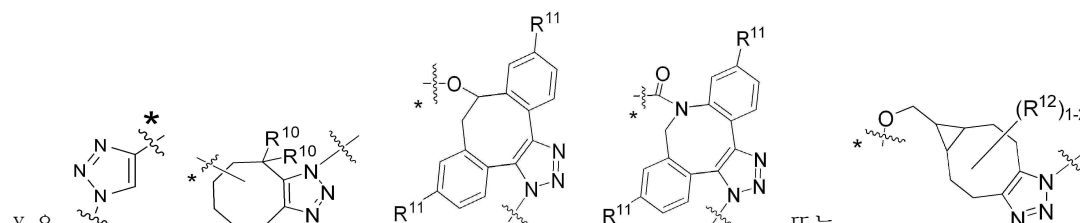
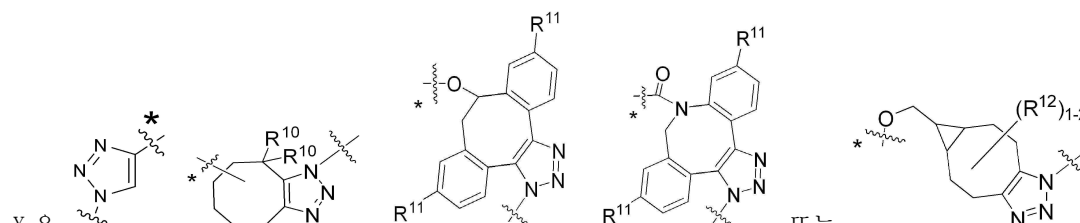
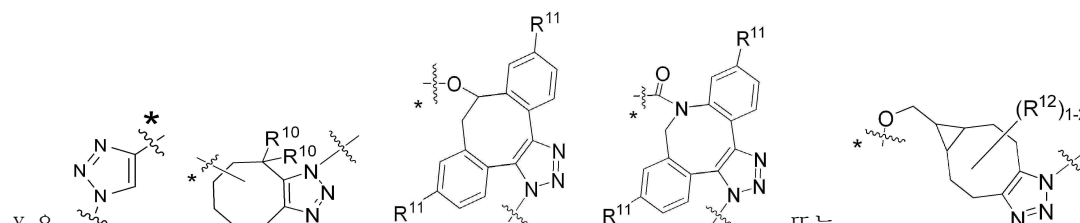
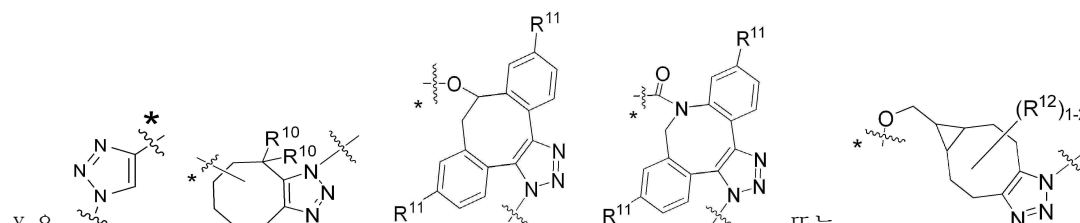
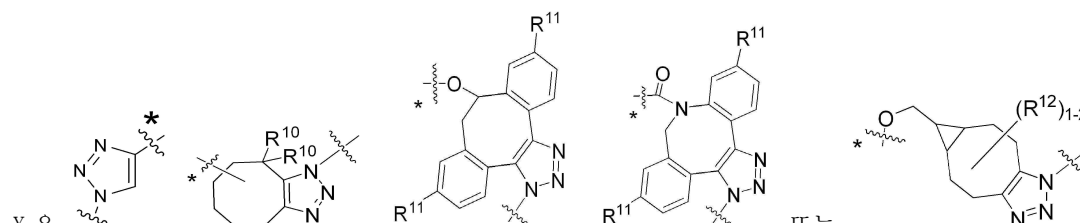
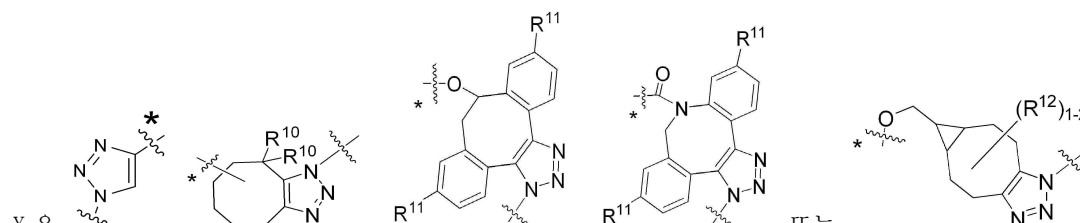
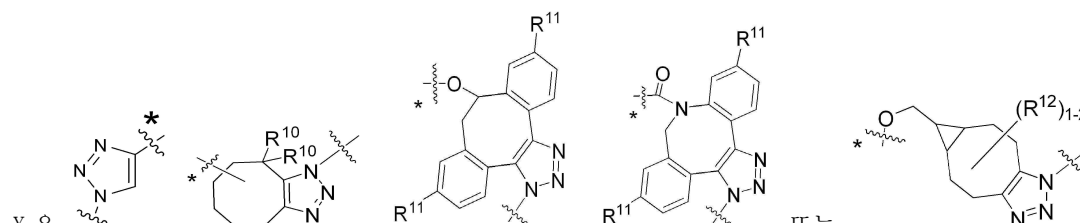
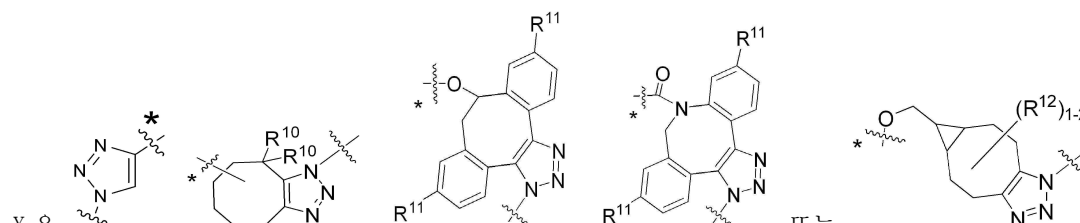
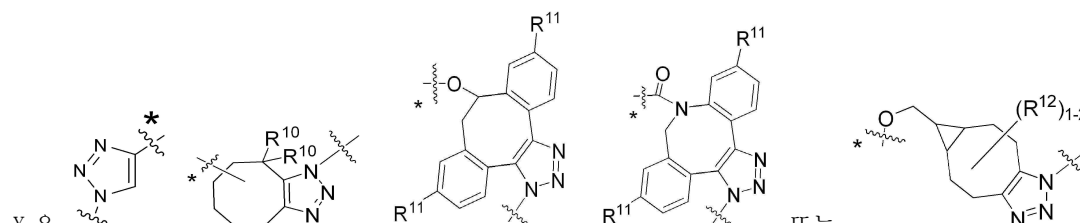
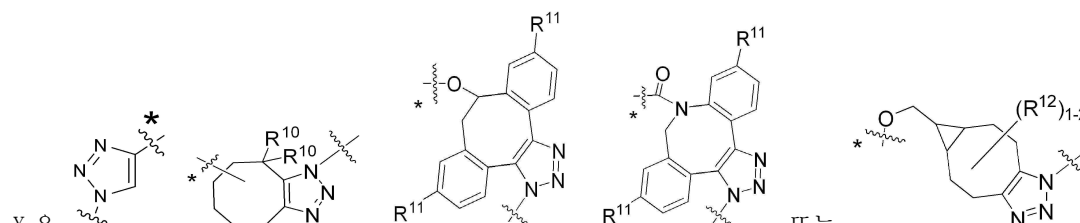
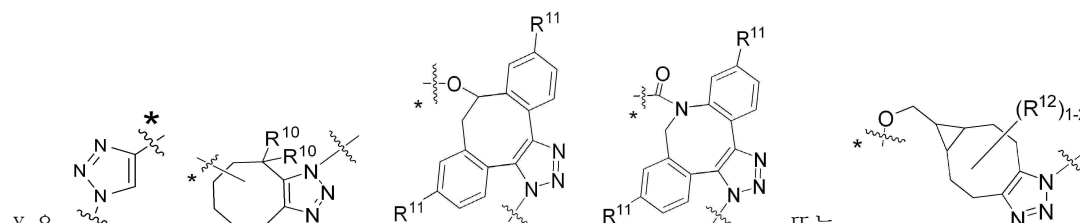
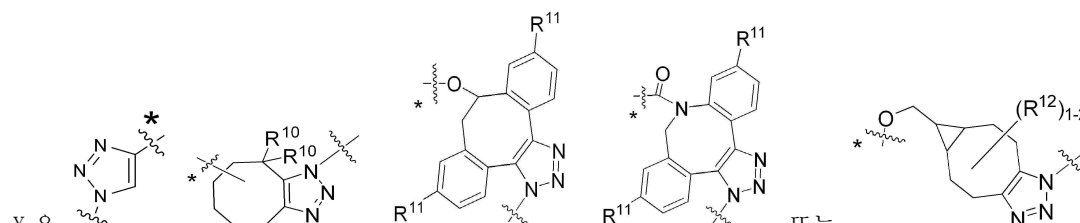
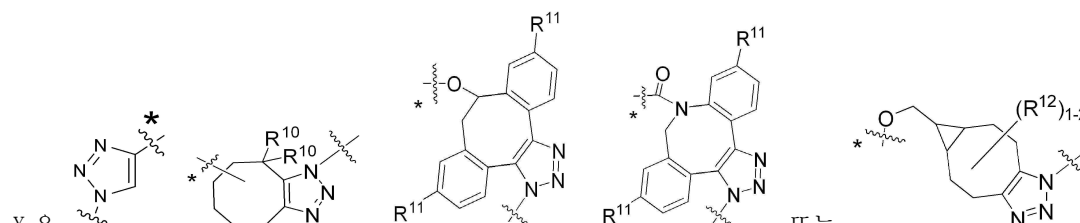
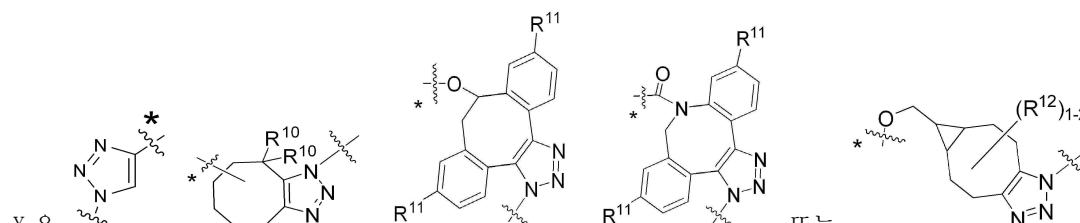
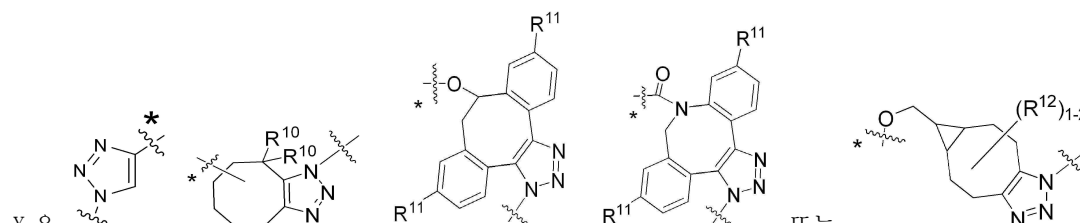
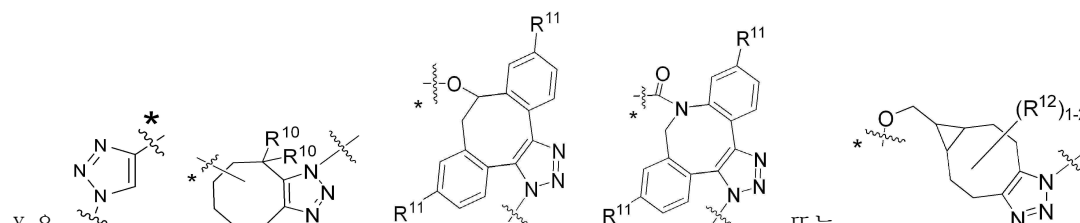
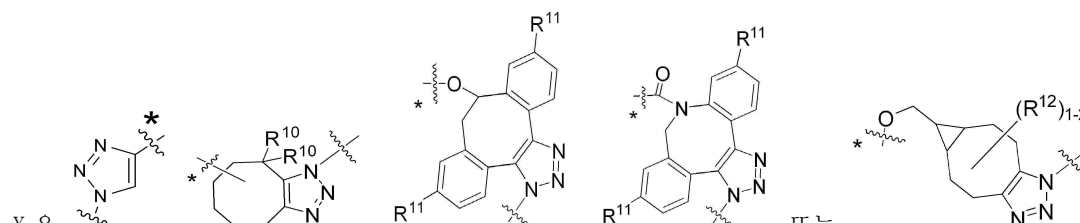
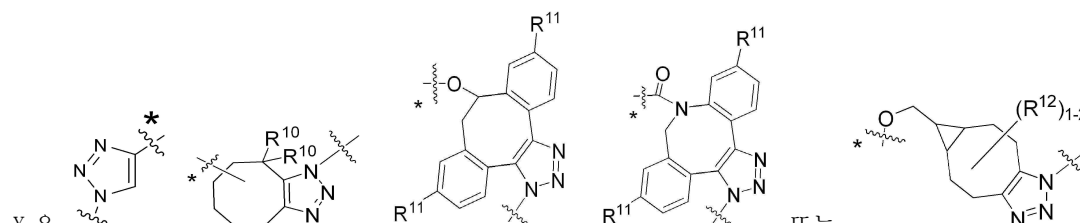
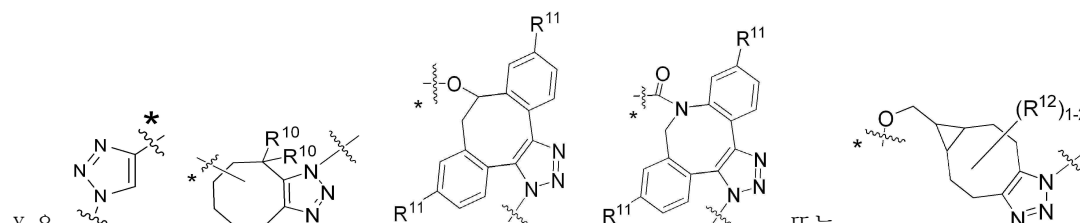
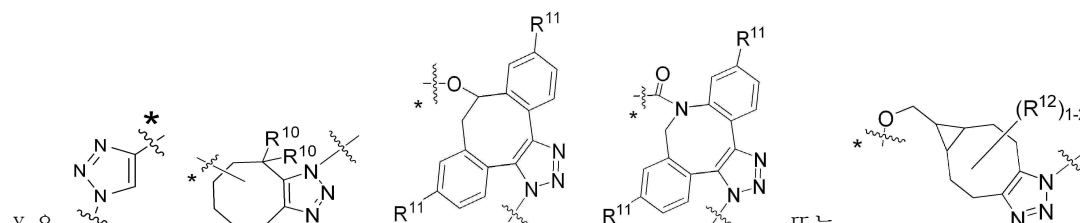
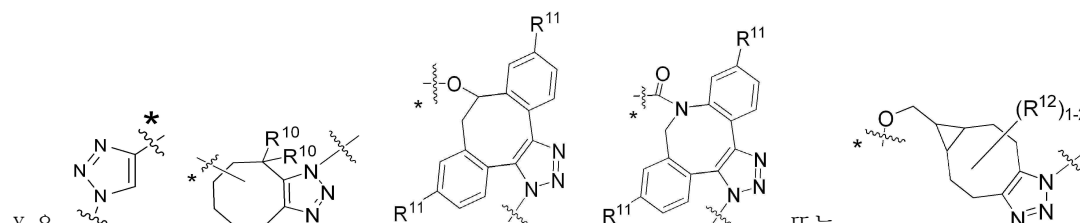
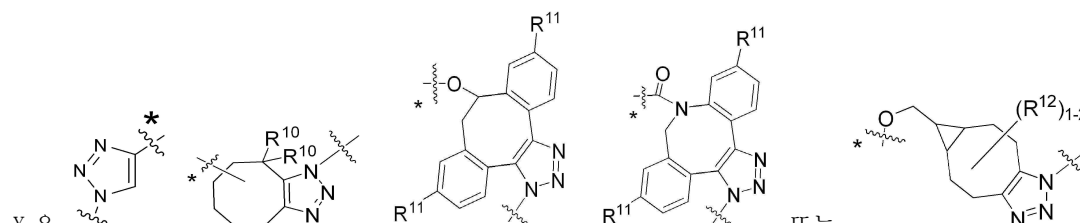
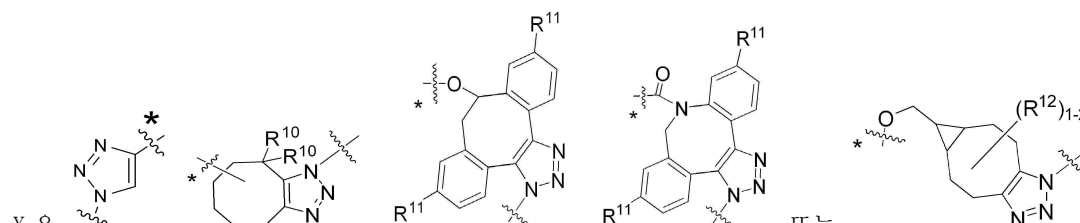
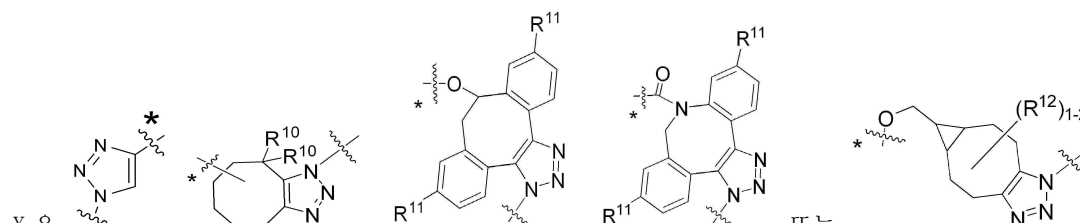
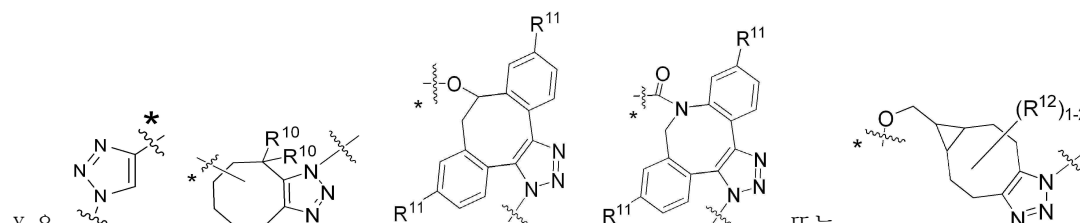
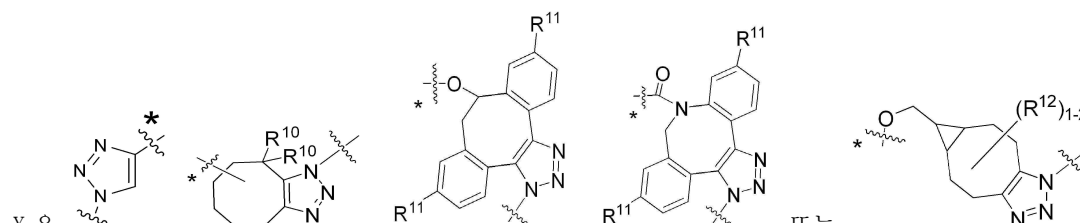
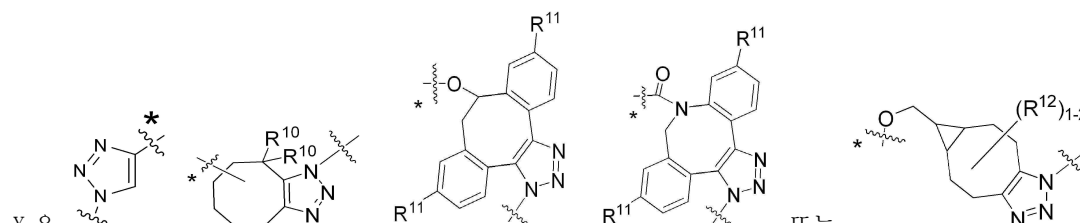
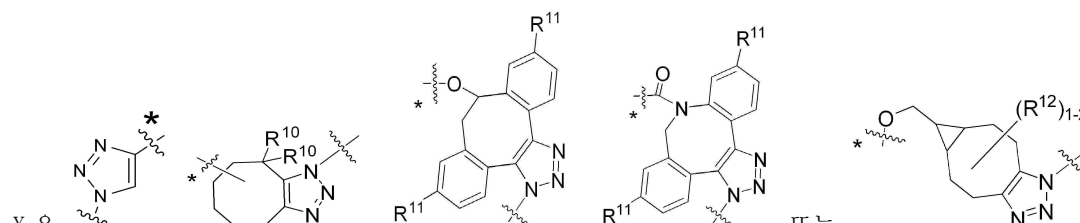
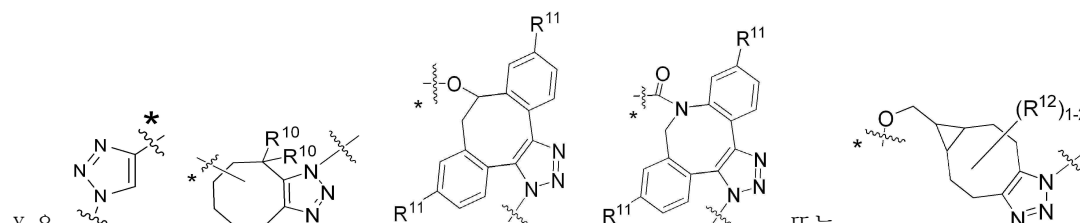
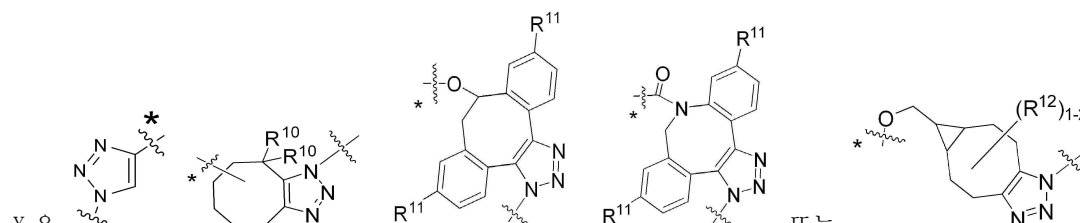
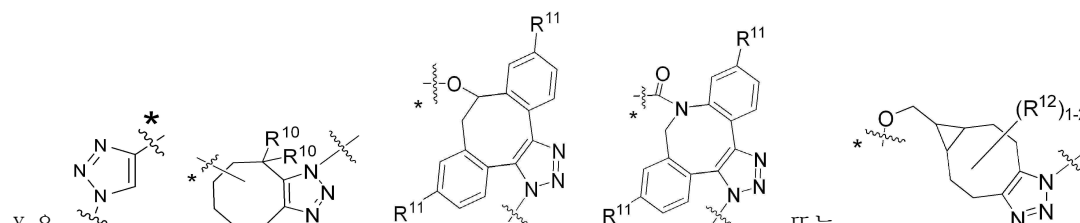
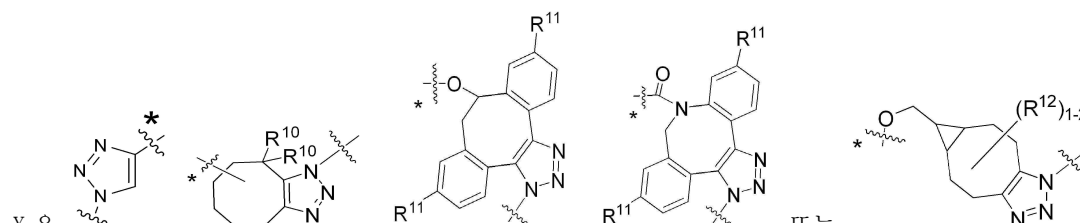
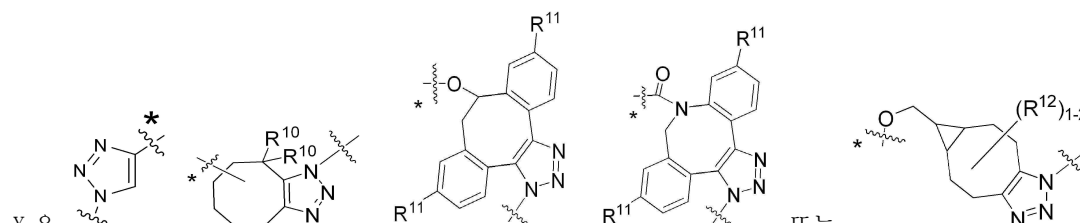
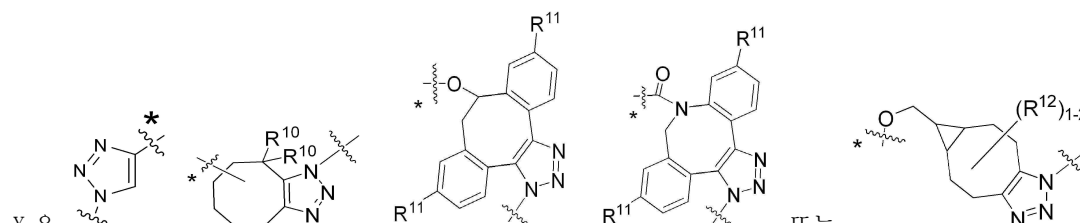
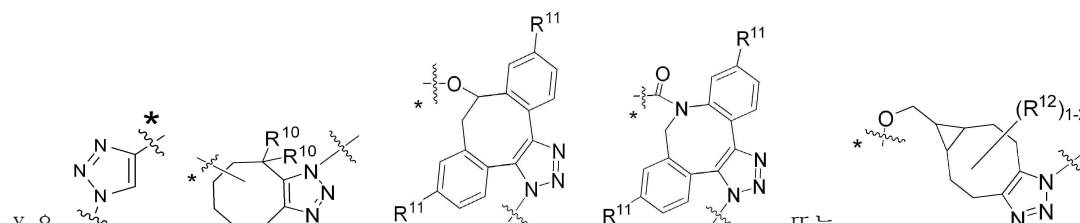
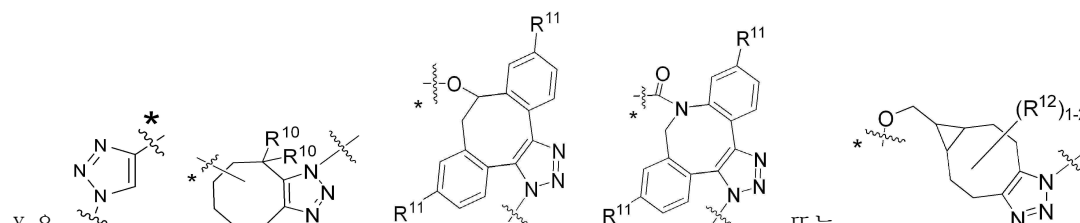
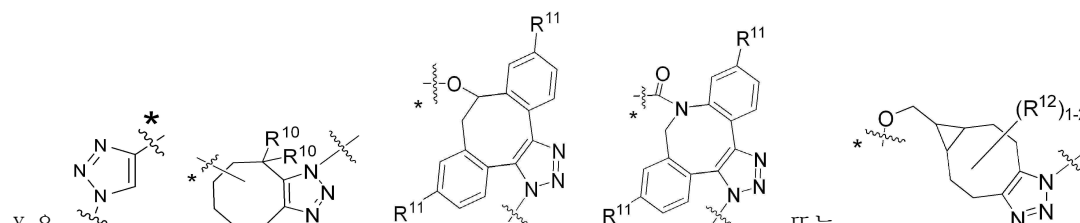
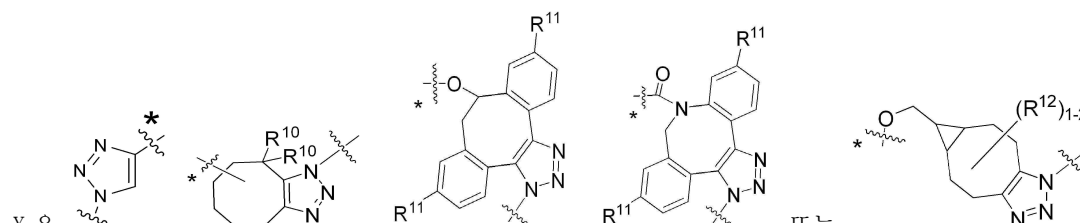
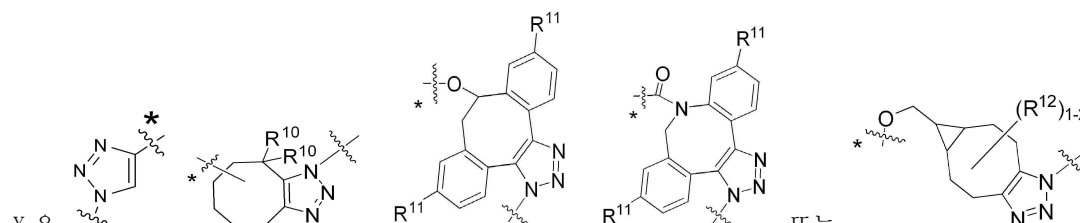
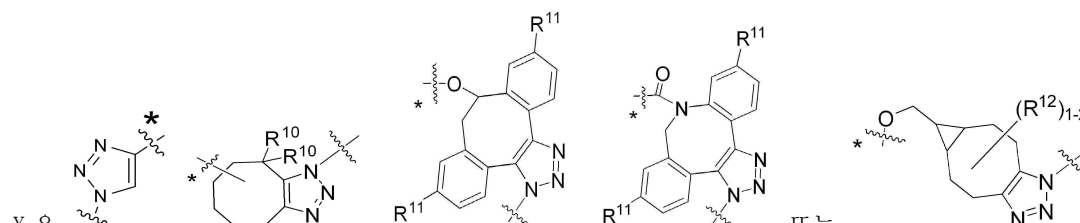
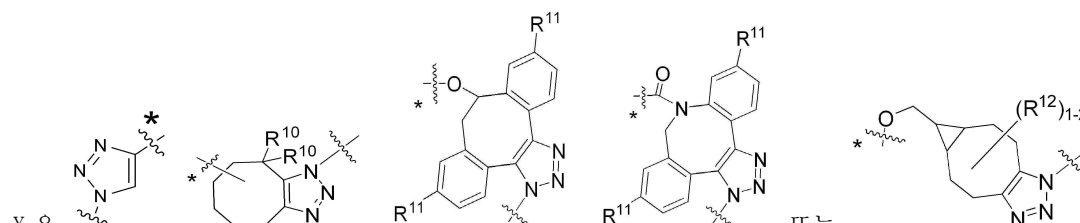
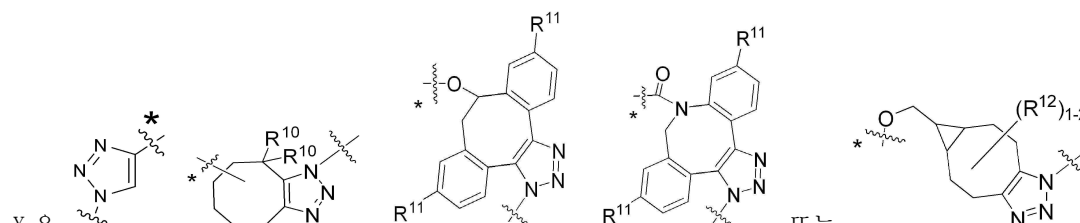
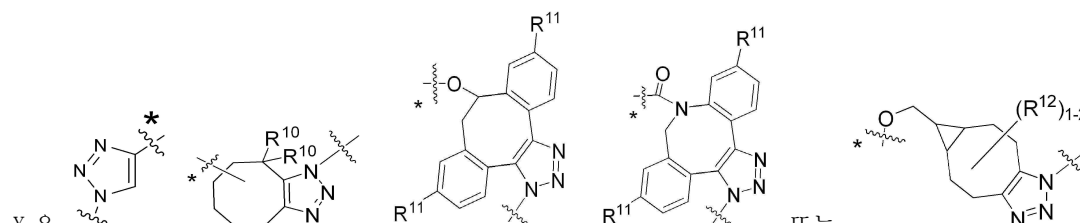
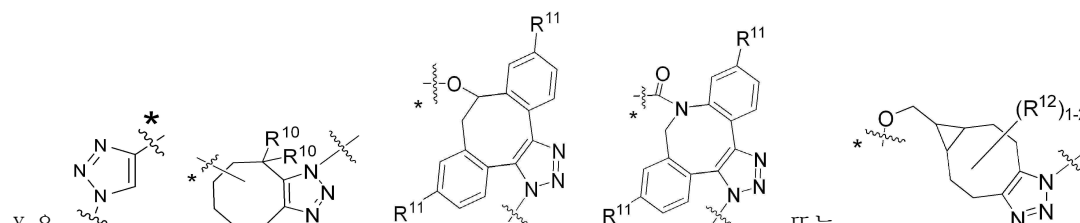
[0303] R^6 은 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이고;

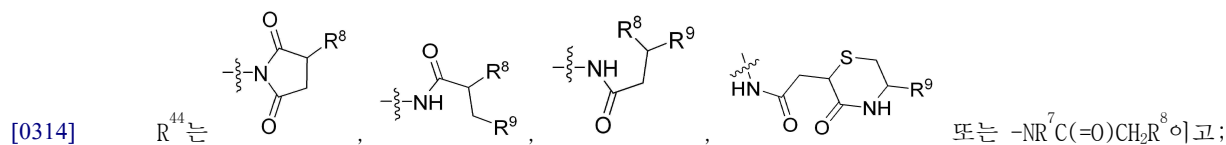
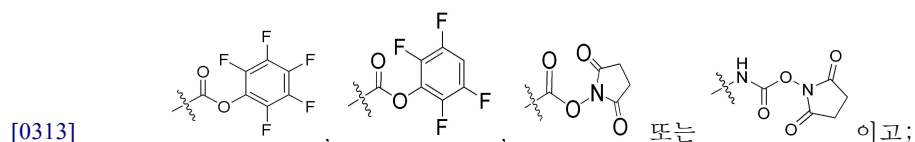
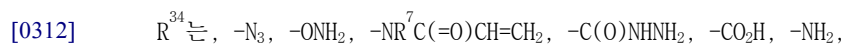
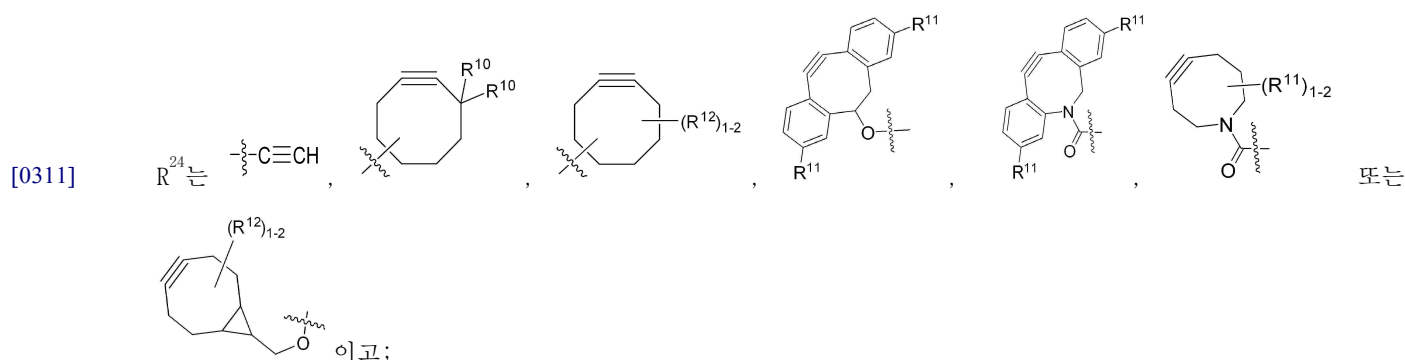
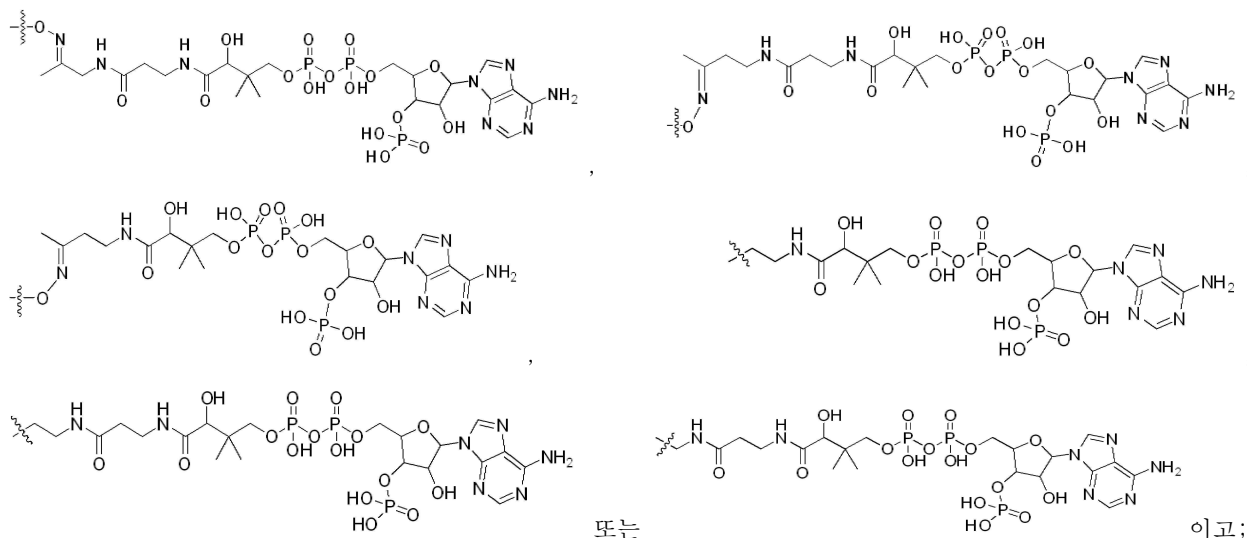
[0304] L_6 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 또는 $-(CH_2)_m-$ 이고;

[0305] L_7 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;

[0306] L_8 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-$ 이고;

[0307] L_4 는 $-(CH_2)_m-$ 이고;

[0308] X_1 은  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,



[0315] 각각의 R⁷은 H 및 C₁-C₆알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0316] R^8 은 $-S(CH_2)_nCHR^9NH_2$ 이고;

[0317] $R^9 \text{는 } -C(=O)OR^7 \text{의 형태를 갖는다.}$

[0318] 각각의 R¹⁰은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0319] 각각의 R¹¹은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되
 고;

[0320] 각각의 R¹²는 H, C₁₋₆알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0321] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0322] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0323] 구현예 13. 화학식 B, 화학식 B-1 또는 화학식 B-1a의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염

[0324] (화학식에서,

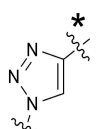
[0325] R^{54} 는 $-L_6R^{14}$ 이고;

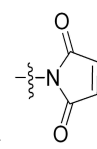
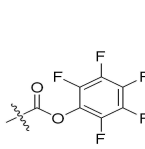
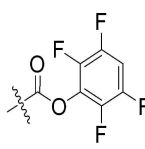
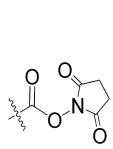
[0326] R^5 는 $-\text{CH}_3$ 이고;

[0327] R^6 은 $-\text{NH}_2$ 이고;

[0328] L_6 은 $-\text{((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{X}_1\text{L}_4^-$, $-\text{((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m^-$, $-\text{L}_4\text{NHC(=O)NH((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{X}_1\text{L}_4^-$, $-\text{L}_4\text{NHC(=O)NH((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{X}_2\text{L}_4^-$, 또는 $-(\text{CH}_2\text{)}_m-$ 이고;

[0329] L_4 는 $-(\text{CH}_2\text{)}_m-$ 이고;

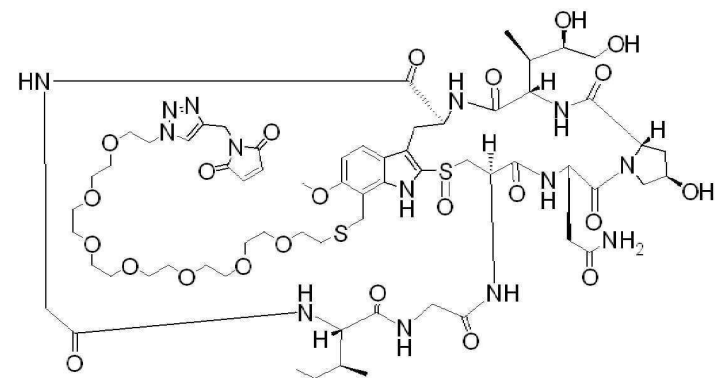
[0330] X_1 은  로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

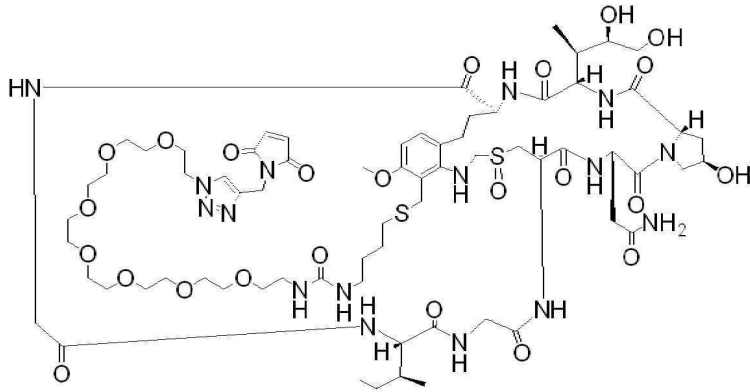
[0331] R^{14} 는 , $-\text{ONH}_2$, ,  또는  이고;

[0332] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0333] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

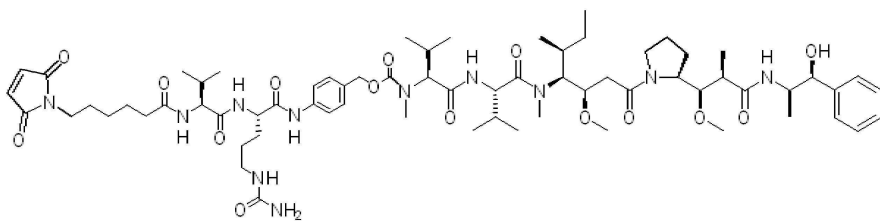
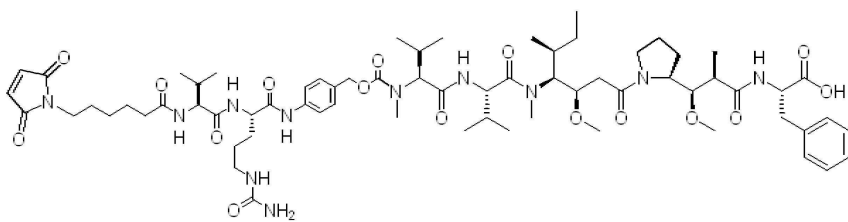
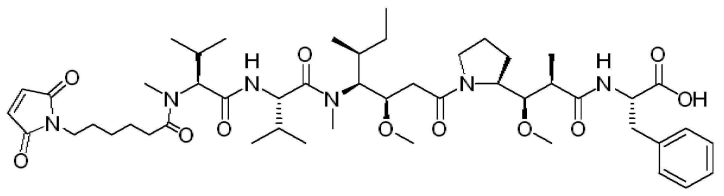
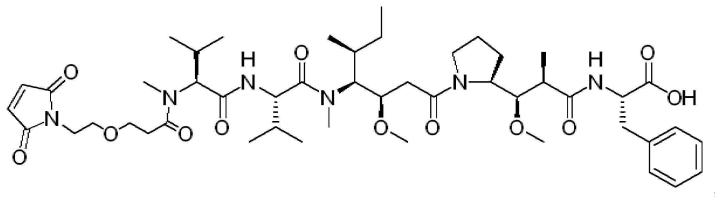
[0334] 구현예 14. 다음으로부터 선택된 화학식 B의 화합물:

[0335]  (5), 및

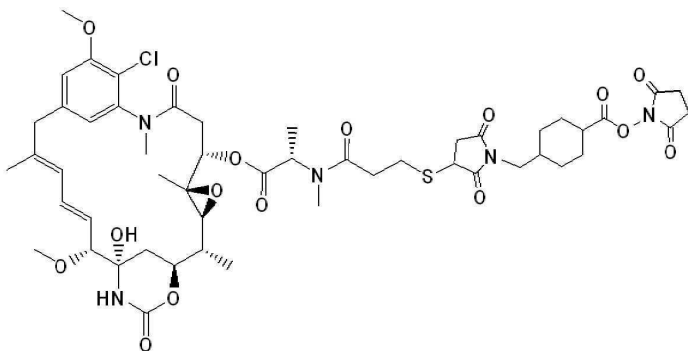


(6).

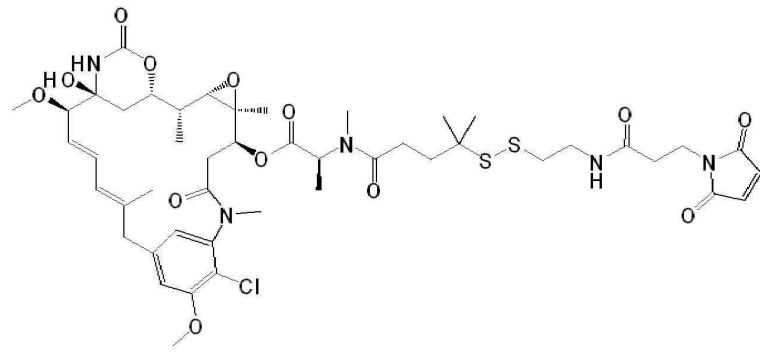
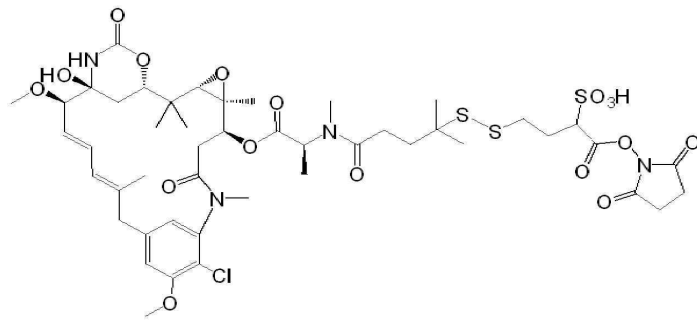
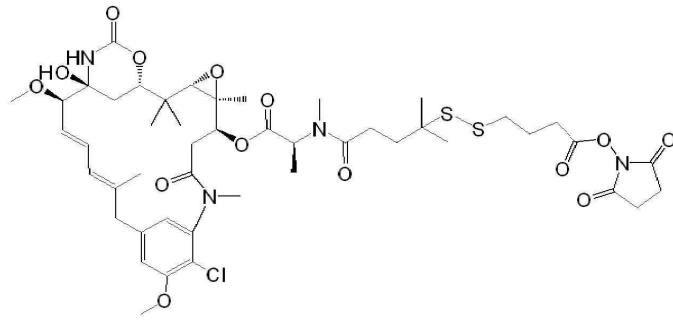
또 다른 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 다음으로부터 선택된다:



또 다른 양태에서, 본 발명의 링커-약물 모이어티는 다음으로부터 선택된다:



(SMCC-DM1),



항체 약물 접합체

본 개시는 항체 약물 접합체를 제공하는데, 이때, cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)에, 선택적으로 링커를 통해, 결합된다. 일 양태에서, 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 세포독성제인 약물 모이어티에, 링커에 의한 공유 부착을 통해, 결합된다.

항체 약물 접합체는 선택적으로 세포독성제를 cKIT를 발현하는 세포, 예컨대, 조혈줄기세포에 전달하여, 환자, 예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자에서 이러한 세포를 선택적으로 제거할 수 있다. 바람직하게는, cKIT 항체 약물 접합체는 짧은 반감기를 가져, 환자의 순환으로부터 제거될 것이어서, 조혈줄기세포 이식 전에 조혈줄기세포 이식 수용자의 컨디션 조절에 이용될 수 있다.

일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 cKIT 항체 약물 접합체는, 심지어 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도, 비만세포 탈과립을 유도하는 능력이 감소되도록 변형된다. 예를 들어, 본 설명에 개시된 cKIT 항체 약물 접합체는 심지어 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도, 전장 cKIT 항체, 이의 $F(ab')_2$ 또는 $F(ab)_2$ 단편, 또는 접합체와 비교하여 약, 또는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% 감소된, 비만세포 탈과립을 유도하는 감소된 능력을 갖도록 변형된다. 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 cKIT 항체 약물 접합체는 항-cKIT Fab 또는 Fab' 단편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 항-cKIT 항체 약물 접합체는 심지어 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도, 비만세포 탈과립을 유도하는 최소한의 활성, 예컨대, 베타-핵소스아미니다아제 방출 분석에서, 0.25 미만, 예컨대, 0.2 미만, 0.15 미만, 또는 0.1 미만의 기준선 보정된 O.D. 판독치를 나타낼 수 있다.

일부 구현예에서, 약물 모이어티(예컨대, 세포독성제)에, 선택적으로는 링커를 통해, cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')(항-cKIT Fab 또는 Fab')을 포함하는 접합체가 본 설명에 제공된다. 본 설

명에 기술된 바와 같이, 이러한 항-cKIT Fab' 또는 Fab-독소 접합체는 시험관 내 및 생체 내에서 인간 HSC 세포를 제거할 수 있지만, 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 비만세포 탈과립을 유발하지 않는다.

일 양태에서, 본 개시는 화학식 I의 접합체:

[화학식 I]

$$A-(L_B-(D)_n)_y$$

(화학식에서,

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이고;

L_B 는 링커이고;

D는 세포독성제이고;

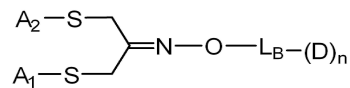
n 은 1 내지 10의 정수이고,

y는 1 내지 10의 정수임)를 제공하며,

여기서 링커-약물 모이어티($L_B-(D)_n$)는 항체 단편(A)에 공유적으로 부착된다.

일 양태에서, 본 개시는 화학식 II의 접합체를 대상으로 한다:

[화학식 II]



(화학식에서,

A₁은 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 또는 쇠(예컨대 HC 또는 LC)이고;

A₂는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 또는 쇄(예컨대 HC 또는 LC)이고;

L_B 는 링커이고;

D는 세포독성제이고,

n 은 1 내지 10의 정수이고,

링커-약물 모이어티($L_B-(D)_n$)는 항체 단편 A_1 및 A_2 를 공유적으로 결합시킴).

일 양태에서, 화학식 I 및 화학식 II의 접합체에서 1종 이상의 약물 모이어티 D는 아우리스타틴, 아마니틴, 메이탄시노이드 및 사포린으로부터 독립적으로 선택된다.

또 다른 양태에서, 화학식 I의 접합체에서 1종 이상의 약물 모이어티 D는 아우리스타틴 및 아마니틴으로부터 독립적으로 선택된다.

화학식 I의 접합체에서, 1종 이상의 링커-약물 모이어티($L_B-(D)_n$)는 항체 단편 A(예컨대 Fab 또는 Fab')에 공유적으로 부착될 수 있어, 그에 의해 1종 이상의 약물 모이어티 D를, 링커 L_B 를 통해, 항체 단편 A(예컨대 Fab 또는 Fab')에 부착시킬 수 있다. L_B 는 항체 단편 A(예컨대 Fab 또는 Fab')를 1종 이상의 약물 모이어티 D에 연결할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이다. 1종 이상의 약물 모이어티 D가 항체 단편 A(예컨대 Fab 또는 Fab')에 공유적으로 연결된 화학식 I의 접합체는, 동일하거나 상이한 1개 이상의 반응성 기능 기를 갖는 2기능성 또는 다기능성 링커 시약을 이용하여 형성될 수 있다. 2기능성 또는 다기능성 링커 시약의 반응성 기능 기 중 하나는 항체 단편 A 상의 기, 예로서, 티올 또는 아민(예컨대, 시스테인, N 말단 또는 아미노산 측쇄, 예컨대, 리신)과 반응하여 링커 L_B 의 한쪽 말단과 공유 연결을 형성하는 데 사용된다. 2기능성 또는 다기능성 링커 시약의 이러한 반응성 기능 기로는 말레이미드, 티올 및 NHS 에스테르가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 2기능성 또는 다기능성 링커 시약은 당류와도 결합할 수 있다.

능성 링커 시약의 나머지 반응성 기능 기 또는 기들은 1종 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L_B 에 공유적으로 부착시키는 데 사용된다.

[0375] 화학식 II의 접합체에서, 항체 단편 A_1 및 A_2 상의 펜던트 티올 및 1,3-디할로아세톤, 예컨대, 1,3-디클로로아세톤, 1,3-디브로모아세톤, 1,3-디요도아세톤, 및 1, 3-디하이드록시아세톤의 비스설포네이트 에스테르의 반응에 의해 케톤 다리가 형성되고, 이는 항체 단편 A_1 및 A_2 를 공유적으로 결합시킨다. 이 케톤 다리 모이어티는 1종 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L_B 를 통해 항체 단편 A_1 및 A_2 에 공유적으로 부착시키는 데 사용된다. L_B 는 항체 단편 A_1 및 A_2 를 1종 이상의 약물 모이어티 D에 연결할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이다. 1종 이상의 약물 모이어티 D가 항체 단편 A_1 및 A_2 에 공유적으로 연결된 화학식 II의 접합체는, 동일하거나 상이한 1개 이상의 반응성 기능 기를 갖는 2기능성 또는 다기능성 링커 시약을 이용하여 형성될 수 있다. 일 구현예에서, 2기능성 또는 다기능성 링커 시약의 반응성 기능 기 중 하나는 알콕시아민으로, 이는 케톤 다리와 반응하여 링커 L_B 의 한쪽 말단과 옥심 연결을 형성하는 데 사용되고, 2기능성 또는 다기능성 링커 시약의 나머지 반응성 기능 기 또는 기들은 1종 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L_B 에 공유적으로 부착시키는 데 사용된다. 또 다른 구현예에서, 2기능성 또는 다기능성 링커 시약의 반응성 기능 기 중 하나는 하이드라진으로, 이는 케톤 다리와 반응하여 링커 L_B 의 한쪽 말단과 하이드라존 연결을 형성하는 데 사용되고, 2기능성 또는 다기능성 링커 시약의 나머지 반응성 기능 기 또는 기들은 1종 이상의 약물 모이어티 D를 링커 L_B 에 공유적으로 부착시키는 데 사용된다.

[0376] 일 양태에서, L_B 는 절단 가능한 링커이다. 또 다른 양태에서, L_B 는 절단 불가능한 링커이다. 일부 양태에서, L_B 는 산 불안정 링커, 광 불안정 링커, 캡티다아제 절단 가능한 링커, 에스테라아제 절단 가능한 링커, 글리코시다아제 절단 가능한 링커, 포스포디에스테라아제 절단 가능한 링커, 이황화 결합 환원성 링커, 친수성 링커, 또는 디카복실산 기반 링커이다.

[0377] 또 다른 양태에서, 약물 모이어티(D)는 사포린, 섬자리공 항바이러스 단백질(pokeweed antiviral protein, PAP), 브리오딘 1, 부가닌, 겔로닌, 리신(ricin), 아브린, 겨우살이 렉틴(mistletoe lectin), 모데신, 볼켄신, 아스파린, 모모르딘, 예불린, 비스쿠민, 시가 독소(Shiga toxin), 디프테리아 독소(DT), 또는 슈도모나스 외독소(PE)로부터 선택된 단백질 독소이다. 이러한 단백질 독소는 리보솜을 불활성시켜 세포를 살상하거나 신장 인자 2(EF2) 기능을 방해하여 단백질 합성을 억제할 수 있다(문헌[Kreitman et al., Immunotoxins for targeted cancer therapy, The AAPS Journal 2006; 8 (3) Article 63; Gadadhar and Karande, Targeted Cancer Therapy: History and Development of Immunotoxins, Chapter 1 of Resistance to Immunotoxins in Cancer Therapy, pp 1-31] 참조). 일부 구현예에서, 단백질 독소는 사포린이다. 단백질 독소는 절단 가능한 또는 절단 불가능한 링커(L_B)를 통해 항-cKIT 항체 단편(A)에 공유적으로 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 단백질 독소는 이황화 또는 티오에테르 연결을 통해 항-cKIT 항체 단편에 연결된다.

[0378] 약물 대 항체 비율은 소정의 접합체 분자의 경우 정확한 정수 값을 갖지만(예컨대, 화학식 I의 n 과 y 의 곱셈값 및 화학식 II의 " n "), 이 값이 여러 분자를 함유하는 샘플을 설명하기 위하여 사용될 때에는 전형적으로는 접합 단계와 관련된 어느 정도의 불균질성으로 인해 종종 평균값일 것임은 이해된다. 접합체의 샘플에 대한 평균 부하량은 본 설명에서 약물 대 항체(또는 Fab') 비율, 또는 "DAR"로 지칭된다. 일부 양태에서, DAR은 약 1 내지 약 5이고, 전형적으로는 약 1, 2, 3, 또는 4이다. 일부 양태에서, 샘플의 적어도 50중량%는 평균 DAR $\pm$ 2를 갖는 화합물이고, 바람직하게는 샘플의 적어도 50%는 평균 DAR $\pm$ 1을 함유하는 접합체이다. 다른 양태는 DAR이 약 2인 접합체를 포함한다. 일부 양태에서, '약 y '의 DAR은 DAR에 대해 측정된 값이 화학식 I의 n 과 y 의 곱셈값의 20% 이내임을 의미한다. 일부 양태에서, '약 n '의 DAR은 DAR에 대해 측정된 값이 화학식 II의 n 의 20% 이내임을 의미한다.

[0379] 일 양태에서, 화학식 I의 접합체에서 약물 대 항체 단편(Fab 또는 Fab')의 평균 몰 비율(즉, 약물 대 항체 비율(DAR)로도 알려져 있는, n 과 y 의 곱셈값의 평균값)은 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 6(예컨대, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0), 약 1 내지 약 5, 약 1.5 내지 약 4.5, 또는 약 2 내지 약 4이다.

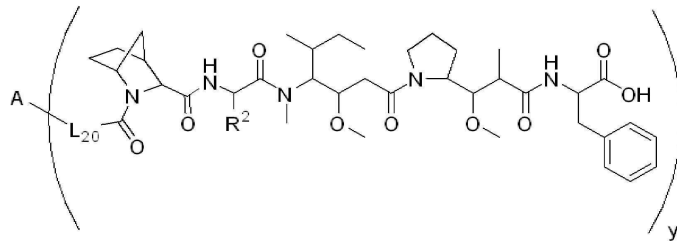
[0380] 일 양태에서, 화학식 II의 접합체에서 약물 대 항체 단편 A_1 및 A_2 의 평균 몰 비율(즉, 약물 대 항체 비율(DAR)

로도 알려져 있는, n 의 평균값)은 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 6(예컨대, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0), 약 1 내지 약 5, 약 1.5 내지 약 4.5, 또는 약 2 내지 약 4이다.

[0381] 본 개시에 의해 제공된 일 양태에서, 접합체는 실질적으로 높은 순도를 가지며, 다음 특징 중 하나 이상을 갖는다: (a) 약 90% 초과(예를 들어, 약 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상, 또는 100%), 바람직하게는 약 95% 초과(예를 들어, 약 96%, 97%, 98%, 99%, 100%)의 접합체 중이 단량체성임, (b) 접합체 체제 내의 비접합 링커 수준이 (전체 링커에 대해) 약 10% 미만임(예를 들어, 약 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하, 또는 0%), (c) 접합체 중의 10% 미만(예를 들어, 약 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하, 또는 0%)이 가교됨, (d) 접합체 체제 내의 유리 약물(예를 들어, 아우리스타틴, 아마니틴, 메이탄시노이드 또는 사포린) 수준이 약 2% 미만임(예를 들어, 약 1.5%, 1.4%, 1.3%, 1.2%, 1.1%, 1.0%, 0.9%, 0.8%, 0.7%, 0.6%, 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 0.1% 이하, 또는 0%)(전체 세포독성제에 대해, mol/mol).

[0382] 일 양태에서, 본 발명의 접합체는 화학식 C의 구조를 갖는다:

[0383] [화학식 C]



[0384]

[0385] (화학식에서,

[0386] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0387] y는 1 내지 10의 정수이고;

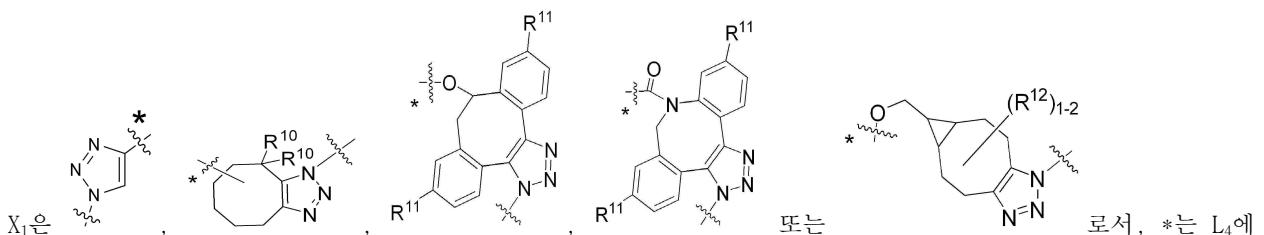
[0388] R^2 는 C_1 - C_6 알킬이고;

[0389] L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고;

[0390] L_1 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mX_1(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m-$, $X_3X_4C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_mC(R_7)_2-$, $-(CH_2)_mC(R_7)_2SS(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$ 또는 $-(CH_2)_mX_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;

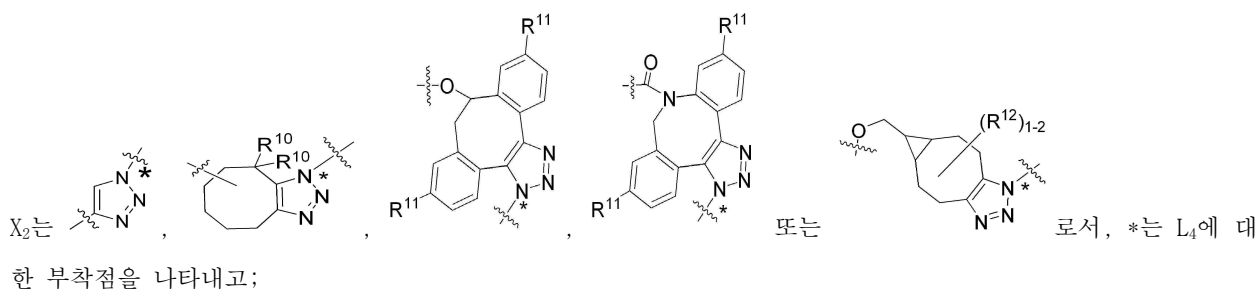
[0391] L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;

[0392]

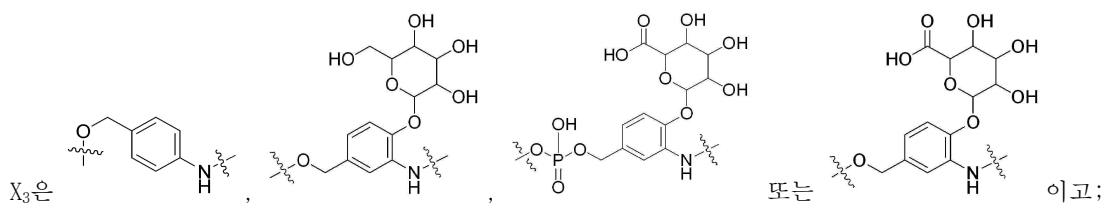


대한 부착점을 나타내고;

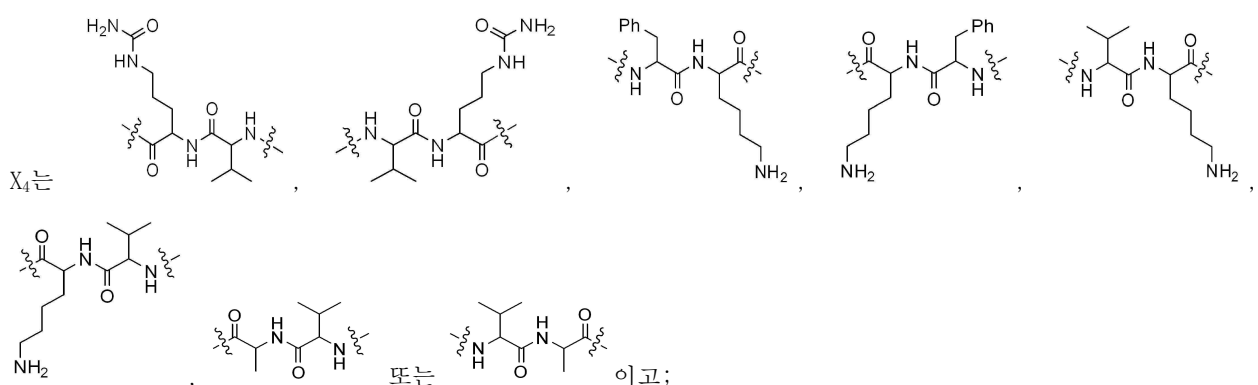
[0393]



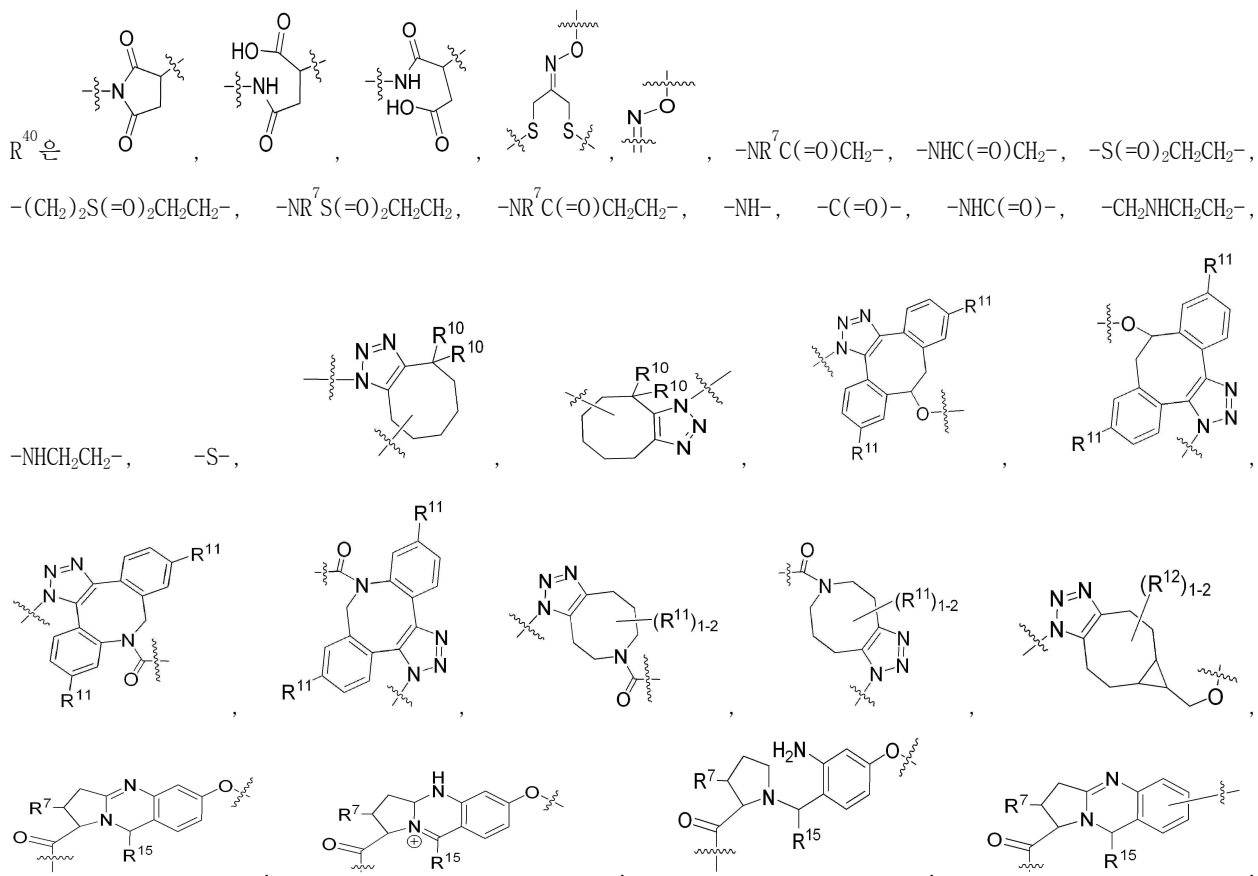
[0394]

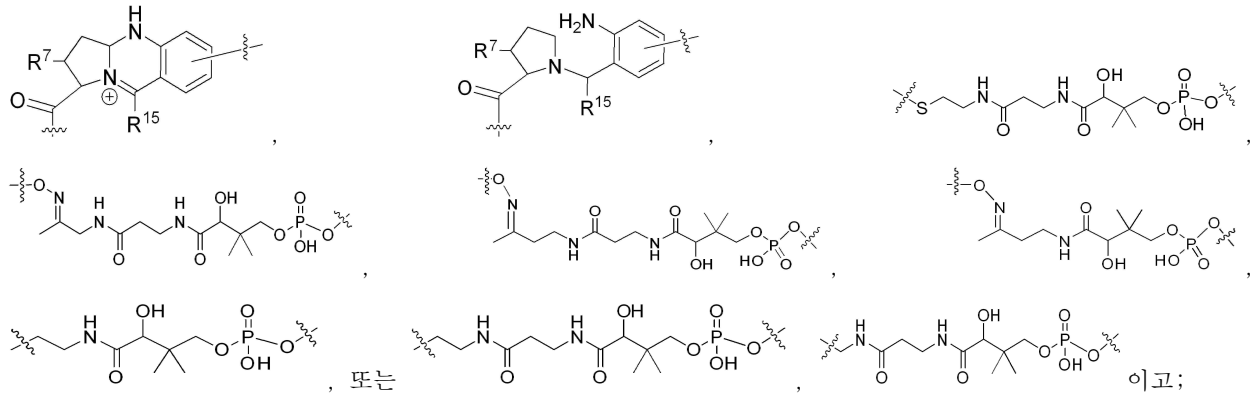


[0395]



[0396]





[0397]

각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0398]

각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0399]

각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0400]

각각의 R^{12} 은 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0401]

각각의 R^{15} 은 H, -CH₃ 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

[0402]

각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0403]

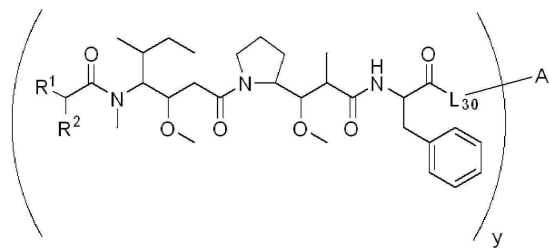
각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0404]

또 다른 양태에서, 본 발명의 접합체는 화학식 D의 구조를 갖는다:

[0405]

[화학식 D]



[0406]

(화학식에서,

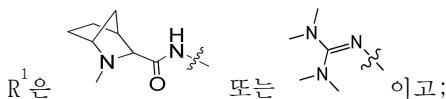
[0408]

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0409]

y는 1 내지 10의 정수이고;

[0410]



[0411]

R^2 은 C_1 - C_6 알킬이고;

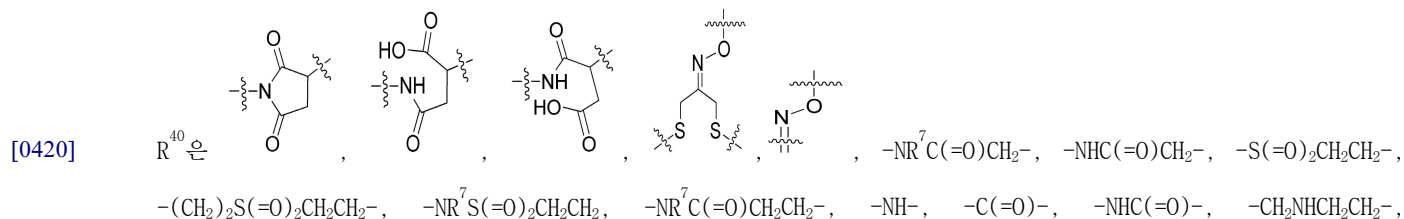
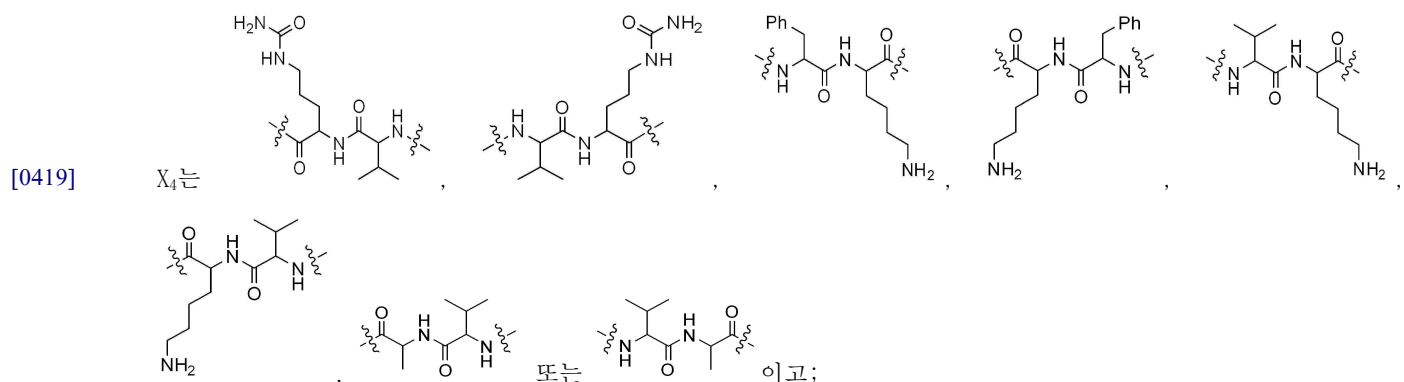
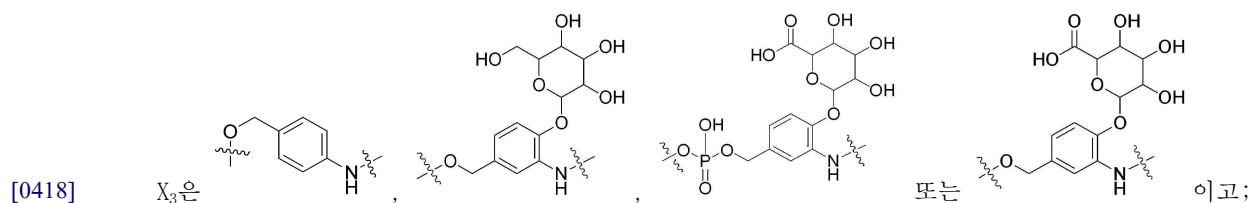
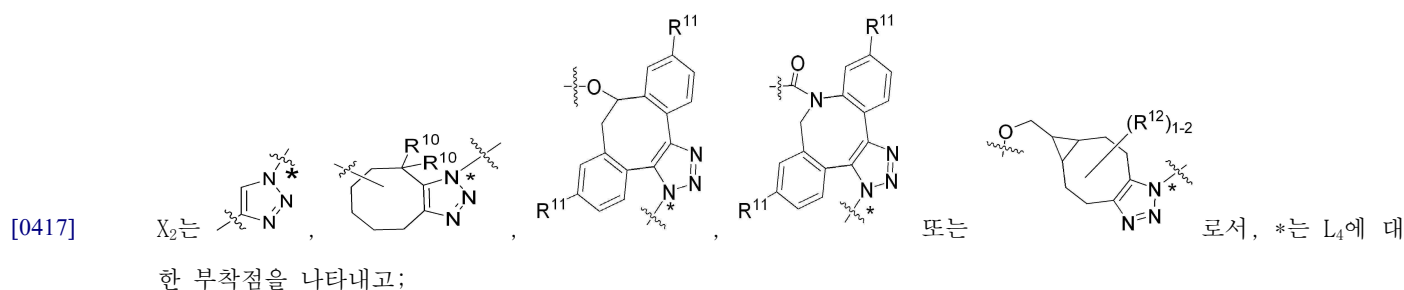
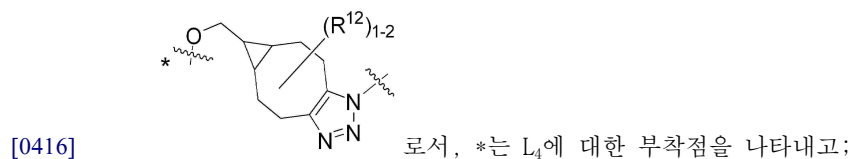
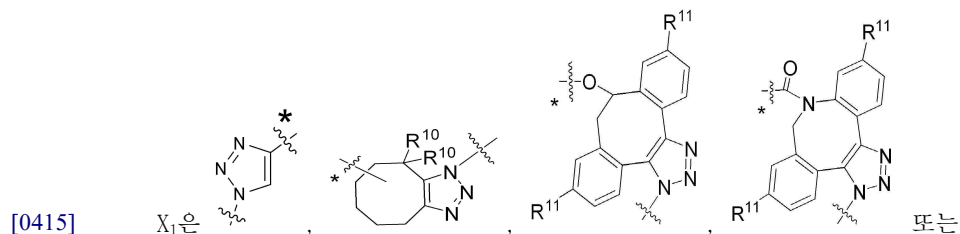
[0412]

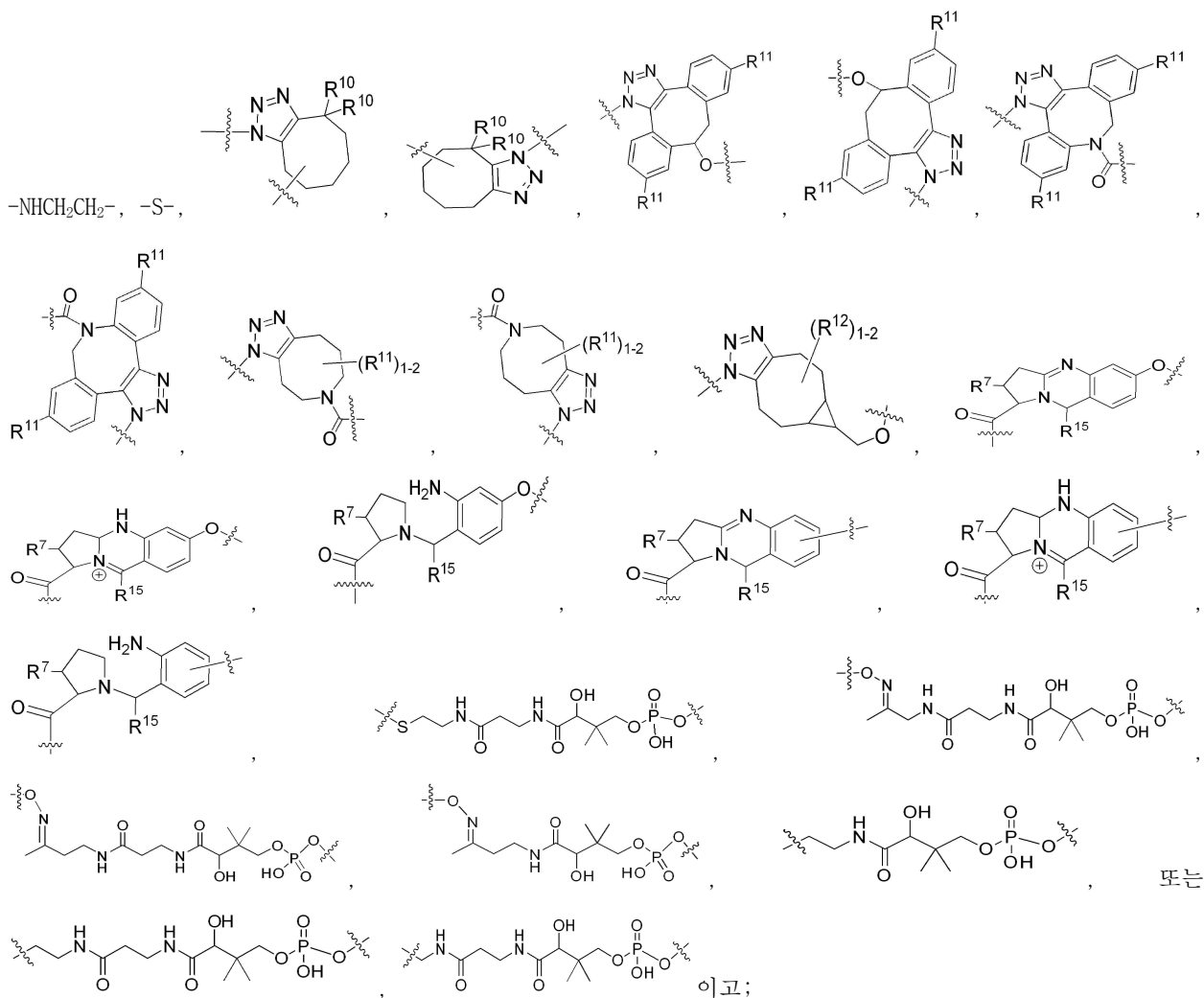
L_{30} 은 - L_5R^{40} 이고;

[0413]

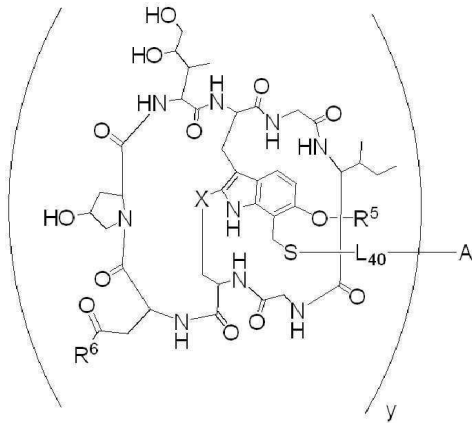
L_4 는 -((CH₂)_m)이고;

[0414]
$$\begin{aligned} \text{L}_5 \text{는 } & \text{--NHS(=O)}_2\text{(CH}_2\text{)}_m\text{X}_1\text{L}_4\text{, } \text{--NH((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{X}_1\text{L}_4\text{--}, \text{--NH((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{X}_2\text{L}_4\text{--}, \text{--NH((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{--}, \text{--NH(CH}_2\text{)}_m\text{--}, \\ & \text{--NH(CH}_2\text{)}_m\text{X}_1\text{(CH}_2\text{)}_m\text{--}, \text{--NH(CH}_2\text{)}_m\text{NHC(=O)(CH}_2\text{)}_m\text{--}, \text{--NH(CH}_2\text{)}_m\text{NHC(=O)(CH}_2\text{)}_m\text{C(=O)NH(CH}_2\text{)}_m\text{--}, \\ & \text{--NH((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{NHC(=O)(CH}_2\text{)}_m\text{, } \text{--NH((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{CH}_2\text{)}_m\text{C(=O)NH(CH}_2\text{)}_m\text{--}, \text{--NH(CH}_2\text{)}_m\text{C(R}_7\text{)}_2\text{--}, \\ & \text{--NH(CH}_2\text{)}_m\text{C(R}_7\text{)}_2\text{SS(CH}_2\text{)}_m\text{NHC(=O)(CH}_2\text{)}_m\text{-- 또는 } \text{--NH(CH}_2\text{)}_m\text{X}_3\text{C(=O)(CH}_2\text{)}_m\text{NHC(=O)((CH}_2\text{)}_m\text{O)}_p\text{(CH}_2\text{)}_m\text{--} \text{에 } \text{고;} \end{aligned}$$





[0429] [화학식 E]



[0430]

[0431] (화학식에서,

[0432] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0433] y는 1 내지 10의 정수이고;

[0434] X는 S(=O), S(=O)₂ 또는 S이고;

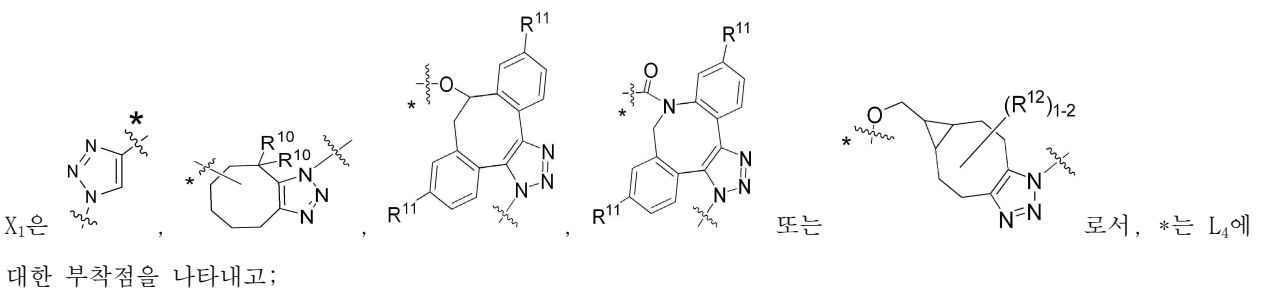
[0435] R⁵는 H, -CH₃ 또는 -CD₃이고;

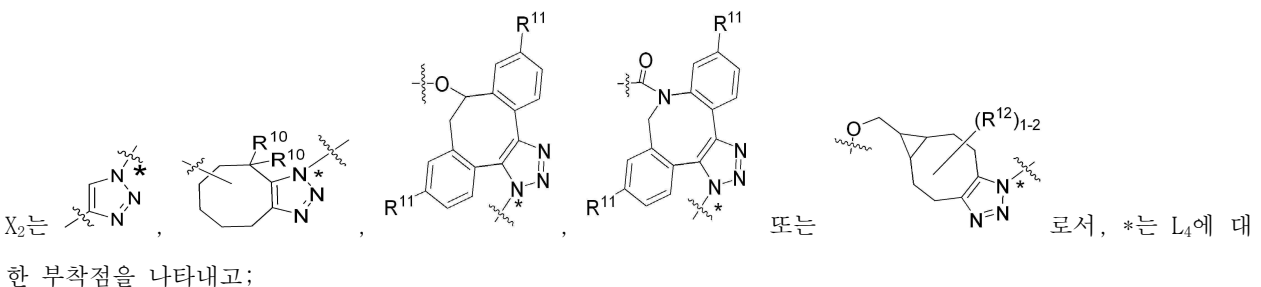
[0436] R⁶은 -NH₂ 또는 -OH이고;

[0437] L₄₀은 -L₆R⁴⁰이고;

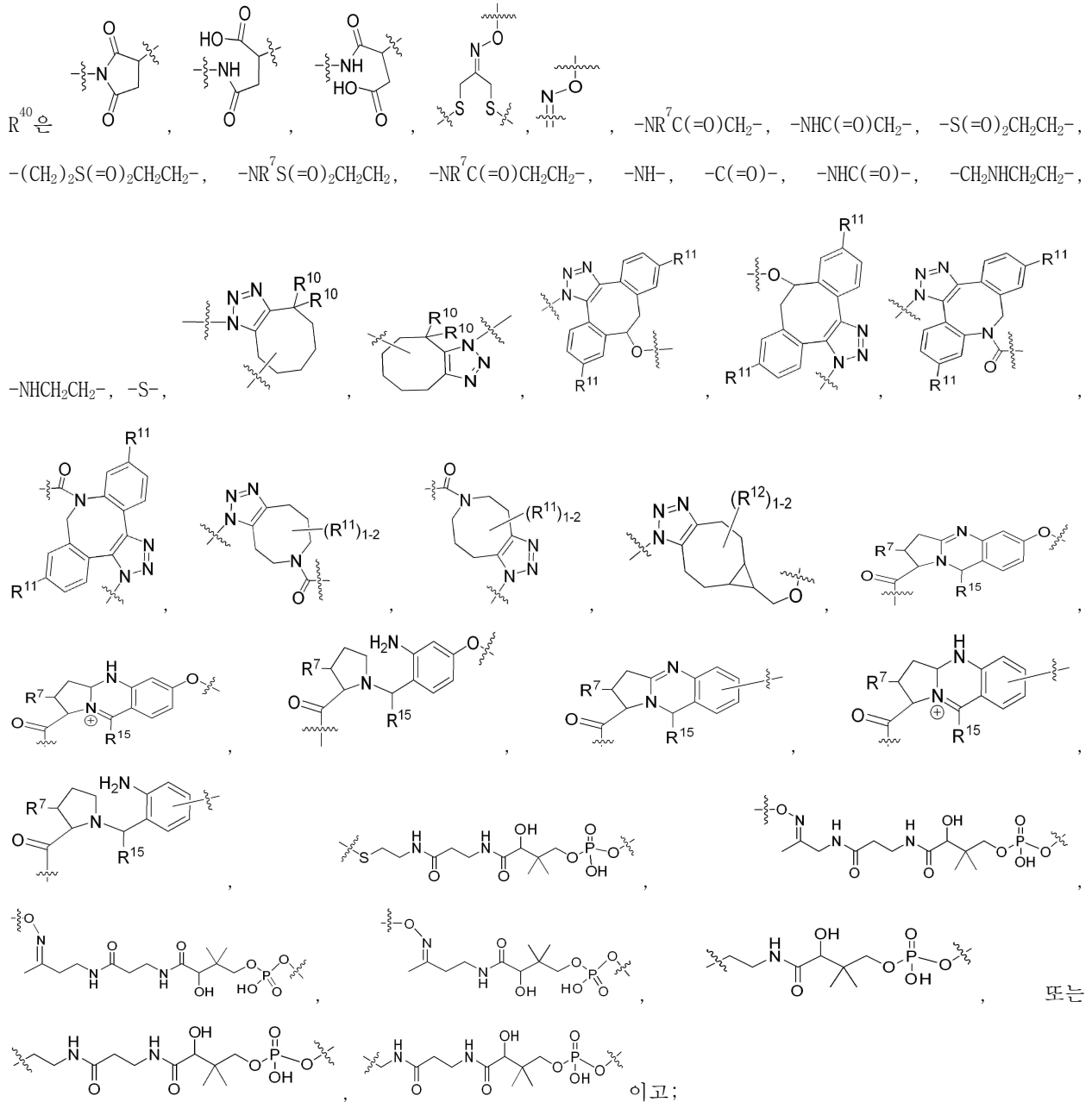
[0438] L₆은 $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-\text{L}_4\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4)-$, $-\text{L}_4\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4)-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{X}_1(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2-$ 또는 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{R}_7)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_m-$;

[0439] L₄는 $-(\text{CH}_2)_m$ 이고;

[0440] X₁은 로서, *는 L₄에 대한 부착점을 나타내고;

[0441] X₂는 로서, *는 L₄에 대한 부착점을 나타내고;

[0442]



[0443]

각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0444]

각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0445]

각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0446]

각각의 R^{12} 는 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0447]

각각의 R^{15} 는 H, $-CH_3$ 및 페닐로부터 독립적으로 선택되고;

[0448]

각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0449]

각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

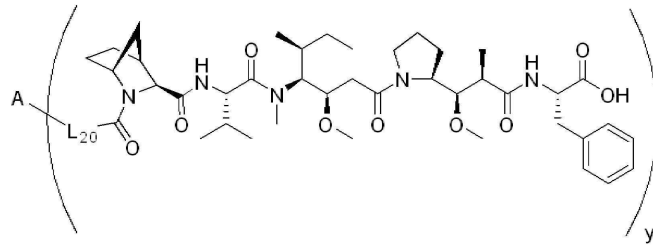
[0450]

본 발명의 집합체의 일부 양태 및 예는 다음의 추가적인, 열거된 구현예의 목록으로 제공된다. 각 구현예에 명

시된 특징은 본 발명의 추가적인 구현예를 제공하기 위하여 다른 명시된 특징과 조합될 수 있음이 인정될 것이다.

구현예 15. 화학식 C의 구조를 갖는 접합체는 화학식 C-1의 구조를 갖는 접합체이다:

[화학식 C-1]



(화학식에서, A, y, 및 L_{20} 은 위에서 정의된 바와 같음).

구현예 16. 화학식 C 또는 화학식 C-1의 구조를 갖는 접합체

(화학식에서,

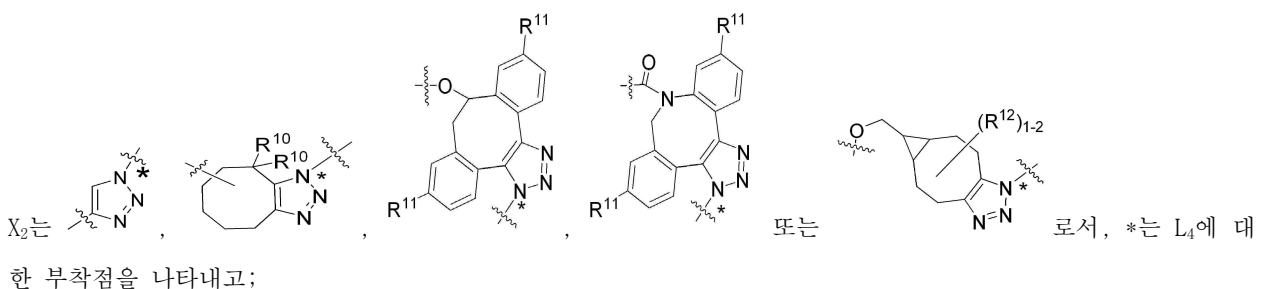
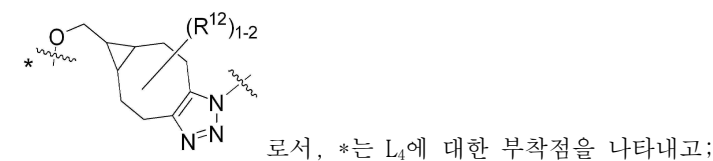
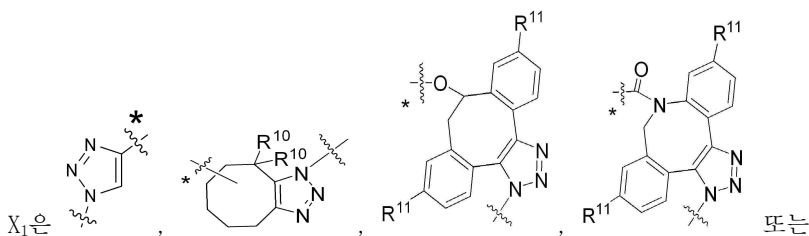
A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

y는 1 내지 10의 정수이고;

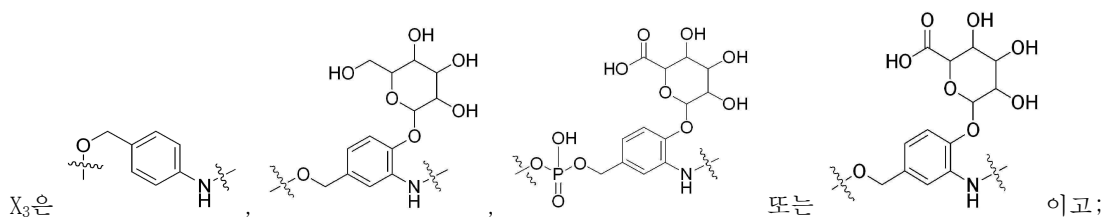
L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고;

L_1 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-X_3X_4C(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m-$, $-X_3C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 이고;

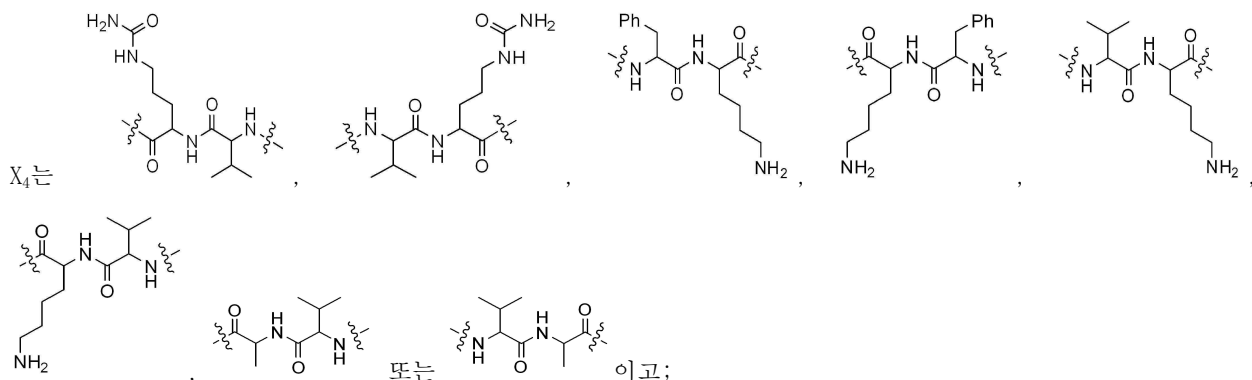
L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;



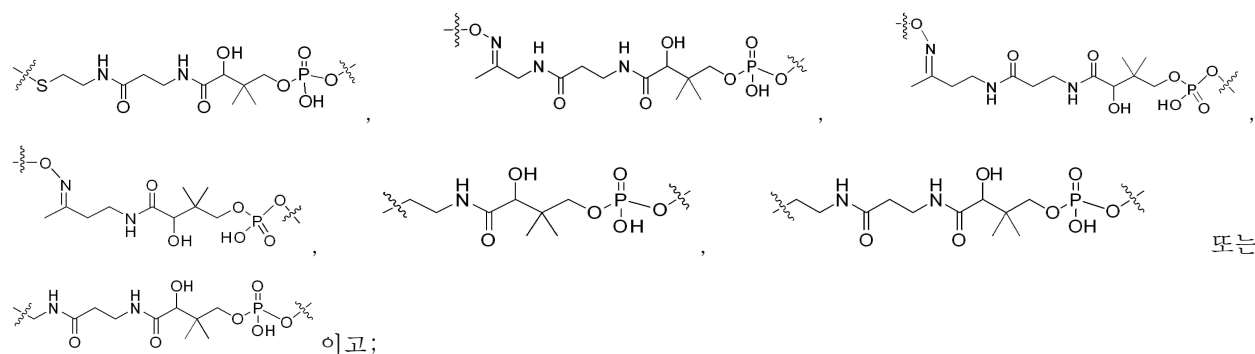
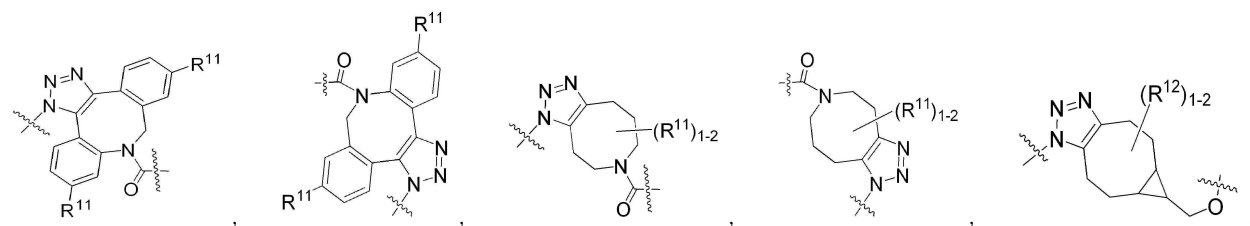
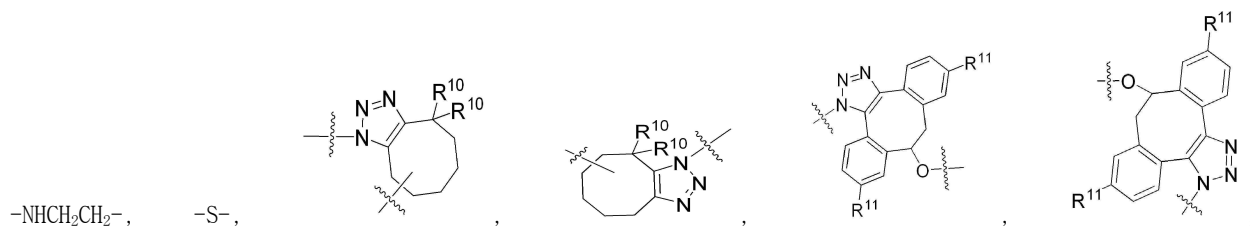
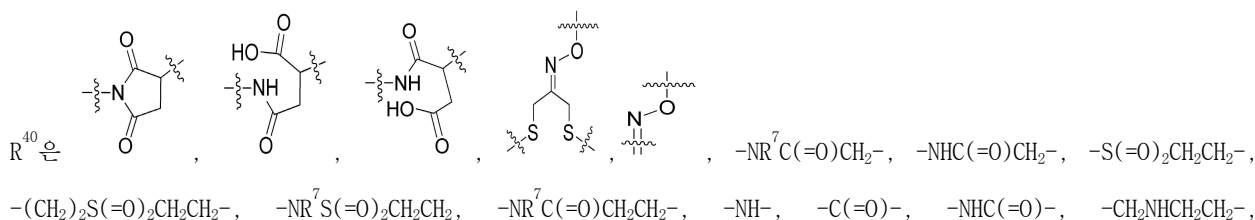
[0465]



[0466]



[0467]



[0468]

각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0469]

각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 $-\text{OH}$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0470] 각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0471] 각각의 R^{12} 는 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0472] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0473] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0474] 구현예 17. 화학식 C 또는 화학식 C-1의 구조를 갖는 접합체

[0475] (화학식에서,

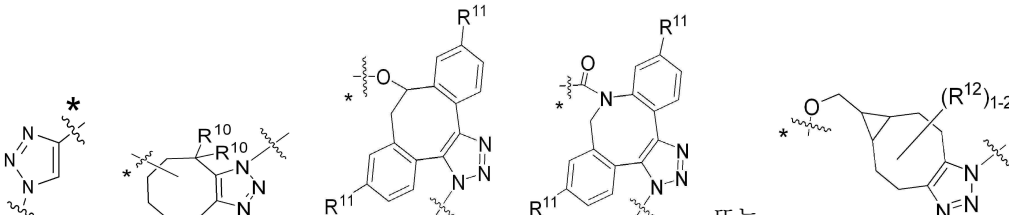
[0476] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

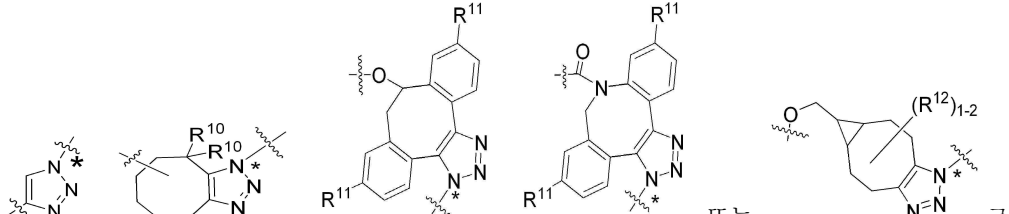
[0477] y는 1 내지 10의 정수이고;

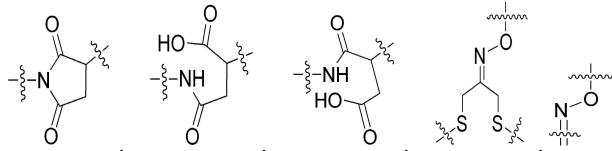
[0478] L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고;

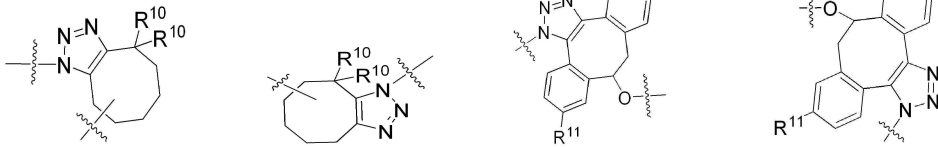
[0479] L_1 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 또는 $-(CH_2)_m-$ 이고;

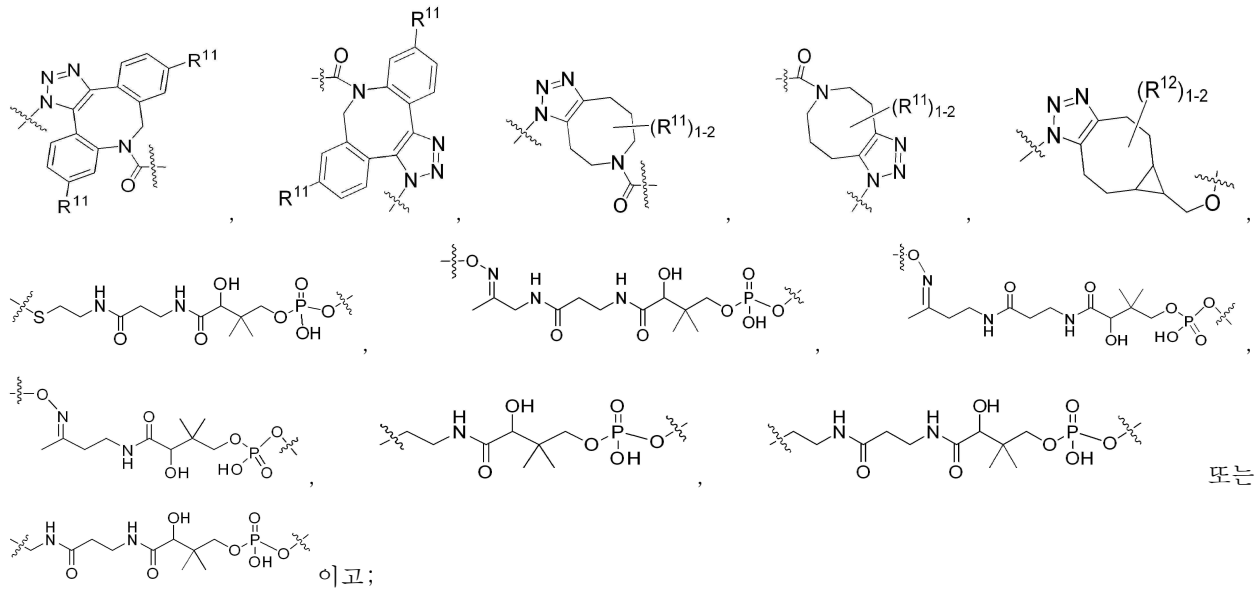
[0480] L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;

[0481] X_1 은 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

[0482] X_2 는 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

[0483] R^{40} 은  , $-NR^7C(=O)CH_2-$, $-NHC(=O)CH_2-$, $-S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-(CH_2)_2S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-NR^7S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-NR^7C(=O)CH_2CH_2-$, $-NH-$, $-C(=O)-$, $-NHC(=O)-$, $-CH_2NHCH_2CH_2-$,

$-NHCH_2CH_2-$, $-S-$, 



- [0484] 각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0485] 각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;
- [0486] 각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;
- [0487] 각각의 R^{12} 은 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0488] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0489] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).
- [0490] 구현예 18. 화학식 C 또는 화학식 C-1의 구조를 갖는 접합체
- [0491] (화학식에서,
- [0492] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;
- [0493] y는 1 내지 10의 정수이고;
- [0494] L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고;
- [0495] L_1 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 또는 $-(CH_2)_m-$ 이고;
- [0496] L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;

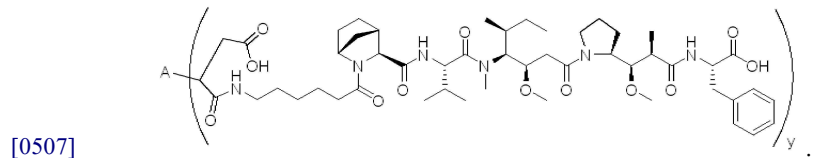
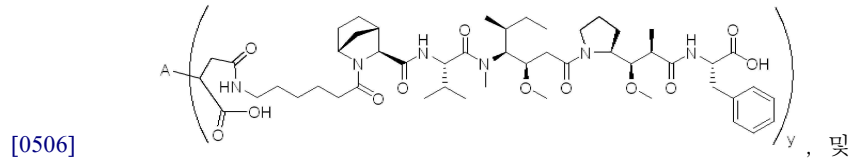
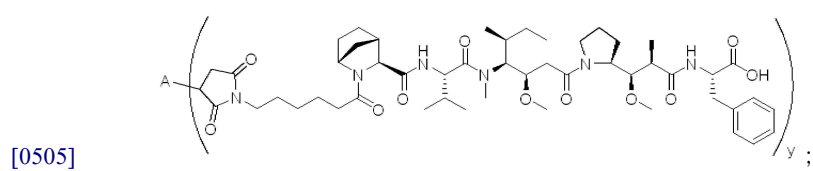
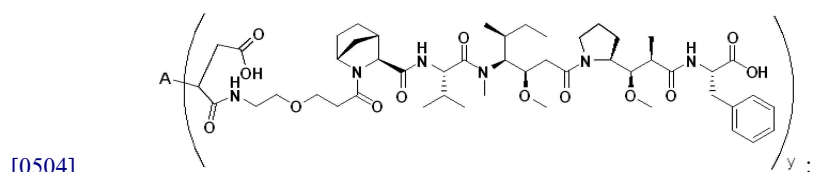
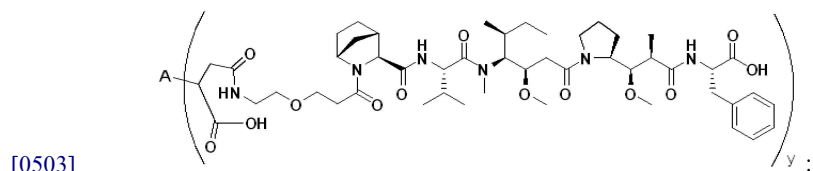
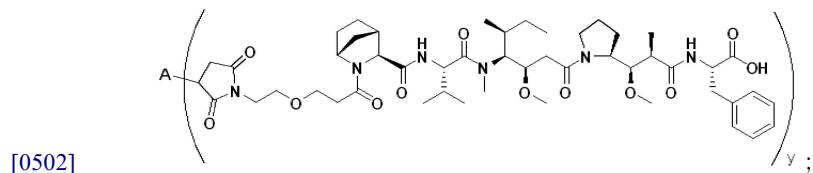
- [0497] X_1 은 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

- [0498] R^{40} 은 또는 이고;

[0499] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

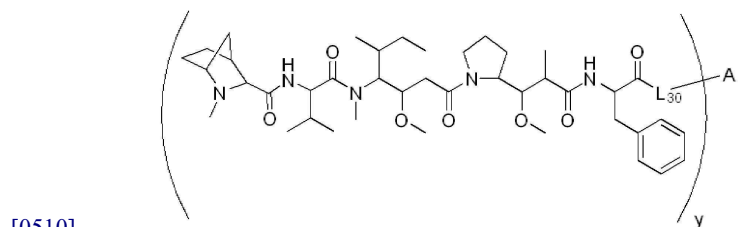
[0500] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0501] 구현예 19. 다음으로부터 선택된 화학식 C 또는 화학식 C-1의 구조를 갖는 접합체:

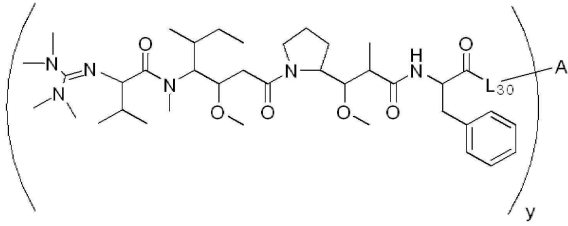


[0508] 구현예 20. 화학식 D의 구조를 갖는 접합체는 화학식 D-1 또는 화학식 D-2의 구조를 갖는 접합체이다:

[0509] [화학식 D-1]



[0511] [화학식 D-2]

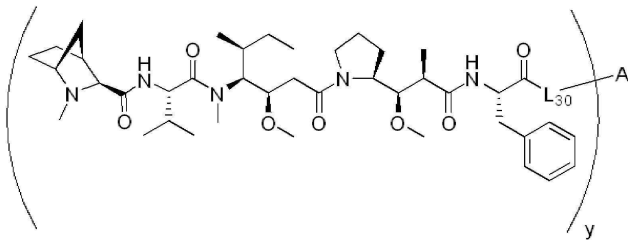


[0512]

[0513] (화학식에서, A, y 및 L₃₀은 위에서 정의된 바와 같음).

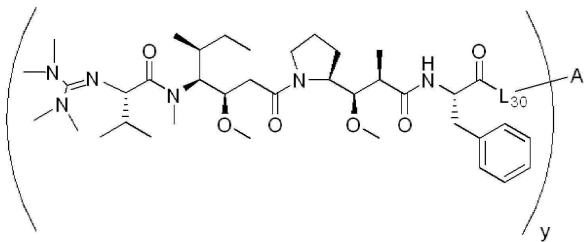
[0514] 구현예 21. 화학식 D의 구조를 갖는 접합체는 화학식 D-1a 또는 화학식 D-2a의 구조를 갖는 접합체이다:

[0515] [화학식 D-1a]



[0516]

[0517] [화학식 D-2a]



[0518]

[0519] (화학식에서, A, y 및 L₃₀은 위에서 정의된 바와 같음).

[0520] 구현예 22. 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-1a 또는 화학식 D-2a의 구조를 갖는 접합체

[0521] (화학식에서,

[0522] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

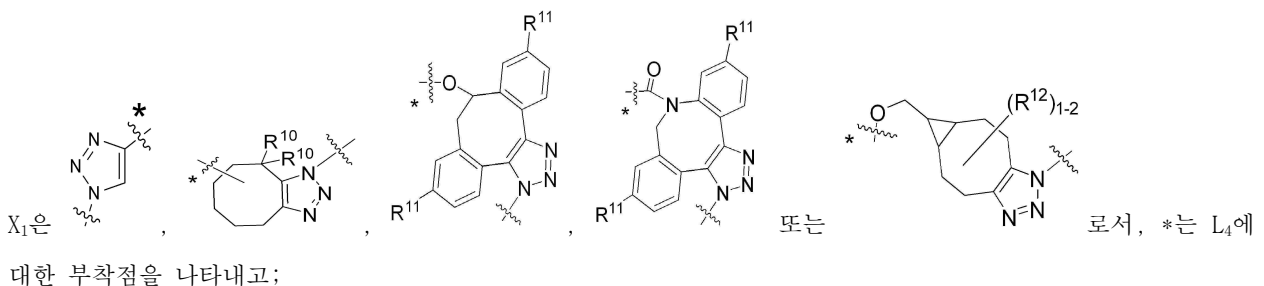
[0523] y는 1 내지 10의 정수이고;

[0524] L₃₀은 -L₅R⁴⁰이고;

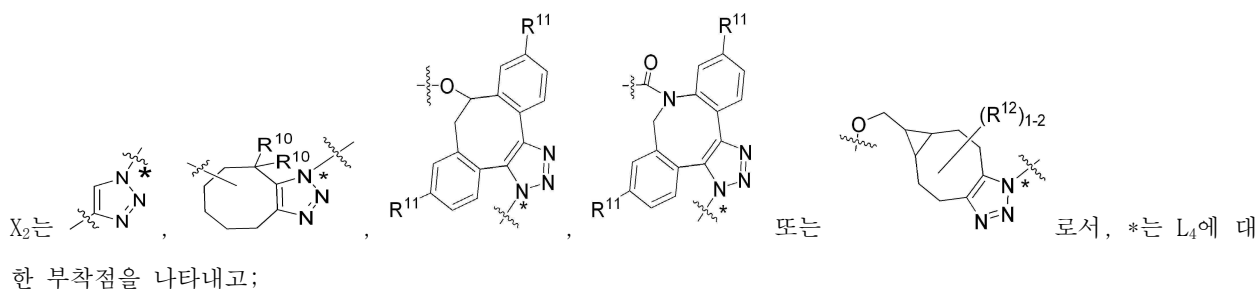
[0525] L₄는 -((CH₂)_m)이고;

[0526] L₅는 -NHS(=O)₂(CH₂)_mX₁L₄, -NH((CH₂)_mO)_p(CH₂)_mX₁L₄-, -NH((CH₂)_mO)_p(CH₂)_mX₂L₄-, -NH((CH₂)_mO)_p(CH₂)_m- 또는 -NH(CH₂)_m-이고;

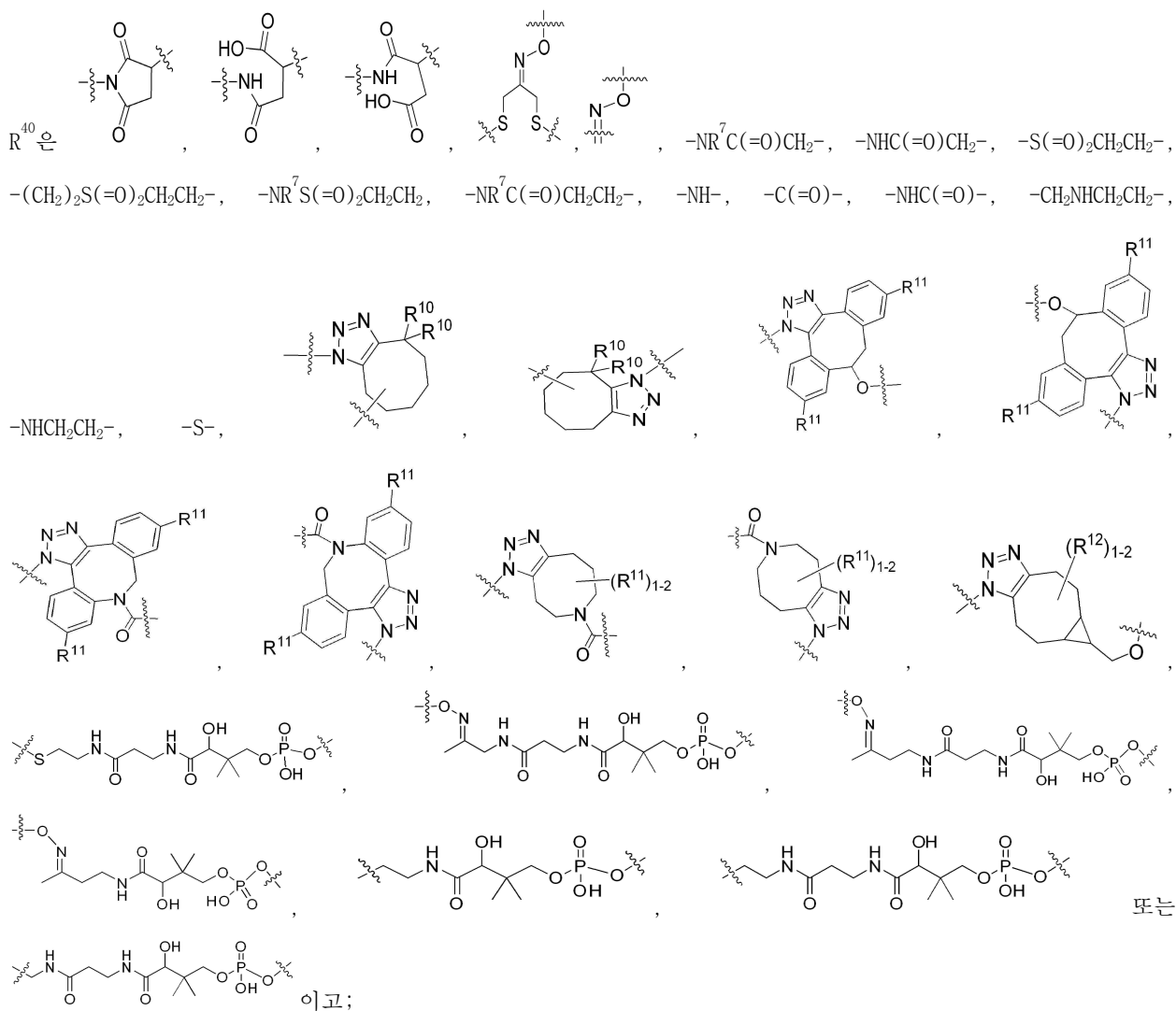
[0527]



[0528]



[0529]



[0530]

각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0531]

각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0532]

각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 $-OH$ 로부터 독립적으로 선택되고;

[0533]

각각의 R^{12} 은 H, C_1 - C_6 알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0534]

각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0535]

각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0536] 구현예 23. 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-1a 또는 화학식 D-2a의 구조를 갖는 접합체:

[0537] (화학식에서,

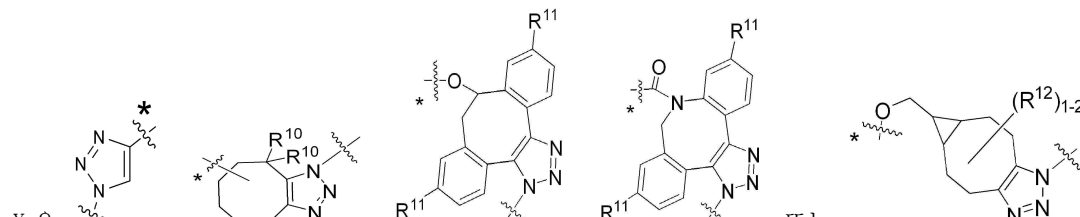
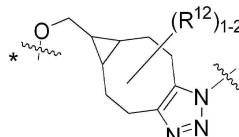
[0538] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

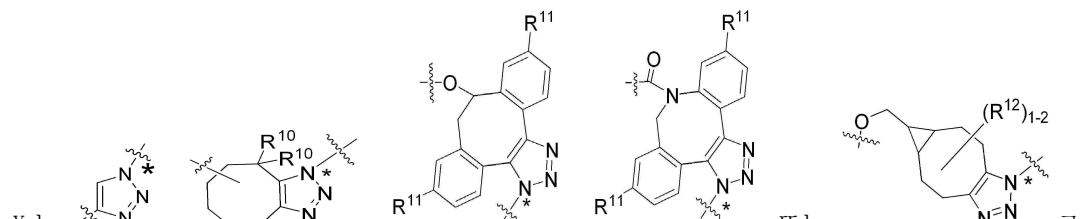
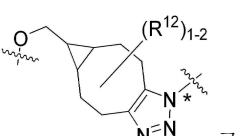
[0539] y는 1 내지 10의 정수이고;

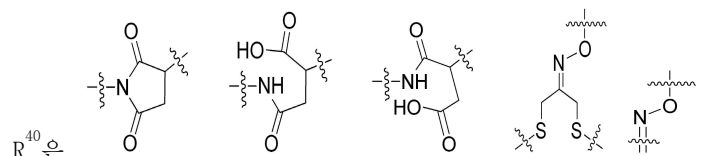
[0540] L_{30} 은 $-L_5R^{40}$ 이고;

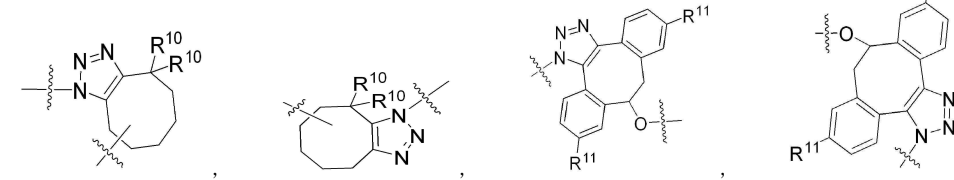
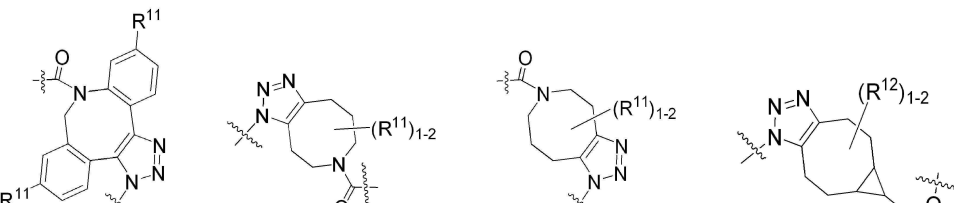
[0541] L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;

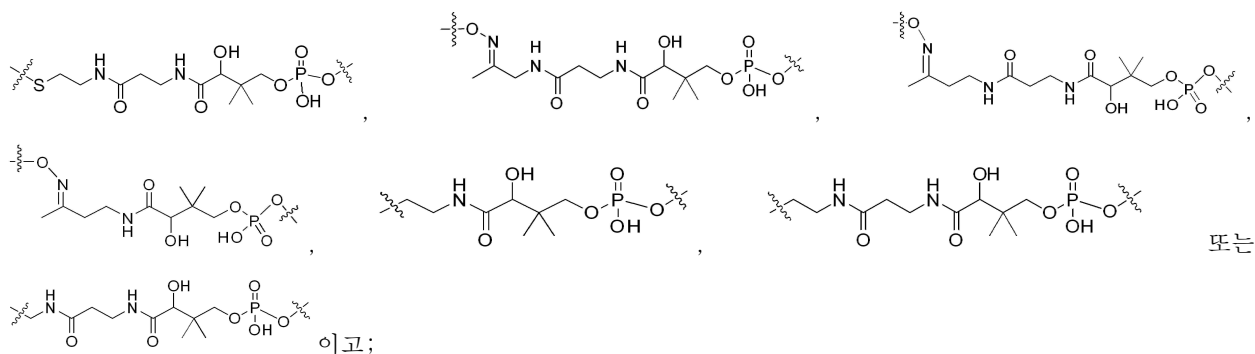
[0542] L_5 는 $-NHS(=O)_2(CH_2)_mX_1L_4$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 또는 $-NH(CH_2)_m-$ 이고;

[0543] X_1 은  또는 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

[0544] X_2 는  또는 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

[0545] R^{40} 은  , $-NR^7C(=O)CH_2-$, $-NHC(=O)CH_2-$, $-S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-(CH_2)_2S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-NR^7S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-NR^7C(=O)CH_2CH_2-$, $-NH-$, $-C(=O)-$, $-NHC(=O)-$, $-CH_2NHCH_2CH_2-$,

$-NHCH_2CH_2-$, $-S-$,  , 



[0546] 각각의 R⁷은 H 및 C₁-C₆알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0547] 각각의 R¹⁰은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0548] 각각의 R¹¹은 H, C₁-C₆알킬, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되
 고;

[0549] 각각의 R¹²는 H, C₁₋₆알킬, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C₁₋₄알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0550] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0551] 각각의 p 는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0552] 구현예 24. 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-1a 또는 화학식 D-2a의 구조를 갖는 접합체

[0553] (화학식에서,

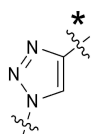
[0554] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0555] y는 1 내지 10의 정수이고;

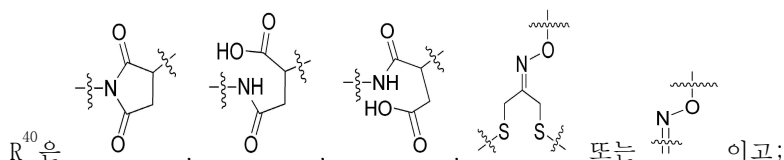
[0556] L_{30} 은 $-L_5 R^{40}$ 이고;

[0557] L_4 는 $-((CH_2)_mO)$ 이고;

[0558] L_5 는 $-NHS(=O)_2(CH_2)_mX_1L_4$ 이고;



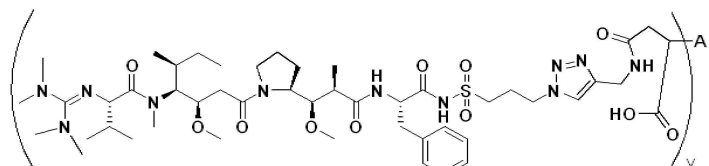
[0559] X_1 은 $\mathbb{Z}_4$ 로서, $*$ 는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;



[0561] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0562] 각각의 p 는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0563] 구현예 25. 다음으로부터 선택된 화학식 D, 화학식 D-1, 화학식 D-2, 화학식 D-1a 또는 화학식 D-2a의 구조를 갖는 집합체:

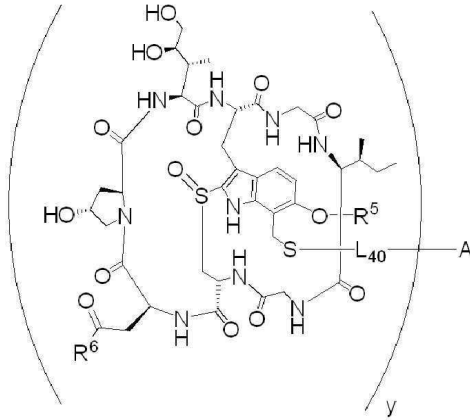


[0571] [화학식 E-1]



- 75 -

[0575] [화학식 E-1a]



[0576]

[0577] (화학식에서, A, y, R⁵, R⁶ 및 L₄₀은 위에서 정의된 바와 같음).

[0578] 구현예 28. 화학식 E, 화학식 E-1, 또는 화학식 E-1a의 구조를 갖는 집합체

[0579] (화학식에서,

[0580] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0581] y는 1 내지 10의 정수이고;

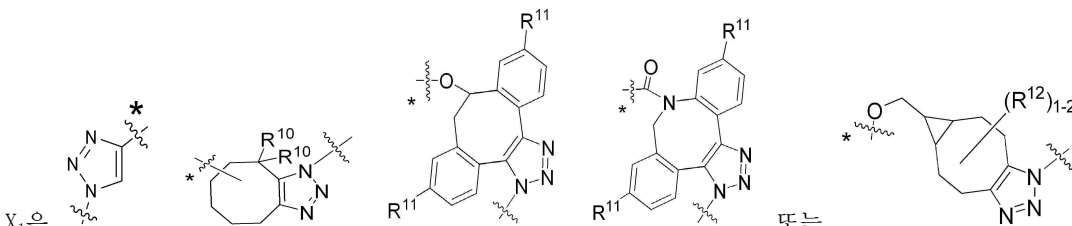
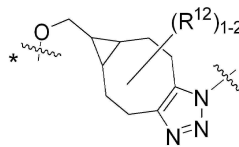
[0582] R⁵는 H, -CH₃ 또는 -CD₃이고;

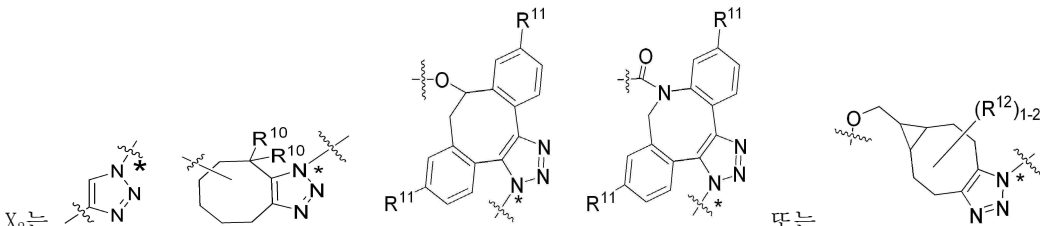
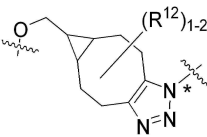
[0583] R⁶은 -NH₂ 또는 -OH이고;

[0584] L₄₀은 -L₆R⁴⁰ 이고;

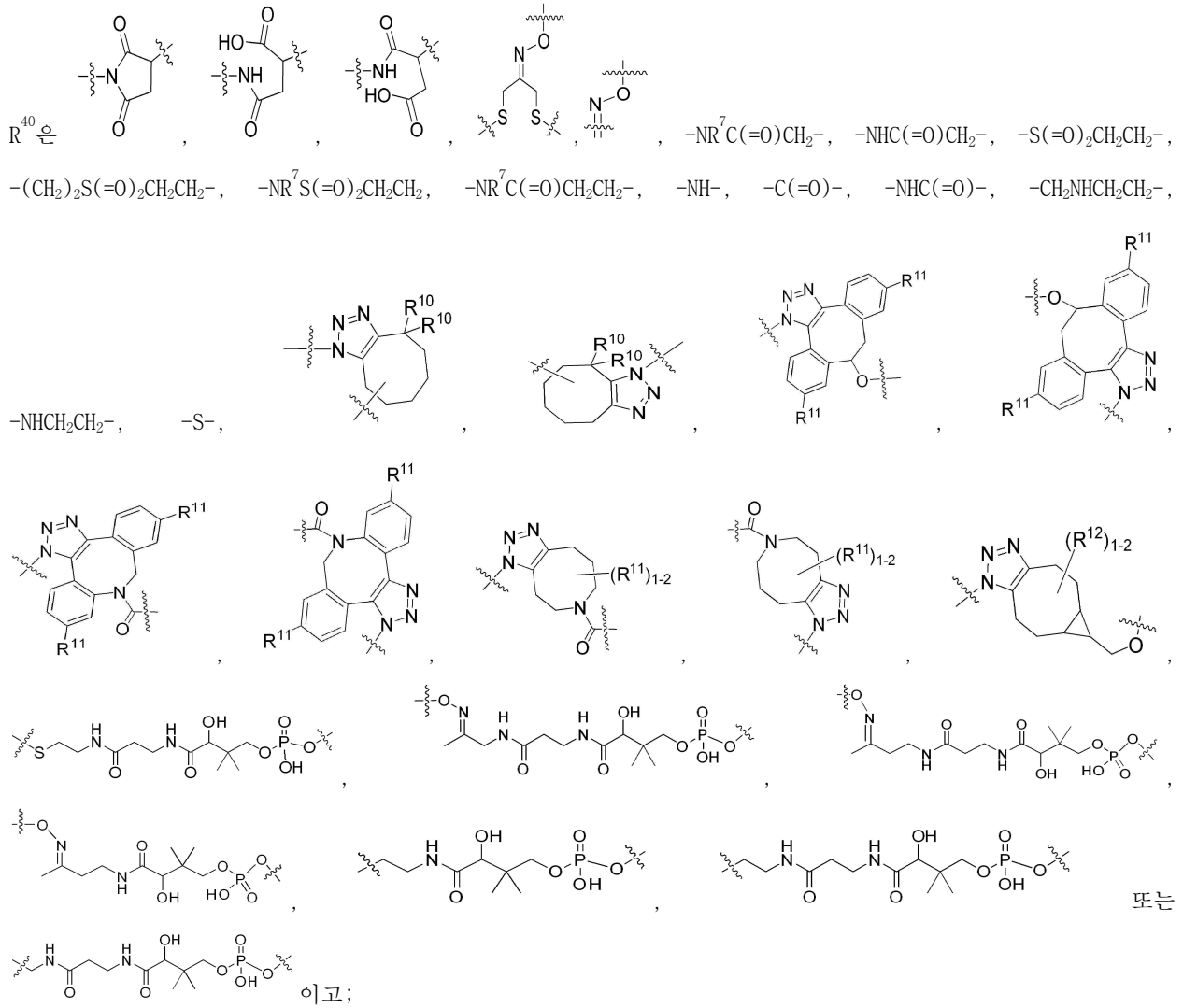
[0585] L₆은 $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-\text{L}_4\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_1\text{L}_4-$, $-\text{L}_4\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}((\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m\text{X}_2\text{L}_4-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{O})_p(\text{CH}_2)_m-$ 또는 $-(\text{CH}_2)_m-$ 이고;

[0586] L₄는 $-(\text{CH}_2)_m$ 이고;

[0587] X₁은  , 또는  로서, *는 L₄에 대한 부착점을 나타내고;

[0588] X₂는  , 또는  로서, *는 L₄에 대한 부착점을 나타내고;

[0589]



[0590]

각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0591]

각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0592]

각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;

[0593]

각각의 R^{12} 는 H, C_{1-6} 알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;

[0594]

각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,

[0595]

각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).

[0596]

구현예 29. 화학식 E, 화학식 E-1, 또는 화학식 E-1a의 구조를 갖는 집합체

[0597]

(화학식에서,

[0598]

A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;

[0599]

y는 1 내지 10의 정수이고;

[0600]

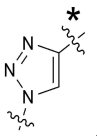
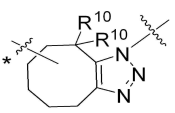
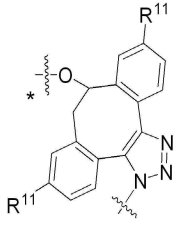
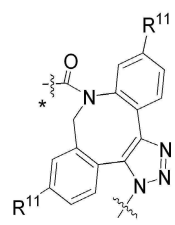
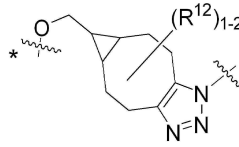
R^5 는 H, $-CH_3$ 또는 $-CD_3$ 이고;

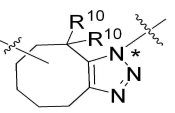
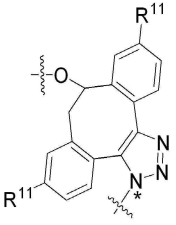
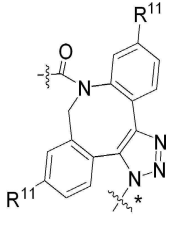
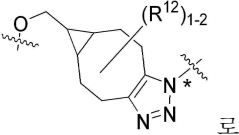
[0601] R^6 은 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이고;

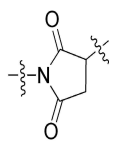
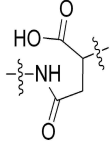
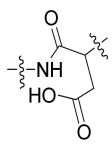
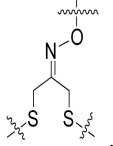
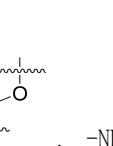
[0602] L_{40} 은 $-L_6R^{40}$ 이고;

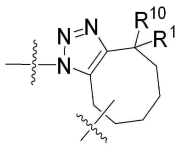
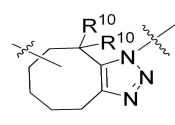
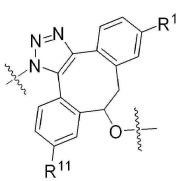
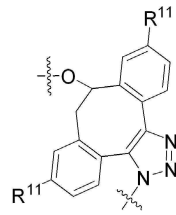
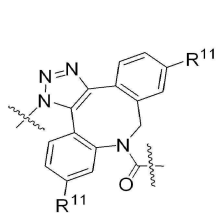
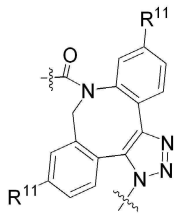
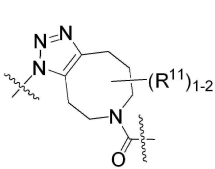
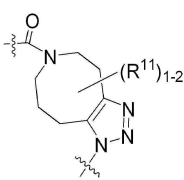
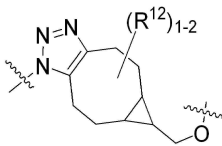
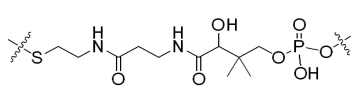
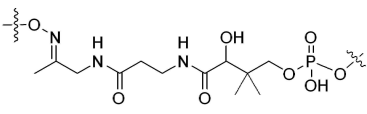
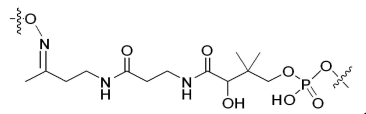
[0603] L_6 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$ 또는 $-(CH_2)_m-$ 이고;

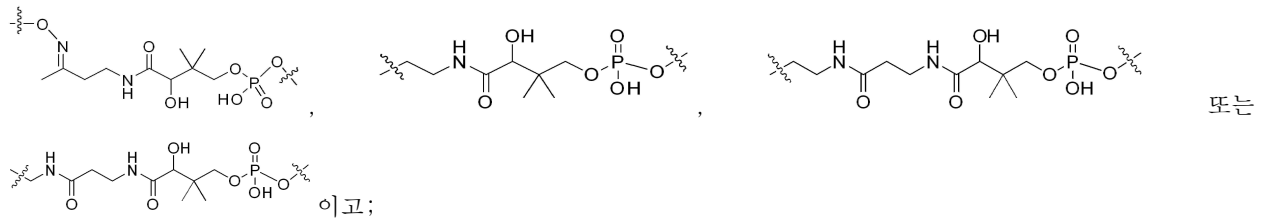
[0604] L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;

[0605] X_1 은 , , , , 또는 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

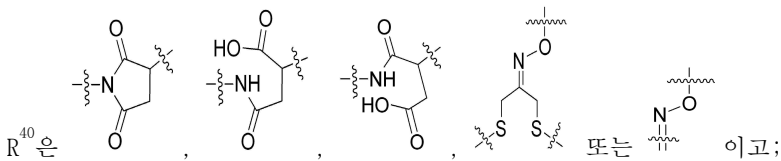
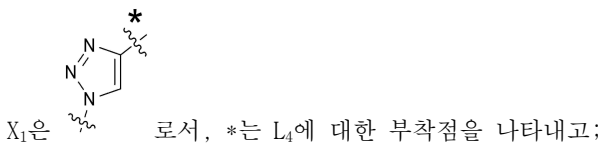
[0606] X_2 는 , , , , 또는 로서, *는 L_4 에 대한 부착점을 나타내고;

[0607] R^{40} 은 , , , , , $-NR^7C(=O)CH_2-$, $-NHC(=O)CH_2-$, $-S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-(CH_2)_2S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-NR^7S(=O)_2CH_2CH_2-$, $-NR^7C(=O)CH_2CH_2-$, $-NH-$, $-C(=O)-$, $-NHC(=O)-$, $-CH_2NHCH_2CH_2-$,

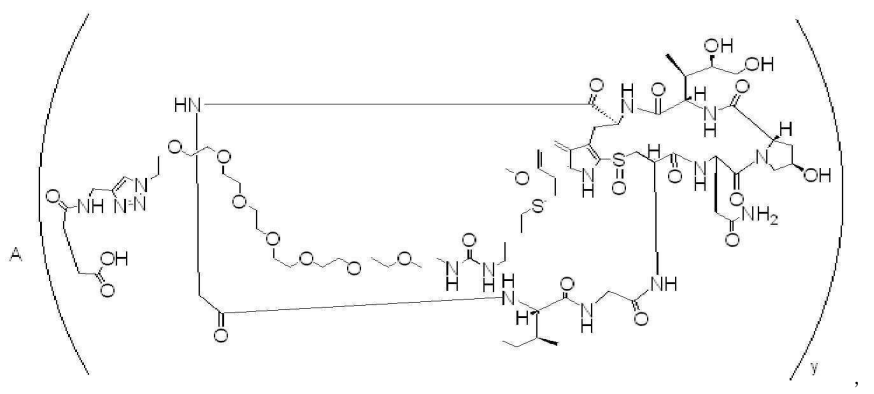
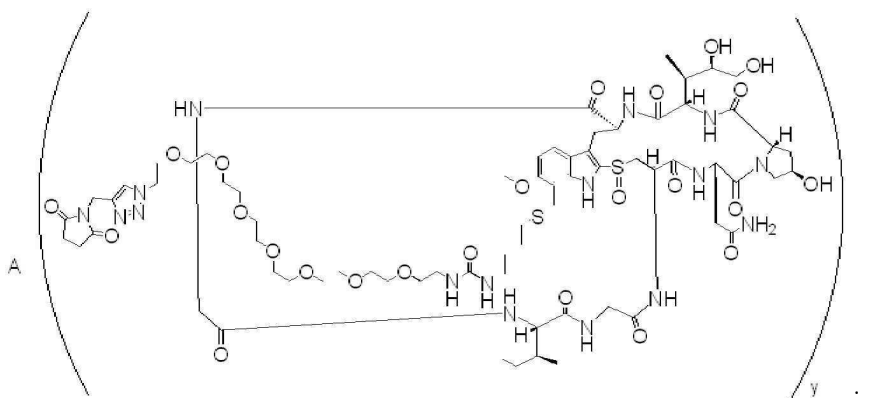
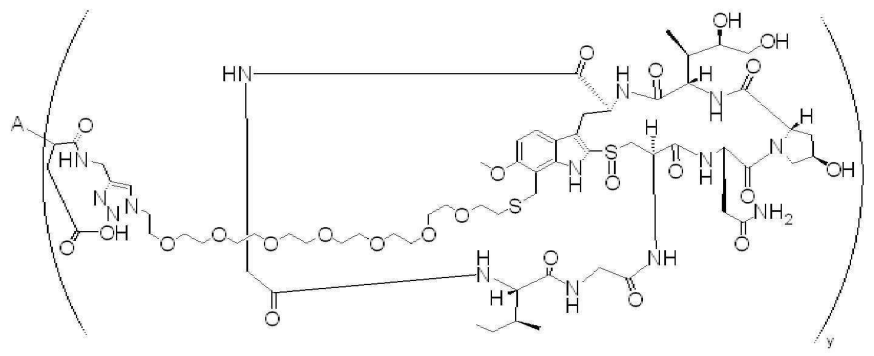
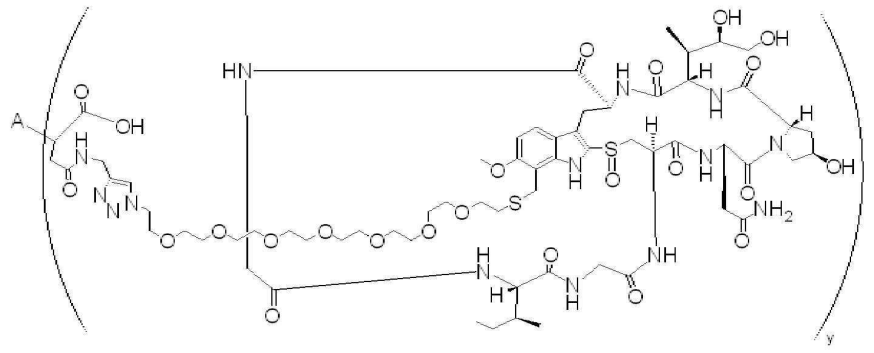
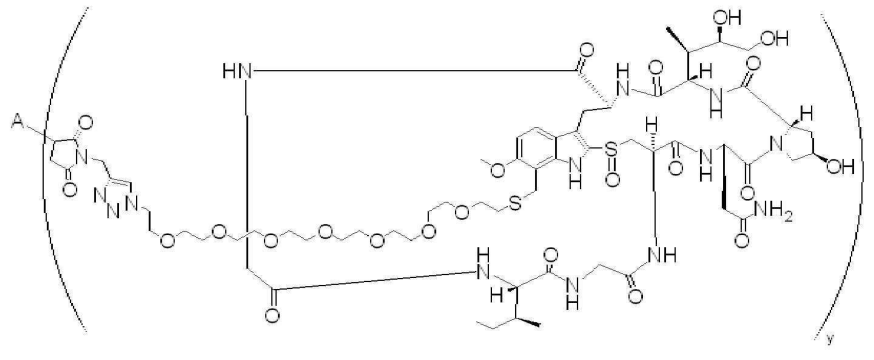
$-NHCH_2CH_2-$, $-S-$, , , , , , , , , , , , 



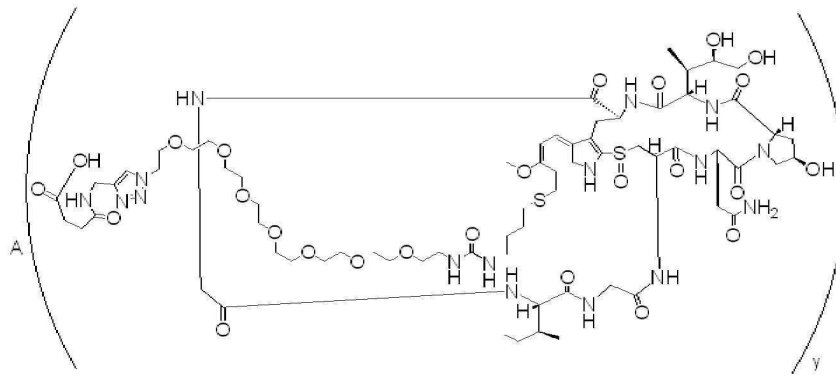
- [0608] 각각의 R^7 은 H 및 C_1 - C_6 알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0609] 각각의 R^{10} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;
- [0610] 각각의 R^{11} 은 H, C_1 - C_6 알킬, F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ 및 -OH로부터 독립적으로 선택되고;
- [0611] 각각의 R^{12} 는 H, C_1 - C_6 알킬, 플루오로, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$ 로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알콕시 및 $-C(=O)OH$ 로 치환된 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되고;
- [0612] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0613] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).
- [0614] 구현예 30. 화학식 E, 화학식 E-1, 또는 화학식 E-1a의 구조를 갖는 집합체
- [0615] (화학식에서,
- [0616] A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고;
- [0617] y는 1 내지 10의 정수이고;
- [0618] R^5 는 $-CH_3$ 이고;
- [0619] R^6 은 $-NH_2$ 이고;
- [0620] L_{40} 은 $-L_6R^{40}$ 이고;
- [0621] L_6 은 $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_1L_4-$, $-L_4NHC(=O)NH((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mX_2L_4-$, 또는 $-(CH_2)_m-$ 이고;
- [0622] L_4 는 $-((CH_2)_m)$ 이고;



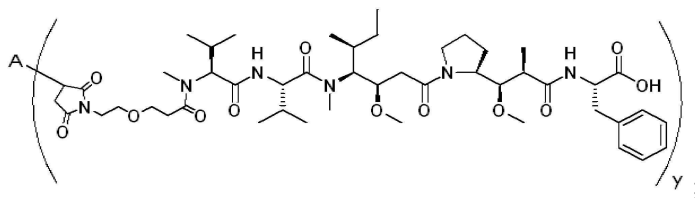
- [0625] 각각의 m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 독립적으로 선택되고,
- [0626] 각각의 p는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로부터 독립적으로 선택됨).
- [0627] 구현예 31. 다음으로부터 선택된 화학식 E, 화학식 E-1 또는 화학식 E-1a의 구조를 갖는 집합체:



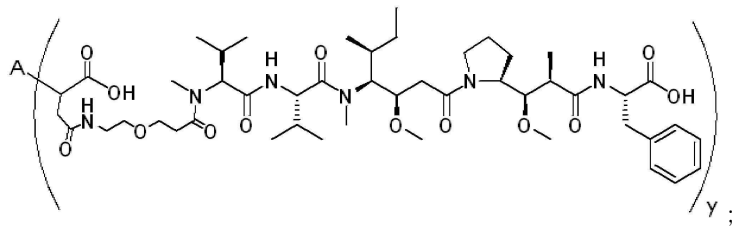
및



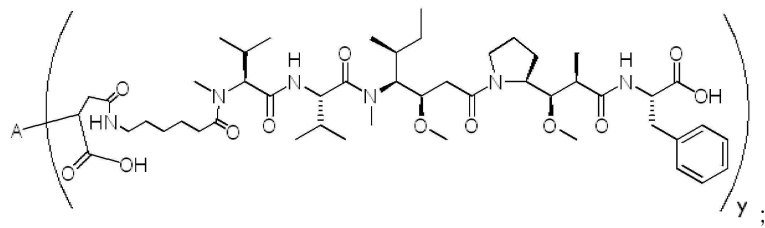
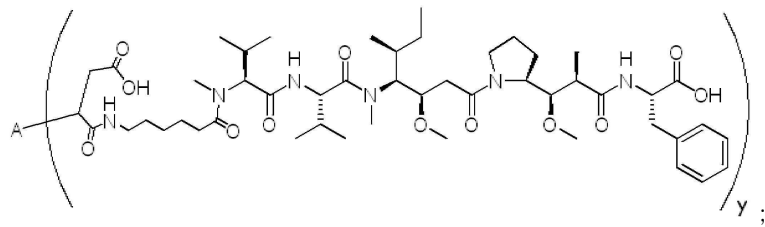
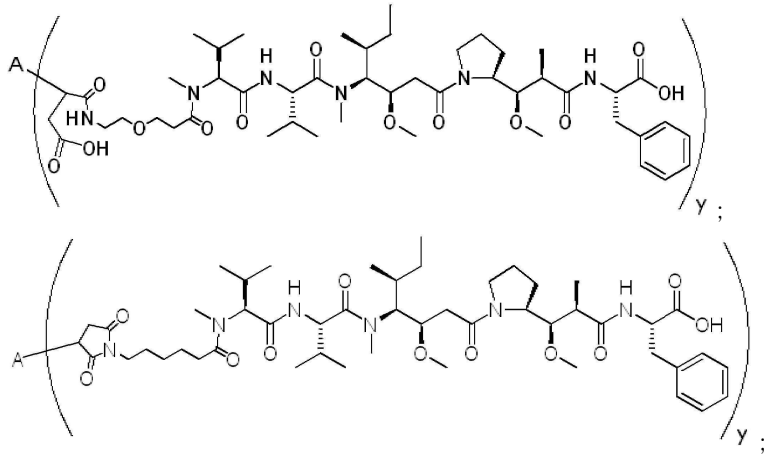
[0630] 또 다른 양태에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 다음으로부터 선택된다:

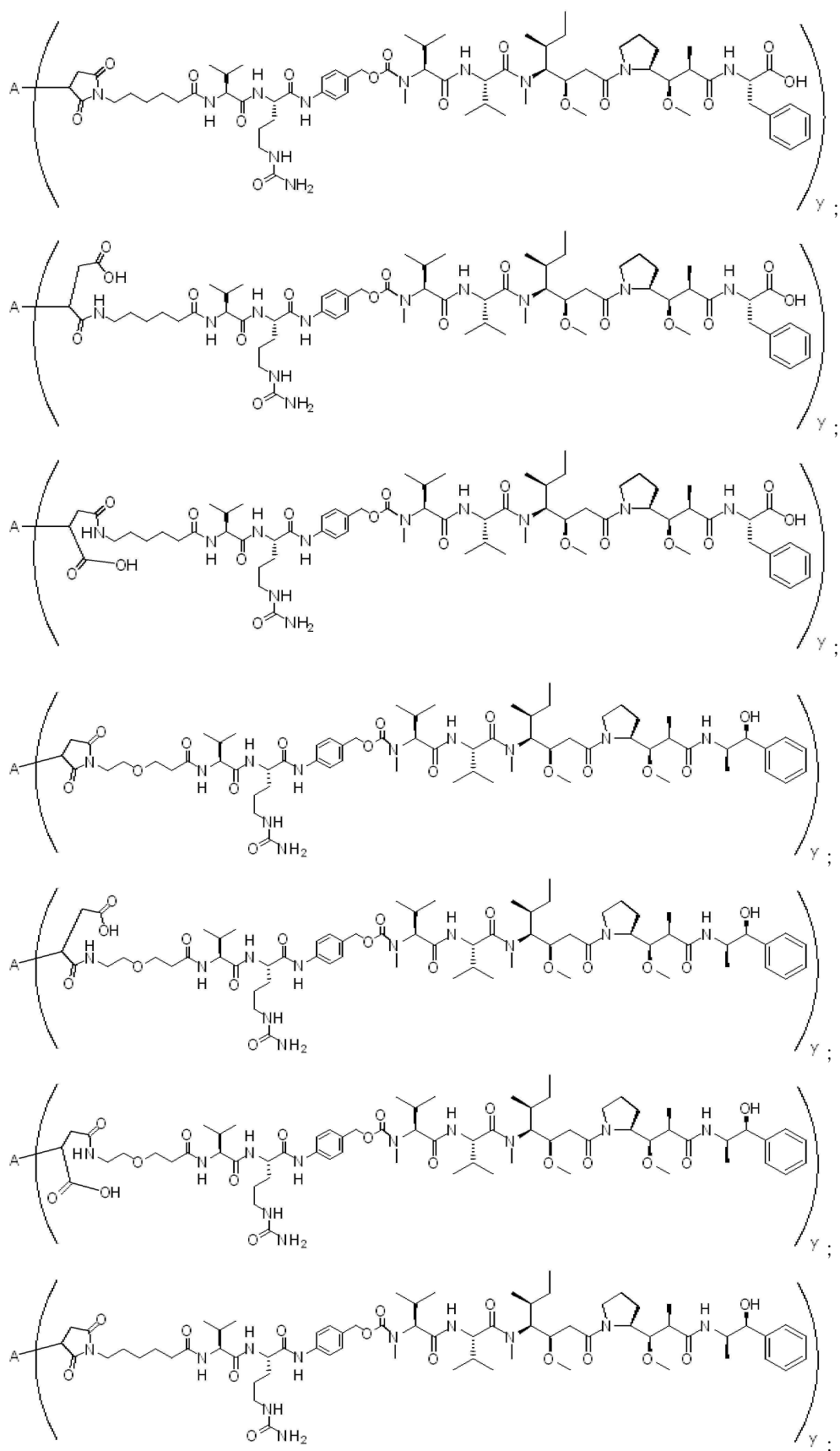


[0631]

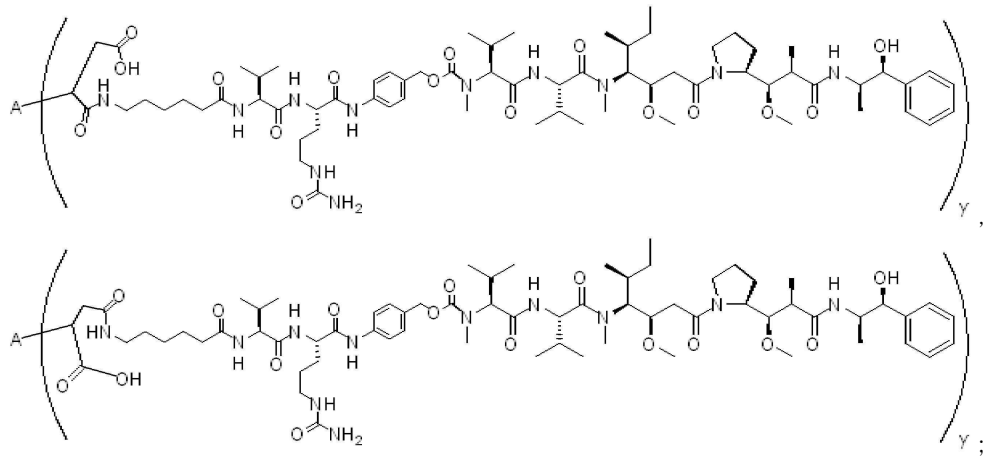


[0632]





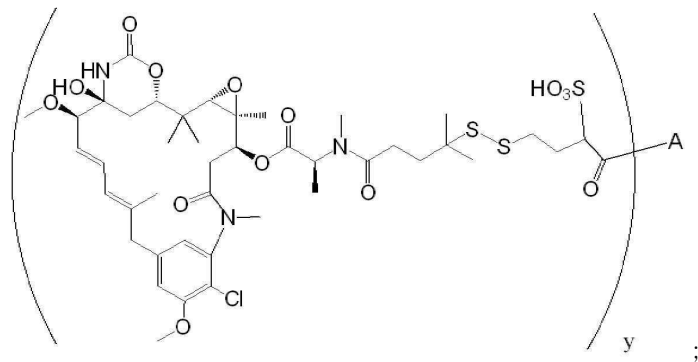
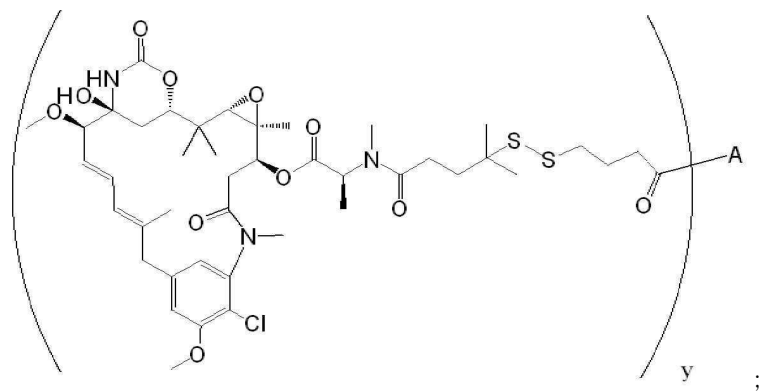
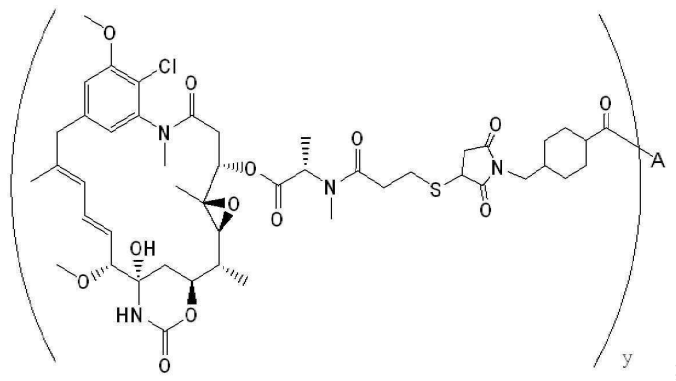
[0633]

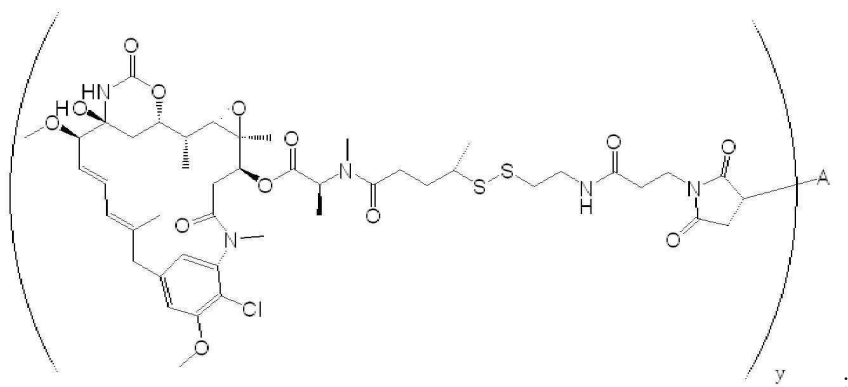


및

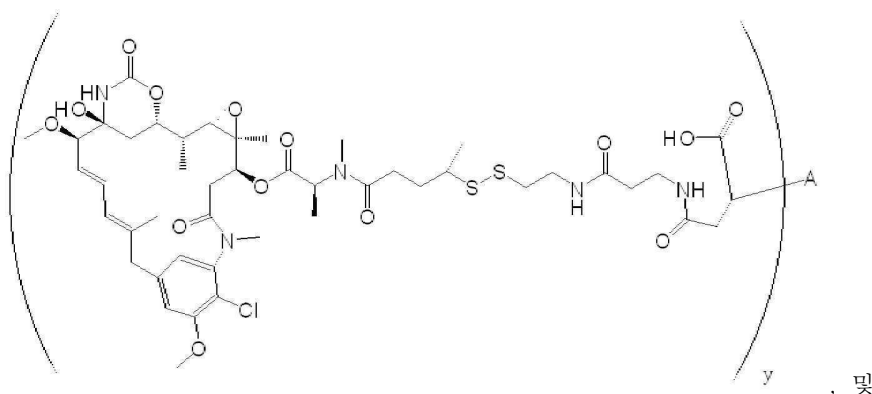
(화학식에서, A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고, y는 1 내지 10의 정수임).

또 다른 양태에서, 본 발명의 항체 약물 접합체는 다음으로부터 선택된다:

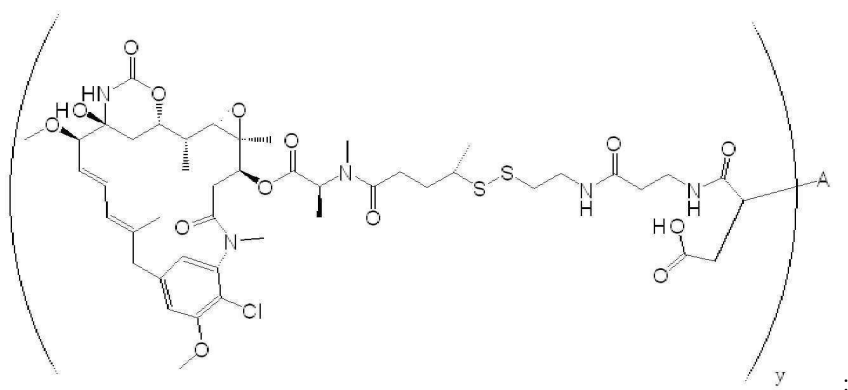




[0640]



[0641]

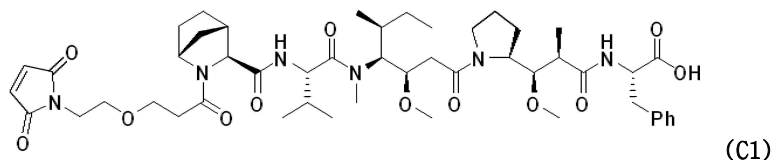


[0642]

[0643] (화학식에서, A는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 나타내고,
[0644] y는 1 내지 10의 정수임).

[0645] **예시적인 링커-약물 화합물의 합성**

[0646] **예 1:** (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-(3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로파노일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판산(C1)의 합성



[0647]

[0648] **단계 1:** 0℃의 N,N-디메틸포름아미드(DMF, 20.0 mL) 중 BocVal-Dil-Dap-OH(1.00 g, 1.75 mmol)의 용액에 N,N-디이소프로필 에틸아민(DIEA, 0.677 g, 5.25 mmol) 및 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리딘 3-옥시드 hexa플루오로포스페이트(HATU)(0.731 g, 1.93 mmol)를 첨가하였다. 그런 다음, 생성된 용액을 5분 동안 교반하고, 0℃의 DMF(5.0 mL) 중 L-페닐알라닌 메틸 에스테르 HCl 염(0.377 g, 1.75 mmol) 및 DIEA(0.226 g, 1.75 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 가온하고, 추가 30분 동안 교반한

다음, 농축하였다. 잔류물을 20 내지 90% 아세토니트릴-물로 용리시킨, ICSO 시스템, C18 컬럼을 이용한 역상 HPLC로 정제하여 BocVal-Dil-Dap-PheOMe을 수득하였다: MS m/z 733.4 (M+1); 머무름 시간 1.47분.

[0649] **단계 2:** 메탄올(20 mL) 중 단계 1에서 수득된 BocVal-Dil-Dap-PheOMe(0.683 g, 0.932 mmol)의 용액에 HCl(1, 4-디옥산 중 4 N, 16 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 7시간 동안 교반하고, 농축하였다. 잔류물을 디옥산에 용해시키고, 동결 건조하여 Val-Dil-Dap-PheOMe HCl 염을 수득하였다: MS m/z 633.4 (M+1); 머무름 시간 0.96분.

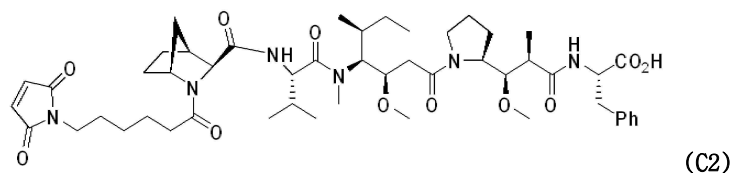
[0650] **단계 3:** (1R,3S,4S)-N-Boc-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복시산(12.6 mg, 0.052 mmol)을 15 mL 둥근 바닥 플라스크의 DMF(1 mL)에 용해시켰다. DIEA(12.3 mg, 0.095 mmol) 및 HATU(19 mg, 0.050 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 10분 동안 교반하고, DMF(1.0 mL) 중 Val-Dil-Dap-PheOMe HCl 염(30 mg, 0.090 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. LCMS 분석 결과, 반응이 완료되었음을 나타내었고, 생성된 혼합물을 0.05% 트리플루오로아세트산(TFA)을 함유하는 20 내지 90% 아세토니트릴-H₂O로 용리시킨 C18 컬럼을 이용한 역상 HPLC로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 모으고, 농축하여, (1R,3S,4S)-tert-부틸 3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-메톡시-1-((S)-2-((1R,2R)-1-메톡시-3-((S)-1-메톡시-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-5-메틸-1-옥소헵타-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바모일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-카복실레이트를 수득하였다: MS m/z 856.6 (M+1); 머무름 시간 1.67분.

[0651] **단계 4:** 단계 3에서 수득한 생성물을 디클로로메탄(DCM)(2.0 mL)에 용해시키고, TFA(0.5 mL)를 처리하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS 분석 결과, 반응이 완료되었다. 반응 혼합물을 회전 증발기로 농축하여 (S)-메틸 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판노에이트를 TFA 염으로 제공하였다: MS m/z 756.6 (M+1); 머무름 시간 1.22분.

[0652] **단계 5:** 25 mL 둥근 바닥 플라스크에 (S)-메틸 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판노에이트 TFA 염(38.4 mg, 0.044 mmol), LiOH 일수화물(50.0 mg, 1.19 mmol) 및 MeOH-H₂O의 용매 혼합물(2:1, 4.0 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 60시간 동안 교반하였다. LC-MS 분석은 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 농축하고, 0.05% TFA를 함유하는 아세토니트릴-H₂O(10 내지 70%)로 용리시킨, C18 컬럼, 역상 HPLC로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 합하고 농축하여, (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판산을 TFA 염으로 제공하였다, MS m/z 742.5 (M+1). 머무름 시간 1.15분.

[0653] **단계 6:** DMF(1 mL) 중 3-(2-(말레이미도)에톡시)프로판산(2.2 mg, 0.010 mmol)의 용액에 HATU(3.7 mg, 0.0098 mmol) 및 DIEA(3.6 mg, 0.028 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 5분 동안 교반한 다음, DMF(0.5 mL) 중 (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판산(8 mg, 0.0093 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음 농축하고, 분취 HPLC(0.05% TFA를 함유하는 10 내지 60% 아세토니트릴-H₂O)로 정제하여 (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-((3-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판노일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판산(C1)을 수득하였다. MS m/z 937/5 (M+H). 머무름 시간 1.138분.

[0654] **예 2:** (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-(6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판산(C2)



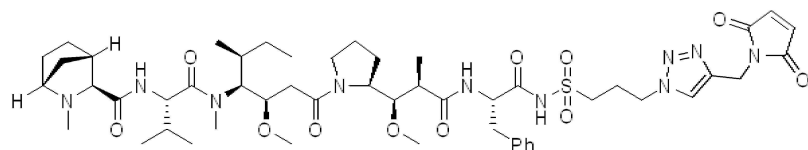
[0655] 단계 6에서 3-(2-(말레이미도)에톡시)프로판산 대신 DMF(1.0 mL) 중 6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-

[0656]

일)헥산산(EMCA)(1.2 mg, 0.0058 mmol)을 사용하였다는 점을 제외하고, 예 1의 방법에 따라 (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-(6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판산(2)을 제조하였다. (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-(6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미도)-N,3-디메틸부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로판아미도)-3-페닐프로판산(2) MS m/z 935.6 (M+1). 머무름 시간 1.17분.

[0657]

예 3: (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-(4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로필설포나미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(C3)



[0658]

(C3)

[0659]

단계 1: 물(25 mL) 중 아지드화 나트륨(3.50 g, 53.8 mmol)의 교반 용액에 아세톤(25 mL) 중 1,3-프로판 설포(6.10 g, 50.0 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 농축 건조하였다. 생성된 고체를 디에틸 에테르(100 mL)에 현탁시키고, 환류에서 1시간 동안 교반하였다. 현탁액을 실온까지 냉각시키고, 고체를 여과에 의해 수집하고, 아세톤 및 디에틸 에테르로 세척하고, 진공 하에 건조하여, 3-아지도-1-프로판설포나산을 제공하였다: MS m/z 188.1(M+1). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 3.47 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.87 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.07-2.00 (m, 2H).

[0660]

단계 2: 3-아지도-1-프로판설포나산(2.07 g, 13.0 mmol)을 톨루엔에 현탁시켰다. PCl_5 (2.61 g, 13.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 환류에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 여과하여 불용성 물질을 제거하였다. 여과 케이크를 DCM으로 세척하였다. 합한 여과액을 농축하여 3-아지도프로판-1-설포닐 클로라이드를 농황색 오일로 제공하였고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0661]

단계 3: 0°C 로 냉각된 NH_4OH (5 mL)에 3-아지도프로판-1-설포닐 클로라이드(1.75 g, 9.53 mmol)를 첨가하였다. 10분 후, 반응 혼합물을 실온까지 가온하고, 동일한 온도에서 3시간 동안 교반하였다. 오일성 혼합물이 투명해졌다. 반응 혼합물을 EtOAc로 3회 추출하였다. 유기 상을 염수로 세척하고, 무수 MgSO_4 상에서 건조하고, 농축하였다. 높은 진공 하에 18시간 동안 잔류 용매를 더 제거하여 3-아지도프로판-1-설포나미드를 제공하였다: MS m/z 187.1 (M+1). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 4.83 (s, 2H), 3.51 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.17-2.10 (m, 2H).

[0662]

단계 4: (S)-2-((tert-부톡시카보닐)아미노)-3-페닐프로판산(100 mg, 0.38 mmol)을 DMF(4 mL)에 용해시킨 후, DIEA(0.395 mL, 2.26 mmol) 및 HATU(358 mg, 0.940 mmol)를 첨가하였다. 15분 후, 3-아지도프로판-1-설포나미드(186 mg, 1.13 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하였고, 이 시점에 LCMS 분석이 반응의 완료를 나타내었다. 그런 다음, 생성된 혼합물을 0.05% TFA를 함유하는 10 내지 90% 아세토니트릴- H_2O 로 용리시킨, C18 컬럼을 이용한, 역상 HPLC로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 모아 동결 건조하여 (S)-tert-부틸 (1-(3-아지도프로필설포나미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)카바메이트를 수득하였다. MS m/z 312.1 (M+1-Boc). 머무름 시간 1.15분. 이렇게 수득된 생성물(72.4 mg, 0.176 mmol)을 3 M 메탄올성 HCl(5 mL)에 용해시켰다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 아세토니트릴 및 H_2O 에 흡수시켜 (S)-2-아미노-N-((3-아지도프로필)설포닐)-3-페닐프로판아미드를 분홍색을 띤 노르스름한 고체로 제공하였다. MS m/z 312.1 (M+1). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 4.16-4.13 (m, 1H), 3.51-3.47 (m, 4H), 3.32-3.26 (m, 1H), 3.13-3.08 (m, 1H), 2.00-1.94 (m, 2H).

[0663]

단계 5: DMF(4mL)에 용해시킨 Boc-Val-Dil-Dap-OH(195 mg, 0.34 mmol)에 DIEA(132 mg, 1.02 mmol) 및 HATU(108 mg, 0.28 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반한 후, (S)-2-아미노-N-((3-아

지도프로필)설폰닐)-3-페닐프로판아미드(59.2 mg, 0.17 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 더 교반하였다. 그런 다음, 역상 HPLC로 정제하여 원하는 생성물을 제공하였다(95 mg, 65% 수율, MS m/z 865.4 (M+1), 머무름 시간 1.43분). 생성물을 MeOH 중 3 M HCl(3 mL)에 용해시켰다. 용매를 진공 하에 제거하였다. 그런 다음, 아세토니트릴 및 H₂O를 잔류물에 첨가하고, 용액을 동결 건조하여 원하는 생성물 (S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-2-아미노-3-메틸-1-옥소부탄을 수득하였다. MS m/z 765.4 (M+1). 머무름 시간 1.04분.

[0664]

단계 6: DMF(2.0 mL) 중 (1R,3S,4S)-2-(tert-부톡시카보닐)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복시산(16.5 mg, 0.068mmol)에 DIEA(17.6 mg, 0.137mmol) 및 HATU(21.6 mg, 0.057mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반한 후, (S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-2-아미노-3-메틸-1-옥소부탄(20 mg, TFA 염, 0.023 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였고, 이 시점에 LCMS 분석이 반응의 완료를 나타내었다. 그런 다음, 생성된 혼합물을 0.05% TFA를 함유하는 10 내지 90% ACN-H₂O로 용리시킨, C18 컬럼을 이용한, 역상 HPLC로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 모으고 동결 건조하여 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-(tert-부톡시카보닐)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 수득하였다. MS m/z 988.5 (M+1). 머무름 시간 1.51분. 이렇게 수득된 생성물(9.4 mg, 0.0095 mmol)을 메탄올성 HCl(3 M, 2.0 mL)에 용해시켰다. 용매를 감압 하에 서서히 제거하였다. 잔류물을 아세토니트릴 및 H₂O에 용해시키고 동결 건조하여 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 HCl 염으로 제공하였다. MS m/z 888.5 (M+1). 머무름 시간 1.10분.

[0665]

단계 7: (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드(8.8 mg, 0.0099 mmol)를 MeOH(2.0 mL)에 용해시켰다. 파라포름알데히드(10.1 mg, 0.337mmol) 및 아세트산(0.0102 mL)을 첨가한 후, 나트륨 시아노보로하이드라이드(21.2 mg, 0.337 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 50℃에서 1시간 동안 교반하며 가열하였다. 추가 파라포름알데히드(10.1 mg, 0.337 mmol), 아세트산(0.0102 mL) 및 나트륨 시아노보로하이드라이드(21.2 mg, 0.337 mmol)를 첨가하였다. 50℃에서 1시간 후, LCMS 분석은 반응의 완료를 나타내었다. 그런 다음, 생성된 혼합물을 0.05% TFA를 함유하는 10 내지 90% ACN-H₂O로 용리시킨, C18 컬럼을 이용한, 역상 HPLC로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 모으고 동결 건조하여 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드를 수득하였다. MS m/z 902.5 (M+1). 머무름 시간 1.12분.

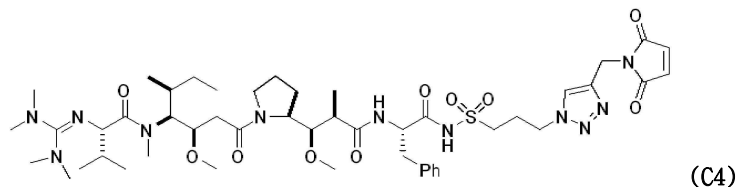
[0666]

단계 8: DMF(2.0 mL) 및 H₂O(0.5 mL) 중 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드 (5.2mg, 0.0058 mmol), 1-(프로프-2-인-1-일)-1H-피롤-2,5-디온(1.56 mg, 0.012 mmol) 및 CuSO₄(0.7 mg, 0.004 mmol)의 용액을 L-아스코르브산 나트륨 염(2.5 mg, 0.014 mmol)으로 처리하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 추가의 CuSO₄(0.7 mg, 0.004 mmol) 및 L-아스코르브산 나트륨 염(2.5 mg, 0.014 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 2시간 더 지난 후, LCMS 분석은 반응의 완료를 나타내었다. 그런 다음, 생성된 혼합물을 0.05% TFA를 함유하는 10 내지 90% 아세토니트릴-H₂O로 용리시킨, C18 컬럼을 이용한, 역상 HPLC로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 모으고 동결 건조하여 (1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-(4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로필설폰아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)-2-메틸-2-아자비시클로[2.2.1]헵탄-3-카복사미드

(C3)를 수득하였다. MS m/z 1037.4 (M+1). 머무름 시간 1.00분.

[0667]

예_4: (S)-2-((비스(디메틸아미노)메틸렌)아미노)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-(4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로필설포아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄(C4)의 합성



[0668]

[0669]

단계 1: 물(25 ml) 중 아지드화 나트륨(3.5 g, 54 mmol)의 교반 용액에 아세톤(25 ml) 중 1,3-프로판 설포(6.1 g, 50 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 농축하였다. 생성된 고체를 디에틸 에테르(100 ml)에 현탁시키고, 환류에서 1시간 동안 교반하였다. 현탁액을 실온까지 냉각시켰다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 아세톤 및 디에틸 에테르로 세척하고, 진공 하에 건조하여, 3-아지도-1-프로판설포산을 제공하였다. MS m/z 188.1 (M+23). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 3.47 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.87 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.07-2.00 (m, 2H).

[0670]

단계 2: 3-아지도-1-프로판설포산(2.07 g, 13 mmol)을 톨루엔에 현탁시켰다. PCl_5 (2.61 g, 13 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 환류에서 3시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온까지 냉각시켰다. 불용성 물질을 여과에 의해 제거하고, DCM으로 세척하였다. 합한 여과액을 농축하여 3-아지도프로판-1-설포닐 클로라이드를 황갈색 오일로 제공하였고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0671]

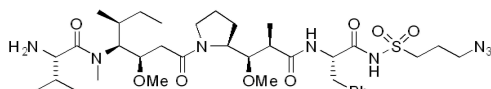
단계 3: NH_4OH (28%, 5 mL)를 0°C 까지 냉각시켰다. 3-아지도프로판-1-설포닐 클로라이드(1.75 g, 9.53 mmol)를 첨가하였다. 10분 후, 반응물을 실온까지 가온한 다음, 3시간 동안 실온에서 교반하였다. 두 개의 상은 균질하게 되었다. 반응 혼합물을 EtOAc로 3회 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조하고, 회전 증발기 상에서 농축한 후, 높은 진공으로 18시간 농축하여 3-아지도프로판-1-설포아미드를 제공하였다. MS m/z 187.1 (M+23). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 4.83 (s, 2H), 3.51 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.17-2.10 (m, 2H).

[0673]

단계 4: (S)-2-((tert-부톡시카보닐)아미노)-3-페닐프로판산(100 mg, 0.38 mmol)을 DMF(4 mL)에 용해시켰다. DIEA(0.395 mL, 2.26 mmol) 및 HATU(358 mg, 0.94 mmol)를 첨가하였다. 15분 후, 3-아지도프로판-1-설포아미드(186 mg, 1.13 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응의 완료를 나타내었다. 반응 혼합물을 10 내지 90% 구배를 이용한 분취 HPLC로 정제하여 (S)-tert-부틸 (1-(3-아지도프로필설포아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)카바메이트를 수득하였다. MS m/z 312.1 (M+1-Boc). 머무름 시간 1.15분. 이렇게 수득된 생성물(72.4 mg, 0.176 mmol)을 메탄올성 HCl (3 M, 5 mL)에 용해시켰다. 용매를 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 아세트니트릴 및 H_2O 로부터 동결 건조하여 (S)-2-아미노-N-((3-아지도프로필)설포닐)-3-페닐프로판아미드를 분홍색을 띤 노르스름한 고체로 제공하였다. MS m/z 312.1 (M+1) ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 4.16-4.13 (m, 1H), 3.51-3.47 (m, 4H), 3.32-3.26 (m, 1H), 3.13-3.08 (m, 1H), 2.00-1.94 (m, 2H).

[0674]

단계 5: DMF(4 mL)중 Boc-Val-Dil-Dap-OH(195 mg, 0.34 mmol)에 DIEA(132 mg, 1.02 mmol) 및 HATU(108 mg, 0.28 mmol)를 첨가하였다. 이를 실온에서 15분 교반하였다. (S)-2-아미노-N-((3-아지도프로필)설포닐)-3-페닐프로판아미드(59.2 mg, 0.17 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 미정제 물질을 분취 HPLC로 정제하여 원하는 생성물을 제공하였다(95 mg, 65% 수율, MS m/z 865.4 (M+1), 머무름 시간 1.43분). 생성물을 MeOH 중 3 M HCl (3 mL)에 용해시켰다. 용매를 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 아세트니트릴-물로부터 동결 건조하여 (S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설포아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메



틸)아미노)-2-아미노-3-메틸-1-옥소부탄,
다. MS m/z 765.4 (M+1), 머무름 시간 1.04분.

을 HCl 염으로 수득하였

[0675]

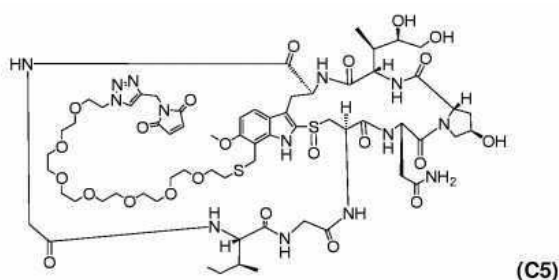
단계 6: DMF(2 mL) 중 (S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설포아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-2-아미노-3-메틸-1-옥소부탄 HCl 염(20 mg, 0.025 mmol)에 DIEA(0.024 mL, 0.14 mmol) 및 HATU(21.6 mg, 0.057 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응의 완료를 나타내었다. 그런 다음, 생성된 혼합물을 10 내지 90% 구배를 이용하는 분취 HPLC로 정제하여 (S)-2-((비스(디메틸아미노)메틸렌)아미노)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설포아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄을 TFA 염으로 수득하였다. MS m/z 863.5 (M+1). 머무름 시간 1.169분.

[0676]

단계 7: (S)-2-((비스(디메틸아미노)메틸렌)아미노)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-아지도프로필설포아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄 TFA 염(87.4 mg, 0.089 mmol) 및 1-(프로프-2-인-1-일)-1H-피롤-2,5-디온(24.2 mg, 0.0179 mmol)을 각각 3.0 mL의 t-BuOH 및 물에 현탁시켰다. 반응 용기를 N₂로의 진공 충전 사이클로 다섯 차례 N₂로 충전하였다. H₂O(2.4 mL) 중 L-아스코르브산 나트륨(17.7 mg, 0.089 mmol) 및 H₂O(0.6 mL) 중 CuSO₄(2.86 mg, 0.018 mmol)의 탈기된 용액들을 연속하여 첨가하고, 반응물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. LCMS는 반응의 완료를 나타내었다. 미정제 물질을 20 내지 45% 구배를 이용한 분취 HPLC로 정제하여 (S)-2-((비스(디메틸아미노)메틸렌)아미노)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-N-1-(3-(4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로필설포아미도)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄(C4)을 TFA 염으로 수득하였다. MS m/z 998.5 (M+1). 머무름 시간 1.014분.

[0677]

예 5:6'0-메틸-7'C-((23-(4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)-α-아마니틴(C5), 7'C-((23-아지도-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)-α-아마니틴(A-3) 및 6'0-메틸-7'C-((23-아지도-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)-α-아마니틴(A4)의 합성



[0678]

[0679]

단계 1: 포름알데히드(0.035 mL, 0.44 mmol) 및 23-아지도-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산-1-티올(35 mg, 0.11 mmol)을 MeOH(2 mL) 중 α-아마니틴(20 mg, 0.022 mmol)의 용액에 첨가하였다. 트리에틸아민(1.2 mL, 8.7 mmol) 및 아세트산(0.25 mL, 4.4 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하고, N₂ 가스로 3회 플러싱하였다. 반응 혼합물을 40℃에서 2일 동안 교반하였다. 진공에서 농축 후, 잔류물을 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 7'C-((23-아지도-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)-α-아마니틴을 제공하였다. MS (m+1) = 1342.4, HPLC 피크 RT = 0.834분, 1H-NMR (MeOD, 500 MHz) δ 10.65 (s, 1H), 8.81 (m, 1H), 8.59 (d, 1H, J = 2.0 Hz), 8.45 (m, 2H), 8.33 (s, 1H), 8.14 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 8.00 (d, 1H, J = 12.0 Hz), 7.90 (d, 1H, J = 11.0 Hz), 7.67 (s, 1H), 7.48 (d, 1H, J = 11.0 Hz), 6.69 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 5.25 (m, 1H), 5.12 (m, 1H), 4.74 (bs, 1H), 4.61 (dd, 1H, J = 6.5 and 12.0 Hz), 4.51 (m, 2H), 4.29 (dd, 1H, J = 10.5 and 23.0 Hz), 4.09 (m, 3H), 3.92 (m, 1H), 3.38-3.73 (m, 43H), 3.29 (m, 2H), 3.21 (m, 1H), 3.06 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 2.91 (m, 1H), 2.56 (m, 2H), 2.39 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.15 (m, 1H), 0.94 (d, 3H, J = 9.0 Hz), 0.85 (m, 6H).

[0680]

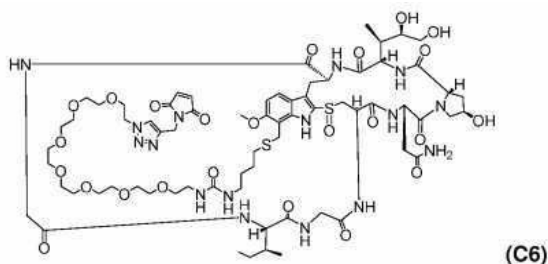
단계 2: 7'C-((23-아지도-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)- α -아마니틴(14.0 mg, 0.011 mmol) 및 DMSO(1 mL)를 실온에서 요오드화메틸(0.0007 mL) 및 K₂CO₃(1.5 mg)로 처리하고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 추가의 요오드화메틸(0.0007 mL) 및 K₂CO₃(1.5 mg)를 실온에서 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 다시, 추가의 요오드화메틸(0.0007 mL) 및 K₂CO₃(1.5 mg)를 실온에서 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 그런 다음, 반응 혼합물을 RP-C18 ISCO로 정제하고 동결 건조하여 6'O-메틸-7'C-((23-아지도-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)- α -아마니틴을 제공하였다. MS (m+2/2) = 679.0, HPLC 피크 RT = 0.887분, ¹H-NMR (MeOD, 500 MHz) δ 10.75 (s, 1H), 8.83 (m, 1H), 8.64 (d, 1H, J = 2.0 Hz), 8.52 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 8.47 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 8.36 (s, 1H), 8.18 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 8.05 (d, 1H, J = 9.5 Hz), 7.96 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.70 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.69 (s, 1H), 6.98 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 5.33 (m, 1H), 5.18 (m, 1H), 4.80 (bs, 1H), 4.68 (dd, 1H, J = 5.5 and 9.5 Hz), 4.56 (m, 2H), 4.35 (dd, 1H, J = 9.0 and 18.5 Hz), 4.10~4.21 (m, 3H), 3.97 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.45~3.79 (m, 42H), 3.35~3.44 (m, 3H), 3.11 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.61 (m, 2H), 2.44 (m, 2H), 2.06 (m, 1H), 1.65 (m, 2H), 1.21 (m, 1H), 0.99 (d, 3H, J = 7.0 Hz), 0.90 (m, 6H).

[0681]

단계 3: 6'O-메틸-7'C-((23-아지도-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)- α -아마니틴(8 mg, 0.006 mmol) 및 1-(프로프-2-인-1-일)-1H-피롤-2,5-디온(2 mg, 0.012 mmol)을 t-부탄올(0.5 mL)에 첨가하고, 반응 혼합물을 N₂ 가스로 5회 플라싱하였다. 그런 다음, L-아스코르브산 나트륨 염(1 mg, 0.006 mmol), CuSO₄(0.2 mg, 0.0012 mmol) 및 0.5 mL의 H₂O를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂ 가스로 5회 플라싱하고, 실온에서 4시간 동안 교반한 다음, RP-C18 ISCO로 정제하여 6'O-메틸-7'C-((23-(4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코산티오)메틸)- α -아마니틴(C5)를 제공하였다. MS (m+2/2) = 746.5, HPLC 피크 RT = 0.850분, ¹H-NMR (MeOD, 500 MHz) δ 10.74 (s, 1H), 8.83 (m, 1H), 8.63 (d, 1H, J = 2.0 Hz), 8.51 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 8.47 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 8.36 (s, 1H), 8.17 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 8.04 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 7.96 (d, 1H, J = 9.5 Hz), 7.94 (s, 1H), 7.69 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 6.97 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 6.83 (s, 2H), 5.34 (m, 1H), 5.17 (m, 1H), 4.79 (bs, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.68 (dd, 1H, J = 5.0 and 9.5 Hz), 4.56 (m, 2H), 4.52 (t, 1H, J = 5.0 Hz), 4.34 (dd, 1H, J = 9.0 and 18.5 Hz), 4.08~4.20 (m, 3H), 3.97 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.39~3.78 (m, 38H), 3.10 (m, 1H), 2.94 (dd, 1H, J = 14.0 and 15.0 Hz), 2.61 (m, 2H), 2.41 (m, 2H), 2.05 (m, 1H), 1.57~1.68 (m, 2H), 1.20 (m, 1H), 0.99 (d, 3H, J = 7.0 Hz), 0.91 (m, 6H).

[0682]

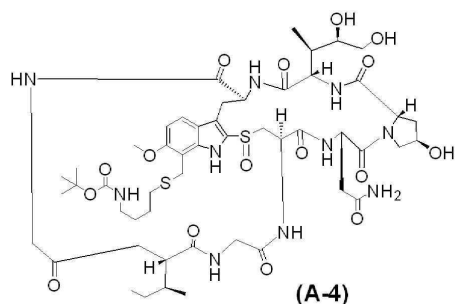
예 6: 6'O-메틸-7'C-((4-(3-(23-((4-말레이미도)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코실)우레이도)부틸티오)메틸)- α -아마니틴(C6)의 합성



[0683]

[0684]

단계 1: 포름알데히드(0.027 mL, 0.33 mmol) 및 tert-부틸 (4-메르캅토부틸)카바메이트(i-7)(34 mg, 0.16 mmol)를 40 mL 바이알 안의 MeOH(5 mL) 및 트리에틸아민(0.46 mL, 3.26 mmol) 중 α -아마니틴(A)(15 mg, 0.016 mmol)의 용액에 첨가하였고, 반응 혼합물을 40°C에서 3일 동안 교반하였다. 진공에서 농축 후, 잔류물을 2 mL의 MeOH에 용해시키고, 디에틸 에테르 중 2 M의 트리메틸실릴 디아조메탄 408 μ L를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 그런 다음, 디에틸 에테르 중 2 M의 트리메틸실릴 디아조메탄 408 μ L를 더 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 6'O-메틸-7'C-((4-t-부톡시카보닐아미노부틸티오)메틸)- α -아마니틴(A-4),

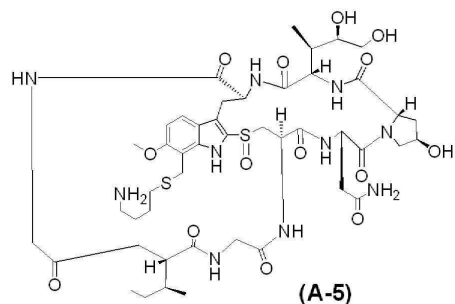


[0685]

를 제공하였다. MS ($m+2-boc/2$) = 525.8, HPLC 피크 RT = 0.936분, ^1H -NMR (MeOD- d_4 , 400 MHz) δ 10.78 (s, 1H), 8.84 (m, 1H), 8.59 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 8.48 (s, 1H), 8.46 (d, 1H, J = 14.4 Hz), 8.35 (s, 1H), 8.15 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 8.01 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 7.92 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.69 (s, 1H), 7.63 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 6.92 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 5.28 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 4.73 (bs, 1H), 4.61 (dd, 1H, J = 5.6 and 8.4 Hz), 4.51 (m, 2H), 4.30 (dd, 1H, J = 8.8 and 18.4 Hz), 4.12 (m, 1H), 4.04 (d, 1H, J = 13.2 Hz), 3.94 (d, 1H, J = 13.2 Hz), 3.92 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.35~3.75 (m, 14H), 3.05 (m, 1H), 2.92 (m, 3H), 2.49 (m, 4H), 2.00 (m, 1H), 1.39~1.65 (m, 8H), 1.37 (s, 9H), 1.15 (m, 1H), 0.93 (d, 3H, J = 7.2 Hz), 0.84 (m, 6H).

[0686]

단계 2: TFA(1 mL)를 40 mL 바이알 안의 화합물 (A-4) 8 mg에 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 2분 동안 방치한 다음, 진공 하에 농축하여 6'-O-메틸-7'-C-((4-아미노부틸티오)메틸)- α -아마니틴(A-5),



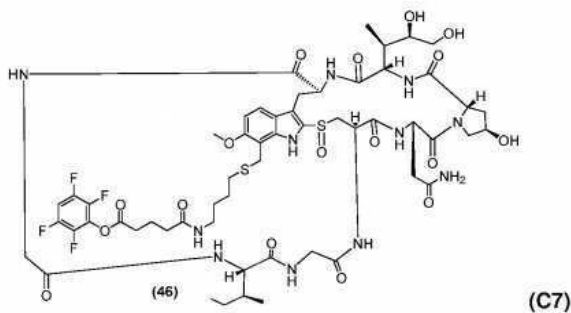
을 제공하였고, 이를 추가 정제 없이 사용하였다. MS ($m+1$) = 1050.4, HPLC 피크 RT = 0.635분, ^1H -NMR (MeOD- d_4 , 400 MHz) δ 8.87 (m, 1H), 8.58 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 8.48 (d, 1H, J = 10.4 Hz), 8.44 (d, 1H, J = 1.6 Hz), 8.16 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 7.97 (d, 1H, J = 9.6 Hz), 7.94 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 7.62 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 6.92 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 5.25 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.60 (dd, 1H, J = 5.6 and 9.2 Hz), 4.49 (m, 2H), 4.28 (dd, 1H, J = 8.8 and 18.4 Hz), 4.12 (m, 1H), 4.04 (d, 1H, J = 13.2 Hz), 3.99 (s, 2H), 3.92 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.83 (s, 1H), 3.60~3.72 (m, 4H), 3.30~3.60 (m, 10H), 3.00~3.20 (m, 2H), 2.90 (m, 1H), 2.76 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 1.50~1.75 (m, 7H), 1.16 (d, 1H, J = 5.6 Hz), 1.24 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 1.15 (m, 1H), 0.94 (d, 3H, J = 6.8 Hz), 0.85 (m, 6H).

[0687]

단계 3: 트리에틸아민(3 μ L, 18 μ mol)을 DMF(1 mL) 중 화합물 (A-5)(7.5 mg, 7 μ mol) 및 4-니트로페닐(23-(4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코실)카바메이트(5.0 mg, 7 μ mol)의 용액에 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, HPLC로 정제하고 동결 건조하여 6'-O-메틸-7'-C-((4-(3-(23-((4-말레이미도)메틸-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3,6,9,12,15,18,21-헵타옥사트리코실)우레이도)부틸티오)메틸)- α -아마니틴(C6)을 제공하였다. MS ($m+2/2$) = 803.5, HPLC 피크 RT = 0.834 분, ^1H -NMR (MeOD- d_4 , 400 MHz) δ 10.76 (s, 1H), 8.84 (m, 1H), 8.59 (d, 1H, J = 2.0 Hz), 8.49 (s, 1H), 8.47 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 8.15 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 8.01 (d, 1H, J = 9.6 Hz), 7.92 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.90 (s, 1H), 7.63 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 6.92 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 6.79 (s, 2H), 5.28 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 4.74 (m, 1H), 4.71 (s, 2H), 4.62 (dd, 1H, J = 5.2 and 9.6 Hz), 4.49 (m, 4H), 4.30 (dd, 1H, J = 8.8 and 18.4 Hz), 4.14 (m, 1H), 4.04 (d, 1H, J = 13.2 Hz), 3.94 (d, 1H, J = 13.2 Hz), 3.92 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.80 (t, 2H, J = 4.8 Hz), 3.35~3.75 (m, 38H), 2.90~3.10 (m, 4H), 2.92 (m, 1H), 2.40 (m, 4H), 2.01 (m, 1H), 1.38~1.65 (m, 6H), 1.15 (m, 1H), 0.94 (d, 3H, J = 6.8 Hz), 0.85 (m, 6H).

[0688]

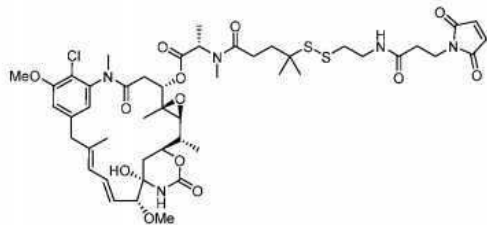
예 7: 6'-O-메틸-7'-C-((4-(3-(카복시)프로판카복사미도)부틸티오)메틸)- α -아마니틴(C7)의 테트라플루오로페닐 에스테르의 합성



(A-5) (5 mg, 5 μ mol) 및 DMF (1 mL)를 40 mL 바이알 안에 합하여 투명한 용액을 제공하였다. 비스(2,3,5,6-테트라플루오로페닐) 글루타레이트 (2 mg, 5 μ mol) 및 DIEA (4 μ L, 20 μ mol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 HPLC로 정제하여 6'-O-메틸-7'-C-((4-(3-(카복시)프로판카복사미도)부틸티오)메틸)- α -아마니틴(C-7)의 테트라플루오로페닐 에스테르를 제공하였다. MS ($m+1$) = 1313.3, HPLC 피크 RT = 0.996분, $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz) δ 10.78 (s, 1H), 8.85 (m, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.47 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 8.35 (bs, 1H), 8.15 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 8.01 (d, 1H, J = 9.6 Hz), 7.93 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.69 (bs, 1H), 7.63 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.36 (m, 1H), 6.92 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 5.27 (m, 1H), 5.14 (m, 1H), 4.75 (bs, 1H), 4.61 (dd, 1H, J = 5.2 and 9.6 Hz), 4.51 (m, 2H), 4.30 (dd, 1H, J = 8.4 and 18.0 Hz), 4.12 (m, 1H), 4.00 (d, 1H, J = 13.2 Hz), 3.95 (d, 1H, J = 13.2 Hz), 3.91 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.34~3.70 (m, 9H), 3.08 (m, 4H), 2.91 (m, 1H), 2.73 (t, 2H, J = 14.4 Hz), 1.98 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.92~2.04 (m, 1H), 1.40~1.60 (m, 6H), 1.16 (m, 1H), 0.94 (d, 3H, J = 6.8 Hz), 0.87 (m, 6H).

화학식 A, 화학식 B, 화학식 A-1, 화학식 A-2, 화학식 A-3, 화학식 B-1, 화학식 A-1a, 화학식 A-2a, 화학식 A-3a 또는 화학식 B-1a의 기타 화합물은 예 1 내지 7의 방법 및 적당한 출발 물질을 이용하여 제조할 수 있다.

예 8: 링커 페이로드 MPET.DM4의 제조:



분석 방법

달리 지시되지 않는 한, 다음의 HPLC 및 HPLC/MS 방법을 중간체의 제조 및 예에 사용하였다.

LC/MS 분석을 Agilent 1200sl/6140 시스템 상에서 수행하였다.

컬럼: Waters Acquity HSS T3 C18, 50x2.0, 1.8 μ m

이동상: A) H₂O + 0.05% TFA; B: 아세트니트릴 + 0.035% TFA

펌프 방법:

시간	A%	B%	유속(mL/분)
0	90	10	0.9
1.35	0	100	0.9
1.36	0	100	0.9
1.95	0	100	0.9
1.96	90	10	0.9
2.0	90	10	0.9

검출: 190 nm 내지 400 nm에서의 UV 다이오드 어레이

[0702] MS 스캔: 200 내지 1350 amu

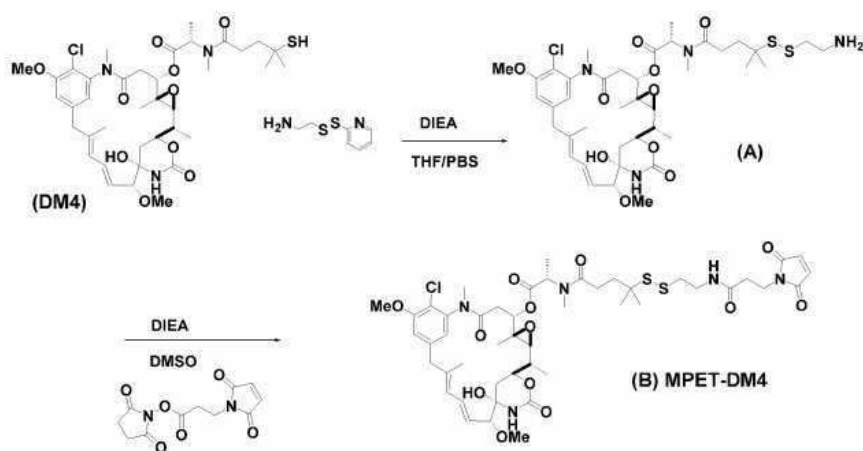
[0703] ELSD: 60℃

[0704] MS 파라미터:

극성	양성
건조 기체	12
분무기 압력	50
건조 기체 온도	350
모세관 전압	3000

[0705]

[0706] (14S, 16S, 32S, 33S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-86-클로로-14-하이드록시-85, 14-디메톡시-33, 2, 7, 10-테트라메틸-12, 6-디옥소-7-아자-1(6, 4)-옥사지나나-3(2, 3)-옥시라나-8(1, 3)-벤제나시클로테트라데카판-10, 12-디엔-4-일 N-(4-((2-(3-(2, 5-디옥소-2, 5-디하이드로-1H-피롤-1-일)프로판아미도)에틸)디설파닐)-4-메틸펜타노일)-N-메틸-L-알라니네이트



[0707]

[0708] 단계 1: (14S, 16S, 32S, 33S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-86-클로로-14-하이드록시-85, 14-디메톡시-33, 2, 7, 10-테트라메틸-12, 6-디옥소-7-아자-1(6, 4)-옥사지나나-3(2, 3)-옥시라나-8(1, 3)-벤제나시클로테트라데카판-10, 12-디엔-4-일 N-(4-((2-아미노에틸)디설파닐)-4-메틸펜타노일)-N-메틸-L-알라니네이트의 제조

[0709] PBS 완충액(10.5 mL) 및 무수 THF(21 mL)에 용해된 DM4(480 mg, 0.62 mmol)에 2-(피리딘-2-일디설파닐)에탄-1-아민(151 mg, 0.68 mmol) 및 DIEA(0.27 mL, 1.54 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하고, 진공에서 농축하였다. 수성 잔류물을 CH₃CN(1 mL) 및 H₂O(2 mL)로 희석하고, 0.05% TFA를 함유하는 10 내지 60% 아세토니트릴-H₂O로 용리시킨 역상 ISCO로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 동결 건조하여 원하는 생성물을 수득하였다(555 mg, 93 % 수율). ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) ppm 0.83 (s, 3 H) 1.21 (d, *J*=5.0 Hz, 3 H) 1.25 (s, 3 H) 1.28 (s, 3 H) 1.30 (d, *J*=5.0 Hz, 3 H) 1.45-1.55 (m, 3 H) 1.67 (s, 3 H) 1.84-1.88 (m, 1 H) 1.95 - 2.01 (m, 1 H) 2.14 (dd, *J*=5.0 and 15.0 Hz, 1 H) 2.37-2.43 (m, 1 H) 2.53-2.59 (m, 1 H) 2.64 (dd, *J*=10.0 and 15.0 Hz, 1 H) 2.82-2.89 (m, 5 H) 2.91 (d, *J*=10.0 Hz, 1 H) 3.16 (dd, *J*=5.0 and 10.0 Hz, 2 H) 3.20 (s, 3 H) 3.23 (d, *J*=10.0 Hz, 1 H) 3.35 (s, 3 H) 3.55 (d, *J*=5.0 Hz, 1 H) 3.58 (d, *J*=10.0 Hz, 1 H) 4.15-4.20 (m, 1 H) 4.64 (dd, *J*=5.0 and 10.0 Hz, 1 H) 5.43 (q, *J*=5.0 Hz, 2 H) 5.66 (dd, *J*=10.0 and 15.0 Hz, 1 H) 6.58 (dd, *J*=10.0 and 15.0 Hz, 1 H) 6.65 (d, *J*=10.0 Hz, 1 H) 6.66 (s, 1 H) 7.11 (bs, 1H) 7.28 (bs, 1H); MS *m/z* 855.3 (M+H), 머무름 시간 0.988분.

[0710] 단계 2: (14S, 16S, 32S, 33S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-86-클로로-14-하이드록시-85, 14-디메톡시-33, 2, 7, 10-테트라메틸-12, 6-디옥소-7-아자-1(6, 4)-옥사지나나-3(2, 3)-옥시라나-8(1, 3)-벤제나시클로테트라데카판-10, 12-디엔-4-일 N-(4-((2-(3-(2, 5-디옥소-2, 5-디하이드로-1H-피롤-1-일)프로판아미도)에틸)디설파닐)-4-메틸펜타노일)-N-메틸-L-알라니네이트의 제조.

[0711] 무수 DMSO(7 mL)에 용해된 (14S, 16S, 32S, 33S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-86-클로로-14-하이드록시-85, 14-디메톡시-

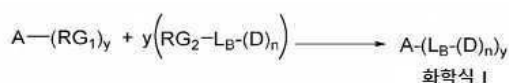
33,2,7,10-테트라메틸-12,6-디옥소-7-아자-1(6,4)-옥사지나나-3(2,3)-옥시라나-8(1,3)-벤제나시클로테트라테카 판-10,12-디엔-4-일 N-(4-((2-아미노에틸)디설파닐)-4-메틸펜타노일)-N-메틸-L-알라니네이트(555 mg, 0.57 mmol)에 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)프로파노에이트(171 mg, 0.63 mmol) 및 DIEA(249 mL, 1.43 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하고, TFA를 이용하여 중화하였다. 혼합물을 얼음 욕조로 0℃까지 냉각시키고, CH₃CN(2 mL) 및 H₂O(7 mL)를 첨가한 다음, 0.05% TFA를 함유하는 10 내지 70% 아세토니트릴-H₂O로 용리시킨, 역상 ISCO로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 동결 건조하여 원하는 생성물을 수득하였다(430 mg, 66 % 수율.). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.81 (s, 3 H) 1.23 (s, 3 H) 1.24 (s, 3 H) 1.25 (s, 1 H) 1.28 (d, J=5.0 Hz, 3 H) 1.31 (d, J=5.0 Hz, 3 H) 1.43-1.49 (m, 1 H) 1.61 (d, J=15.0 Hz, 1 H) 1.64 (s, 3 H) 1.81-1.87 (m, 1 H) 1.94 - 2.01 (m, 1 H) 2.19 (dd, J=5.0 and 15.0 Hz, 1 H) 2.30-2.36 (m, 1 H) 2.54 (t, J=5.0 Hz, 2 H) 2.61 (dd, J=10.0 and 15.0 Hz, 1 H) 2.70 (t, J=5.0 Hz, 2 H) 2.88 (s, 3 H) 3.00 (d, J=10.0 Hz, 1 H) 3.13 (d, J=10.0 Hz, 1 H) 3.21 (s, 3 H) 3.55 (s, 3 H) 3.45 (q, J=5.0 Hz, 2 H) 3.49 (d, J=5.0 Hz, 1 H) 3.62 (d, J=10.0 Hz, 1 H) 3.83 (t, J=5.0 Hz, 1 H) 3.98 (s, 3 H) 4.32 (m, 1 H) 4.80 (dd, J=5.0 and 10.0 Hz, 1 H) 5.28 (d, J=5.0 Hz, 1 H) 5.66 (dd, J=10.0 and 15.0 Hz, 1 H) 6.22 (bs, 1 H) 6.42 (dd, J=10.0 and 15.0 Hz, 1 H) 6.50 (s, 1 H) 6.63 (s, 1 H) 6.66 (d, J=10.0 Hz, 1 H) 6.70 (s, 2H) 6.83(s, 1H); MS m/z 988.3 (M+H-H₂O), 머무름 시간 1.145분.

[0712] 3. 접합 및 ADC의 제조

[0713] 화학식 I의 항체 접합체의 제조 방법

[0714] 화학식 I의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 1로 나타내었다:

[0715] 반응식 1

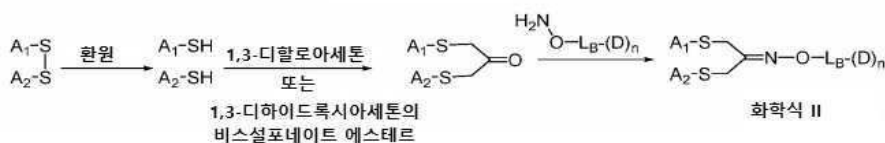


[0716]

[0717] (반응식에서, RG₁은 링커-약물 모이어티에 부착된 적합한 반응성 기 RG₂와 반응하여, 항체 단편 A를 1개 이상의 링커-약물 모이어티에 공유적으로 연결하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. RG₁ 및 RG₂ 기들의 이러한 반응의 비제한적인 예는 티올(RG₁)과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드(RG₂) 또는 케톤(RG₁)과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민(RG₂)이다).

[0718] 화학식 II의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 2로 나타내었다:

[0719] 반응식 2

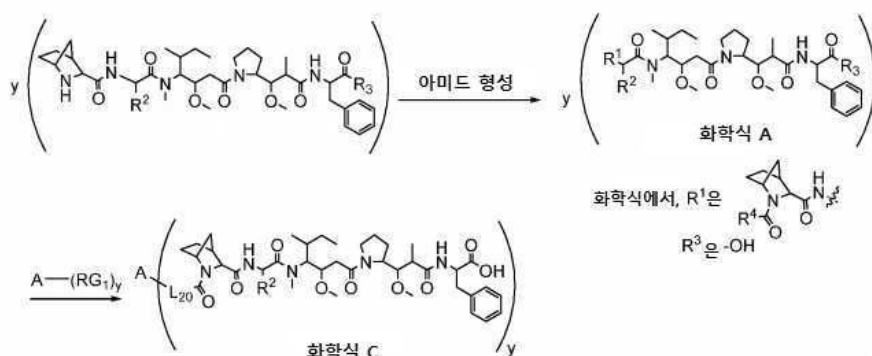


[0720]

[0721] (반응식에서, A₁, A₂, L_B, D 및 n은 본 설명에 정의된 바와 같고, 1,3-디할로아세톤은 1,3-디클로로아세톤, 1,3-디브로모아세톤, 및 1,3-디요오도아세톤으로부터 선택되고, 환원 단계는 디티오프레이트(DTT) 및 트리스(2-카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드(TCEP-HCl)로부터 선택된 환원제를 이용하여 달성된다).

[0722] 화학식 C의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 3으로 나타내었다:

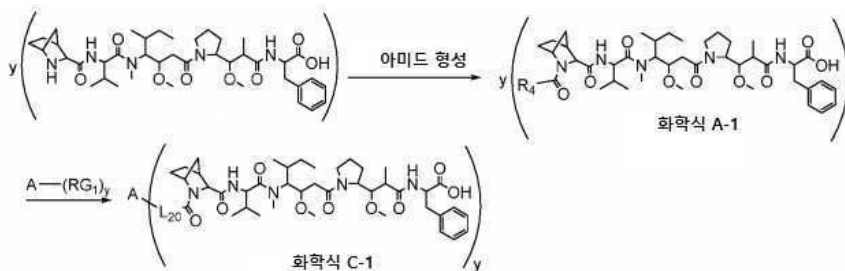
반응식 3



(반응식에서, L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고; R^4 는 $-L_1R^{14}$, $-L_2R^{24}$ 또는 $-L_2R^{34}$ 이고, RG_1 은 화학식 A의 화합물의 적합한 R^{14} , R^{24} 또는 R^{34} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, R^2 , L_1 , L_2 , R^{14} , R^{24} , R^{34} 및 R^{40} 은 본 설명에 정의된 바와 같다).

화학식 C-1의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 4로 나타내었다:

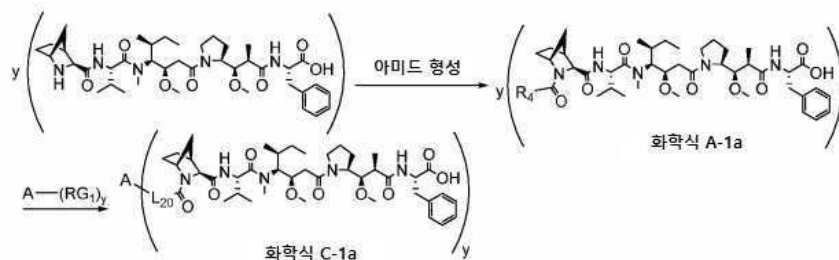
반응식 4



(반응식에서, L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고; R^4 는 $-L_1R^{14}$, $-L_2R^{24}$ 또는 $-L_2R^{34}$ 이고, RG_1 은 화학식 A의 화합물의 적합한 R^{14} , R^{24} 또는 R^{34} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, L_1 , L_2 , R^{14} , R^{24} , R^{34} 및 R^{40} 은 본 설명에 정의된 바와 같다).

화학식 C-1a의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 5로 나타내었다:

반응식 5

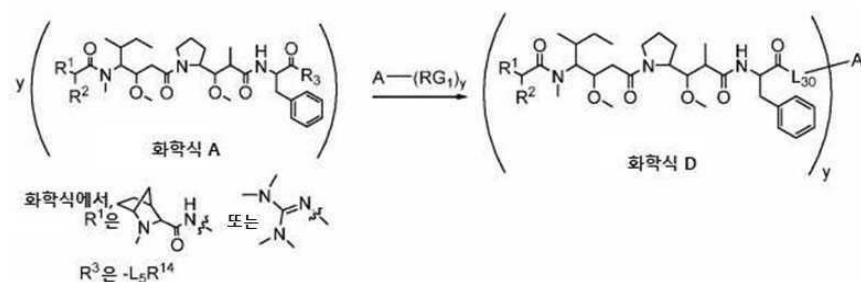


(반응식에서, L_{20} 은 $-L_1R^{40}$ 이고; R^4 는 $-L_1R^{14}$, $-L_2R^{24}$ 또는 $-L_2R^{34}$ 이고, RG_1 은 화학식 A-1a의 화합물의 적합한 R^{14} , R^{24} 또는 R^{34} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을

제공하는 하이드록실아민. A, L₁, L₂, R¹⁴, R²⁴, R³⁴ 및 R⁴⁰은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0734] 화학식 D의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 6로 나타내었다:

[0735] 반응식 6

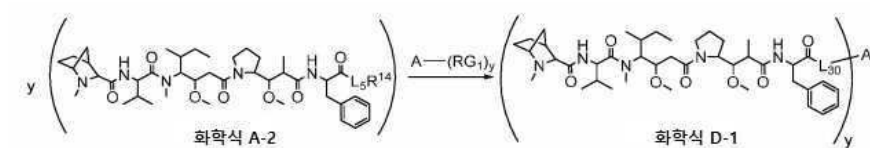


[0736]

[0737] (반응식에서, L₃₀은 -L₅R⁴⁰이고; R³은 -L₅R¹⁴이고, RG₁은 화학식 A의 화합물의 적합한 R¹⁴ 기와 반응하여 상응하는 R⁴⁰ 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, R², L₅, R¹⁴ 및 R⁴⁰은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0738] 화학식 D-1의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 7로 나타내었다:

[0739] 반응식 7

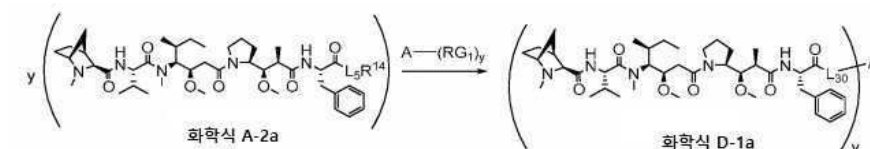


[0740]

[0741] (반응식에서, L₃₀은 -L₅R⁴⁰이고, RG₁은 화학식 A-2의 화합물의 적합한 R¹⁴ 기와 반응하여 상응하는 R⁴⁰ 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, L₅, R¹⁴ 및 R⁴⁰은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0742] 화학식 D-1a의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 8로 나타내었다:

[0743] 반응식 8

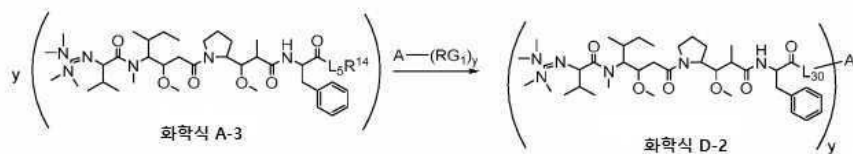


[0744]

[0745] (반응식에서, L₃₀은 -L₅R⁴⁰이고, RG₁은 화학식 A-2의 화합물의 적합한 R¹⁴ 기와 반응하여 상응하는 R⁴⁰ 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, L₅, R¹⁴ 및 R⁴⁰은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0746] 화학식 D-2의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 9로 나타내었다:

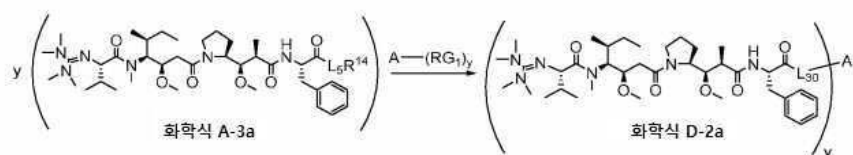
[0747] 반응식 9



[0749] (반응식에서, L_{30} 은 $-L_5R^{40}$ 이고, RG_1 은 화학식 A-3의 화합물의 적합한 R^{14} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, L_5 , R^{14} 및 R^{40} 은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0750] 화학식 D-2a의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 10로 나타내었다:

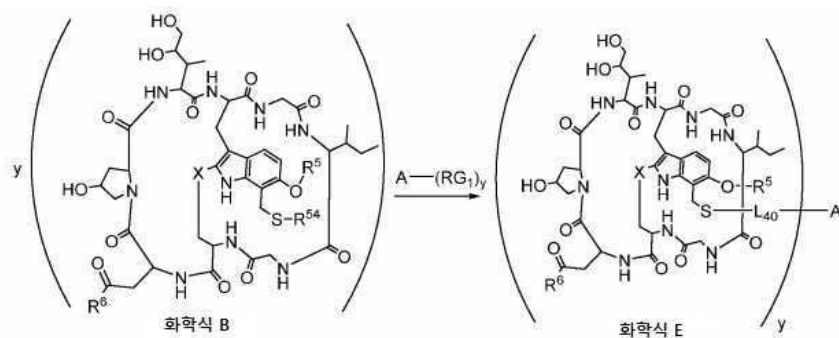
[0751] 반응식 10



[0753] (반응식에서, L_{30} 은 $-L_5R^{40}$ 이고, RG_1 은 화학식 A-3a의 화합물의 적합한 R^{14} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, L_5 , R^{14} 및 R^{40} 은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0754] 화학식 E의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 11로 나타내었다:

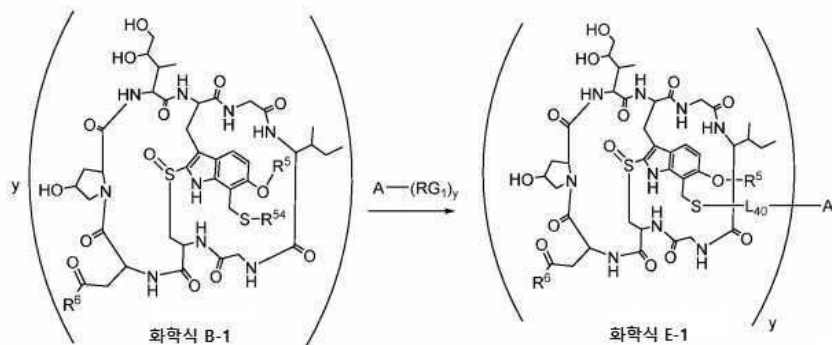
[0755] 반응식 11



[0757] (반응식에서, L_{40} 은 $-L_6R^{40}$ 이고; R^{54} 는 $-L_6R^{14}$, $-L_7R^{24}$ 또는 $-L_7R^{34}$ 이고, RG_1 은 화학식 B의 화합물의 적합한 R^{14} , R^{24} 또는 R^{34} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, X, R^5 , R^6 , L_6 , L_7 , R^{14} , R^{24} , R^{34} 및 R^{40} 은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0758] 화학식 E-1의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 12로 나타내었다:

[0759] 반응식 12

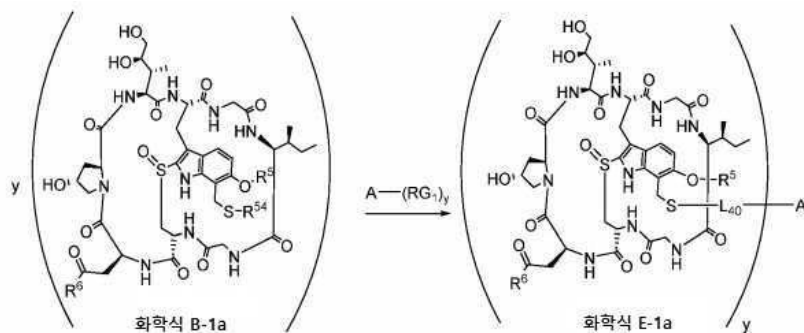


[0760]

[0761] (반응식에서, L_{40} 은 $-L_6R^{40}$ 이고; R^{54} 는 $-L_6R^{14}$, $-L_7R^{24}$ 또는 $-L_7R^{34}$ 이고, RG_1 은 화학식 B-1의 화합물의 적합한 R^{14} , R^{24} 또는 R^{34} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, y, R^5 , R^6 , L_6 , L_7 , R^{14} , R^{24} , R^{34} 및 R^{40} 은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0762] 화학식 E-1a의 접합체 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 13으로 나타내었다:

[0763] 반응식 13

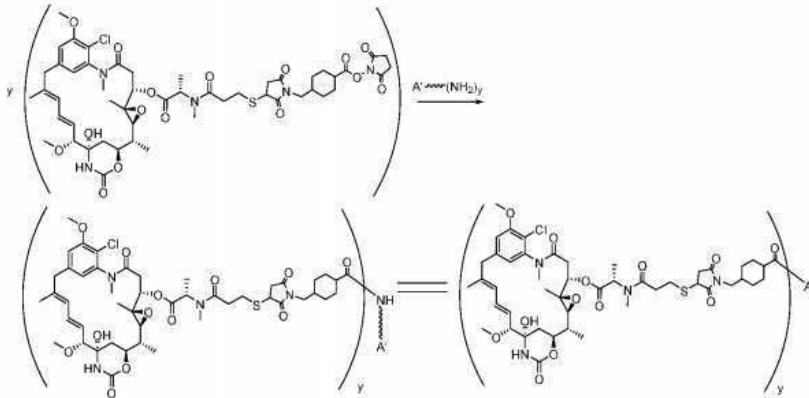


[0764]

[0765] (반응식에서, L_{40} 은 $-L_6R^{40}$ 이고; R^{54} 는 $-L_6R^{14}$, $-L_7R^{24}$ 또는 $-L_7R^{34}$ 이고, RG_1 은 화학식 B-1a의 화합물의 적합한 R^{14} , R^{24} 또는 R^{34} 기와 반응하여 상응하는 R^{40} 기를 형성하는 반응성 기이며, 오로지 예시로서, 티올 또는 아민 또는 케톤이 있다. 예로서, 티올과 반응하여 석신이미드 고리를 제공하는 말레이미드, 또는 케톤과 반응하여 옥심을 제공하는 하이드록실아민. A, y, R^5 , R^6 , L_6 , L_7 , R^{14} , R^{24} , R^{34} 및 R^{40} 은 본 설명에 정의된 바와 같다).

[0766] 메이탄시노이드 모이어터를 포함하는 접합체의 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 14로 나타내었다:

[0767] 반응식 14

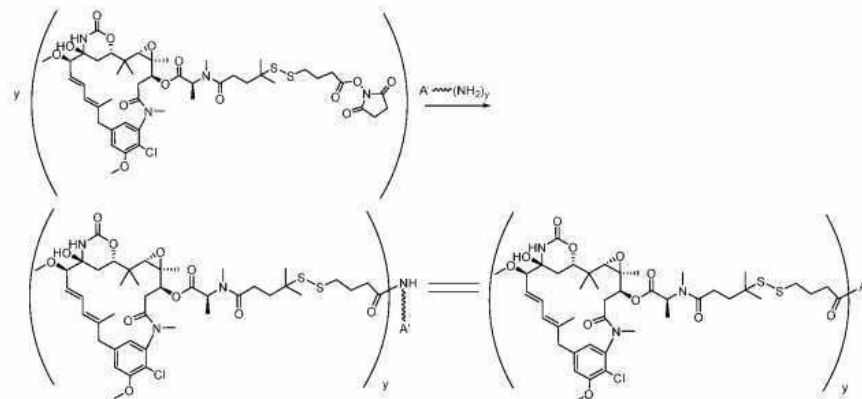


[0768]

[0769] (여기서 1개 이상의 링커-페이로드의 1개 이상의 NHS 에스테르는 A 상의 1개 이상의 유리 아민(즉, (A'-(NH₂)_y)과 반응하여 접합체를 형성한다. A는 본 설명에 정의된 바와 같고, A'은 유리 아민 모이어터를 포함하지 않는 A의 부분이다).

[0770] 메이탄시노이드 모이어터를 포함하는 접합체의 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 15로 나타내었다:

[0771] 반응식 15

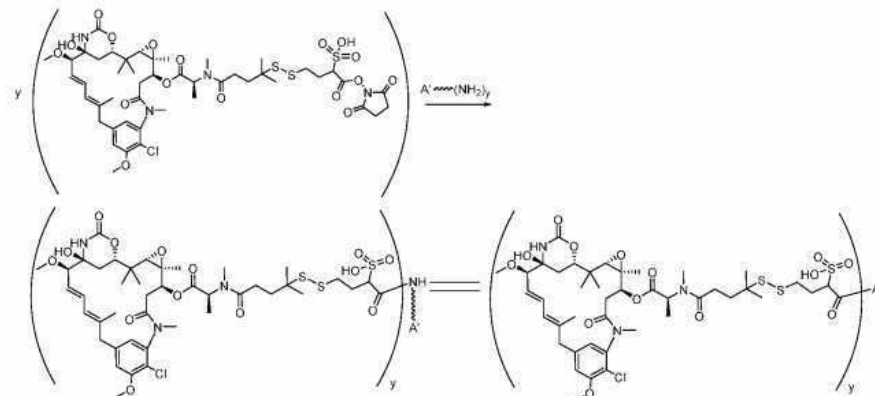


[0772]

[0773] (여기서 1개 이상의 링커-페이로드의 1개 이상의 NHS 에스테르는 A 상의 1개 이상의 유리 아민(즉, (A'-(NH₂)_y)과 반응하여 접합체를 형성한다. A는 본 설명에 정의된 바와 같고, A'은 유리 아민 모이어터를 포함하지 않는 A의 부분이다).

[0774] 메이탄시노이드 모이어터를 포함하는 접합체의 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 16으로 나타내었다:

[0775] 반응식 16

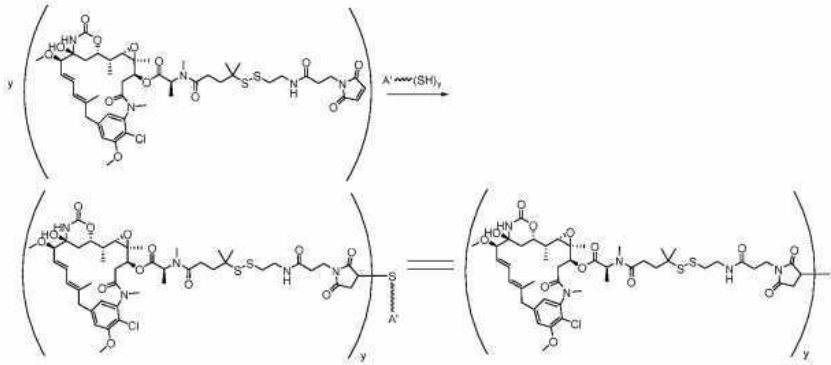


[0776]

[0777] (여기서 1개 이상의 링커-페이로드의 1개 이상의 NHS 에스테르는 A 상의 1개 이상의 유리 아민(즉, (A'-(NH₂)_y)과 반응하여 접합체를 형성한다. A는 본 설명에 정의된 바와 같고, A'은 유리 아민 모이어터를 포함하지 않는 A의 부분이다).

[0778] 메이탄시노이드 모이어터를 포함하는 접합체의 형성을 위한 일반적인 반응식을 아래 반응식 17로 나타내었다:

[0779] 반응식 17



[0780]

[0781] (여기서 1개 이상의 링커-페이로드의 1개 이상의 말레이미드는 A 상의 1개 이상의 유리 티올(즉, (A'-(SH)_y)과 반응하여 접합체를 형성한다. A는 본 설명에 정의된 바와 같고, A'은 유리 티올 모이어터를 포함하지 않는 A의 부분이다).

[0782] 4. 바람직한 항-cKIT ADC의 특성 분석 및 선택

[0783] **DAR의 결정 및 ADC의 응집**

[0784] cKIT ADC의 DAR 값을 액체 크로마토그래피-질량 분광분석법(LC-MS)로 평가하였다. 환원 및 (적당한 경우, 즉, Fc가 포함될 때) 탈글리코실화 샘플에 대해 LC-MS 데이터로부터 화합물 대 항체 비율을 외삽하였다. LC-MS는 접합체 샘플 내의 항체에 부착된 링커-페이로드(화합물)의 평균 분자수의 정량화를 가능하게 한다.

[0785] 본 발명의 항체 약물 접합체를 분석 방법을 이용하여 평가하였다. 이러한 분석 방법론 및 결과는 접합체가 유리한 특성, 예를 들어 접합체를 더 제조하기 쉽도록, 환자에 더 투여하기 쉽도록, 더 효과적이도록, 및/또는 잠재적으로 환자에 더 안전하도록 하는 특성을 나타낸다는 점을 증명할 수 있다. 한 예는 크기 배제 크로마토그래피(SEC)에 의한 분자 크기의 결정이며, 여기서 샘플 내의 원하는 항체 종의 양은 샘플 내에 존재하는 고분자량 오염물(예를 들어, 이량체, 다량체, 또는 응집된 항체) 또는 저분자량 오염물(예를 들어, 항체 단편, 분해 산물, 또는 개별 항체 쇄)의 양과 비교하여 결정된다. 일반적으로, 항체 샘플의 다른 특성, 예컨대 클리어런스율, 면역원성 및 독성(그러나 이에 한정되지 않음)에 대한, 예를 들어 응집체의 영향으로 인해 더 많은 양의 단량체, 및 더 적은 양의, 예를 들어 응집된 항체를 갖는 것이 바람직하다. 추가의 예는 소수성 상호 작용 크로마토그래피(HIC)에 의한 소수성의 결정이며, 여기서 샘플의 소수성은 알려져 있는 특성의 표준 항체 세트와 비교하여 평가된다. 일반적으로, 항체 샘플의 다른 특성, 예컨대 응집, 시간 경과에 따른 응집, 표면에 대한 부착, 간독성, 클리어런스율 및 약동학적 노출(그러나 이에 한정되지 않음)에 대한 소수성의 영향으로 인해 더 낮은 소수성을 갖는 것이 바람직하다. 문헌[Damle, N.K., Nat Biotechnol. 2008; 26(8):884-885; Singh, S.K., Pharm Res. 2015; 32(11):3541-71] 참조).

[0786] **항-cKIT ADC의 선택**

[0787] 본 설명에 기술된 방법에 사용하기에 적합한 항-cKIT ADC를 선택하기 위하여, 시험관 내 인간 조혈줄기세포 살상 분석을 이용하여 항-cKIT ADC의 유효성 및 효능을 스크리닝할 수 있다. 예를 들어, 실시예 5에 기술된 방법을 항-cKIT ADC를 스크리닝하는 데 사용할 수 있다. 적합한 항-cKIT ADC는 EC50을 기준으로 하여 선택할 수 있다. 예컨대, 500 µg/ml 미만의 EC50, 예컨대, 100 µg/ml 미만, 50 µg/ml 미만, 10 µg/ml 미만, 또는 5 µg/ml 미만의 EC50의 항-cKIT ADC.

[0788] 나아가, cKIT는 비만세포 상에서 발현되고, cKIT의 리간드인 줄기세포 인자(SCF)는 시험관 내 및 생체 내에서 랫트 복막 비만세포의 직접적인 탈과립을 유도한다고 보고된 바 있다(Taylor et al., Immunology. 1995 Nov;86(3):427-33). SCF는 또한, 생체 내에서 인간 비만세포 탈과립을 유도한다(Costa et al., J Exp Med.

1996; 183(6): 2681-6). 이식 수용자에서 비만세포 탈과립으로 인한 잠재적인 해로운 효과를 막기 위하여, 시험관 내에서 비만세포 탈과립을 유도하는 능력에 대해 선택된 cKIT ADC를 시험할 수 있다. 예를 들어, 실시예 6에 기술된 실험이 cKIT ADC를 스크리닝하는 데 사용될 수 있고, 적합한 항-cKIT ADC를 최소한의 비만세포 탈과립, 예컨대, 베타-헥소스아미니다아제 방출 분석에서 0.25 미만, 예컨대, 0.2 미만, 0.15 미만, 또는 0.1 미만의 기준선 보정된 O.D. 판독치를 기준으로 선택할 수 있다.

[0789] cKIT 항체 및 항체 단편

[0790] 본 개시는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편)을 제공한다. 본 개시의 항체 또는 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편)은 아래 기술된 인간 단클론 항체 또는 이의 단편을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0791] 일부 구현예에서, 본 개시의 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편)은 전장 항-cKIT 항체와 비교하여, 심지어 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도, 감소된 비만세포 탈과립 유발 능력을 갖는다. 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편)은 심지어 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도, 비만세포 탈과립을 유도하는 능력이 감소되도록 변형된다. 예를 들어, 본 설명에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편)은 심지어 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도, 전장 항-cKIT 항체, 또는 이의 $F(ab')_2$ 또는 $F(ab)_2$ 단편과 비교하여 약, 또는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 감소된, 비만세포 탈과립을 유도하는 능력이 감소되도록 변형된다. 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편)은 항-cKIT Fab 또는 Fab' 단편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편)은 심지어 가교되고/가교되거나 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도, 비만세포 탈과립을 유도하는 최소한의 능력, 예컨대, 베타-헥소스아미니다아제 방출 분석에서, 0.25 미만, 예컨대, 0.2 미만, 0.15 미만, 또는 0.1 미만의 기준선 보정된 O.D. 판독치를 나타낼 수 있다.

[0792] 본 설명에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 설명에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 인간 또는 인간화 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 설명에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 인간 또는 인간화 Fab'을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 설명에 제공된 항체 약물 접합체는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 인간 또는 인간화 Fab를 포함한다.

[0793] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기술된 임의의 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인을 포함한다(예컨대, 서열번호 10, 36, 54, 69, 95). 다른 적합한 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기술된 VH 도메인 중 임의의 VH 도메인에 대해 적어도 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99퍼센트 서열 동일성을 나타내는 VH 도메인을 포함할 수 있다.

[0794] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 열거된 VH CDR(또는 HCDR) 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR(또는 HCDR)을 포함한다. 특정 양태에서, 본 개시는 표 1에 열거된 VH CDR(또는 HCDR) 중 임의의 것의 아미노산 서열을 갖는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 이상의 VH CDR(또는 HCDR)을 포함하는(또는 대안적으로는 이로 구성된) 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 제공한다.

[0795] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기술된 임의의 VL 도메인의 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다(예컨대, 서열번호 23, 47, 82, 108). 다른 적합한 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기술된 VL 도메인 중 임의의 VL 도메인에 대해 적어도 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99퍼센트 서열 동일성을 나타내는 VL 도메인을 포함할 수 있다.

[0796] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 열거된 VL CDR(또는 LCDR) 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR(또는 LCDR)을 포함한다. 특정 양태에서, 본 개시는 표 1에 열거된 VL CDR(또는 LCDR) 중 임의의 것의 아미노산 서열을 갖는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 이상의 VL CDR(또는 LCDR)을 포함하는(또는 대안적으로는 이로 구성된) 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 제공한다.

[0797] 본 설명에 개시된 다른 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 돌연변이되었으나 표 1에 기술된 서열들에서 도식된 CDR 영역들과 CDR 영역들에서 적어도 60, 70, 80, 90 또는 95퍼센트 서열 동일성을 나타내는 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 이는 표 1에 기술된 서열들에서 도식된 CDR 영역들과 비교할 때,

CDR 영역들에 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산이 돌연변이된, 돌연변이체 아미노산 서열들을 포함한다.

[0798] 또한, 본 개시는 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 VH, VL, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 핵산 서열을 제공한다. 이러한 핵산 서열은 포유동물 세포에서의 발현을 위해 최적화될 수 있다.

표 1

예시적인 항-cKIT 항체 및 항체 단편의 서열

항-cKIT Ab1/Fab1/Fab'1		
서열번호 1	HCDR1(Kabat)	SYAIS
서열번호 2	HCDR2(Kabat)	VIFPAEGAPGYAQKFQG
서열번호 3	HCDR3(Kabat)	GGYISDFDV
서열번호 4	HCDR1(Chothia)	GGTFSSY
서열번호 5	HCDR2(Chothia)	FPAEGA
서열번호 3	HCDR3(Chothia)	GGYISDFDV
서열번호 6	HCDR1(조합)	GGTFSSY AIS
서열번호 2	HCDR2(조합)	VIFPAEGAPGYAQKFQG
서열번호 3	HCDR3(조합)	GGYISDFDV
서열번호 7	HCDR1(IMGT)	GGTFSSYA
서열번호 8	HCDR2(IMGT)	IFPAEGAP
서열번호 9	HCDR3(IMGT)	ARGGYISDFDV
서열번호 10	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSS
서열번호 11	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTG CAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGC GTTATCTTCCCG GCTGAAGGCGCTCCGGGTACGCCAGAAATT

[0799]

		TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCA
서열번호 12	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
서열번호 13	Ab HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAAGCGGTGCCGAAGT GAAAAACCGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGTTATCTTCCCG GCTGAAGGCGCTCCGGGTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTGGAA CTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAG CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAACT GCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCC CCAAGCCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGG

[0800]

		ACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGACG TGTCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGT GCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCA GCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAA GGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGC TTCTACCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACAAGA CCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAG CTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAA GTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTAGCT GCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCG CAAG
서열번호 14	Fab' HC(EU236)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFG RVTITADESTAYMELSSLRSEDAVYYCARGG YISDFVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVKPSCKDKHTCPPCPAPELL G
서열번호 15	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAACCGGGCAGCAGCGTAAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGTTATCTTCCCG GCTGAAGGCGCTCCGGGTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAA GCACCAGCACCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAAGTGTAGC TCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCC CCTGGCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTGCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTGGAA CTCTGGGGCTCTGACTTCGGCGTGACACCT TCCCCGCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCGTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAG CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT

[0801]

		GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGT GCTGGGA
서열번호 118	Cys Fab- HC(EU221)-HC- E152C(EU)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
서열번호 119	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
서열번호 120	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
서열번호 121	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGVIFPAEGAPGYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP PELL GP
서열번호 16	LCDR1(Kabat)	RASQISISNYLA
서열번호 17	LCDR2(Kabat)	DASSLQS
서열번호 18	LCDR3(Kabat)	QYYYYESIT
서열번호 19	LCDR1(Chothia)	SQISISNY
서열번호 20	LCDR2(Chothia)	DAS
서열번호 21	LCDR3(Chothia)	YYESI
서열번호 16	LCDR1(조합)	RASQISISNYLA
서열번호 17	LCDR2(조합)	DASSLQS
서열번호 18	LCDR3(조합)	QYYYYESIT
서열번호 22	LCDR1(IMGT)	QISISNY
서열번호 20	LCDR2(IMGT)	DAS
서열번호 18	LCDR3(IMGT)	QYYYYESIT
서열번호 23	VL(카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISISNYLA WYQQKPKGAPKLLIYDASSLQSGVPSRFRSGSGS

[0802]

		GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYYESITFGQGT KVEIK
서열번호 24	VL DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTA
서열번호 25	Ab/Fab' LC(카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
서열번호 26	Ab/Fab' LC DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAAACTATTAATCTACGACGCTTCTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAACGT ACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTTCATCTTCCC CCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTA CCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGG AGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
서열번호 122	Cys E165C(EU) Fab-LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

[0803]

서열번호 123	Cys Fab-LC-S114C(EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSISNYLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPCVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
항-cKIT Ab2/Fab2/Fab'2		
서열번호 27	HCDR1(Kabat)	SHALS
서열번호 28	HCDR2(Kabat)	GIIPSFGTADYAQKFQG
서열번호 29	HCDR3(Kabat)	GLYDFDY
서열번호 30	HCDR1(Chothia)	GGTFSSH
서열번호 31	HCDR2(Chothia)	IPSFGT
서열번호 29	HCDR3(Chothia)	GLYDFDY
서열번호 32	HCDR1(조합)	GGTFSSHALS
서열번호 28	HCDR2(조합)	GIIPSFGTADYAQKFQG
서열번호 29	HCDR3(조합)	GLYDFDY
서열번호 33	HCDR1(IGMT)	GGTFSSHA
서열번호 34	HCDR2(IGMT)	IIPSFGTA
서열번호 35	HCDR3(IGMT)	ARGLYDFDY
서열번호 36	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSFGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARGL YDFDYWGQGLTVTVSS
서열번호 37	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTTCTCAT GCTCTGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATCCCG TCTTCGGCACTGCGGACTACGCCAGAAATTT CAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAAG CACCAGCACCGCCTATATGGAAGTACGAGCC TGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGC GCGCGTGGTCTGTACGACTTCGACTACTGGGG CCAAGGCACCCTGGTACTGTTAGCTCA
서열번호 38	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSFGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDATVYYCARGL YDFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV

[0804]

		VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
서열번호 39	Ab HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGACAGCGGTGCCGAAGT GAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTTCTCAT GCTCTGTCTTGGGTGCCCGAGCCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGCGGTATCATCCCG TCTTTCGGCACTGCGGACTACGCCCAGAAATTT CAGGGCCGGGTGACCATACCGCCGATGAAAG CACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAGCAGCC TGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGC GCGCGTGGTCTGTACGACTTCGACTACTGGGG CCAAGGCACCTGGTGACTGTTAGCTCAGCTA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGC CCCCAGCAGCAAGTCTACTTCGGCGGAACTG CTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTC CCCCAGCCCCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGG GGCTCTGACTTCGGCGGTGCACACCTTCCCG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTG AGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCT GGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACAC CTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGG GAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCC CGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCC CACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAG ACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCAC CTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATACAAG TGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCC AATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCC AGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCTTGCC CCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA CCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCAC CCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTAGCTGCAG CGTGATGCACGAGGCCCTGACAACCACTACA CCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
서열번호 40	Fab' HC(EU236)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSFGTADYAQKFQG

[0805]

서열번호 40	Fab' HC(EU236)	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL G
서열번호 41	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTTCTCAT GCTCTGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTATCATCCCC TCTTCGGCACTGCGGACTACGCCCAGAAATTT CAGGGCCGGGTGACCATTACCGCCGATGAAAG CACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGAGCC TGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGATTATTGC GCGCGTGGTCTGTACGACTTCGACTACTGGGG CCAAGGCACCTGGTGAAGTGTAGCTCAGCTA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGC CCCCAGCAGCAAGTCTACTCCGGCGGAAGTGC CTGCCCTGGGTGCTGCTGGAAGGACTACTTC CCGAGCCCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGG GGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCCCG CCGTGCTGACAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTG AGCAGCGTGGTGAAGTGTCTGGAAGTCTGG GGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACC ACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACAC CTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGTGTGG GA
서열번호 124	Cys Fab- HC(EU221)-HC- E152C(EU)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCD
서열번호 125	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
서열번호 126	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSHA LSWVRQAPGQGLEWMGGIIPSGTADYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGL YFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV

[0806]

		HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
서열번호 127	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSHA LSWVRQAPGGGLEWMGGIIPSGTADYAKKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDAVYYCARGL YDFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDRVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELL GP
서열번호 42	LCDR1(Kabat)	RASQDISQDLA
서열번호 17	LCDR2(Kabat)	DASSLQS
서열번호 43	LCDR3(Kabat)	QYYYLPST
서열번호 44	LCDR1(Chothia)	SQDISQD
서열번호 20	LCDR2(Chothia)	DAS
서열번호 45	LCDR3(Chothia)	YYYLPS
서열번호 42	LCDR1(조합)	RASQDISQDLA
서열번호 17	LCDR2(조합)	DASSLQS
서열번호 43	LCDR3(조합)	QYYYLPST
서열번호 46	LCDR1(IMG)	QDISQD
서열번호 20	LCDR2(IMG)	DAS
서열번호 43	LCDR3(IMG)	QYYYLPST
서열번호 47	VL(카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQYYYLPSTFGQG TKVEIK
서열번호 48	VL DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATT CCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCTCAGGAC CTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGC GCCGAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCT GCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGC AGCGGATCCGGCACCGATTTACCGTGACCAT TAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGGTGT ATTATTGCCAGCAGTACTACTACCTGCCGTCTA CCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTTAA
서열번호 49	Ab/Fab' LC(카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQYYYLPSTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDS KSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
서열번호 50	Ab/Fab' LC DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATT

[0807]

		CCTGCAGAGCCAGCCAGGACATTTCTCAGGAC CTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGC GCCGAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCT GCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGC AGCGGATCCGGCACCAGATTTACCCCTGACCAT TAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGGTGT ATTATTGCCAGCAGTACTACTACCTGCCGTCTA CCTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAAAC GTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTC CCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCA CCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTC TACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGG TGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCA GGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGAC TCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCT GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTC CAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
서열 번호 128	Cys E165C(EU)	Fab-LC- DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQYYLPSFTGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
서열 번호 129	Cys S114C(EU)	Fab-LC- DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISQDLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQYYLPSFTGQG TKVEIKRTVAAPCVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
항-cKIT Ab3/Fab3/Fab'3		
서열 번호 1	HCDR1(Kabat)	SYAIS
서열 번호 51	HCDR2(Kabat)	TIGPFEGQPRYAQKFQG
서열 번호 3	HCDR3(Kabat)	GGYISDFDV
서열 번호 4	HCDR1(Chothia)	GGTFSSY
서열 번호 52	HCDR2(Chothia)	GPFEQG
서열 번호 3	HCDR3(Chothia)	GGYISDFDV
서열 번호 6	HCDR1(조합)	GGTFSSYAIS
서열 번호 51	HCDR2(조합)	TIGPFEGQPRYAQKFQG
서열 번호 3	HCDR3(조합)	GGYISDFDV
서열 번호 7	HCDR1(IMGT)	GGTFSSYA
서열 번호 53	HCDR2(IMGT)	IGPFEGQP
서열 번호 9	HCDR3(IMGT)	ARGGYISDFDV

[0808]

서열번호 54	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSS
서열번호 55	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCACTATCGGTCCG TTCGAAGGCCAGCCGCGTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCA
서열번호 56	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
서열번호 57	Ab HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCACTATCGGTCCG TTCGAAGGCCAGCCGCGTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGC TCAGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC

[0809]

		TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTGGAA CTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAG CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGT GCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCC CCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGG ACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGTCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGT GCTGCACGAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCA GCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAA GGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGC TTCTACCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGA CCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAG CTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAA GTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTAGCT GCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCG CAAG
서열번호 58	Fab' HC(EU236)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYCARGG YISDFDVWGGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL G
서열번호 59	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAAGT GAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCT GCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTAGCAGCTAT GCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCACTATCGGTCCG

[0810]

		TTCGAAGGCCAGCCGCTTACGCCAGAAATT TCAGGGCCGGGTGACCATTACGCCGATGAAA GCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTG CGCGCGTGGTGGTTACATCTCTGACTTCGATG TTTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTGACTGTTAGC TCAGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCC CCTGGCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCG GAACTGCTGCCCTGGGTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTGGAA CTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAG CTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGT GCTGGGA
서열번호 130	Cys HC(EU221)-HC- E152C(EU)	Fab QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
서열번호 131	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCP
서열번호 132	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAP
서열번호 133	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGTIGPFEGQPRYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGG YISDFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG

[0811]

		VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GP
서열번호 16	LCDR1(Kabat)	RASQSIISNYLA
서열번호 17	LCDR2(Kabat)	DASSLQS
서열번호 18	LCDR3(Kabat)	QYQYIESIT
서열번호 19	LCDR1(Chothia)	SQSIISNY
서열번호 20	LCDR2(Chothia)	DAS
서열번호 21	LCDR3(Chothia)	YQYIESI
서열번호 16	LCDR1(조합)	RASQSIISNYLA
서열번호 17	LCDR2(조합)	DASSLQS
서열번호 18	LCDR3(조합)	QYQYIESIT
서열번호 22	LCDR1(IGMT)	QSIISNY
서열번호 20	LCDR2(IGMT)	DAS
서열번호 18	LCDR3(IGMT)	QYQYIESIT
서열번호 23	VL(카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIISNYLA WYQKPKGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQYQYIESITFGQGT KVEIK
서열번호 24	VL DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTACCCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTTAA
서열번호 25	Ab/Fab' LC(카파)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIISNYLA WYQKPKGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQYQYIESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
서열번호 26	Ab/Fab' LC DNA	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTA CCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTAACTACC TGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGCG CCGAACTATTAATCTACGACGCTTCTTCTCTG CAAAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTAGCGGCA GCGGATCCGGCACCGATTTACCCCTGACCATT AGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTAT

[0812]

		TATTGCCAGCAGTACTACTACGAATCTATCACC TTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAAACGT ACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCC CCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGTGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTA CCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGG AGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCC ACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
서열 번호 134	Cys Fab-LC-E165C (EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSINLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
서열 번호 135	Cys Fab-LC-S114C (EU)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSINLA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQYYYESITFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
항-cKIT Ab4/Fab4/Fab'4		
서열 번호 60	HCDR1(Kabat)	TNSAAWN
서열 번호 61	HCDR2(Kabat)	RIYYRSQWLNDYAVSVKS
서열 번호 62	HCDR3(Kabat)	QLTYPTYVYHKALDV
서열 번호 63	HCDR1(Chothia)	GDSVSTNSA
서열 번호 64	HCDR2(Chothia)	YYRSQWL
서열 번호 62	HCDR3(Chothia)	QLTYPTYVYHKALDV
서열 번호 65	HCDR1(조합)	GDSVSTNSAAWN
서열 번호 61	HCDR2(조합)	RIYYRSQWLNDYAVSVKS
서열 번호 62	HCDR3(조합)	QLTYPTYVYHKALDV
서열 번호 66	HCDR1(IGMT)	GDSVSTNSAA
서열 번호 67	HCDR2(IGMT)	IYYRSQWLN
서열 번호 68	HCDR3(IGMT)	ARQLTYPTYVYHKALDV
서열 번호 69	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA AWNWRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLTVVSS
서열 번호 70	VH DNA	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCT GGTGAAACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGCACTAAC

[0813]

		TCTGCTGCTTGGAAGTGGATTCTGTCAGAGCCC GAGCCGTGGCCTCGAGTGGCTGGGCCGTATCT ACTACCGTAGCCAGTGGCTGAACGACTATGCC GTGAGCGTGAAAAGCCGATTACCATTAACCC GGATACTTCGAAAACCAAGTTAGCCTGCAACT GAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCCGTGT ATTATTGCGCGCGTCAGCTGACTTACCCGTACA CTGTTTACCATAAAGCTCTGGATGTTTGGGGTC AAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCG
서열번호 71	Ab HC	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA AWNWRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLTVVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCTPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
서열번호 72	Ab HC DNA	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCT GGTGAAACCGAGCCAGACCTGAGCCTGACCT GCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGCACTAAC TCTGCTGCTTGGAAGTGGATTCTGTCAGAGCCC GAGCCGTGGCCTCGAGTGGCTGGGCCGTATCT ACTACCGTAGCCAGTGGCTGAACGACTATGCC GTGAGCGTGAAAAGCCGATTACCATTAACCC GGATACTTCGAAAACCAAGTTAGCCTGCAACT GAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCCGTGT ATTATTGCGCGCGTCAGCTGACTTACCCGTACA CTGTTTACCATAAAGCTCTGGATGTTTGGGGTC AAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCGGCTAGC ACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCC CAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAAGTGTG CCCTGGGTTGCTGTGTAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGGGC TCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGC AGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGG AACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGG AGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGC CCCCCTGCCAGCTCCAGAAGTGTGGGAGG GCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCA AGGACACCCGTGATGATCAGCAGGACCCCGAG GTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGA

[0814]

		GGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACA GGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAG GACTGGCTGAACGGCAAGAATACAAGTGCAA AGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCG AAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCA CGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCA GCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTC CCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCA GCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGG CCAGCCCAGAACAACTACAAGACCACCCCC CAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTG TACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTG GCAGCAGGGCAACGTGTTCACTGCAGCGTGA TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAG AAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGCAAG
서열번호 73	Fab' HC(EU236)	QVQLQQSGPLVKPSQTLTLCAISGDSVSTNSA AWNWRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPP CPAPELLG
서열번호 74	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCT GGTGAAACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCGCGATTTCCGGAGATAGCGTGAGCACTAAC TCTGCTGCTTGGAAGTGGATTCTGTCAGAGCCC GAGCCGTGGCCTCGAGTGGCTGGGCCGTATCT ACTACCGTAGCCAGTGGCTGAACGACTATGCC GTGAGCGTGAAAAGCCGCATTACCATTAACCC GGATACTTCGAAAACCAAGTTTAGCCTGCAACT GAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCCGTGT ATTATTGCGCGCGTCAGCTGACTTACCCGTACA CTGTTTACCATAAAGCTCTGGATGTTTGGGGTC AAGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCGGCTAGC ACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCC CAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAAGTCTG CCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGGGC TCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGAGC AGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGG AACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGG AGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGC CCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA

[0815]

서열번호 136	Cys Fab HC(EU221)-HC- E152C(EU)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA AWNWRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCD
서열번호 137	Fab' HC(EU230)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA AWNWRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPP CP
서열번호 138	Fab' HC(EU232)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA AWNWRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPP CPAP
서열번호 139	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSTNSA AWNWRQSPSRGLEWLGRIYYRSQWLNDYAVSV KSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARQ LTYPYTVYHKALDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPP CPAPELLGP
서열번호 75	LCDR1(Kabat)	SGDNLGDQYVS
서열번호 76	LCDR2(Kabat)	DDTDRPS
서열번호 77	LCDR3(Kabat)	QSTD SKSVV
서열번호 78	LCDR1(Chothia)	DNLGDQY
서열번호 79	LCDR2(Chothia)	DDT
서열번호 80	LCDR3(Chothia)	TDSKSV
서열번호 75	LCDR1(조합)	SGDNLGDQYVS
서열번호 76	LCDR2(조합)	DDTDRPS
서열번호 77	LCDR3(조합)	QSTD SKSVV
서열번호 81	LCDR1(IMG)	NLGDQY
서열번호 79	LCDR2(IMG)	DDT
서열번호 77	LCDR3(IMG)	QSTD SKSVV
서열번호 82	VL(람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNLGDQYVSW YQKPGQAPVLVIYDDTDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCQSTD SKSVVFGGGTK LTVL

[0816]

서열번호 83	VL DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACCTGGGTGACCAATACGTT TCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACGACGACACTGACCGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTAGCGGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCGTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCCAGTCTACTGACTCTAAATCTGTTGTGT TTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTA
서열번호 84	Ab/Fab' LC(람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNLDQYVSW YQQKPGQAPVLVIYDDTDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCQSTD SKSVVFGGGTK LTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
서열번호 85	Ab/Fab' LC DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACCTGGGTGACCAATACGTT TCTTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACGACGACACTGACCGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTAGCGGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCGTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCCAGTCTACTGACTCTAAATCTGTTGTGT TTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAGGC CAGCCTAAGGCCGCTCCCTCCGTGACCGTGTT CCCCCCCAGCTCCGAGGAACTGCAGGCCAACA AGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTC TACCCTGGCGCCGTGACCGTGGCTGGAAGG CCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGA GACAACCACCCAGCAAGCAGAGCAACAACA AGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACC CCCGAGCAGTGGAAGGCCACAGAAGCTACAG CTGCCAGGTCACCCACGAGGGCAGCACCGTG GAGAAAACCGTGGCCCCCACCAGTGCAGC
서열번호 140	Cys Fab-LC(람다)- A143C(EU)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNLDQYVSW YQQKPGQAPVLVIYDDTDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCQSTD SKSVVFGGGTK LTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGCVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
항-cKIT Ab5/Fab5/Fab'5		
서열번호 86	HCDR1(Kabat)	NYWIA
서열번호 87	HCDR2(Kabat)	IIYPSNSYTLSPSFQG
서열번호 88	HCDR3(Kabat)	VPPGGSISYPAFDH

[0817]

서열번호 89	HCDR1(Chothia)	GYSFTNY
서열번호 90	HCDR2(Chothia)	YPSNSY
서열번호 88	HCDR3(Chothia)	VPPGGSISYPAFDH
서열번호 91	HCDR1(조합)	GYSFTNYWIA
서열번호 87	HCDR2(조합)	IYPSNSYTLYSPSFQG
서열번호 88	HCDR3(조합)	VPPGGSISYPAFDH
서열번호 92	HCDR1(IGMT)	GYSFTNYW
서열번호 93	HCDR2(IGMT)	IYPSNSYT
서열번호 94	HCDR3(IGMT)	ARVPPGGSISYPAFDH
서열번호 95	VH	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGSISYPAFDHWGQGLTVTVSS
서열번호 96	VH DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGT GAAAAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCT GCAAAGGCTCCGGATATAGCTTCACTAACTACT GGATCGCTTGGGTGCGCCAGATGCCGGGCAA AGGTCTCGAGTGGATGGGCATCATCTACCCGT CTAACAGCTACACCCTGTATAGCCCGAGCTTTC AGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAAAAGC ATCAGCACCGCGTATCTGCAATGGAGCAGCCT GAAAGCGAGCGATACCGCGATGATTATTGCG CGCGTGTTCGCGCGGGTGGTTCTATCTCTTAC CCGGCTTTCGATCATTGGGGCCAAGGCACCCT GGTGACTGTTAGCTCA
서열번호 97	Ab HC	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIYPSNSYTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGSISYPAFDHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
서열번호 98	Ab HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGT GAAAAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCT GCAAAGGCTCCGGATATAGCTTCACTAACTACT GGATCGCTTGGGTGCGCCAGATGCCGGGCAA AGGTCTCGAGTGGATGGGCATCATCTACCCGT CTAACAGCTACACCCTGTATAGCCCGAGCTTTC AGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAAAAGC ATCAGCACCGCGTATCTGCAATGGAGCAGCCT GAAAGCGAGCGATACCGCGATGATTATTGCG

[0818]

		CGCGTGTTCCGCCGGGTGGTTCTATCTTTAC CCGGCTTTTCGATCATTGGGGCCAAGGCACCCT GGTGACTGTTAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAG TCTACTTCGGGCGGAAGTGTGCCCTGGGTTG CCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA CAGTGTCTGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCC GGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAG CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGA CAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC TATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAG CTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAAGTGTGGGAGGGCCTTCCGTG TTCCTGTTCCCCCAAGCCAAGGACACCCT GATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCG TGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCAGA GGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAG GAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTG CGTGCTGACCGTGTGTCACCAAGGACTGGTGA ACGGCAAAGAATAACAAGTGCAAAGTCTCCAACA AGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATC AGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCC AGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGA GATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC TGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGATATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA ACAACTACAAGACCACCCCCCAGTGTGGAC AGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCT GACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGC AACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
서열번호 99	Fab' HC(EU236)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIYPSNSYTLSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCARVPP GGSISYPAFDHWGGTLTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLG
서열번호 100	Fab' HC DNA	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCGGAAGT GAAAAAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCT GCAAAGGCTCCGGATATAGCTTCACTAACTACT GGATCGCTTGGGTGCGCCAGATGCCGGGCAA AGGTCTCGAGTGGATGGGCATCATCTACCCGT CTAACAGCTACACCCTGTATAGCCCGAGCTTTC AGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAAAAGC

[0819]

		ATCAGCACCGCGTATCTGCAATGGAGCAGCCT GAAAGCGAGCGATACCGCGATGTATTATTGCG CGCGTGTTCGCGCGGGTGGTTCTATCTTTAC CCGGCTTTTCGATCATTGGGGCCAAGGCACCCCT GGTGAAGTGTAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCAGCAGCAAG TCTACTTCCGGCGGAAGTCTGCCCCGGGTTG CCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA CAGTGTCTGGAAGTCTGGGGCTCTGACTTCC GGCGTGCACACCTTCCCCGCGCTGCTGCAGAG CAGCGGCCTGTACAGCTGAGCAGCGTGGTGA CAGTGCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACC TATATCTGCAACGTGAACCAAGCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAG CTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGA
서열번호 141	Cys HC(EU221)-HC- E152C(EU)	Fab QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIPSNSTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
서열번호 142	Fab' HC(EU230)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIPSNSTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
서열번호 143	Fab' HC(EU232)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIPSNSTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP AP
서열번호 144	Fab' HC(EU236)-Pro	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWI AWVRQMPGKGLEWMGIIPSNSTLYSPSFQGG VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVPP GGISYPAFDHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGP
서열번호 101	LCDR1(Kabat)	SGDNIGSIYAS
서열번호 102	LCDR2(Kabat)	RDNKRPS
서열번호 103	LCDR3(Kabat)	SVTDMEQHSV

[0820]

서열번호 104	LCDR1(Chothia)	DNIGSIY
서열번호 105	LCDR2(Chothia)	RDN
서열번호 106	LCDR3(Chothia)	TDMEQHS
서열번호 101	LCDR1(조합)	SGDNIGSIYAS
서열번호 102	LCDR2(조합)	RDNKRPS
서열번호 103	LCDR3(조합)	SVTDMEQHSV
서열번호 107	LCDR1(IMGT)	NIGSIY
서열번호 105	LCDR2(IMGT)	RDN
서열번호 103	LCDR3(IMGT)	SVTDMEQHSV
서열번호 108	VL(람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGSIYASWY QQKPGQAPVLVIYRDNKRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISGTQAEDEADYYCSVTDMQHSVFGGGT KLTVL
서열번호 109	VL DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACATCGTTCTATCTACGCTT CTTGGTACCAGCAGAAACCGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACCGTGACAACAAACGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTCAGCGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCCCTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCTCCGTTACTGACATGGAACAGCATTCTG TGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTA
서열번호 110	Ab/Fab' LC(람다)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGSIYASWY QQKPGQAPVLVIYRDNKRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISGTQAEDEADYYCSVTDMQHSVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQCQVTHEGSTV EKTVAPECS
서열번호 111	Ab/Fab' LC DNA	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAG CGTGAGCCCGGCCAGACCGCGAGCATTACCT GTAGCGGCGATAACATCGTTCTATCTACGCTT CTTGGTACCAGCAGAAACCGGCCAGGCGCC GGTGCTGGTGATCTACCGTGACAACAAACGTC CGAGCGGCATCCCGGAACGTTTTCAGCGATCC AACAGCGGCAACACCGCGACCCCTGACCATTAG CGGCACCCAGGCGGAAGACGAAGCGGATTATT ACTGCTCCGTTACTGACATGGAACAGCATTCTG TGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTA GGCCAGCCTAAGGCCGCTCCCTCCGTGACCCCT GTTCCCCCAGCTCCGAGGAAGTGCAGGCCA ACAAGGCCACCCTGGTGTCCTGATCAGCGAC TTCTACCTGGCGCCGTCGACCGTGGCCTGGAA GGCCGACAGCAGCCCGTGAAGGCCGCGCTG GAGACAACCACCCAGCAAGCAGAGCAACAA CAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGA CCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAGCTAC

[0821]

		AGCTGCCAGGTCACCCACGAGGGCAGCACCG TGGAGAAAACCGTGGCCCCACCGAGTGCAGC
서열번호 145	Cys Fab-LC(람다)- A144C(EU)	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGSIYASWY QQKPGQAPVLVIYRDNKRPSGIPERFSGSNSGNT ATLTISGTQAEDEADYYCSVTDMQHSVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGCVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQCQVTHEGSTV EKTVAPECS

[0822]

[0823]

본 설명에 개시된 다른 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 아미노산 또는 아미노산을 암호화하는 핵산이 돌연변이되었으나 표 1에 기술된 서열들에 대해 적어도 60, 70, 80, 90 또는 95퍼센트 동일성을 나타내는 것들을 포함한다. 일부 양태에서, 이는 표 1에 기술된 서열들에서 도식된 가변 영역들과 비교할 때, 가변 영역들에서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 아미노산이 돌연변이되었으나 실질적으로 동일한 치료 활성을 보유하는 돌연변이체 아미노산 서열들을 포함한다.

[0824]

이러한 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 각각은 cKIT에 결합할 수 있으므로, VH, VL, 중쇄, 및 경쇄 서열(아미노산 서열 및 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열)을 "혼합 및 매치"하여 cKIT에 결합하는 다른 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 생성할 수 있다. 이러한 "혼합 및 매치된" cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 당해 분야에 공지된 결합 분석법(예컨대, ELISA, 및 실시예 섹션에 기술된 기타 분석법)을 이용하여 시험할 수 있다. 이들쇄가 혼합 및 매치될 때, 특정 VH/VL 쌍으로부터의 VH 서열은 구조적으로 유사한 VH 서열로 교체되어야 한다. 마찬가지로 특정 중쇄/경쇄 쌍으로부터의 중쇄 서열은 구조적으로 유사한 중쇄 서열로 교체되어야 한다. 마찬가지로, 특정 VH/VL 쌍으로부터의 VL 서열은 구조적으로 유사한 VL 서열로 교체되어야 한다. 마찬가지로 특정 중쇄/경쇄 쌍으로부터 경쇄 서열은 구조적으로 유사한 경쇄 서열로 교체되어야 한다.

[0825]

따라서, 일 양태에서, 본 개시는 서열번호 10, 36, 54, 69, 및 95(표 1)로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산

서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및 서열번호 23, 47, 82, 및 108(표 1)로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 갖는 단리된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 제공하며; 이때, 이 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT에 특이적으로 결합한다.

[0826] 또 다른 양태에서, 본 개시는 서열번호 12, 38, 56, 71, 및 97로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 25, 49, 84, 및 110으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단리된 항체를 제공한다.

[0827] 또 다른 양태에서, 본 개시는 서열번호 14, 40, 58, 73, 및 99로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 25, 49, 84, 및 110으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 갖는 단리된 항체 단편(예컨대, Fab')을 제공한다.

[0828] 또 다른 양태에서, 본 개시는 표 1에 기술된 바와 같은 중쇄 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 또는 이의 조합을 포함하는 cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 VH CDR1(또는 HCDR1)의 아미노산 서열은 서열번호 1, 4, 6, 7, 27, 30, 32, 33, 60, 63, 65, 66, 86, 89, 91, 및 92에 나타내었다. 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 VH CDR2(또는 HCDR2)의 아미노산 서열은 서열번호 2, 5, 8, 28, 31, 34, 51, 52, 53, 61, 64, 67, 87, 90, 및 93에 나타내었다. 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 VH CDR3(또는 HCDR3)의 아미노산 서열은 서열번호 3, 9, 29, 35, 62, 68, 88, 및 94에 나타내었다. 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 VL CDR1(또는 LCDR1)의 아미노산 서열은 서열번호 16, 19, 22, 42, 44, 46, 75, 78, 81, 101, 104, 및 107에 나타내었다. 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 VL CDR2(또는 LCDR2)의 아미노산 서열은 서열번호 17, 20, 76, 79, 102, 및 105에 나타내었다. 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 VL CDR3(또는 LCDR3)의 아미노산 서열은 서열번호 18, 21, 43, 45, 77, 80, 103, 및 106에 나타내었다.

[0829] 이들 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이 인간 cKIT에 결합할 수 있다는 점 및 항원 결합 특이성은 주로 CDR1, 2 및 3 영역에 의해 제공된다는 점을 고려하면, VH CDR1, 2 및 3 서열들(또는 HCDR1, 2, 3) 및 VL CDR1, 2 및 3 영역들(또는 LCDR1, 2, 3)은 "혼합 및 매치"될 수 있다(즉, 상이한 항체들로부터의 CDR들이 혼합 및 매치될 수 있지만, cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 생성하기 위하여 각 항체는 VH CDR1, 2 및 3, 그리고 VL CDR1, 2 및 3을 함유하여야 한다). 이러한 "혼합 및 매치된" cKIT에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 당해 분야에 공지된 결합 분석법을 이용하여 시험할 수 있다. VH CDR 서열들이 혼합 및 매치될 때, 특정 VH 서열로부터의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 교체되어야 한다. 마찬가지로, VL CDR 서열들이 혼합 및 매치될 때, 특정 VL 서열로부터의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 서열은 구조적으로 유사한 CDR 서열(들)로 교체되어야 한다. 1개 이상의 VH 및/또는 VL CDR 영역 서열들을 본 설명에 제시된 CDR 서열들로부터의 구조적으로 유사한 서열들로 치환하여 신규한 VH 및 VL 서열들을 생성할 수 있다는 점을 당업자는 쉽게 알 수 있을 것이다.

[0830] 따라서, 본 개시는 서열번호 1, 4, 6, 7, 27, 30, 32, 33, 60, 63, 65, 66, 86, 89, 91, 및 92로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1); 서열번호 2, 5, 8, 28, 31, 34, 51, 52, 53, 61, 64, 67, 87, 90, 및 93으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2); 서열번호 3, 9, 29, 35, 62, 68, 88, 및 94로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3); 서열번호 16, 19, 22, 42, 44, 46, 75, 78, 81, 101, 104, 및 107로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1); 서열번호 17, 20, 76, 79, 102, 및 105로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2); 및 서열번호 18, 21, 43, 45, 77, 80, 103, 및 106으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 단리된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab or Fab')을 제공하며; 이때, 항체는 cKIT와 특이적으로 결합한다.

[0831] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 1의 HCDR1, 서열번호 2의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LCDR3을 포함한다.

[0832] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 4의 HCDR1, 서열번호 5의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 19의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 21의 LCDR3을 포함한다.

[0833] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 6

의 HCDR1, 서열번호 2의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LDCR3을 포함한다.

[0834] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 7의 HCDR1, 서열번호 8의 HCDR2; 서열번호 9의 HCDR3; 서열번호 22의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LDCR3을 포함한다.

[0835] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 27의 HCDR1, 서열번호 28의 HCDR2; 서열번호 29의 HCDR3; 서열번호 42의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 43의 LDCR3을 포함한다.

[0836] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 30의 HCDR1, 서열번호 31의 HCDR2; 서열번호 29의 HCDR3; 서열번호 44의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 45의 LDCR3을 포함한다.

[0837] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 32의 HCDR1, 서열번호 28의 HCDR2; 서열번호 29의 HCDR3; 서열번호 42의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 43의 LDCR3을 포함한다.

[0838] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 33의 HCDR1, 서열번호 34의 HCDR2; 서열번호 35의 HCDR3; 서열번호 46의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 43의 LDCR3을 포함한다.

[0839] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 1의 HCDR1, 서열번호 51의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LDCR3을 포함한다.

[0840] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 4의 HCDR1, 서열번호 52의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 19의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 21의 LDCR3을 포함한다.

[0841] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 6의 HCDR1, 서열번호 51의 HCDR2; 서열번호 3의 HCDR3; 서열번호 16의 LCDR1; 서열번호 17의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LDCR3을 포함한다.

[0842] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 7의 HCDR1, 서열번호 53의 HCDR2; 서열번호 9의 HCDR3; 서열번호 22의 LCDR1; 서열번호 20의 LCDR2; 및 서열번호 18의 LDCR3을 포함한다.

[0843] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 60의 HCDR1, 서열번호 61의 HCDR2; 서열번호 62의 HCDR3; 서열번호 75의 LCDR1; 서열번호 76의 LCDR2; 및 서열번호 77의 LDCR3을 포함한다.

[0844] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 63의 HCDR1, 서열번호 64의 HCDR2; 서열번호 62의 HCDR3; 서열번호 78의 LCDR1; 서열번호 79의 LCDR2; 및 서열번호 80의 LDCR3을 포함한다.

[0845] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 65의 HCDR1, 서열번호 61의 HCDR2; 서열번호 62의 HCDR3; 서열번호 75의 LCDR1; 서열번호 76의 LCDR2; 및 서열번호 77의 LDCR3을 포함한다.

[0846] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 66의 HCDR1, 서열번호 67의 HCDR2; 서열번호 68의 HCDR3; 서열번호 81의 LCDR1; 서열번호 79의 LCDR2; 및 서열번호 77의 LDCR3을 포함한다.

[0847] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 86의 HCDR1, 서열번호 87의 HCDR2; 서열번호 88의 HCDR3; 서열번호 101의 LCDR1; 서열번호 102의 LCDR2; 및 서열번호 103의 LDCR3을 포함한다.

- [0848] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 89의 HCDR1, 서열번호 90의 HCDR2; 서열번호 88의 HCDR3; 서열번호 104의 LCDR1; 서열번호 105의 LCDR2; 및 서열번호 106의 LDCR3을 포함한다.
- [0849] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 91의 HCDR1, 서열번호 87의 HCDR2; 서열번호 88의 HCDR3; 서열번호 101의 LCDR1; 서열번호 102의 LCDR2; 및 서열번호 103의 LDCR3을 포함한다.
- [0850] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 92의 HCDR1, 서열번호 93의 HCDR2; 서열번호 94의 HCDR3; 서열번호 107의 LCDR1; 서열번호 105의 LCDR2; 및 서열번호 103의 LDCR3을 포함한다.
- [0851] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.
- [0852] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0853] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0854] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0855] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0856] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0857] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0858] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0859] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0860] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 99의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0861] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 119, 120 또는 121로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0862] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 125, 126 또는 127로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0863] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 131, 132 또는 133으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0864] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 137, 138 또는 139로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0865] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 단편(예컨대, Fab')은 서열번호 142, 143 또는 144로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0866] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0867] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및

서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0868] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 56의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0869] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0870] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체는 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0871] 특정 양태에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 표 1에 기술된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이다.

[0872] 1. 동일한 에피토프에 결합하는 항체

[0873] 본 개시는 인간 cKIT 수용체의 세포 외 도메인 내의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 특정 양태에서, 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 인간 cKIT 세포 외 도메인의 도메인 1 내지 3 내의 에피토프에 결합할 수 있다.

[0874] 또한, 본 개시는 표 1에 기술된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')와 동일한 에피토프에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 따라서, 추가의 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 cKIT 결합 분석법에서 다른 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')과 교차 경쟁하는 능력(예컨대, 통계적으로 유의미한 방식으로 결합을 경쟁적으로 억제하는 능력)을 기반으로 하여 확인할 수 있다. 항체들의 교차 경쟁을 기초로 하여 항체를 "비닝(binning)"하는 고처리량 방법은 국제 특허 출원 번호 WO 2003/48731에 기술되어 있다. 본 설명에 개시된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 cKIT 단백질(예컨대, 인간 cKIT)에 대한 결합을 억제하는 시험 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 능력은 시험 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이 cKIT에 대한 결합에 대해 그 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')과 경쟁할 수 있으며; 이러한 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은, 비 제한적인 이론에 따르면, 그것이 경쟁하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')과 cKIT 단백질 상의 동일하거나 관련된(예컨대, 구조적으로 유사하거나 공간적으로 가장 가까운) 에피토프에 결합할 수 있음을 증명한다. 특정 양태에서, 본 설명에 개시된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')과 cKIT 상의 동일한 에피토프에 결합하는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 인간 또는 인간화 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')이다. 이러한 인간 또는 인간화 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 본 설명에 기술된 바와 같이 제조되고 분리될 수 있다.

[0875] 2. 프레임워크의 변형

[0876] 본 설명에 개시된 항체 약물 접합체는 예컨대, 항체 약물 접합체의 특성을 개선하기 위하여, VH 및/또는 VL 내의 프레임워크 잔기에 대한 변형을 포함하는, 변형된 cKIT 결합 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 포함할 수 있다.

[0877] 일부 구현예에서, 프레임워크 변형은 항체 또는 항체 약물 접합체의 면역원성을 감소시키기 위하여 이루어진다. 예를 들어, 한 접근법은 1개 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 생식계열 서열로 "역-돌연변이"시키는 것이다. 이러한 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래된 생식계열 서열과 비교함으로써 확인할 수 있다. 프레임워크 영역 서열을 원하는 생식계열 배열에 "매치"시키기 위해, 잔기는 예를 들어 위치 특이적 돌연변이 유도에 의해 상응하는 생식계열 서열로 "역-돌연변이"될 수 있다. 이러한 "역-돌연변이"된 항체 또는 항체 약물 접합체 또한, 본 발명에 포함된다.

[0878] 또 다른 유형의 프레임워크 변형은 프레임워크 영역 내, 또는 심지어 1개 이상의 CDR 영역 내의 1개 이상의 잔기를 돌연변이시켜 T 세포 에피토프를 제거함으로써 항체 또는 항체 약물 접합체의 잠재적인 면역원성을 감소시키는 것을 수반한다. 이러한 접근법은 또한, "탈면역화"로도 지칭되고, Carr 등에 의한 미국 특허 공개 번호 20030153043에 더욱 상세하게 기술되어 있다.

[0879] 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어진 변형에 추가로 또는 대안적으로, 항체의 1종 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정을 변경하기 위하여 항체를 조작할 수 있다. 나아가, 다시 항체의 1종 이상의 기능적 특성을 변경하기 위하여, 항체를 화학적으로 변형할 수 있거나(예를 들어, 1종 이상의 화학적 모이어티를 항체에 부착할 수 있음), 이의 글리코실화가 변경되도록 변형할 수 있다. 각각의 이러한 양태를 아래에서 더욱

상세하게 기술한다.

- [0880] 일 양태에서는, 힌지 영역의 시스테인 잔기 수가 변경되도록, 예를 들어, 증가되거나 감소되도록 CH1의 힌지 영역을 변형한다. 이러한 접근법은 Bodmer 등에 의한 미국 특허 번호 5,677,425에 더 기술되어 있다. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는 예를 들어, 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하거나, 항체의 안정성을 증가 또는 감소시키거나, 또 다른 분자에 대한 접합을 가능하도록 변경된다.
- [0881] 일부 구현예에서, 본 설명에 개시된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab or Fab')은 약물 모이어티에 대한 접합 부위로서, 변형된 또는 조작된 아미노산 잔기, 예컨대, 1개 이상의 시스테인 잔기를 포함한다(Junutula JR, et al.: Nat Biotechnol 2008, 26:925-932). 일 구현예에서, 본 발명은 본 설명에 기술된 위치에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하는 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 제공한다. 시스테인 치환을 위한 부위는 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 불변 영역 내이고, 따라서 다양한 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')에 적용 가능하고, 이 부위는 안정적이고 균질한 접합체를 제공하도록 선택된다. 변형된 항체 또는 단편은 1개, 2개 이상의 시스테인 치환을 가질 수 있고, 이들 치환은 본 설명에 기술된 바와 같은 다른 변형 및 접합 방법과 조합하여 사용될 수 있다. 시스테인을 항체의 특정 위치에 삽입하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌[Lyons et al., (1990) Protein Eng., 3:703-708, WO 2011/005481, WO2014/124316, WO 2015/138615]을 참조한다. 특정 구현예에서, 변형된 항체는 항체의 중쇄의 위치 117, 119, 121, 124, 139, 152, 153, 155, 157, 164, 169, 171, 174, 189, 191, 195, 197, 205, 207, 246, 258, 269, 274, 286, 288, 290, 292, 293, 320, 322, 326, 333, 334, 335, 337, 344, 355, 360, 375, 382, 390, 392, 398, 400 및 422로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이다. 특정 구현예에서, 변형된 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 중쇄의 위치 121, 124, 152, 153, 155, 157, 164, 169, 171, 174, 189, 및 207로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이다. 특정 구현예에서, 변형된 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 중쇄의 위치 124, 152, 153, 155, 157, 164, 174, 189, 및 207로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이다.
- [0882] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 107, 108, 109, 114, 126, 127, 129, 142, 143, 145, 152, 154, 156, 157, 159, 161, 165, 168, 169, 170, 182, 183, 188, 197, 199, 및 203으로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 107, 108, 114, 126, 127, 129, 142, 159, 161, 165, 183, 및 203으로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. . 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 114, 129, 142, 145, 152, 159, 161, 165, 및 197로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 107, 108, 109, 126, 143, 145, 152, 154, 156, 157, 159, 182, 183, 188, 197, 199, 및 203으로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 145, 152, 및 197로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 114 및 165로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 인간 카파 경쇄이다.
- [0883] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 위치 143, 145, 147, 156, 159, 163, 168로부터 선택된 불변 영역 상에서 1개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 인간

람다 경쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 경쇄의 (EU 넘버링에 의한) 위치 143에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 경쇄는 인간 람다 경쇄이다.

[0884] 특정 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 불변 영역 상에서 2개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하며, 위치의 조합은 위에 열거된 위치 중 임의의 위치로부터 선택될 수 있다.

[0885] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 다음 위치 중 하나 이상에서 시스테인을 포함한다: 중쇄의 위치 124, 중쇄의 위치 152, 중쇄의 위치 153, 중쇄의 위치 155, 중쇄의 위치 157, 중쇄의 위치 164, 중쇄의 위치 174, 경쇄의 위치 114, 경쇄의 위치 129, 경쇄의 위치 142, 경쇄의 위치 159, 경쇄의 위치 161, 또는 경쇄의 위치 165. 이때, 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 경쇄는 카파 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 다음 위치 중 네 개에서 시스테인을 포함한다: 중쇄의 위치 124, 중쇄의 위치 152, 중쇄의 위치 153, 중쇄의 위치 155, 중쇄의 위치 157, 중쇄의 위치 164, 중쇄의 위치 174, 경쇄의 위치 114, 경쇄의 위치 129, 경쇄의 위치 142, 경쇄의 위치 159, 경쇄의 위치 161, 또는 경쇄의 위치 165. 이때, 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 경쇄는 카파 쇄이다.

[0886] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 위치 152에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 위치 124에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 경쇄의 위치 165에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 카파 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 경쇄의 위치 114에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 카파 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 경쇄의 위치 143에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 람다 쇄이다.

[0887] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 위치 152 및 경쇄의 위치 165에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 카파 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 위치 152 및 경쇄의 위치 114에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 카파 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 위치 152 및 경쇄의 위치 143에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 이 경쇄는 람다 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 중쇄의 위치 124 및 위치 152에서 시스테인을 포함하며, 이때, 이 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이다.

[0888] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 다음 위치 중 하나 이상에서 시스테인을 포함한다: 중쇄의 위치 155, 중쇄의 위치 189, 중쇄의 위치 207, 경쇄의 위치 145, 경쇄의 위치 152, 또는 경쇄의 위치 197. 이때, 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 경쇄는 카파 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 다음 위치 중 둘 이상(예컨대, 2개, 3개, 4개)에서 시스테인을 포함한다: 중쇄의 위치 155, 중쇄의 위치 189, 중쇄의 위치 207, 경쇄의 위치 145, 경쇄의 위치 152, 또는 경쇄의 위치 197. 이때, 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 경쇄는 카파 쇄이다.

[0889] 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 다음 위치 중 하나 이상에서 시스테인을 포함한다: 중쇄의 위치 124, 중쇄의 위치 152, 중쇄의 위치 153, 중쇄의 위치 155, 중쇄의 위치 157, 중쇄의 위치 164, 중쇄의 위치 174, 경쇄의 위치 114, 경쇄의 위치 129, 경쇄의 위치 142, 경쇄의 위치 159, 경쇄의 위치 161, 또는 경쇄의 위치 165. 이때, 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 경쇄는 카파 쇄이다. 일부 구현예에서, 변형된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 다음 위치 중 둘 이상(예컨대, 2개, 3개, 4개)에서 시스테인을 포함한다: 중쇄의 위치 124, 중쇄의 위치 152, 중쇄의 위치 153, 중쇄의 위치 155, 중쇄의 위치 157, 중쇄의 위치 164, 중쇄의 위치 174, 경쇄의 위치 114, 경쇄의 위치 129, 경쇄의 위치 142, 경쇄의 위치 159, 경쇄의 위치 161, 또는 경쇄의 위치 165. 이때, 이 위치들은 EU 시스템에 따라 넘버링된 것이고, 경쇄는 카파 쇄이다.

[0890] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

- [0891] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 123의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0892] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0893] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0894] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0895] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0896] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 136의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 140의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0897] 일부 구현예에서, 인간 cKIT에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 단편(예컨대, Fab)은 서열번호 141의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄, 및 서열번호 145의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0898] 3. cKIT 항체 및 항체 단편의 제조
- [0899] 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')은 재조합 발현, 화학적 합성, 또는 예컨대, 하이브리도마 또는 재조합 생산에 의해 수득될 수 있는, 전장 단클론 항체의 효소적 소화를 포함하나 이에 한정되지 않는, 당해 분야에 공지된 임의의 수단에 의해 생산할 수 있다. 재조합 발현은 당해 분야에 공지된 임의의 적당한 숙주 세포, 예를 들어, 포유동물 숙주 세포, 박테리아 숙주 세포, 효모 숙주 세포, 곤충 숙주 세포로부터 일어날 수 있거나, 무세포 시스템(예컨대, Sutro의 Xpress CF™ 플랫폼, <http://www.sutro.bio.com/technology/>)으로 이룰 수 있다.
- [0900] 또한, 본 개시는 본 설명에 기술된 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 예컨대, 본 설명에 기술된 바와 같은 상보성 결정 영역을 포함하는 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 또는 절편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 일부 양태에서, 중쇄 가변 영역(VH)을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 서열번호 11, 37, 55, 70, 및 96으로 구성된 군으로부터 선택된 폴리뉴클레오티드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 핵산 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태에서, 경쇄 가변 영역(VL)을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 서열번호 24, 48, 83, 및 109로 구성된 군으로부터 선택된 폴리뉴클레오티드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 핵산 서열 동일성을 갖는다.
- [0901] 일부 양태에서, 항체 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 서열번호 13, 39, 57, 72, 및 98의 폴리뉴클레오티드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 핵산 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태에서, 항체 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 서열번호 26, 50, 85, 및 111의 폴리뉴클레오티드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 핵산 서열 동일성을 갖는다.
- [0902] 일부 양태에서, Fab' 중쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 서열번호 15, 41, 59, 74, 및 100의 폴리뉴클레오티드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 핵산 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태에서, Fab' 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 서열번호 26, 50, 85, 및 111의 폴리뉴클레오티드와 적어도 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 핵산 서열 동일성을 갖는다.
- [0903] 본 개시의 폴리뉴클레오티드는 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 가변 영역 서열만을 암호화할 수 있다. 또한, 그것들은 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 가변 영역 및 불변 영역을 암호화할 수 있다. 이 폴리뉴클레오티드 서열 중 일부는 예시된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 중 하나의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역들을 포함하는 폴리펩티드를 암호화한다.
- [0904] 이 폴리뉴클레오티드 서열들은 드 노보(de novo) 고체상 DNA 합성에 의해, 또는 항-cKIT 항체 또는 이의 결합 단편을 암호화하는 기존의 서열(예컨대, 아래 실시예에 기술된 바와 같은 서열들)의 PCR 돌연변이 유발에 의해

제조할 수 있다. 핵산의 직접적인 화학적 합성은 당해 분야에 공지된 방법, 예컨대, 문헌[Narang *et al.*, Meth. Enzymol. 68:90, 1979]의 포스포트리에스테르 방법; 문헌[Brown *et al.*, Meth. Enzymol. 68:109, 1979]의 포스포디에스테르 방법; 문헌[Beaucage *et al.*, Tetra. Lett., 22:1859, 1981]의 디에틸포스포르아미다이트 방법; 및 미국 특허 번호 4,458,066의 고체 지지체 방법에 의해 달성될 수 있다. PCR에 의해 폴리뉴클레오티드 서열에 돌연변이를 도입하는 것은, 예를 들어, 문헌 [PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H.A. Erlich (Ed.), Freeman Press, NY, NY, 1992]; [PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis *et al.* (Ed.), Academic Press, San Diego, CA, 1990]; [Mattila *et al.*, Nucleic Acids Res. 19:967, 1991]; 및 [Eckert *et al.*, PCR Methods and Applications 1:17, 1991]에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다.

[0905] 또한, 위에서 기술된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 생산하기 위한 발현 벡터 및 숙주 세포가 본 개시에 제공된다. 다양한 발현 벡터가 사용되어 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 발현시킬 수 있다. 바이러스 기반 발현 벡터와 비 바이러스 발현 벡터가 포유동물 숙주 세포에서 항체를 생산하는 데 사용될 수 있다. 비 바이러스 벡터 및 시스템은 플라스미드, 예피솜 벡터(전형적으로는, 단백질을 또는 RNA 발현을 위한 발현 카세트가 있음), 및 인간 인공 염색체(예를 들어, 문헌[Harrington *et al.*, Nat Genet. 15:345, 1997] 참조)를 포함한다. 예를 들어, 포유동물(예를 들어, 인간) 세포에서의 항-cKIT 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드의 발현에 유용한 비 바이러스 벡터는 pThioHis A, B & C, pcDNA3.1/His, pEBVHis A, B & C(Invitrogen, 미국 캘리포니아 주 샌디에고 소재), MPSV 벡터, 및 다른 단백질 발현을 위한, 당해 분야에 공지된 다수의 기타 벡터를 포함한다. 유용한 바이러스 벡터는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스 바이러스를 기반으로 한 벡터, SV40, 유두종 바이러스, HBP 엡스타인 바 바이러스를 기반으로 한 벡터, 우두 바이러스 벡터 및 샘리키 포레스트(Semliki Forest) 바이러스(SFV)를 포함한다. 문헌[Brent *et al.*, 위 참조]; [Smith, Annu. Rev. Microbiol. 49:807, 1995]; 및 [Rosenfeld *et al.*, Cell 68:143, 1992] 참조.

[0906] 발현 벡터의 선택은 벡터가 발현될 의도되는 숙주 세포에 좌우된다. 전형적으로, 발현 벡터는 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')을 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 작동 가능하게 연결된 프로모터 및 기타 조절 서열(예를 들어, 인핸서)을 함유한다. 일부 양태에서, 유도성 프로모터가 유도 조건 하인 경우를 제외하고는 삽입된 서열의 발현을 방지하도록 사용된다. 유도성 프로모터는, 예를 들어, 아라비노스, lacZ, 메탈로티오네인 프로모터 또는 열 충격 프로모터를 포함한다. 발현 생성물이 숙주 세포에 의해 더 잘 허용되는 암호화 서열에 대해 집단을 편향시키지 않으면서, 형질전환된 유기체의 배양물을 비 유도 조건 하에 증식시킬 수 있다. 프로모터에 더하여, 기타 조절 요소 또한, 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')의 효율적인 발현에 요구될 수 있거나 또는 바람직할 수 있다. 이러한 요소들은 전형적으로 ATG 개시 코돈 및 인접한 리보솜 결합 부위 또는 기타 서열을 포함한다. 또한, 사용되는 세포 시스템에 적합한 인핸서를 포함하는 것에 의해 발현 효율을 증진시킬 수 있다(예를 들어, 문헌[Scharf *et al.*, Results Probl. Cell Differ. 20:125, 1994]; 및 [Bittner *et al.*, Meth. Enzymol., 153:516, 1987] 참조). 예를 들어, SV40 인핸서 또는 CMV 인핸서가 포유동물 숙주 세포에서의 발현을 증가시키기 위하여 사용될 수 있다.

[0907] 발현 벡터는 또한, 삽입된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 서열에 의해 암호화되는 폴리펩티드와 융합 단백질을 형성하도록 분비 신호 서열 위치를 제공할 수 있다. 더욱 흔하게는, 삽입된 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 서열이 신호 서열에 연결된 후에 벡터에 포함된다. 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 경쇄 및 중쇄 가변 도메인을 암호화하는 서열을 수용하는데 사용되는 벡터는 때때로 불변 영역 또는 이의 일부분을 또한, 암호화한다. 이러한 벡터는 가변 영역이 불변 영역과의 융합 단백질로서 발현되게 하고, 이에 의해 온전한 항체 또는 이의 단편을 생산할 수 있게 한다.

[0908] 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 쉘의 보유 및 발현을 위한 숙주 세포는 원핵생물 또는 진핵 생물 세포일 수 있다. 대장균(*E. coli*)은 본 개시의 폴리뉴클레오티드의 클로닝 및 발현에 유용한 원핵생물 숙주 중 하나이다. 사용하기에 적절한 기타 미생물 숙주는 바실루스(*Bacillus*), 예컨대 바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 및 기타 엔테로박테리아세아에(*enterobacteriaceae*), 예컨대 살모넬라(*Salmonella*), 세라티아(*Serratia*), 및 다양한 슈도모나스(*Pseudomonas*) 종을 포함한다. 이러한 원핵생물 숙주에서, 숙주 세포와 상용할 수 있는 발현 제어 서열(예를 들어, 복제 기점)을 전형적으로 함유하는 발현 벡터 또한, 제조할 수 있다. 또한, 다수의 다양한 주지된 프로모터, 예컨대 락토오스 프로모터 시스템, 트립토판(*trp*) 프로모터 시스템, 베타-락타마아제 프로모터 시스템, 또는 파지 람다로부터의 프로모터 시스템이 존재할 것이다. 프로모터는 전형적으로, 선택적으로 오퍼레이터 서열과 함께, 발현을 제어하고, 전사 및 번역 개시 및 완료를 위한 리보솜

결합 부위 서열 등을 가지고 있다. 효모와 같은 기타 미생물 또한, 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 폴리펩티드를 발현시키는 데 사용될 수 있다. 또한, 곤충 세포가 배콜로바이러스 벡터와 조합하여 사용될 수 있다.

[0909] 다른 양태에서, 포유동물 숙주 세포가 본 개시의 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab') 폴리펩티드의 발현 및 생산에 사용된다. 예를 들어, 이는 내인성 면역글로불린 유전자를 발현하는 하이브리도마 세포주(예를 들어, 실시예에 기술된 바와 같은 골수종 하이브리도마 클론), 또는 외인성 발현 벡터를 보유하는 포유동물 세포주(예를 들어, 아래에 예시된 SP2/0 골수종 세포)일 수 있다. 이들은 임의의 정상적인 사멸성 동물 또는 인간 세포 또는 정상적 또는 비정상적인 불멸성 동물 또는 인간 세포를 포함한다. 예를 들어, CHO 세포주, 다양한 COS 세포주, HeLa 세포, 골수종 세포주, 형질전환된 B 세포 및 하이브리도마를 포함하는, 온전한 면역글로불린을 분비할 수 있는 다수의 적합한 숙주 세포주가 개발되었다. 폴리펩티드 발현을 위하여 포유동물 조직 세포 배양을 사용하는 것이, 예를 들어, 문헌[Winnacker, From Genes to Clones, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987]에 일반적으로 논의되어 있다. 포유동물 숙주 세포용 발현 벡터는 발현 제어 서열, 예컨대 복제 기점, 프로모터, 및 인핸서(예를 들어, 문헌[Queen *et al.*, Immunol. Rev. 89:49-68, 1986] 참조), 및 필요한 프로세싱 정보 부위, 예컨대 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이스 부위, 폴리아데닐화 부위, 및 전사 종결인자 서열을 포함할 수 있다. 이러한 발현 벡터들은 보통 포유동물 유전자로부터 또는 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터를 함유한다. 적합한 프로모터는 구성적, 세포 유형-특이적, 단계-특이적, 및/또는 조정 가능 또는 조절 가능한 프로모터일 수 있다. 유용한 프로모터는 메탈로티오네인 프로모터, 구성적 아데노바이러스 주요 후기 프로모터, 텍사메타손-유도성 MMTV 프로모터, SV40 프로모터, MRP polIII 프로모터, 구성적 MPSV 프로모터, 테트라사이클린-유도성 CMV 프로모터(예컨대 인간 극초기 CMV 프로모터), 구성적 CMV 프로모터, 및 당해 분야에 공지된 프로모터-인핸서 조합을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0910] 관심 폴리뉴클레오티드 서열을 함유하는 발현 벡터를 도입하는 방법은 세포 숙주의 유형에 따라 다양하다. 예를 들어, 염화칼슘 형질감염이 원핵생물 세포에 대해 통상적으로 사용되는 반면, 인산칼슘 처리 또는 전기천공이 다른 세포 숙주에 사용될 수 있다(일반적으로, 문헌[Sambrook *et al.*, 위 참조] 참조). 기타 방법은, 예를 들어, 전기천공, 인산칼슘 처리, 리포솜-매개 형질전환, 주입 및 미세주입, 탄도 방법, 비로솜(virosome), 이뮤노리포솜(immunoliposome), 다가 양이온:핵산 접합체, 네이키드(naked) DNA, 인공 비리온, 헤르페스 바이러스 구조 단백질 VP22에 대한 융합(Elliott and O'Hare, Cell 88:223, 1997), 작용체에 의해 강화된 DNA 흡수, 및 생체 외 형질도입을 포함한다. 재조합 단백질의 장기적인 고수율 생산을 위하여, 안정적인 발현이 종종 바람직할 것이다. 예를 들어, 바이러스 복제 기점 또는 내인성 발현 요소 및 선별 가능한 마커 유전자를 함유하는 발현 벡터를 사용하여 항-cKIT 항체 또는 항체 단편(예컨대, Fab 또는 Fab')쇄를 안정적으로 발현하는 세포주를 제조할 수 있다. 벡터 도입 후, 선별 배지로 전환되기 전에 세포를 강화 배지에서 1 내지 2일 동안 성장시킬 수 있다. 선별 가능한 마커의 목적은 선별에 대한 저항성을 부여하는 것이고, 이의 존재는 도입된 서열을 성공적으로 발현하는 세포가 선별 배지에서 성장하게 한다. 안정적으로 형질감염된 저항성 세포를 세포 유형에 적합한 조직 배양 기술을 사용하여 증식시킬 수 있다.

[0911] 항체 단편, 예컨대, Fab 또는 Fab'은 (Fab 단편 생성을 위하여) 파파인 또는 (Fab' 단편 생성을 위하여) 펩신 등과 같은 효소를 이용하여 면역글로불린 분자의 단백질 가수분해 절단에 의해 생성될 수 있다. Fab 단편과 비교하여, Fab' 단편은 면역글로불린 분자의 두 개의 중쇄 사이에 이황화 결합을 형성하는 두 개의 천연 시스템을 포함하는 힌지 영역 또한, 함유한다.

[0912] 치료적 용도

[0913] 본 개시의 접합체는 이를 필요로 하는 환자, 예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자의 조혈줄기세포 제거를 포함하는, 그러나 이에 한정되지 않는, 다양한 적용에 있어서 유용하다. 따라서, 유효량의 본 설명에 기술된 임의의 접합체를 필요로 하는 환자에 투여하여 환자의 조혈줄기세포를 제거하는 방법이 본 설명에 제공된다. 또한, 유효량의 본 설명에 기술된 임의의 접합체를 투여하고, 환자에 조혈줄기세포 이식을 수행하기 전에 충분한 시간을 허용하여 접합체가 환자의 순환으로부터 제거되게 함으로써, 조혈줄기세포 이식 환자(예컨대, 이식 수용자)의 컨디션을 조절하는 방법이 본 설명에 제공된다. 접합체는 환자에 정맥 내로 투여될 수 있다. 또한, 본 설명에 기술된 접합체 또는 약학적 조성물 중 임의의 것의, 이를 필요로 하는 환자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위한 용도가 제공된다. 나아가, 본 설명에 기술된 접합체 또는 약학적 조성물 중 임의의 것의, 이를 필요로 하는 환자에서 조혈줄기세포를 제거하기 위한 의약 제제에 있어서의 용도가 제공된다.

[0914] 내인성 조혈줄기세포는 보통 골수 골모양 혈관 내에 상재한다. 줄기세포가 상재하는 이 물리적 환경은 줄기세포

미세환경, 또는 줄기세포 니쉬(niche)라 지칭된다. 이 니쉬와 관련된 간질 세포 및 기타 세포는 가용성 인자 및 결합 인자를 제공하며, 이들은 다수의 효과를 나타낸다. 조혈줄기세포와 그의 니쉬 사이의 상호 작용에 대한 다양한 모델이 제안되었다. 예를 들어, 줄기세포가 분열할 경우, 하나의 딸 세포만 니쉬에 남아 있고, 나머지 딸 세포는 니쉬를 떠나 분화하는 모델이 제안된 바 있다. 내인성 조혈줄기세포의 선택적 고갈 및 이에 의한 공여자 줄기세포의 생착을 위한 줄기세포 니쉬 개방에 의해 생착 효율이 증진될 수 있음이 제기된 바 있다(예컨대, WO 2008/067115 참조).

[0915] 조혈줄기세포(HSC) 이식, 또는 (초기에 지칭된 바와 같은) 골수 이식은 백혈병, 중증 빈혈, 면역 결손, 및 일부 효소 결핍 질환과 같은 신체의 혈액 줄기세포에 영향을 미치는 광범위한 질병을 위한 확립된 치료법이다. 이러한 병은 종종 환자로 하여금 골수를 새로운, 건강한 혈액 세포로 교체할 필요가 있도록 만든다.

[0916] HSC 이식은 종종 동종이계적이며, 이는 환자가 형제, 일치 혈연, 절반일치 혈연 또는 비혈연, 자원 공여자인, 동일한 종의 또 다른 개체로부터 줄기세포를 제공 받음을 의미한다. 조혈줄기세포 이식을 필요로 하는 환자의 약 30%는 조직 유형이 적합한 형제에 접근할 수 있다고 추정된다. 나머지 70%의 환자는 비혈연, 자원 공여자의 일치도 또는 절반일치, 혈연 공여자의 이용 가능성에 의존해야만 한다. 공여자 세포와 환자 세포의 특징이 비슷하다는 점은 중요하다. 조혈줄기세포 이식은 또한, 자가 이식일 수 있는데, 이때, 이식된 세포는 대상체 자신으로부터 유래한다. 즉, 공여자와 수용자가 동일한 개체이다. 나아가, 이식은 공통 유전자성일 수 있다. 즉, 쌍둥이와 같이, 유전적으로 동일한 개체로부터 유래할 수 있다. 추가의 양태에서, 이식은 이종성일 수 있다. 즉, 이는 장기 이식의 경우와 같이, 동일한 종에 충분한 공여자가 없을 때, 관심의 대상이 되는 상이한 종으로부터 유래할 수 있다.

[0917] HSC 이식 전, 환자들은 보통 전처리 또는 컨디션 조절 방법을 거친다. 이 전처리 또는 컨디션 조절의 목적은 거부반응을 최소화하고/최소화하거나 공여자 줄기세포를 줄기세포 니쉬 내로 효율적으로 생착시키기 위하여 내인성 HSC를 고갈시킴으로써 이러한 니쉬를 열고자 가능한 한 신체 내의 많은 원치 않는 세포(예컨대, 악성/암 세포)를 제거하는 것이다. 그런 다음, 공여자의 건강한 HSC를 환자에 정맥 내로, 또는 일부 경우 골 내로 제공한다. 그러나 불량한 생착, 면역거부반응, 이식편 대 숙주 질환(GVHD), 또는 감염을 포함한 많은 위험이 HSC 이식과 관련이 있다. 공여자의 세포와 환자의 세포는 조직 유형의 측면에서 동일하다고 보이지만, 예컨대, MHC 분자가 일치(또는 절반일치)하긴 하지만, 이들 개체 사이에는 여전히 사소한 차이가 있으며, 이를 면역 세포는 위험하다고 인식할 수 있다. 이는 새로운 면역계(새로운 줄기세포로부터의 백혈구)가 새로운 신체를 "외래"로 인지하여, 면역 공격을 유발함을 의미한다. 이식편 대 숙주 질환(GVHD)이라 지칭되는 이 반응은 환자에게는 생명을 위협하는 것이 될 수 있다. HSC 이식 후의 환자는 또한, 새로운 골수가 기능을 시작하기 전에 백혈구의 부존재로 인하여 감염 위험이 증가한다. 이 기간은 일부 경우, 새로운 면역계가 성숙할 때까지 여러 달 동안 지속될 수 있다. 이러한 기회 감염의 일부는 생명을 위협할 수 있다.

[0918] 따라서, 컨디션 조절 및 이식 방법을 개선하고, HSC 이식과 관련된 위험을 감소시키고, 다양한 장애에 대한 조혈줄기세포 이식의 효율을 증가시킬 필요가 있다. 본 설명에서는 이식 전에 수용자의 내인성 HSC를 특이적으로 살상하여(그러나 다른 면역 세포 전부 다를 살상하지는 않음), 부분 활성의 면역 방어를 유지하여 이식 직후에 감염을 방지함과 동시에, 대상체는 그 자신의 HSC로부터 새로운 면역 세포를 형성할 수 없으므로, 간접적인 면역억제 효과를 제공하는 새로운 항체 약물 접합체가 제공된다. 이 전처리는 화학요법 또는 방사선요법보다는 가볍고, 덜 심각한 부작용을 가져올 수 있으므로, 이는 이식 환자에서 GVHD를 덜 유도할 수 있다.

[0919] 본 설명에 기술된 항체 약물 접합체는 예컨대, 조혈줄기세포 이식 전 전처리/컨디션 조절 방법에서, 내인성 조혈줄기세포를 제거하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 접합체는 줄기세포 이식이 유리할 수 있는 임의의 비 악성 병태/장애, 예컨대, 중증 재생불량 빈혈(SAA), 비스코트 올드리치 증후군, 후틀러 증후군, 가족성 적혈구포식성 림프조직구증(FHL), **만성 육아종병** (CGD), 코스트만 증후군, 중증 면역결핍 증후군(SCID), 기타 자가면역 장애, 예컨대, SLE, 다발 경화증, IBD, 크론병, 켈양성 대장염, 쇼그렌 증후군, 혈관염, 루푸스, 중증 근육무력증, 베게너병, 선천 대사장애 및/또는 기타 면역결핍증을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0920] 나아가, 본 발명의 접합체는 줄기세포 이식이 유리할 수 있는 임의의 악성 병태/장애, 예컨대, 혈액학적 질환, 혈액학적 악성 종양 또는 고형 종양(예컨대, 신장암, 간암, 췌장암)을 치료하는 데 사용될 수 있다. 청구된 방법 및 항체로 치료될 수 있는 일반적인 유형의 혈액학적 질환/악성 종양은 백혈병, 림프종 및 골수형성이상 증후군이다. 백혈병은 모세포라 지칭되는 미성숙 백혈구의 비정상적인 증가를 특징으로 하는 혈액 또는 골수의 암의 일종으로, 용어 백혈병은 급성 림프모구 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 단핵구 백혈병(AMoL), 만성 림프성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 기타 백혈병, 예컨대, 털세포 백혈병(HCL), T 세포 전립

프구성 백혈병(T-PLL), 대과립 림프구성 백혈병 및 성인 T 세포 백혈병을 포함한다. 본 발명의 일 양태에서, 치료된 백혈병은 급성 백혈병이다. 추가 양태에서, 백혈병은 ALL, AML 또는 AMoL이다. 림프종은 전구체 T 세포 백혈병/림프종, 버킷 림프종, 소포 림프종, 광범위 큰 B 세포 림프종, 외투세포 림프종, B 세포 만성 림프성 백혈병/림프종, MALT 림프종, 균상 식육종, 달리 명시되지 않은 말초 T 세포 림프종, 호지킨 림프종의 결절 경화 형태, 호지킨 림프종의 혼합 세포종실성 아형을 포함한다. 골수형성이상 증후군(MDS)은 골수의 혈액 형성 세포가 손상될 때 발생하는 병태군의 명칭이다. 이는 1종류 이상의 혈액 세포의 적은 개수를 초래한다. MDS는 7개의 카테고리로 세분된다: 한계열 형성이상 불응성 혈구감소증(Refractory cytopenia with unilineage dysplasia, RCUD), 철적혈모구 불응성 빈혈(Refractory anemia with ringed sideroblasts, RARS), 다계열 형성이상 불응성 혈구 감소증(Refractory cytopenia with multilineage dysplasia, RCMD), 모세포 증가 불응성 빈혈-1(Refractory anemia with excess blasts-1, RAEB-1), 모세포 증가 불응성 빈혈-2(Refractory anemia with excess blasts-2, RAEB-2), 미분류 골수형성이상 증후군(MDS-U), 및 5q 단독 결손 골수형성이상 증후군(Myelodysplastic syndrome associated with isolated del (5q)).

[0921] 일부 구현예에서, 조혈줄기세포를 제거할 필요가 있는 환자(예컨대, 조혈줄기세포 이식 수용자)는 유전성 면역 결핍 질환, 자가면역 장애, 조혈 장애, 또는 선천 대사이상을 앓을 수 있다.

[0922] 일부 구현예에서, 조혈 장애는 다음 중 임의의 것으로부터 선택될 수 있다: 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프모구 백혈병(ALL), 급성 단핵구 백혈병(AMoL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 림프성 백혈병(CLL), 골수증식 질환, 골수형성이상 증후군, 다발 골수종, 비호지킨 림프종, 호지킨병, 재생불량 빈혈, 진정 적혈구계 무형성증, 발작성 야간 헤모글로빈뇨증, 판코니 빈혈, 중증성 지중해빈혈, 겸상 적혈구빈혈, 중증 복합 면역결핍증, 비스코트 올드리치 증후군, 적혈구포식성 림프조직구성.

[0923] 선천 대사이상은 또한, 유전성 대사질환(IMB) 또는 선천 대사질환으로 알려져 있으며, 이는 탄수화물 대사 선천 장애, 아미노산 대사 선천 장애, 유기산 대사 선천 장애, 또는 리소좀 축적병을 포함하는 유전병의 한 부류이다. 일부 구현예에서, 선천 대사장애는 점액 다당류증, 고세병, 이염색백색질장애, 또는 부신백색질형성 장애로부터 선택된다.

[0924] 나아가, 본 발명의 접합체는 위장관 기질 종양(GIST), 예컨대, cKIT 양성인 GIST를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 접합체는 야생형 cKIT를 발현하는 GIST를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 접합체는 치료, 예컨대, 이마티닙(글리벡(Glivec®/Gleevec®))에 대해 저항성인 GIST를 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0925] 병용 요법

[0926] 특정한 경우, 본 개시의 항체 약물 접합체는 또 다른 컨디션 조절 계획, 예컨대, 방사선요법 또는 화학요법과 조합하여 이용될 수 있다.

[0927] 특정한 경우, 본 개시의 항체 약물 접합체는 또 다른 치료제, 예컨대, 항암제, 항오심제(또는 항구토제), 통증 완화제, 동원제, 또는 이의 조합과 조합하여 이용될 수 있다.

[0928] 병용 요법에서의 사용에 고려되는 일반적인 화학요법제는 아나스트로졸(아리미덱스(Arimidex®)), 비칼루타미드(카소덱스(Casodex®)), 블레오마이신 설페이트(블레녹산(Blenoxane®)), 부숴판(미레란(Myleran®)), 부숴판 주사제(부숴펙스(Busulfex®)), 카페시타빈(젤로다(Xeloda®)), N4-펜톡시카보닐-5-데옥시-5-플루오로시티딘, 카보플라틴(파라플라틴(Paraplatin®)), 카르무스틴(BiCNU®), 클로람부실(류케란(Leukeran®)), 시스플라틴(플라티놀(Platinol®)), 클라드리빈(류스타틴(Leustatin®)), 시클로스포린(산디문(Sandimmune®), 네오랄(Neoral®) 또는 레스타시스(Restasis®)), 시클로포스파미드(사이톡산(Cytoxan®) 또는 네오사르(Neosar®)), 시타라빈, 시토신 아라비노시드(사이토사르(Cytosar)-U®), 시타라빈 리포솜 주사제(데포시트(DepoCyt®)), 다카르바진(DTIC-돔(DTIC-Dome®)), 닥티노마이신(악티노마이신(Actinomycin) D, 코스메간(Cosmegen)), 다우노루비신 하이드로클로라이드(세루비딘(Cerubidine®)), 다우노루비신 시트레이트 리포솜 주사제(다우노엑숨(DaunoXome®)), 텍사메타손, 도세탁셀(탁소티어(Taxotere®)), 독소루비신 하이드로클로라이드(아드리아마이신(Adriamycin®), 루벅스(Rubex®)), 에토포시드(베페시드(Vepesid®)), 플루다라빈 포스페이트(플루다라(Fludara®)), 5-플루오로우라실

(아드루실(Adrucil[®]), 에푸텍스(Efudex[®])), 플루타미드(유렉신(Eulexin[®])), 테자시티빈, 켄시타빈(디플루오로 데옥시시티딘), 하이드록시우레아(하이드레아(Hydra[®])), 이다루비신(이다마이신(Idamycin[®])), 이포스파미드 (IFEX[®]), 이리노테칸(캄프토사르(Camptosar[®])), L-아스파라기나제(ELSPAR[®]), 류코보린 칼슘, 멜팔란(알케란 (Alkeran[®])), 6-메르캅토피린(퓨린톨(Purinethol[®])), 메토티렉세이트(폴렉스(Folex[®])), 미톡산트론(노반트론 (Novantrone[®])), 밀로타르그, 파클리탁셀(탁솔(Taxol[®])), 휘닉스(이트롭90/MX-DTPA), 펜토스타틴, 폴리페프로 산 20 + 카르무스틴 이식물(글리아델(Gliadel[®])), 타목시펜 시트레이트(놀바텍스(Nolvadex[®])), 테니포시드(부 몬(Vumon[®])), 6-티오구아닌, 티오테파, 티라파자민(티라존(Tirazone[®])), 주사용 토포테칸 하이드로클로라이드 (하이캄틴(Hycamptin[®])), 빈블라스틴(벨반(Velban[®])), 빈크리스틴(온코빈(Oncovin[®])) 및 비노렐빈(나벨빈 (Navelbine[®]))을 포함한다.

[0929] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 CD47 차단제, 예컨대, 항-CD47 항체 또는 이의 단편과 조합하여 이용될 수 있다. CD47 및 신호 조절 단백질 알파(SIRP α) 사이의 상호 작용을 차단하는 항-CD47 미소체가 네 이키드 항-c-Kit 항체에 의해 내인성 HSC의 고갈을 증진시킬 수 있음이 보고되었다(Chhabra et al., *Science Translational Medicine* 8 (351), 351ra105).

[0930] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 조혈줄기세포 또는 조혈 전구세포에 특이적으로 결합하는 또 다른 항체 또는 이의 단편, 예컨대, 항-CD45 항체 또는 이의 단편, 항-CD34 항체 또는 이의 단편, 항-CD133 항체 또는 이의 단편, 항-CD59 항체 또는 이의 단편, 또는 항-CD90 항체 또는 이의 단편과 조합하여 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 Dyrk1a 억제제, 예컨대, 하민(Harmine), INDY, ML 315 하이드로클로라이드, ProINDY, 토크리스(TocrisTM) TC-S 7044, 토크리스 TG 003, FINDY, TBB, DMAT, CaNDY 등과 조합하여 이용될 수 있다.

[0931] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 1종 이상의 면역억제제, 예를 들어, 글루코코르티코이드, 예컨대, 프레드니손, 텍사메타손, 및 하이드로코르티손; 세포종식억제제, 예컨대, 알킬화제, 항대사제, 메토티렉세이트, 아자티오프린, 메르캅토피린, 닥티노마이신 등; 이뮤노필린에 작용하는 약물, 예컨대, 타크로리무스(프로 그라프(Prograf[®])), 아스토그라프 XL(Astograft XL[®]) 또는 엔바르수스(Envarsus XR[®]), 시로리무스(라파마이신 또는 라파문(Rapamune[®])) 및 에버롤리무스; 인터페론; 오피오이드; TNF 결합 단백질; 미코페놀레이트; 핑글리모 드; 미리오신; 등과 조합하여 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 T 세포를 특이 적으로 고갈시키는 1종 이상의 작용제, 예컨대, 플루다라빈, 시클로스포린, 항-CD52 항체, 예컨대, 알렘투주맙, 항가슴샘세포 글로불린(ATG), 항-CD3 항체 또는 이의 단편, 항-CD4 항체 또는 이의 단편, 항-CD8 항체 또는 이 의 단편, 또는 항-인간 TCR α/β 항체 또는 이의 단편과 조합하여 이용될 수 있다. T 세포 고갈 요법은 이식물 의 거부반응을 초래할 수 있는 숙주 대 이식편 반응을 감소시킬 수 있다.

[0932] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 플레릭사포르(AMD3100, 모조빌(Mozobil[®]))로도 알려져 있음), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 예컨대, 사그라마스탐(류카인(Leukine[®])), 또는 과립구 콜로니 자 극 인자(G-CSF), 예컨대, 필그라스탐 또는 페그필그라스탐(자르지오(Zarzio[®])), 작시오(Zarxio[®]), 뉴포젠 (Neupogen[®]), 뉴라스타(Neulasta[®]), 누필(Nufil[®]), 렐리그라스트(Religrast[®]), 엠그라스트(Emgrast[®]), 류카인 (Neukine[®]), 그라필(Grafeel[®]), 이무막스(Imumax[®]), 필카드(Filcad[®]))로부터 선택된 1종 이상의 작용제와 조합 하여 이용될 수 있다.

[0933] 일 양태에서, 본 개시의 항체 약물 접합체는 항암 특성을 갖는 제2의 화합물과 약학적 조합 제형 내에서, 또는 병용 요법으로서 투약 계획 내에서 조합된다. 약학적 조합 제형 또는 투약 계획의 제2의 화합물은 그것들이 서로 부정적으로 영향을 미치지 않도록 이 조합의 접합체에 대해 상보적 활성을 가질 수 있다.

[0934] 본 설명에 사용된 용어 "약학적 조합"은 하나의 투여 단위 형태의 고정된 조합물 또는 비고정 조합 또는 병용 투여를 위한 부품 키트를 지칭하며, 여기서 2종 이상의 치료제가 시간 간격 내에 동시에 또는 별도로 독립적으 로 투여될 수 있고, 특히 이러한 시간 간격은 조합 파트너가 협동적, 예컨대 상승적 효과를 나타낼 수 있게 한 다.

[0935] 용어 "병용 요법"은 본 개시에 기술된 치료 병태 또는 장애를 치료하기 위한 2종 이상의 치료제의 투여를 지칭

한다. 이러한 투여는 고정된 비율의 활성 성분을 갖는 단일 캡슐에서와 같이, 실질적으로 동시적 방식으로 이러한 치료제를 공동 투여하는 것을 포함한다. 대안적으로, 이러한 투여는 각각의 활성 성분을 위한 다수의 또는 별도의 용기(예를 들어, 캡슐, 분말 및 액체)에서의 공동 투여를 포함한다. 분말 및/또는 액체는 투여하기 전에 원하는 용량으로 재구성되거나 희석될 수 있다. 또한, 이러한 투여는 또한, 대략 동일한 시간에 또는 상이한 시간에 각 유형의 치료제를 순차적인 방식으로 사용하는 것을 포괄한다. 어느 경우든, 치료 계획은 본 설명에 기술된 병태 또는 장애를 치료하는데 있어서 약물 조합의 유익한 효과를 제공할 것이다.

[0936] 병용 요법은 "상승 효과"를 제공할 수 있고, "상승적임"을 증명할 수 있다. 즉, 활성 성분들이 함께 사용될 때 달성된 효과가 화합물을 별도로 사용함으로써 발생하는 효과의 총 합계보다 크다. 상승적 효과는 활성 성분이 (1) 공동 제형화되어 투여되거나 조합된, 단위 투여 제형으로 전달될 때; (2) 별도의 제형으로 교대로 또는 병행하여 전달될 때; 또는 (3) 일부 다른 계획에 의해 전달될 때, 얻어질 수 있다. 교대 요법으로 전달될 때, 상승적 효과는 화합물이 순차적으로, 예컨대, 별도의 주사기로 상이한 주사에 의해, 투여될 때 얻어질 수 있다. 일반적으로, 교대 요법 도중, 각각의 활성 성분의 유효한 투여량이 순차적으로, 즉, 연속하여 투여되지만, 병용 요법에서는, 2종 이상의 활성 성분의 유효한 투여량이 함께 투여된다.

[0937] 약학적 조성물

[0938] 본 설명에 기술된 1종 이상의 항체 약물 접합체를 포함하는 약학적 또는 멸균 조성물을 제조하기 위하여, 제공된 접합체(들)는 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제와 혼합될 수 있다.

[0939] 치료제 및 진단제의 제형은 생리적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제와, 예를 들어 동결건조 분말, 슬러리, 수용액, 로션, 또는 현탁액의 형태로 혼합하여 제조될 수 있다(예를 들어, 문헌[Hardman et al., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y., 2001; Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y., 2000; Avis, et al. (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY, 1993; Lieberman, et al. (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY, 1990; Lieberman, et al. (eds.) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY, 1990; Weiner and Kotkoskie, Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 2000] 참조).

[0940] 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 접합체를 포함하는 약학적 조성물은 동결건조물 제제이다. 특정 구현예에서, 항체 접합체를 포함하는 약학적 조성물은 항체 접합체, 히스티딘, 수크로오스, 및 폴리소르베이트 20을 함유하는 바이알 안의 동결건조물이다. 특정 구현예에서, 항체 접합체를 포함하는 약학적 조성물은 항체 접합체, 석신산 나트륨, 및 폴리소르베이트 20을 함유하는 바이알 안의 동결건조물이다. 특정 구현예에서, 항체 접합체를 포함하는 약학적 조성물은 항체 접합체, 트레할로오스, 시트르산염, 및 폴리소르베이트 8을 함유하는 바이알 안의 동결건조물이다. 동결건조물은 주사를 위해 예를 들어 물, 염수를 사용하여 재구성될 수 있다. 특정 구현예에서, 용액은 약 5.0의 pH에서 항체 접합체, 히스티딘, 수크로오스, 및 폴리소르베이트 20을 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 용액은 항체 접합체, 석신산 나트륨, 및 폴리소르베이트 20을 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 용액은 약 6.6의 pH에서 항체 접합체, 트레할로오스 탈수화물, 시트르산염 탈수화물, 시트르산 및 폴리소르베이트 8을 포함한다. 정맥 내 투여를 위해, 수득된 용액은 통상적으로 담체 용액 중에 추가로 희석될 것이다.

[0941] 치료제에 대한 투여 계획을 선택하는 것은 물질의 혈청 또는 조직 전환율, 증상의 수준, 물질의 면역원성, 및 생물학적 매트릭스에서의 표적 세포의 접근 가능성을 포함한 여러 인자에 따라 달라진다. 특정 구현예에서, 투여 계획은 허용 가능한 부작용 수준과 일치하도록 환자에 전달되는 치료제의 양을 최대화한다. 따라서, 전달되는 생물제제의 양은 부분적으로 특정한 물질 및 치료되는 병태의 중증도에 따라 달라진다. 항체, 사이토카인 및 소분자의 적절한 용량을 선택하는 데 있어서 지침을 이용할 수 있다(예를 들어, 문헌[Wawrzynczak, Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK, 1996; Kresina (ed.), Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1991; Bach (ed.), Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1993; Baert et al., New Engl. J. Med. 348:601-608, 2003; Milgrom et al., New Engl. J. Med. 341:1966-1973, 1999; Slamon et al., New Engl. J. Med. 344:783-792, 2001; Beniaminovitz et al., New Engl. J. Med. 342:613-619, 2000; Ghosh et al., New Engl. J. Med. 348:24-32, 2003; Lipsky et al., New Engl. J. Med. 343 : 1594-1602, 2000] 참조).

[0942] 적절한 용량의 결정은, 예를 들어 치료에 영향을 미친다고 당해 분야에 공지되어 있거나 의심되는, 또는 치료에 영향을 미치리라 예상되는 파라미터 또는 인자를 사용하여, 임상시에 의해 이루어진다. 일반적으로, 용량은 최

적 용량보다 다소 적은 양으로 시작하고, 그 후 임의의 부정적 부작용에 비해 원하는 효과 또는 최적의 효과가 달성될 때까지 소량 증분으로 증가시킨다. 중요한 진단 척도는, 예를 들어 염증의 증상 또는 생산된 염증성 사이토카인의 수준의 척도를 포함한다.

- [0943] 본 발명의 약학적 조성물 중 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이 없으면서 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 원하는 치료 반응을 달성하는 데 효과적인 활성 성분의 양이 달성되도록 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용되는 본 발명의 특정한 조성물의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용되는 특정한 조성물과 조합되어 사용되는 기타 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료되는 환자의 연령, 성별, 체중, 병태, 전반적 건강 및 과거 병력, 및 의학 분야에 공지된 유사 인자를 포함한 다양한 약동학적 인자에 따라 달라질 것이다.
- [0944] 본 발명의 항체 접합체를 포함하는 조성물은 연속 주입에 의해, 또는 예를 들어 1일, 1주의 간격으로, 또는 1주에 1 내지 7회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 5주에 1회, 6주에 1회, 7주에 1회, 또는 8주에 1회의 용량으로 제공될 수 있다. 용량은 정맥 내, 피하, 또는 골 내로 제공될 수 있다. 구체적 용량 프로토콜은 유의미한 바람직하지 않은 부작용을 회피하는 최대 용량 또는 용량 빈도를 포함하는 것이다.
- [0945] 본 발명의 항체 접합체의 경우, 환자에 투여되는 투여량은 환자 체중 기준 0.0001 mg/kg 내지 100 mg/kg일 수 있다. 투여량은 환자 체중 기준 0.001 mg/kg 내지 50 mg/kg, 0.005 mg/kg 내지 20 mg/kg, 0.01 mg/kg 내지 20 mg/kg, 0.02 mg/kg 내지 10 mg/kg, 0.05 내지 5 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 8 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 5 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 2 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 1 mg/kg일 수 있다. 항체 접합체의 투여량은 투여될 용량(mg/kg 단위)을 곱한 환자 체중(킬로그램(kg) 단위)을 사용하여 계산될 수 있다.
- [0946] 본 발명의 항체 접합체의 용량은 반복될 수 있고, 투여는 1일 미만, 적어도 1일, 2일, 3일, 5일, 10일, 15일, 30일, 45일, 2개월, 75일, 3개월, 4개월, 5개월, 또는 적어도 6개월의 간격을 둘 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 접합체는 매주 2회, 매주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주에 1회, 또는 보다 덜 빈번하게 투여된다.
- [0947] 특정 환자에 대한 유효량은 인자 예컨대 치료될 병태, 환자의 전반적 건강, 투여 방법, 경로 및 용량, 그리고 부작용의 중증도에 따라 달라질 수 있다(예를 들어, 문헌[Maynard et al., A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla., 1996; Dent, Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UK, 2001] 참조).
- [0948] 투여 경로는, 예를 들어 국소 또는 피부 적용, 피하, 정맥 내, 복강 내, 뇌 내, 근육 내, 안 내, 동맥 내, 뇌척수 내, 병변 내 투여에 의한 주사 또는 주입, 또는 지효성 방출 시스템 또는 이식에 의한 것일 수 있다(예를 들어, 문헌[Sidman et al., Biopolymers 22:547-556, 1983; Langer et al., J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277, 1981; Langer, Chem. Tech. 12:98-105, 1982; Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692, 1985; Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034, 1980]; 미국 특허 번호 6,350,466 및 6,316,024 참조). 필요한 경우에, 조성물은 또한, 주사 부위에서의 통증을 경감하기 위해 가용화제 또는 국부 마취제, 예컨대 리도카인, 또는 둘 다를 포함할 수 있다. 또한, 폐 투여가, 예를 들어 흡입기 또는 네블라이저의 사용, 및 에어로졸화제를 사용한 제형화에 의해 이용될 수도 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,019,968, 5,985,320, 5,985,309, 5,934,272, 5,874,064, 5,855,913, 5,290,540, 및 4,880,078; 그리고 PCT 공개 번호 WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346, 및 WO 99/66903(이들 각각은 전체가 본 설명에 참조로 포함됨) 참조.
- [0949] 제2 치료제, 예를 들어 사이토카인, 스테로이드, 화학요법제, 항생제 또는 방사선(예컨대 전신 방사선 조사(TBI))을 이용한 공동 투여 또는 치료 방법은 당해 분야에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Hardman et al., (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10.sup.th ed., McGraw-Hill, New York, N.Y.; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.; Chabner and Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.] 참조). 유효량의 치료제는 증상을 적어도 10%; 적어도 20%; 적어도 약 30%; 적어도 40% 또는 적어도 50%만큼 감소시킬 수 있다.
- [0950] 본 발명의 항체 접합체와 조합하여 투여될 수 있는 추가 요법은 본 발명의 항체 접합체와 5분 미만의 간격, 30분 미만의 간격, 1시간 간격, 약 1시간 간격, 약 1 내지 약 2시간 간격, 약 2시간 내지 약 3시간 간격, 약 3시간 내지 약 4시간 간격, 약 4시간 내지 약 5시간 간격, 약 5시간 내지 약 6시간 간격, 약 6시간 내지 약 7시간

간격, 약 7시간 내지 약 8시간 간격, 약 8시간 내지 약 9시간 간격, 약 9시간 내지 약 10시간 간격, 약 10시간 내지 약 11시간 간격, 약 11시간 내지 약 12시간 간격, 약 12시간 내지 18시간 간격, 18시간 내지 24시간 간격, 24시간 내지 36시간 간격, 36시간 내지 48시간 간격, 48시간 내지 52시간 간격, 52시간 내지 60시간 간격, 60시간 내지 72시간 간격, 72시간 내지 84시간 간격, 84시간 내지 96시간 간격, 또는 96시간 내지 120시간 간격으로 투여될 수 있다. 2종 이상의 요법제는 1회의 동일한 환자 방문 내에서 투여될 수 있다.

[0951] 본 발명은 본 발명의 항체 접합체를 포함하는 약학적 조성물을 단독으로 또는 다른 요법과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에 투여하기 위한 프로토콜을 제공한다. 본 발명의 병용 요법의 요법은 대상체에 동시적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 병용 요법의 요법은 또한, 주기적으로 투여될 수 있다. 주기 요법은 요법(예를 들어, 작용제) 중 1종에 대한 내성 발생 감소, 요법(예를 들어, 작용제) 중 1종의 부작용 회피 또는 감소, 및/또는 요법의 효능 개선을 위하여, 일정 기간 동안 제1 요법의 투여에 이은 일정 기간 동안 제2 요법의 투여, 및 이러한 순차적인 투여, 즉, 주기의 반복을 포함한다.

[0952] 본 발명의 병용 요법의 요법은 대상체에 병행하여 투여될 수 있다.

[0953] 용어 "병행하여"는 정확히 동시에 요법을 투여하는 것으로 제한되는 것이 아니라, 오히려 본 발명의 항체 또는 항체 접합체가 다른 요법(들)과 함께 작용하여 이들이 달리 투여되는 경우보다 증가된 이익을 제공할 수 있도록 하는 순서 및 시간 간격 내에 본 발명의 항체 또는 이의 단편을 포함하는 약학적 조성물이 대상체에 투여되는 것을 의미한다. 예를 들어, 각각의 요법은 동시에 또는 상이한 시점에 임의의 순서로 순차적으로 대상체에 투여될 수 있지만; 동시에 투여되지 않는 경우, 이들은 원하는 치료 효과를 제공하도록 충분히 가까운 시간 내에 투여되어야 한다. 각각의 요법은 대상체에 임의의 적절한 형태로 및 임의의 적합한 경로에 의해 개별적으로 투여될 수 있다. 다양한 구현예에서, 요법은 5분 미만의 간격, 15분 미만의 간격, 30분 미만의 간격, 1시간 미만의 간격, 약 1시간 간격, 약 1시간 내지 약 2시간 간격, 약 2시간 내지 약 3시간 간격, 약 3시간 내지 약 4시간 간격, 약 4시간 내지 약 5시간 간격, 약 5시간 내지 약 6시간 간격, 약 6시간 내지 약 7시간 간격, 약 7시간 내지 약 8시간 간격, 약 8시간 내지 약 9시간 간격, 약 9시간 내지 약 10시간 간격, 약 10시간 내지 약 11시간 간격, 약 11시간 내지 약 12시간 간격, 24시간 간격, 48시간 간격, 72시간 간격, 또는 1주 간격으로 대상체에 투여된다. 다른 구현예에서, 2종 이상의 요법은 동일한 환자 방문 내에서 투여된다.

[0954] 병용 요법은 대상체에 동일한 약학적 조성물로 투여될 수 있다. 대안적으로, 병용 요법의 치료제는 대상체에 별도의 약학적 조성물로 병행하여 투여될 수 있다. 치료제는 동일한 또는 상이한 투여 경로에 의해 대상체에 투여될 수 있다.

[0955] 본 명세서에 기술된 실시예 및 구현예는 단지 설명의 목적을 위한 것이며, 그에 대한 다양한 변형 또는 변경이 당업자에게 제시될 것이며, 본 출원의 사상 및 범위 및 첨부된 청구항의 범주 내에 포함됨이 이해된다.

[0956] 실시예

[0957] 실시예 1: 항-cKIT ADC의 생성

[0958] 위치 특이적 시스템인 돌연변이가 있거나 없는 항-cKit 항체 및 항체 단편의 제조

[0959] 이전에 W02014150937 및 W02016020791에 기술된 바와 같이 인간 항-cKIT 항체 및 항체 단편을 생성하였다.

[0960] 항-cKit 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA를 파지 디스플레이 기반 스크린에서 단리한 벡터로부터 증폭시키고, 인간 IgG1 중쇄 및 인간 카파 경쇄 또는 람다 경쇄의 불변 영역을 함유하는 포유동물 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 벡터는 CMV 프로모터 및 신호 펩티드(중쇄용 MPLLLLLPLLWAGALA(서열번호 151) 및 경쇄용 MSVLQVLALLLWLTGTRC(서열번호 152)), 그리고 박테리아 숙주, 예컨대 대장균 DH5알파 세포에서의 증폭, 포유동물 세포, 예컨대, HEK293 세포에서의 일시적 발현, 또는 포유동물 세포, 예컨대, CHO 세포 내로의 안정적인 형질감염을 위한 신호 및 선별 서열을 함유한다. Cys 돌연변이를 도입하기 위하여, 중쇄 또는 경쇄 암호화 서열의 불변 영역의 특정 위치에서 단일 Cys 잔기들을 치환하도록 설계된 올리고를 이용하여 위치 특이적 돌연변이 유발 PCR을 수행하였다. Cys 치환 돌연변이의 예는 중쇄의 E152C 또는 S375C; 카파 경쇄의 E165C 또는 S114C; 또는 람다 경쇄의 A143C(모두 EU 넘버링)이다. 일부 경우, 2개 이상의 Cys 돌연변이가 조합하여 다중 Cys 치환을 가진 항체, 예를 들어, HC-E152C-S375C, 람다 LC-A143C-HC-E152C, 카파 LC-E165C-HC-E152C, 또는 카파 LC-S114C-HC-E152C(모두 EU 넘버링)를 제조하였다. 항체 단편을 암호화하는 플라스미드를 생성하기 위하여, 중쇄 불변 영역의 일부를 제거하거나 변형하도록 설계된 올리고를 이용하여 돌연변이 유발 PCR을 수행하였다. 예를 들어, Fab 단편을 위한 발현 구성체 제조를 위하여 잔기 221(EU 넘버) 바로 다음에 정지 코돈이 암호화되도록 PCR을 수행하여 중쇄 불변 영역의 잔기 222 내지 447(EU 넘버링)을 제거하였다. 예를 들어, IgG1 힌지의 두 개

의 Cys 잔기를 포함하는 Fab' 단편을 위한 발현 구성체 제조를 위하여 잔기 232(EU 넘버) 바로 다음에 정지 코돈이 암호화되도록 PCR을 수행하여 중쇄 불변 영역의 잔기 233 내지 447(EU 넘버링)을 제거하였다.

[0961] 이전에 기술된 바와 같이 일시적 형질감염 방법을 이용하여 중쇄 및 경쇄 플라스미드를 공동 형질감염시켜 항-cKit 항체, 항체 단편, 및 Cys 돌연변이 항체 또는 항체 단편을 293 Freestyle™ 세포에서 발현시켰다 (Meissner, *et al.*, *Biotechnol Bioeng.* 75:197-203 (2001)). 단백질 A, 단백질 G, Capto-L 또는 LambdaFabSelect 수지와 같은 적당한 수지를 이용한 일반 친화도 크로마토그래피 방법으로 발현된 항체를 세포 상청액으로부터 정제하였다. 대안적으로, 중쇄 벡터 및 경쇄 벡터를 CHO 세포 내로 공동 형질감염시켜 항-cKit 항체, 항체 단편, 및 Cys 돌연변이 항체 또는 항체 단편을 CHO에서 발현시켰다. 세포 선별을 거친 다음, 안정적으로 형질감염된 세포를 항체 생산에 최적화된 조건 하에 배양하였다. 위에 기술된 바와 같이 세포 상청액으로부터 항체를 정제하였다.

[0962] **항-cKit 항체 및 항체 단편의 환원, 재산화 및 독소에 대한 접합**

[0963] 항체 또는 항체 단편 상의 티올 기(Cys 측쇄)에 대한 반응을 위한 반응성 모이어티, 예컨대, 말레이미드 기, 기술된 바와 같은 링커, 및 기능성 모이어티, 예컨대, 아우리스타틴 또는 기타 독소로 구성된 화합물을 이전에 기술된 (예컨대, W02014124316, W02015138615, Junutula JR, *et al.*, *Nature Biotechnology* 26:925-932 (2008) 의) 방법을 이용하여 네이티브 Cys 잔기 또는 항체 내로 조작된 Cys 잔기에 접합시켰다.

[0964] 포유동물 세포에서 발현된 항체 내의 조작된 Cys 잔기는 생합성 중에 부가물(이황화물) 예컨대 글루타티온(GSH) 및/또는 시스테인에 의해 변형되기 때문에(Chen *et al.* 2009), 처음에 발현된 변형된 Cys는 티올 반응성 시약, 예컨대 말레이미드 또는 브로모- 아세트아미드 또는 요오도-아세트아미드 기에 대해 비반응성이다. 조작된 Cys 잔기를 접합시키기 위하여, 글루타티온 또는 시스테인 부가물은 이황화물을 환원시켜 제거될 필요가 있으며, 이는 일반적으로 발현된 항체 내의 모든 이황화물을 환원시키는 것을 수반한다. 항체 및 항체 단편 내의 네이티브 Cys 잔기는 일반적으로 항체 또는 항체 단편 내의 다른 Cys 잔기에 대해 이황화 결합을 형성하므로, 이들 또한, 이황화물이 환원될 때까지 티올 반응성 시약에 대해 비반응성이다. 이황화물의 환원은 먼저 항체를 환원제, 예컨대, 디티오프로판(DTT), 시스테인, 또는 트리스(2-아복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드(TECP-HCl)에 노출 시킴으로써 달성될 수 있다. 선택적으로, 이 환원제는 제거되어 항체 또는 항체 단편의 모든 네이티브 이황화 결합의 재산화를 가능하게 하여 기능적 항체 구조를 복구 및/또는 안정화할 수 있다.

[0965] 항체 또는 항체 단편이 조작된 Cys 잔기에서만 접합된 경우, 네이티브 이황화 결합 및 조작된 Cys 잔기(들)의 시스테인 또는 GSH 부가물 사이의 이황화 결합을 환원시키기 위하여, 정제된 Cys 돌연변이 항체에 새로 제조된 DTT를 10 mM 또는 20 mM의 최종 농도까지 첨가하였다. 항체를 DTT와 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션 한 후, 혼합물을 PBS에 대해 3일 동안 매일 완충액을 교환하면서 투석하여 DTT를 제거하고, 네이티브 이황화 결합을 재산화시켰다. 개별 중쇄 및 경쇄 분자로부터 항체 사량체를 분리할 수 있는 역상 HPLC로 재산화 과정을 모니터링하였다. 반응물을 80°C로 가열된 PRLP-S 4000A 컬럼(50 mm x 2.1 mm, Agilent) 상에서 분석하고, 1.5 ml/분의 유속에서 0.1% TFA를 함유하는 물 중 30 내지 60% 아세트니트릴의 선형 구배에 의해 컬럼 용리를 수행하였다. 컬럼으로부터의 단백질의 용리를 280 nm에서 모니터링하였다. 재산화가 완료될 때까지 투석을 지속하도록 하였다. 재산화는쇄 내 및쇄 간 이황화물을 복구시키고, 투석은 새로 도입된 Cys 잔기(들)에 연결된 시스테인 및 글루타티온이 투석에 의해 분리되도록 한다. 재산화 후에, 말레이미드를 함유하는 화합물을 조작된 Cys에 대해 전형적으로 1.5:1, 2:1, 또는 5:1의 비율로 PBS 완충액(pH 7.2) 중의 재산화된 항체 또는 항체 단편에 첨가하고, 인큐베이션을 1시간 동안 수행하였다. 전형적으로, 과량의 유리 화합물을 표준 방법에 의한 단백질 A 또는 기타 적절한 수지 상 정제에 이은 PBS로의 완충액 교환에 의해 제거하였다.

[0966] 대안적으로, 조작된 Cys 위치를 가진 항체 또는 항체 단편을 환원시키고, 수지 상 방법을 이용하여 재산화시켰다. 단백질 A 세파로스 비드(10 mg 항체당 1 ml)를 PBS(칼슘 또는 마그네슘 염 무함유) 내에서 평형화시킨 다음, 회분식 모드로 항체 샘플에 첨가하였다. 250 ml의 0.5 M 인산나트륨 pH 8.0에 3.4 g의 NaOH를 첨가하여 제조한 용액 10 ml 중에 850 mg의 시스테인 HCl을 용해시켜 0.5 M 시스테인 스톡을 제조한 다음, 20 mM 시스테인을 항체/비드 슬러리에 첨가하고, 실온에서 30 내지 60분 동안 부드럽게 혼합하였다. 비드를 중력 컬럼에 로딩하고, 30분 미만 내에 50베드 부피의 PBS로 세척하였다. 그런 다음, 컬럼을 1베드 부피의 PBS 중에 재현탁된 비드로 캡핑하였다. 재산화의 속도를 조정하기 위하여, 50 nM 내지 1 μM 염화구리를 선택적으로 첨가하였다. 수지의 작은 시험 샘플을 제거하고, IgG 용리 완충액(Thermo) 중에서 용리시키고, 위에 기술된 바와 같은 RP-HPLC로 분석하여 재산화 진행을 모니터링하였다. 원하는 완성도까지 재산화가 진행되면, 조작된 시스테인에 대한 2 내지 3몰 과량의 화합물 첨가에 의해 접합이 즉시 개시될 수 있었고, 혼합물을 실온에서 5 내지 10분 동안

반응하게 한 후, 컬럼을 적어도 20컬럼 부피의 PBS로 세척하였다. 항체 접합체를 IgG 용리 완충액으로 용리시키고, 0.1부피 0.5 M 인산나트륨 pH 8.0로 중화시키고, PBS로 완충액 교환시켰다. 일부 경우, 수지 상의 항체와의 접합을 개시하는 대신에, 컬럼을 적어도 20컬럼 부피의 PBS로 세척하고, 항체를 IgG 용리 완충액으로 용리시키고, 완충액 pH 8.0으로 중화시켰다. 그런 다음, 항체를 접합 반응에 사용하거나 또는 향후 사용을 위해 급속 동결시켰다.

[0967] 일부 경우에, 네이티브 Cys 잔기, 예컨대, 보통 중쇄 대 경쇄 쇄 간 이황화 결합을 형성하는 네이티브 Cys 잔기 및 조작된 Cys 잔기의 부존재 하에 보통 중쇄 대 경쇄 쇄 간 이황화 결합을 형성하는 항체의 힌지 영역 내의 Cys 잔기에 접합시키는 것이 바람직하고, 또는 동시에 접합은 조작된 Cys 잔기들도 대상으로 하였다. 이러한 경우, 5배 과량의 TCEP를 이황화 결합에 첨가하여 항체 또는 항체 단편을 환원시키고, 샘플을 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션 시켰다. 그런 다음, 샘플을 즉시 접합시키거나 향후 접합을 위해 < -60℃에서 동결시켰다. 말레이미드를 함유하는 화합물을 접합에 사용된 Cys 잔기에 대해 전형적으로 2:1의 비율로 PBS 완충액(pH 7.2) 중의 항체 또는 항체 단편에 첨가하고, 인큐베이션을 1시간 동안 수행하였다. 일반적으로, 컬럼을 탈염시킨 후, PBS로 더욱 광범위하게 완충액을 교환하여 과량의 유리 화합물을 제거하였다.

[0968] 항체 또는 항체 단편을 아민 반응 기, 예컨대, NHS 에스테르 또는 테트라플루오로페닐 에스테르를 포함하는 링커-약물 화합물(예컨대, 화합물 (7), SMCC-DM1, 설폰-SPDB-DM4 또는 SPDB-DM4)과 반응시켜 리신 잔기에 대한 접합체를 제조할 수 있다. 예로서, 화합물 (7)을 항-HER2 Fab-HC-E152C 상의 리신 잔기에 접합시켰다. 구체적으로, HEK293 세포에서의 일시적인 형질감염에 의해 항-HER2 Fab-HC-E152C를 발현시켰다. capto-L(GE Healthcare) 친화도 정제에 의해 배지로부터 Fab를 포획하고, IgG 용리 완충액(Pierce) 중에 용리시키고, 초농축기(Amicon)에 의해 PBS로 완충액 교환하였다. Fab 용액(5.8 mg/ml)에 2배 물 과량의 화합물 (7)을 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 30분 동안 인큐베이션 시킨 다음, 혼합물을 50 mM 트리스 pH 8로 렌치시켰다. 그런 다음, 생성된 접합체를 PBS 중에서 분취 SEC로 정제하였다.

[0969] 전장 항체로부터 항체 단편의 생성

[0970] 일부 경우에, 발현 생성물이 항체 단편이 되도록 위에 기술된 바와 같이 항체 중쇄 암호화 서열의 유전자 조작에 의해 항체 단편을 생성하였다. 다른 경우에는, 전장 항체의 효소적 소화에 의해 항체를 생성하였다.

[0971] 출발 항체의 잔기 1 내지 222(EU 넘버링)를 포함하는 Fab 단편을 생성하기 위하여, 제조사의 프로토콜에 따라 고정화 파파인 수지(ThermoFisher Scientific)로 전체 항체를 처리하였다. 간략하게는, pH 7.0까지 조정된 새롭게 용해된 20 mM 시스테인-HCl의 소화 완충액 중에 평형화시켜 고정화 파파인 수지를 제조한다. 항체를 대략 10 mg/ml까지 조정하고, 소화 완충액으로 완충액 교환하고, 수지 ml당 4 mg IgG의 비율로 수지에 첨가하고, 37℃에서 5 내지 7시간 동안 인큐베이션 시킨다. 그런 다음, 수지를 제거하고, 항체 단편을 적당한 친화도 수지로 정제한다. 예를 들어, 온전한 IgG 및 Fc 단편은 단백질 A 수지에 대한 결합에 의해 Fab 단편으로부터 분리된다. 또는, 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분리가 수행된다.

[0972] 출발 항체의 잔기 1 내지 236(EU 넘버링)을 포함하는 F(ab')₂ 단편을 생성하기 위하여, 전체 항체를 단백질 가수분해 효소로 처리하였다. 간략하게는, 항체를 대략 10 mg/ml로 PBS에 제조한다. 효소를 1:100 중량/중량 비로 첨가하고, 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션시킨다. 항체 단편을 적당한 친화도 수지로 정제한다. 예를 들어, 온전한 IgG 및 Fc 단편은 단백질 A 수지에 대한 결합에 의해 Fab 단편으로부터 분리된다. 또는, 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분리가 수행된다.

[0973] 항-cKit-독소 항체 및 항체 단편 접합체의 성질

[0974] 접합 정도를 결정하기 위하여 항체 및 항체 단편 접합체를 분석하였다. 환원 및 (적당한 경우) 탈글리코실화 샘플에 대해 LC-MS 데이터로부터 화합물 대 항체 비율을 외삽하였다. LC/MS는 접합체 샘플 내의 항체에 부착된 링커-페이로드(화합물)의 평균 분자수의 정량화를 가능하게 한다. 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)는 항체를 경쇄 및 중쇄로 분리하고, 환원 조건 하에서 쇄당 링커-페이로드 기의 수에 따라 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)로 분리한다. 질량 스펙트럼 데이터는 혼합물 중 성분 중, 예를 들어 LC, LC+1, LC+2, HC, HC+1, HC+2 등의 확인을 가능하게 한다. LC 및 HC 쇄 상의 평균 로딩으로부터, 평균 화합물 대 항체 비율을 항체 접합체에 대해 계산할 수 있다. 주어진 접합체 샘플에 대한 화합물 대 항체 비율은 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 함유하는 사량체 항체에 부착된 화합물(링커-페이로드) 분자의 평균 개수를 나타낸다.

[0975] 접합체를 분석용 크기 배제 크로마토그래피(AnSEC)를 사용하여 Superdex 200 10/300 GL(GE Healthcare) 및/또는 단백질 KW-803 5 μm 300 x 8 mm (Shodex) 컬럼 상에 프로파일링하고; 응집을 분석용 크기 배제 크로마토그

래피에 기초하여 분석하였다.

[0976] **예시적 항-cKIT Fab'-독소 접합체의 제조**

[0977] 항-cKIT Fab'-독소 DAR4 접합체 또는 항-Her2 Fab'-독소 DAR4 대조군 접합체를 생성하기 위하여, 50 mg 전체 IgG(WT, 도입된 시스테인 없음)를 단백질 가수분해 효소로 소화시켰다. F(ab')₂ 단편을 Superdex-S200(GE Healthcare) 컬럼 상에서 SEC로 정제하였다. 대안적으로, 항-HER2 대조군 접합체 또는 항-cKit Fab'-독소 DAR4 접합체를 생성하기 위하여, Fab' HC를 암호화하는 벡터를 Fab' LC를 암호화하는 벡터와 함께 CHO에 공동 형질감염시켰다. 발현된 Fab'를 단백질 G 수지 상에서의 포획에 의해 정제하였다. TCEP(쇄 간 이황화물에 대해 5x 과량)를 첨가하여 F(ab')₂ 또는 Fab'를 환원시키고, 즉시 본 발명의 화합물(유리 Cys 잔기에 대해 2.5x 과량)과 반응시켰다. 반응을 RP-HPLC로 모니터링하고, 반응이 완료될 때까지 추가 1x 당량의 화합물을 첨가하였다. PD10 탈염 컬럼(GE Healthcare)으로 유리 화합물을 제거하였다. DAR은 실험적으로 ≥3.9인 것으로 확인되었다. 제공된 실시예에서 추가 연구된 특정 접합체를 표 2에 열거하였다.

[0978] 항-cKIT Fab'-독소 DAR2 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab HC(E152C가 있는 HC 1 내지 221, EU 넘버링에 의함)를 암호화하는 벡터를, 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab LC(카파 LC K107C, 카파 LC S114C, 또는 카파 LC E165C, EU 넘버링에 의함)를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질감염시켰다. 항-Her2 Fab'-독소 DAR2 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab HC(EU 넘버링에 의한, E152C가 있는 HC 1 내지 222, 및 C 말단 His₆ 태그(서열번호 162))를 암호화하는 벡터를, 도입된 Cys 잔기가 있는 Fab LC(카파 LC K107C, 카파 LC S114C, 또는 카파 LC E165C, EU 넘버링에 의함)를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질감염시켰다. 발현된 Fab를 Capto-L 수지(GE Healthcare) 상에서의 포획 및 표준 IgG 용리 완충액(Thermo)으로의 용리에 의해 정제하였다. Amicon 울트라 장치를 이용하여 Fab를 PBS로 완충액 교환하였다. Fab를 DTT로 환원시키고, 실온에서 재산화되게 하였다. 쇄 간 이황화 결합 형성 후, Fab를 화합물 6(유리 Cys 잔기에 대해 3x 과량)에 접합시켰다. 실온에서 30분 동안 반응이 진행되도록 하고, 310 nm에서의 검출과 함께 RP-HPLC로 모니터링하였다. 접합된 Fab를 단백질 A(항-her2) 또는 capto-L(항-cKit) 수지 상에서 정제하고, PBS + 1 % 트리톤 X-100으로 세척하고, 과량의 PBS로 세척한 후, IgG 용리 완충액 중에서 용리시켰다. 그런 다음, Amicon 울트라 장치를 이용하여 Fab를 PBS로 완충액 교환하였다. 제공된 실시예에서 추가 연구된 특정 접합체를 실험에 의해 결정한 DAR 값과 함께 아래 표 2에 열거하였다.

[0979] 항-cKIT F(ab')₂-독소 DAR2 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기(EU 넘버링에 의한 E152C 및 S375C)가 있는 HC를 암호화하는 벡터를, Fab LC를 암호화하는 벡터와 함께 CHO에 공동 형질감염시켰다. 항-Her2 F(ab')₂-독소 DAR2 대조군 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기(EU 넘버링에 의한 E152C 및 S375C)가 있는 HC를 암호화하는 벡터를, Fab LC를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질감염시켰다. 발현된 IgG를 단백질 A 또는 mabselectsure 수지(GE Healthcare) 상에서의 포획 및 표준 IgG 용리 완충액(Thermo)으로의 용리에 의해 정제하였다. 전체 IgG를 실온에서 DTT로 환원시키고, RP-HPLC에 의해 모니터링한 바와 같이 DTT를 제거한 후 재산화시켰다. 그런 다음, 재산화된 IgG를 단백질 가수분해 효소로 소화시켜 F(ab')₂ 단편을 생성하였다. 항-cKIT 단편의 경우, Amicon 울트라 장치를 이용하여 F(ab')₂를 PBS로 완충액 교환하였다. 항-HER2 단편의 경우, F(ab')₂ 분획을 분취 HIC로 농축한 다음, Amicon 울트라 장치를 이용하여 PBS로 완충액 교환하였다. F(ab')₂를 화합물 4 또는 화합물 5(유리 Cys 잔기에 대해 4x 과량)에 접합시켰다. 실온에서 30분 동안 반응이 진행되도록 하고, 310 nm에서의 검출과 함께 RP-HPLC로 모니터링하였다. 접합된 F(ab')₂를 capto-L(항-cKit Ab3) 수지 상에서 정제하고, PBS + 1 % 트리톤 X-100으로 세척하고, 과량의 PBS로 세척한 후, IgG 용리 완충액 중에서 용리시키거나 분취 SEC로 용리시켰다(항-her2 및 항-cKIT Ab4). 그런 다음, F(ab')₂를 농축하고, Amicon 울트라 장치를 이용하여 PBS로 완충액 교환하였다. 제공된 실시예에서 추가 연구된 특정 접합체를 실험에 의해 결정한 DAR 값과 함께 아래 표 2에 열거하였다.

[0980] 항-cKIT Fab'-독소 DAR1 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기(EU 넘버링에 의한 E152C)가 있는 HC를 암호화하는 벡터를, Fab LC를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질감염시켰다. 발현된 IgG를 단백질 A 수지(GE Healthcare) 상에서의 포획 및 표준 IgG 용리 완충액(Thermo)으로의 용리에 의해 정제하였다. 전체 IgG를 실온에서 DTT로 환원시키고, RP-HPLC에 의해 모니터링한 바와 같이 DTT를 제거한 후 재산화시켰다. IgG를 고정화 파파인(Thermo)으로 소화시켜 Fab 단편을 생성하였다. Amicon 울트라 장치를 이용하여 Fab를 PBS로 완충액 교환하였다. Fab를 화합물 4(유리 Cys 잔기에 대해 4x 과량)에 접합시켰다. 실온에서 30분 동안 반응이 진행되

도록 하고, 310 nm에서의 검출과 함께 RP-HPLC로 모니터링하였다. 접합된 Fab를 PBS 중에서 분취 SEC로 정제하였다.

[0981] 항-Her2 Fab-독소 DAR1 대조군 접합체를 생성하기 위하여, 도입된 Cys 잔기(EU 넘버링에 의한 E152C)가 있는 Fab HC를 암호화하는 벡터를, Fab LC를 암호화하는 벡터와 함께 HEK293에 공동 형질감염시켰다. 발현된 Fab를 Capto-L 수지(GE Healthcare) 상에서의 포획 및 표준 IgG 용리 완충액(Thermo)으로의 용리에 의해 정제하였다. Amicon 울트라 장치를 이용하여 Fab를 PBS로 완충액 교환하였다. Fab를 화합물 7(Fab에 대해 2x 몰 과량)에 접합시켰다. 실온에서 30분 동안 반응이 진행되도록 하고, 310 nm에서의 검출과 함께 RP-HPLC로 모니터링하였다. 접합을 50 mM 트리스 pH 8.0으로 켄치시켰다. 접합된 Fab를 PBS 중에서 분취 SEC로 정제하였다.

표 2

예시적 항-ckIT 또는 대조군 접합체

접합체 번호	항체 단편	접합 방법	항체 단편 HC 서열	항체 단편 LC 서열	페이로드	DAR
J1	항-ckIT Fab'1	네이티브 시스테인 접합*	서열번호 14	서열번호 25	화합물 (1)	4
J2	항-ckIT Fab'2	네이티브 시스테인 접합	서열번호 40	서열번호 49	화합물 (1)	4
J3	항-ckIT Fab'3	네이티브 시스테인 접합	서열번호 58	서열번호 25	화합물 (1)	4
J4	항-ckIT Fab'4	네이티브 시스테인 접합	서열번호 73	서열번호 84	화합물 (1)	4
J5	항-ckIT Fab'5	네이티브 시스테인 접합	서열번호 99	서열번호 110	화합물 (1)	4
J6	항-Her2 Fab'	네이티브 시스테인 접합	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAV YYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAA	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK	화합물 (1)	4

[0982]

			LGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELL G (서열번호 146)	VDNALQSGNSOES VTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKH KVVACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC (서열번호 147)		
J7	항-cKIT Fab3	HC-E152C 및 LC- E165C(EU)에 서 조작된 시스테인	서열번호 130	서열번호 134	화합물 (6)	1.7
J8	항-Her2 Fab	HC-E152C 및 LC- K107C(EU)에 서 조작된 시스테인	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASG FNIKDTYIHWRQA PGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKG RFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAV YYCSRWGGDGFY AMDYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLY SLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCD KHHHHHHH (서열번호 148)	DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITICRASQ DVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFL YSGVPSRFSGSRS GTDFTLTISLQPE DFATYYCOQHYTT PPTFGQGTKEICR TVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSOES VTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKH KVVACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC (서열번호 149)	화합물 (6)	1.8
J9	항-cKIT F(ab'4) ₂	HC- E152C(EU)에 서 조작된 시스테인	QVQLQQSGPGLVK PSQTLSTCAISGD SVSTNSAAWNWR QSPSRGLEWLGRI YYRSQWLNDYAVS VKSRITINPDTSKN QFSLQLNSVTPED TAVYYCARQLTYP YTVYHKALDVWGQ GTLVTVSSastkgpsv fplapsskstsgtaalgcl vkdypfpvptvswngal tsgvhtfpavlgssglysls svvtvpsssgtqtyicnv hkpsntkvdkrvepkscd kthtppcpapellg (서열번호 153)	서열번호 84	화합물 (4)	1.9
J10	항-cKIT F(ab'3) ₂	HC- E152C(EU)에 서 조작된 시스테인	QVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSKASG GTFSSYAISWVRQ APQGQLEWMGTIG	서열번호 25	화합물 (5)	2

[0983]

			PFEQGPRYAQKFQ GRVTITADESTSTA YMESSLRSEDTA VYYCARGGYISDF DVWGQGLTVTVSS astkgpsvflapssksts ggtaalgclvdyfpQpvt vswngaltsgvhtfpavl qssglyslssvvtvpssslg tqtyicnvnhkpsntkvdK rvepkscdkthtppcpa pellg (서열번호 154)			
J11	항-ckIT Fab3	HC- E152C(EU)에 서 조작된 시스테인	QVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASG GTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGTIG PFEQGPRYAQKFQ GRVTITADESTSTA YMESSLRSEDTA VYYCARGGYISDF DVWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGC LVKDYFPpPVTVS WNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTOT YICNVNHNKPSNTKV DKKVEPKSCDKTH (서열번호 155)	서열번호 25	화합물 (4)	0.9
J12	항-Her2 F(ab') ₂	HC- E152C(EU)에 서 조작된 시스테인	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASG FNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKQ RFTISADTSKNTAY QMNSLRRAEDAV YYCSRWGGDGFY AMDYWGQGLTVT VSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPpPV TVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHNKPSN TKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELL G (서열번호 156)	서열번호 147	화합물 (4)	1.7
J13	항-Her2 Fab	HC- E152C(EU)에 서 조작된 시스테인	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASG FNIKDTYIHWVRQA	서열번호 147	화합물 (7)	0.9

[0984]

			PGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKG RFTISADTSKNTAY LOMNSLRAEDTAV YYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTTLVT VSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCD K (서열번호 157)			
J14	항-cK1T Fab'1	네이티브 시스테인 접합	서열번호 14	서열번호 25	mc-MMAF	4
J15	항-cK1T Fab'1	네이티브 시스테인 접합	서열번호 14	서열번호 25	화합물 (5)	4
J16	항-cK1T Fab'1	네이티브 시스테인 접합	서열번호 14	서열번호 25	화합물 (2)	4
J17	항-cK1T Fab'2	네이티브 시스테인 접합	서열번호 40	서열번호 49	mc-MMAF	4
J18	항-cK1T Fab'2	네이티브 시스테인 접합	서열번호 40	서열번호 49	화합물 (5)	4
J19	항-cK1T Fab'2	네이티브 시스테인 접합	서열번호 40	서열번호 49	화합물 (2)	4
J20	항-cK1T Fab'3	네이티브 시스테인 접합	서열번호 132	서열번호 25	mc-MMAF	4
J21	항-cK1T Fab'3	네이티브 시스테인 접합	서열번호 58	서열번호 25	화합물 (5)	4
J22	항-cK1T Fab'3	네이티브 시스테인 접합	서열번호 132	서열번호 25	화합물 (2)	4
	항-cK1T Fab4	HC- E152C(EU)	QVQLQQSGPGLVK PSQTLSTCAISGD SVSTNSAAWNWR QSPSRGLEWLGRI YYRSQWLNDYAVS VKSRITINPDTSKN QFSLQLNSVTPED TAVYYCARQLTYP YTVYHKALDVWGQ GTLVTVSSastkgpsv fplapsskstsggtaalgcl	서열번호 84	없음	

[0985]

			vkdyfpCpvtvswngal tsgvhtfpavlgssgylsis svvtvpsssgltqtyicnvn hkpsntkvdkrvpekscd k (서열번호 158)			
	항-cKIT Fab1	HC- E152C(EU)	QVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCA SGGTFSSYAISW VRQAPGQGLEW MGVIFPAEGAPG YAQKFQGRVTIT ADESTSTAYMEL SSLRSEDTAVYY CARGGYISDFDV WGQGLTVTVSSa stkgpsvfpapssksts ggtaalgclvkdypCp vtvswngaltsgvhtfp avlgssgylsisvvtvp sssgltqtyicnvnhkps ntkvdkrvpekscdk (서열번호 159)	서열번호 25	없음	
	항-cKIT Fab2	HC- E152C(EU)	QVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCA SGGTFSSHLSW VRQAPGQGLEW MGGIIPSGTADY AQKFQGRVTITA DESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYC ARGLYDFDYWG QGTLTVTVSSastkg psvfpapsskstsrgt aalgcclvkdypCpvtv swngaltsgvhtfpavl qssgylsisvvtvpss lgtqtyicnvnhkpsntk vdkrvpekscdk (서열번호 160)	서열번호 49	없음	
	항-cKIT Fab3	HC- E152C(EU)	QVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCA SGGTFSSYAISW VRQAPGQGLEW MGITGPFEGQPR YAQKFQGRVTIT ADESTSTAYMEL SSLRSEDTAVYY CARGGYISDFDV WGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAP	서열번호 25	없음	

[0986]

			SSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLOSSG LYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKV EPKSCDK (서열번호 161)			
	항-Her2 Fab	HC- E152C(EU)	서열번호 157	서열번호 147	없음	
	항-cKIT Fab'5	네이티브 시스테인 결합	서열번호 143	서열번호 110	화합물 (1)	3.9
	항-cKIT Fab'5	네이티브 시스테인 결합	서열번호 143	서열번호 110	화합물 (1)	3.7
	항-cKIT Fab'5	네이티브 시스테인 결합	서열번호 143	서열번호 110	mc-MMAF	4
JW	항-cKIT Fab'2	네이티브 시스테인 결합	서열번호 126	서열번호 49	화합물 (1)	3.9
JX	항-cKIT Fab'2	네이티브 시스테인 결합	서열번호 126	서열번호 49	mc-MMAF	3.9
JY	항-cKIT Fab'3	네이티브 시스테인 결합	서열번호 132	서열번호 25	화합물 (1)	3.9
JZ	항-cKIT Fab'3	네이티브 시스테인 결합	서열번호 132	서열번호 25	mc-MMAF	3.9
* 네이티브 Cys 결합은 약물이 LC-214C 및 HC-220C-226C-229C(모든 위치는 EU 넘버링에 의해)로부터 선택된 네이티브 시스테인 잔기 중, 1개 이상에서 항체 단편에 부착됨을 의미한다.						

[0987]

[0988]

실시예 2: 결합 분석을 위한 인간, 시노물구스, 마우스 및 랫트 cKIT 세포 외 도메인 단백질 및 cKIT 하위 도메인 1 내지 3 및 4 내지 5의 생성

[0989] 인간, 마우스 및 랫트 cKIT 세포 외 도메인(ECD)은 GenBank 또는 Uniprot 데이터베이스로부터의 아미노산을 기초로 하여 유전자 합성하였다(아래 표 3 참조). 시노물구스 cKIT 및 1 ECD cDNA 주형은 다양한 시노물구스 조직으로부터의 mRNA를 이용하여 생성된 아미노산 서열 정보를 기초로 하여 유전자 합성하였다(예컨대, Zyagen Laboratories; 아래 표 4). 모든 합성된 DNA 단편을 정제를 허용하는 C 말단 태그와 함께 적절한 발현 벡터, 예컨대, hEF1-HTLV 기반 벡터(pFUSE-mIgG2A-Fc2) 내로 클로닝하였다.

표 3

인간, 마우스, 랫트 cKIT 구성체의 서열

명칭	설명	수탁번호	서열번호
인간 cKIT D1-5(세포 외 도메인)	인간 cKIT tr. 변이체 2, 잔기 26-520-TAG QPSVSPGEPSPPSIHPGKSDLIVRVGDEI RLLCDTPGFVKWTFEILDETENKQNEW ITEKAEATNTGKYTCTNKHGLSNSIYFV RDPAKLFLVDRSLYGKEDNDTLVRCPLT DPEVTNYSKGCQGKPLPKDLRFIPDPK AGIMIKSVKRAYHRLCLHCSVDQEGKSV LSEKFILKVRPAFKAVPVVSVSKASYLLR EGEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKRENSQ TKLQEKYNSWHHGDFNYERQATLTISSA RVNDSGVFMCYANNTFGSANVTTTLEV DKGFNIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEYE AFPKPEHQWYIMNRTFTDKWEDYPKS ENESNIRYVSELHLRLKGTEGGTYTFLV SNSDVNAIAFNVYVNTKPEILTYDRLVN GMLQCVAAGFPEPTIDWYFCPGTEQRC SASVLPVDVQTLNSSGPPFGKLVVQSSI DSSAFKHNGTVECKAYNDVGKTSAYFNF AFKEQIHPHTLFTPRSHHHHHH	NM_001093772	112
인간 cKIT D1-3	인간 cKIT tr. 변이체 1, 잔기 26-311-TAG QPSVSPGEPSPPSIHPGKSDLIVRVGDEI RLLCDTPGFVKWTFEILDETENKQNEW ITEKAEATNTGKYTCTNKHGLSNSIYFV RDPAKLFLVDRSLYGKEDNDTLVRCPLT DPEVTNYSKGCQGKPLPKDLRFIPDPK AGIMIKSVKRAYHRLCLHCSVDQEGKSV LSEKFILKVRPAFKAVPVVSVSKASYLLR EGEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKRENSQ TKLQEKYNSWHHGDFNYERQATLTISSA RVNDSGVFMCYANNTFGSANVTTTLEV DKGRSHHHHHH	NM_000222	113
인간 cKIT D4-5	인간 cKIT tr. 변이체 1, 잔기 311-524-TAG GFNIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEYEA PKPEHQWYIMNRTFTDKWEDYPKSEN ESNIRYVSELHLRLKGTEGGTYTFLVSN SDVNAAIAFNVYVNTKPEILTYDRLVNGM LQCVAAGFPEPTIDWYFCPGTEQRC SASVLPVDVQTLNSSGPPFGKLVVQSSIDSS AFKHNGTVECKAYNDVGKTSAYFNFAFK GNNKEQIHPHTLFTPRSHHHHHH	NM_000222	114
마우스 cKIT D1-5	마우스 cKIT tr. 변이체 1, 잔기 26-527-TAG	NM_001122733	115

[0990]

	SQPSASPGEPSPPSIHPAQSELIVEAGDT LSLTGIDPDFVRWTFKTYFNEMVENKKN EWIQEKAEATRTGTYTCSNSNGLTSSIVV FVRDPAKFLVLGLPLFGKEDSDALVRCPL TDPQVSNYSLIECDGKSLPTDLTFVPNP AGITIKNVKRAYHRLCVRCAAQRDGTWL HSDKFTLVRAAIAIPVVSVPETSHLLKK GDTFTVVCTIKDVSTSVNSMWLKMNPQP QHIAQVKHNSWHRGDFNYERQETLTSS ARVDDSGVFMCYANNTFGSANVTTLKV VEKGFINISPVKNTTVFVTDGENVDLVVE YEAYPKPEHQQWIYMNRTSANKGKDYV KSDNKSNIYVNLRLTRLKGTEGGTYT FLVNSDASASVTFNVYVNTKPEILTYDR LINGMLQCVAEGFPEPTIDWYFCTGAEQ RCTTPVSPVDVQVQNVSVSPFGKLVVQS SIDSSVFRHNGTVECKASNDVGKSSAFF NFAFKEQIQAHTLFTPLEVLFQGPRSPRG PTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIK DVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVSA LPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKK QVTLTCMVTDMPEDIYVEVTNNGKTEL NYKNTPEVLDSGSYFMYSKLRVEKKN WVERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK		
랫트 cKIT D1-5	랫트 cKIT, 잔기 25-526-TAG SQPSASPGEPSPPSIQPAQSELIVEAGDT IRLTCTDPAFVKWTFEILDVRIENKQSEWI REKAEATHGKYTCVSGSGLRSSIYV RDPAVLFLVLGLPLFGKEDNDALVRCPLT DPOVSNYSLIECDGKSLPTDLKFVPNPKA GITIKNVKRAYHRLCIRCAAQREGKWMR SDKFTLVRAAIAIPVVSVPETSHLLKEG DTFTVICTIKDVSTSVDSMWIKLNPQPS KAQVKRNSWHQGDFNYERQETLTSSA RVNDSGVFMCYANNTFGSANVTTLKV EKGFINIFPVKNTTVFVTDGENVDLVVEF EAYPKPEHQQWIYMNRTPTNRGEDYVK SDNQSNIRYVNLRLTRLKGTEGGTYTFL VNSDVSASVTFDVYVNTKPEILTYDRLM NGRLQCVAAGFPEPTIDWYFCTGAEQR CTVPVPPVDVQIQNASVSPFGKLVVQSSI DSSVFRHNGTVECKASNAVKGSSAFFNF AFKGSKEQIQPHTLFTPRSLEVLFGGP GSPPLKECPCAPDLLGGPSVFIFPPKI KDVLMSLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQIS WVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV	NM_022264	116

[0991]

	SALPIQHODWMSGKEFKCKVNNRALPS PIEKTISKPRGPVRAPQVYVLPPEAEEMT KKEFSLTCMITGFLPAEIAVDWTSNGRTE QNYKNTATVLDSGSYFMYSKLRVQKST WERGSLFACSVVHEGLHNHHTTKISRS LGK		
--	--	--	--

[0992]

표 4

구성체	한 글자 암호로 된 아미노산 서열. 신호 펩티드는 밑줄. 시노물구스 원숭이 cKIT, 잔기 25-520-TAG	서열번호
시노물구스 원숭이 cKIT D1-5	MYRMQLLSIALSLALVTNSQPSVSPGEPSPPSIHPAKSELI VRVGNEIRLLCIDPGFVKWTFEILDETENKQNEWITEKAEA TNTGKYTCTNKHGLSSSIYVVRDPAKLFLVDRSLYKEDN DTLVRCPLTDPEVTSYSLKGCQKPLPKDLRFVPDPKAGITI KSVKRAYHRLCLHCSADQEGKSVLSDKFLKVRPAFKAVPV VSVKASYLLREGEEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKRENSQTK LQEKYNSWHHGDYFNERYQATLTSSARVNDSGVFMCYANN TFGSANVTTLLEVVDKGFINIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEY EAFPKPEHQQWIYMNRTFTDKWEDYPKSESNIRYVSEL HLTRLKGTEGGTYTFLVNSDVSANASIAFNVYVNTKPEILTYD RLVNGMLQCVAAGFPEPTIDWYFCPGTEQRCSASVLPVDV QTLNASGPPFGKLVVQSSIDSSAFKHNGTVECKAYNDVGKT SAYFNFAFKGNKEQIHPHTLFTPRSHHHHHH	117

[0993]

[0994] 제조합 cKIT ECD 단백질의 발현

[0995] 이전에 현탁 배양에 대해 개조되었고 무혈청 배지 FreeStyle-293(Gibco, 카탈로그 # 12338018)에서 성장시킨 HEK293 유래 세포주(293FS)에서 원하는 cKIT 제조합 단백질을 발현시켰다. 소규모 및 대규모 단백질 생산 모두

일시적인 형질감염을 통해서 하였고, 293Fectin®(Life Technologies, 카탈로그 #12347019)을 플라스미드 운반체로 하여 각각 1 L까지 다중 진탕 플라스크(Nalgene)에서 수행하였다. 전체 DNA 및 293Fectin은 1:1.5(w:v)의 비율로 사용되었다. DNA 대 배양물 비율은 1 mg/L였다. 세포 배양 상청액을 형질감염 3 내지 4일 후에 수확하고, 원심분리하고, 멸균 여과한 후 정제하였다.

[0996] 태그가 부착된 ECD 단백질 정제

[0997] 제조합 Fc 태그가 부착된 cKIT 세포 외 도메인 단백질(예를 들어, 인간 cKIT ECD-Fc, 인간 cKIT (ECD 하위 도메인 1 내지 3, 4 내지 5)-Fc, 시노 cKIT-mFc, 랫트 cKIT-mFc, 마우스 cKIT-mFc)을 세포 배양 상청액으로부터 정제하였다. 청정화된 상청액을 PBS로 평형화시킨 단백질 A 세파로스 컬럼 위로 통과시켰다. 기준선으로의 세척 후, 결합된 물질을 Pierce Immunopure® 낮은 pH 용리 완충액, 또는 100 mM 글리신(pH 2.7)으로 용리시키고, 바로 용리 부피의 1/8의 1 M 트리스 pH 9.0으로 중화시켰다. 필요한 경우, 공칭 분자량 차단값이 10 kD 또는 30 kD인 Amicon® 울트라 15 mL 원심분리 농축기를 이용하여 풀링된 단백질을 농축하였다. 그 후, Superdex® 200 26/60 컬럼을 사용하여 풀을 SEC로 정제하여, 응집물을 제거하였다. 그 후, 정제된 단백질을 SDS-PAGE 및 SEC-MALLS(각각도 레이저 광 산란)로 특성화하였다. 벡터 NTI(Vector NTI)에 의해 서열로부터 계산된 이론적인 흡수 계수를 사용하여, 280 nm에서의 흡광도에 의해 농도를 결정하였다.

[0998] 실시예 3: cKIT ECD 하위 도메인에 대한 cKIT Fab의 결합

[0999] cKIT Ab의 결합 부위를 규정하는 것을 돕기 위해, 인간 cKIT ECD를 하위 도메인 1 내지 3(리간드 결합 도메인) 및 하위 도메인 4 내지 5(이량체화 도메인)로 나누었다. 어떤 하위 도메인이 결합되는지를 결정하기 위하여, 샌드위치 ELISA 분석을 이용하였다. cKIT 하위 도메인 1 내지 3, 하위 도메인 4 내지 5 또는 전장 cKIT ECD에 상응하는 1× 인산염 완충 식염수에 희석된 1 µg/ml의 ECD를 96웰 Immulon® 4-HBX 플레이트(Thermo Scientific 카탈로그# 3855, 미국 일리노이 주 록포드 소재)에 코팅하고, 4°C에서 밤새 인큐베이션 하였다. 플레이트를 세척 완충액(1× 인산염 완충 식염수(PBS) + 0.01% 트윈-20(Bio-Rad 101-0781))으로 3회 세척하였다. 플레이트를 실온에서 2시간 동안 1×PBS에 희석된 3% 소 혈청 알부민 280 µl/웰로 차단하였다. 플레이트를 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 항체를 8개의 지점에 대해 5배 희석으로 세척 완충액에서 2 µg/ml로 제조하고, ELISA 플레이트에 100 µl/웰로 3반복하여 첨가하였다. 플레이트를 1시간 동안 실온에서 캐도형 진탕기 상에서 200 rpm으로 진탕하면서 인큐베이션하였다. 분석 플레이트를 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 2차 항체 F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG (H+L)(Jackson ImmunoResearch Cat# 109-036-088, 미국 펜실베이니아 주 웨스트 그로브 소재)를 세척 완충액에서 1:10,000으로 제조하고, ELISA 플레이트에 100 µl/웰로 첨가하였다. 플레이트를 2차 항체와 함께 1시간 동안 실온에서 캐도형 진탕기 상에서 200 rpm으로 진탕하면서 인큐베이션하였다. 분석 플레이트를 세척 완충액으로 3회 세척하였다. ELISA 신호를 발색시키기 위해, 100 µl/웰의 슈어 블루(Sure blue)® TMB 기질(KPL Cat# 52-00-03, 미국 메릴랜드 주 게이터스버그 소재)을 플레이트에 첨가하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 반응을 정지시키기 위해, 반응 50 µl의 1 N 염산을 각 웰에 첨가하였다. Molecular Devices의 SpectraMax® M5 플레이트 판독기를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 항체의 결합 반응을 결정하기 위하여, 광학 밀도 측정치를 평균화하고, 표준 편차 값을 생성시키고, 엑셀을 사용하여 그래프화하였다. cKIT에 대한 개별적인 항-cKIT 항체의 결합 특성은 표 5에서 찾아볼 수 있다.

[1000] 실시예 4: cKIT 항체의 친화도 측정

[1001] cKIT 중 오르토로그(orthologue)에 대한, 그리고 또한 인간 cKIT에 대한 항체의 친화도를 Biacore® 2000 기기(GE Healthcare, 미국 펜실베이니아 주 피츠버그 소재) 및 CM5 센서 칩을 사용한 SPR 기술을 이용하여 결정하였다.

[1002] 간략하게는, 2% Odyssey® 차단 완충액(Li-Cor Biosciences, 미국 네브라스카 주 링컨 소재)가 보충된 HBS-P(0.01 M HEPES, pH 7.4, 0.15 M NaCl, 0.005% 계면활성제 P20)가 모든 실험에 러닝 완충액으로 사용되었다. 고정 수준 및 분석물 상호 작용은 반응 단위(RU)에 의해 측정되었다. 파일럿 실험을 수행하여, 항-인간 Fc 항체(카탈로그 번호 BR100839, GE Healthcare, 미국 펜실베이니아 주 피츠버그 소재)의 고정 및 시험 항체의 포획의 실행 가능성을 시험하고 확인하였다.

[1003] 동역학 측정을 위해, 고정화 항-인간 Fc 항체를 통해 항체가 센서 칩 표면에 포획되는 실험을 수행하였고, 유리 용액에서 결합하는 cKIT 단백질의 능력을 결정하였다. 간략하게는, 25 µg/ml의 pH 5의 항-인간 Fc 항체를 2개의 유동 셀 모두에서 5 µl/분의 유속으로 아민 커플링을 통해 CM5 센서 칩 상에 고정시켜 10,500 RU에 도달하였다. 그런 다음, 0.1 내지 1 µg/ml의 시험 항체를 1분 동안 10 µl/분으로 주입하였다. 항체의 포획 수준은

일반적으로 200 RU 미만으로 유지되었다. 이어서, 3.125 내지 50 nM의 cKIT 수용체 세포 외 도메인(ECD)을 2배 단계로 희석하였고, 기준 유동 셀 및 시험 유동 셀 양쪽 모두에 40 μ l/분의 유속으로 3분 동안 주입하였다. 시험한 ECD의 표는 아래에 열거하였다(표 5). ECD 결합의 해리는 10분 동안 이어졌다. 각각의 주입 사이클 후, 칩 표면을 30초 동안 10 μ l/분의 3 M MgCl₂로 재생시켰다. 모든 실험을 25℃에서 수행하였고, (Scrubber 2® 소프트웨어 버전 2.0b(BioLogic Software)를 사용하여) 반응 데이터를 단순 1:1 상호 작용 모델로 전체적으로 적합화시켜, 온(on) 속도(k_a), 오프(off)-속도(k_d) 및 친화도 (K_D)의 추정값을 수득하였다. 표 6은 선택된 항-cKIT 항체의 도메인 결합 및 친화도를 열거한 것이다.

표 5

cKIT ECD 이소형 및 출처

ECD 이소형	태그	출처
인간	C 말단 6x His (서열번호 162)	노파르티스 구성체
시노몰구스	C 말단 6x His (서열번호 162)	노파르티스 구성체
마우스	C 말단 6x His (서열번호 162)	Sino Biological Inc(카탈로그 번호: 50530-M08H)
랫트	C 말단 mFc	노파르티스 구성체

[1004]

표 6

항체 친화도 및 교차 반응성

Ab	cKIT 도메인 결합	SET에서 인간 cKIT ECD에 대한 KD(pM)	SET에서 시노몰구스 cKIT ECD에 대한 KD(pM)	마우스 cKIT에 대한 반응성	랫트 cKIT에 대한 반응성
항-cKIT Ab1	D1-3	94	170	반응성 없음	반응성 없음
항-cKIT Ab2	D1-3	7	10	반응성 없음	반응성 없음
항-cKIT Ab3	D1-3	160	52	반응성 없음	반응성 없음
항-cKIT Ab4	D4-5	2400	140	있음	있음
항-cKIT Ab5	D1-3	110	180	있음	있음

[1005]

[1006] 실시예 5 cKIT ADC에 의한 시험관 내 인간 및 마우스 HSC 세포 살상 분석

[1007] 시험관 내 HSC 생존능 분석

[1008] 인간 동원된 말초 혈액 조혈줄기세포(HSC)를 HemaCare(카탈로그 번호 M001F-GCSF-3)로부터 입수하였다. 약 100 만 개 세포의 각 바이알을 해동시키고, 10 ml의 1X HBSS에 희석시키고, 7분 동안 1200 rpm에서 원심분리하였다. 세포 펠릿을 3종의 성장 인자를 함유하는 성장 배지(아미노산(Gibco, 카탈로그 번호 10378-016)이 보충된, TPO(R&D Systems, 카탈로그 번호 288-TP) Flt3 리간드(Life Technologies, 카탈로그 번호 PHC9413), 및 IL-6(Life Technologies, 카탈로그 번호 PHC0063) 각각을 50 ng/ml 함유하는 StemSpan SFEM(StemCell Technologies, 카탈로그 번호 09650)) 18 ml에 재현탁시켰다.

[1009] C57BL/6J 마우스로부터의 골수 세포를 대퇴골 및 경골로부터 채취하고, IMDM(HyClone, 카탈로그 번호 SH30228.01)에 재현탁시키고, 폴딩하였다. 세포를 300 g에서 10분 동안 원심분리하였다. 세포 펠릿을 40 μ l 중

1억 개 세포의 농도로 AutoMACS 완충액(1X PBS + 0.5% BSA + 2 mM EDTA) 중에 재현탁시켰다. 계통 항체 칩테일(Miltenyi, 카탈로그 번호 130-090-858)를 1억 개 세포당 10 μ l의 농도로 첨가하였다. 세포를 차가운 방에서 10분 동안 인큐베이션 한 후, 1억 개 세포당 30 μ l의 AutoMACS 완충액 및 20 μ l의 비오틴이 부착된 마그네틱 비즈를 첨가하였다. 이 새로운 현탁액을 차가운 방에서 15분 동안 인큐베이션 하였다. 세포를 300 g에서 10분 동안 원심분리하였다. 펠릿을 2 ml의 AutoMACS 완충액에 재현탁시키고, 세포 여과기 사이로 통과시켰다. "고갈" 프로토콜을 이용하여 AutoMACS 상에서 세포를 선별하였다. 분류로부터 음성 분획을 300 g에서 10분 동안 원심분리하고, 1 ml HBSS에 재현탁시켰다. 재현탁된 세포를 항-CD45-PerCP-Cy5.5(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 550994), 항-CD48-FITC(eBioscience, 카탈로그 번호 11-0481-82), 항-CD150-PE(BioLegend, 카탈로그 번호 115904), 및 항-Sca-1(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 560653)로 염색하였다. 세포를 실온에서 30분 동안 인큐베이션 하고, 300 g에서 5분 동안 원심분리하고, 분류를 위하여 FACS 완충액 700 μ l에 재현탁시켰다. Sca-1+ 세포는 FACS Aria 상에서 양성으로 분류되었다. 분류 후, 세포를 3종의 성장 인자를 함유하는 성장 배지(아미노산(Gibco, 카탈로그 번호 10378-016)이 보충된, TPO(R&D Systems, 카탈로그 번호 288-TP) Flt3 리간드(Life Technologies, 카탈로그 번호 PHC9413), 및 IL-6(Life Technologies, 카탈로그 번호 PHC0063) 각각을 50 ng/ml 함유하는 StemSpan SFEM)에 넣었다.

[1010] 시험 작용제를 10 μ g/ml에서 시작하여 1:3 계단 희석으로 384-웰 검은색 분석 플레이트에 최종 부피 5 μ l로 2 반복하여 희석하였다. 위에서의 세포를 각 웰에 최종 부피 45 μ l로 첨가하였다. 세포를 37°C 및 5% 산소에서 7일 동안 인큐베이션 하였다. 배양 종료 시, 분석 플레이트를 4분 동안 1200 rpm에서 원심분리함으로써 염색을 위한 세포를 수확하였다. 그런 다음, 상청액을 흡인하고, 세포를 세척하고, 다른 384-웰 플레이트(Greiner Bio-One TC 처리된, 검은색 투명 평판, 카탈로그 번호 781092)로 옮겼다.

[1011] 인간 세포 분석을 위하여, 각 웰을 항-CD34-PerCP(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 340666) 및 항-CD90-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 559869)로 염색하고, 세척하고, FACS 완충액에 최종 부피 50 μ l까지 재현탁시켰다. 마우스 세포 분석을 위하여, 각 웰을 항-CD45-PerCP-Cy5.5(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 550994), 항-CD48-FITC(eBioscience, 카탈로그 번호 11-0481-82), 항-CD150-PE(BioLegend, 카탈로그 번호 115904), 항-cKIT-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 553356), 및 항-Sca-1(Becton Dickinson, 카탈로그 번호 560653)로 염색하고, 세척하고, FACS 완충액에 최종 부피 50 μ l까지 재현탁시켰다. 그런 다음, 세포를 Becton Dickinson Fortessa 유세포 분석기 상에서 분석하였고, 분석을 위하여 정량화하였다.

[1012] cKIT를 인식하는 항체 및 항체 단편의 독소 접합체는 이 분석법에서 결정된 바와 같이 HSC를 살상하였다. FACS에 의한 세포의 정량화는 PBS 또는 항체 또는 항체 단편의 이소형 대조군 독소 접합체를 처리한 대조군 웰에서보다 항-cKIT-독소 접합체를 처리한 웰에서 더 적은 수의 살아 있는 세포를 보여주었다. 데이터를 도 1, 도 2 및 도 9에 나타내었고, 표 7에 요약하였다. 본 설명에 사용된 명명 규칙은 J#이며, 표 2에 기술된 구체적인 접합체 번호에 상응한다.

표 7

항-ckIT Fab-독소 접합체 처리 후 세포 생존능

시험한 접합체	세포 집단	EC50(ng/ml)
J3	인간 전체 유핵 세포	45
	인간 CD34+ 세포	8
	인간 CD90+ 세포	12
J2	인간 전체 유핵 세포	58
	인간 CD34+ 세포	11
	인간 CD90+ 세포	16
J1	인간 전체 유핵 세포	48
	인간 CD34+ 세포	11
	인간 CD90+ 세포	13
J4	마우스 전체 유핵 세포	3800
	마우스 CD45+ 세포	3800
	마우스 ckIT+ 세포	8
J5	마우스 전체 유핵 세포	210
	마우스 CD45+ 세포	210
	마우스 ckIT+ 세포	120
J14	인간 전체 유핵 세포	7
	인간 CD34+ 세포	10
	인간 CD90+ 세포	11

[1013]

J15	인간 전체 유핵 세포	6
	인간 CD34+ 세포	5
	인간 CD90+ 세포	1
J16	인간 전체 유핵 세포	6
	인간 CD34+ 세포	7
	인간 CD90+ 세포	9
J17	인간 전체 유핵 세포	12
	인간 CD34+ 세포	16
	인간 CD90+ 세포	37
J18	인간 전체 유핵 세포	15
	인간 CD34+ 세포	11
	인간 CD90+ 세포	3
J19	인간 전체 유핵 세포	14
	인간 CD34+ 세포	16
	인간 CD90+ 세포	23
J20	인간 전체 유핵 세포	20
	인간 CD34+ 세포	25
	인간 CD90+ 세포	72
J21	인간 전체 유핵 세포	154
	인간 CD34+ 세포	88
	인간 CD90+ 세포	22
J22	인간 전체 유핵 세포	8
	인간 CD34+ 세포	10
	인간 CD90+ 세포	17

[1014]

[1015]

실시예 6 인간 비만세포 탈과립의 시험관 내 분석

[1016]

동원된 말초 혈액으로부터 CD34+ 전구세포를 이용하여 성숙한 비만세포를 생성하였다. CD34+ 세포를 재조합 인

간 줄기세포 인자(rhSCF, 50 ng/ml, Gibco), 재조합 인간 인터류킨 6(rhIL-6, 50 ng/ml, Gibco), 재조합 인간 IL-3(30 ng/ml, Peprotech), GlutaMAX(2 nM, Gibco), 페니실린(100 U/ml, Hyclone) 및 스트렙토마이신(100 μ g/ml, Hyclone)이 보충된 StemSpan SFEM(StemCell Technologies)에 배양하였다. 재조합 hIL-3은 배양 첫 주 동안만 첨가하였다. 세 번째 주 이후, 배지의 절반을 매주 rhIL-6(50 ng/ml) 및 rhSCF(50 ng/ml)를 함유하는 새로운 배지로 교체하였다. 고친화도 IgE 수용체(FC ϵ RI, eBioscience) 및 CD117(BD)의 표면 염색에 의해 성숙한 비만세포의 순도를 평가하였다. 배양 8주 내지 12주의 세포를 사용하였다.

[1017] 유래된 비만세포를 1회 세척하여 SCF를 제거하고, 필요한 양의 세포를 rhSCF(50 ng/ml)와 함께 또는 이것 없이 rhIL-6(50 ng/ml)을 함유하는 비만세포 배지에 밤새 인큐베이션 시켰다. 비만세포 탈과립의 양성 대조군으로, 세포 일부를 인간 골수중 IgE(100 ng/ml, EMD Millipore)로 감작시켰다. 다음날, 항-cKIT 항체 또는 항체 단편 또는 이의 독소 접합체, 마우스 단클론 항-인간 IgG1(Fab 특이적, Sigma), 염소 항-인간 IgE(Abcam) 및 화합물 48/80(Sigma) 희석물을 0.04% 소 혈청 알부민(BSA, Sigma)이 보충된 HEPES 탈과립 완충액(10 mM HEPES, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 0.4 mM 제2인산나트륨, 5.6 mM 글루코오스, 7.4로 pH 조정되고 1.8 mM 염화칼슘 및 1.3 mM 황산마그네슘과 혼합됨)에 제조하였다. V-바닥 384-웰 분석 플레이트에 시험 작용제 및 항-IgG1를 함께 혼합하는 한편, 항-IgE 및 화합물 48/80은 단독으로 시험하였다. 분석 플레이트를 37°C에서 30분 인큐베이션 시켰다. 인큐베이션 하는 동안, 세포를 HEPES 탈과립 완충액 + 0.04% BSA로 3회 세척하여 배지 및 미결합 IgE를 제거하였다. 세포를 HEPES 탈과립 완충액 + 0.04% BSA에 재현탁시키고, 최종 반응 부피 50 μ l를 위하여 분석 플레이트의 웰당 3000개 세포로 시딩하였다. IgE로 감작시킨 세포는 탈과립에 대한 양성 대조군으로서 오로지 항-IgE와 함께 사용하였다. 분석 플레이트를 37°C에서 30분 인큐베이션 시켜 탈과립이 일어나게 하였다. 이 인큐베이션 중에, 시트르산염 완충액(40 mM 시트르산, 20 mM 제2인산나트륨, pH 4.5)에 3.5 mg/ml의 pNAG를 초음파 처리하여 *p*-니트로-*N*-아세틸- β -D-글루코사민(pNAG, Sigma) 완충액을 제조하였다. 평판 384-웰 플레이트에 20 μ l의 세포 상청액을 40 μ l의 pNAG 용액과 혼합하여 β -헥소사미니다아제 방출을 측정하였다. 이 플레이트를 37°C에서 1.5시간 동안 인큐베이션 시키고, 40 μ l의 정지 용액(400 mM 글리신, pH 10.7)을 첨가하여 반응을 정지시켰다. λ = 620 nm의 기준 필터와 함께 λ = 405 nm에서 플레이트 판독기를 이용하여 흡광도를 판독하였다.

[1018] 비만세포 탈과립 분석에 사용된 전장 IgG 대조군을 표 8에 기술하였다.

표 8

비만세포 탈과립 분석에 사용된 전장 IgG 대조군

	명칭	HC 서열	LC 서열
J1 에 대한 IgG 대조군	항-cKIT Ab1	서열번호 12	서열번호 25
J2 에 대한 IgG 대조군	항-cKIT Ab2	서열번호 38	서열번호 49
J3 에 대한 IgG 대조군	항-cKIT Ab3	서열번호 56	서열번호 25
J4 에 대한 IgG 대조군	항-cKIT Ab4	서열번호 71	서열번호 84
J6 에 대한 IgG 대조군	항-Her2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDG FYAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (서열번호 150)	서열번호 147

[1019]

- [1020] 도 3의 A에 나타난 바와 같이, 길항제 항-cKIT 항체 부류의 특정 클론들은 비만세포 탈과립을 유발할 가능성이 적다. 나아가, 이는 Fab 또는 Fab' 단편이 비만세포 탈과립을 유발할 수 없음을 시사한다. Fab 특이적 항체와 가코 시(도 3의 C 내지 J), 전장 IgG는 증가된 탈과립을 보여주지만, 항-cKIT Fab'-독소 DAR4 형식은 그렇지 않다. 이는 환자가 Fab 또는 Fab' 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 기존의 Fab 또는 Fab' 단편을 인식하는 항-약물 항체를 가지고 있을 경우 관찰될 수 있는 바와 같이 Fab' 단편이 결합되고 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 비만세포 탈과립을 초래하지 않음을 시사한다.
- [1021] 실시예 7 마우스 숙주로부터 인간 HSC의 생체 내 제거
- [1022] 인간 HSC에 대한 시험 작용제의 생체 내 효능을 평가하기 위하여, 중증 면역결핍인 마우스((NOD.Cg-Prkdc^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ, Jackson Laboratory, 재고 번호 005557, NSG로도 알려져 있음)에 치사량에 가까운 방사선 조사(¹³⁷C 감마 방사선 조사 장치에서 250라드) 후 인간 HSC를 이식하였다. CD34+ 조혈줄기세포(HSC)는 AllCells(카탈로그 번호CB008F-S)로부터 입수하였다. 약 100만 개 세포의 각 바이알을 해동시키고, 10 ml의 1X HBSS에 희석시키고, 7분 동안 1200 rpm에서 원심분리하였다. 세포 펠릿을 100,000개 세포/ml로 HBSS에 재현탁시켰다. 방사선 조사 24시간 후 안구 뒤 주사를 통해 마우스당 총 20,000개 세포를 이식하였다. 인간 HSC가 NSG 마우스에 적어도 4주 동안 생착될 수 있게 하였다. 인간 키메리즘(%)을 혈액 샘플의 유세포 분석에 의해 결정하였다. 이를 위하여, 혈액을 다음의 항체로 염색하였다: 항-인간 CD45-e450(eBioscience, 카탈로그 #48-0459-42), 항-마우스 CD45-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 #559864), 항-인간 CD33-Pe(Becton Dickinson, 카탈로그 #347787), 항-인간 CD19-FITC(Becton Dickinson, 카탈로그 #555422), 및 항-인간 CD3-PeCy7 (Becton Dickinson, 카탈로그 #557851). 일단 인간 키메리즘이 확인되면, 인간화 NSG 마우스에 시험 작용제를 1일 2회 복강 내로 투여하였다. 투여 후 인간 키메리즘 정도를 재평가하였다. 인간 HSC의 존재 또는 부존재를 평가하기 위하여, 마우스를 안락사시키고, 골수를 분리하고 다음의 항체로 염색하였다: 항-인간 CD45-e450(eBioscience, 카탈로그 #48-0459-42), 항-마우스 CD45-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 #559864), 항-인간 CD34-PE(Becton Dickinson, 카탈로그 #348057), 항-인간 CD38-FITC(Becton Dickinson, 카탈로그 #340926), 항-인간 CD11b-PE(Becton Dickinson, 카탈로그 #555388), 항-인간 CD33-PeCy7(Becton Dickinson, 카탈로그 #333946), 항-인간 CD19-FITC(Becton Dickinson, 카탈로그 #555412), 및 항-인간 CD3-PeCy7(Becton Dickinson, 카탈로그 #557851). 유세포 분석으로 세포 집단을 평가하고, FlowJo로 분석하였다.
- [1023] 하나의 특정 실험에서, 마우스에 1일, 2일, 또는 4일 동안 1일 2회 (표 2에 기술된) 접합체 J7 또는 4일 동안 1일 2회 이소형 대조군 접합체 J8 10 mg/kg을 투여하였다. 21일에 마우스를 안락사시키고, 그들의 골수를 분석하였다. 도 4에 나타난 바와 같이, 심지어 1일 동안 접합체 J7을 처리한 마우스는 인간 HSC(인간 CD45+, 인간 CD34+, 인간 CD38-)의 고갈을 보여주었으나, 비히클(PBS) 처리군과의 비교를 기초로 하여, 이소형 대조군 접합체 J8을 처리한 마우스는 아마도 처리 전 인간화의 변이로 인한 가변적인 키메리즘을 보여주었다.
- [1024] 하나의 특정 실험에서, 마우스에 10 mg/kg의 항-cKIT 접합체 J1, J2, 또는 J3, 또는 이소형 대조군 접합체 J6을 2일 동안 투여하였다. 21일에 마우스를 안락사시키고, 그들의 골수를 분석하였다. 도 5에 나타난 바와 같이, 항-cKIT 접합체 J1, J2, 또는 J3 처리 마우스는 감소된 인간 HSC(인간 CD45+, 인간 CD34+, 인간 CD38-)를 보여주었으나, 이소형 대조군 접합체 J6 처리 마우스는 가변적인 키메리즘을 보여주었다.
- [1025] 하나의 특정 실험에서, 마우스에 10 mg/kg의 항-cKIT 접합체 JW, JX, JY, 또는 JZ를 2일 동안 투여하였다. 21일에 마우스를 안락사시키고, 그들의 골수를 분석하였다. 도 13에 나타난 바와 같이, 항-cKIT 접합체 JW, JX, JY, 또는 JZ 처리 마우스는 감소된 인간 HSC(인간 CD45+, 인간 CD34+, 인간 CD38-)를 보여주었다.
- [1026] 이러한 세 가지 실험은 종합하여 항-cKIT Fab-독소 또는 항-cKIT Fab'-독소 접합체가 골수로부터 HSC를 고갈시킬 수 있었음을 보여준다. 항-cKIT Fab-아마니틴접합체(예컨대, J7) 및 항-cKIT Fab'-아우리스타틴 접합체(예컨대, J1, J2, J3, JW, JX, JY)는 생체 내에서 인간 HSC를 제거할 수 있었다.
- [1027] 실시예 8 면역 적격 마우스에서 마우스 HSC의 생체 내 제거
- [1028] 시험 작용제의 마우스 HSC에 대한 생체 내 효능을 평가하기 위하여, C57BL/6J 마우스(수컷, 10주령, Jackson Laboratory, 재고 #000664)에 시험 작용제를 복강 내로 1일 2회 투여하였다. 이르면 최종 투여 1일 후 또는 최종 투여 후 최대 21일까지 일반적인 방법으로 혈액학 프로파일을 평가하였다. 마우스 HSC의 존재 또는 부존재를 평가하기 위하여, 마우스를 안락사시키고, 골수를 분리하고 다음의 항체로 염색하였다: 항-마우스 CD45-PerCP-Cy5.5(Becton Dickinson, 카탈로그 #550994), 항-마우스 cKIT-APC(Becton Dickinson, 카탈로그 #553356), 항-

마우스 CD48-FITC(eBioscience, 카탈로그 #11-0481-82), 항-마우스 CD150-PE(BioLegend, 카탈로그 #115904), 항-마우스 Sca-V450(Becton Dickinson, 카탈로그 #560653), 항-마우스 Lin-비오틴(Miltenyi, 카탈로그 #120-001-547), 및 Pe-Cy7-스트렙타비딘(Becton Dickinson, 카탈로그 #557598). 유세포 분석으로 세포 집단을 평가하고, FlowJo로 분석하였다.

[1029] 하나의 특정 실험에서, 마우스에 10 mg/kg의 (표 2에 기술된) 항-cKIT 접합체 J4 또는 J5, 또는 PBS를 4일 동안 투여하였다. 골수 분석을 위하여 13일에 마우스를 안락사시켰다. 항-cKIT 접합체 J4 또는 J5 처리군은 PBS 처리 대조군과 비교하여 골수에서 유의미하게 감소된 수준의 줄기세포 및 전구세포(cKIT+)를 보여주어(도 6), J4 또는 J5 같은 항-cKIT Fab'-아우리스타틴 접합체 처리가 정상적인 마우스의 생체 내에서 HSC를 제거할 수 있었음을 증명하였다.

[1030] 본 발명의 항-cKIT 항체 또는 항체 단편 접합체에 의한 제거가 이식을 가능하게 하기에 충분한지를 결정하기 위하여, 위와 같이 처리된 마우스에 나중에 HSC 이식물을 제공할 수 있다. 예를 들어, 항-cKIT Fab'-독소 접합체 처리된 CD45.2 마우스에 투여 후 대략 1주일 후에 CD45.1 마우스로부터 유래한 공여자 HSC를 이식할 수 있다. 또 다른 예에서, 항-cKIT Fab'-독소 접합체 처리된 마우스에 투여 후 대략 1주일 후 및 CD45.1 마우스로부터 유래한 공여자 HSC를 이식하기 대략 1 내지 2일 전에 면역억제제, 예컨대, T 세포 고갈을 유발하는 작용제를 처리할 수 있다. T 세포 고갈의 한 가지 방법은 마우스에 마우스당 0.5 mg의 항-마우스 TCR β 체 항체(클론 H57-597; BioLegend)를 1일 4회 이틀 동안 투여하는 것이다. T 세포 고갈은 투여 후 혈액학 프로파일링을 위한 채혈에 의해 확인할 수 있다. 이러한 예에서, 혈액 샘플에서 CD45.1 키메리즘을 살펴 이식의 진행을 모니터링한다. 이러한 예에서, CD45.1 및 CD45.2 HSC의 집단을 살펴보는 골수 분석을 위하여 이식 후 대략 3 내지 4개월 또는 5 내지 6개월 후 마우스를 안락사시킴으로써 이식의 성공을 결정할 수 있다. 대안적으로, 1차 이식 후 적어도 4 또는 6개월 후에 마우스를 안락사시키고, 완전히 방사선 조사된 숙주 마우스에 2차 이식을 수행하고, 2차 이식 후 혈액 샘플에서 CD45.1 키메리즘을 살펴봄으로써 성공적인 이식을 결정할 수 있다.

[1031] 실시예 9 전장 항-cKIT 항체, 이의 F(ab')₂ 및 Fab 단편, 및 이의 접합체에 의한 인간 비만세포 탈과립의 시험관 내 분석

[1032] 성숙한 비만세포를 생성하고, 실시예 6에 기술된 바와 같이 항-cKIT 항체 및 이의 F(ab')₂ 및 Fab 단편 또는 독소 접합체로 시험하였다.

[1033] 도 7의 A 내지 C에 나타난 바와 같이, 전장 항-cKIT Ab4(HC-E152C-S375C) 및 화합물 (4)와 접합된 F(ab')₄(HC-E152C) 단편은 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 Fab4(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았다. 도 7의 D 내지 F는 전장 항-cKIT Ab3(HC-E152C-S375C) 및 화합물 (3)과 접합된 F(ab')₃(HC-E152C) 단편이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 화합물 (4)와 접합된 Fab3(E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 촉발되지 않았음을 보여준다. 이는 환자가 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 기존의 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 가지고 있을 경우 관찰될 수 있는 바와 같이 Fab 단편 또는 이의 접합체는 결합되고 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 비만세포 탈과립을 초래하지 않음을 시사한다. 한편, F(ab')₂ 단편 및 접합체는 결합되고 더 큰 복합체로 다량체화될 때 전장 항-cKIT 항체와 비슷한 수준으로 비만세포 탈과립을 유발한다.

[1034] 실시예 10 전장 항-cKIT 항체 및 이의 F(ab')₂ 및 Fab 단편에 의한 인간 비만세포 탈과립의 시험관 내 분석

[1035] 성숙한 비만세포를 생성하고, 실시예 6에 기술된 바와 같이 항-cKIT 항체 및 F(ab')₂ 및 Fab 단편으로 시험하였다.

[1036] 도 8의 A 내지 C에 나타난 바와 같이, 전장 항-cKIT Ab4 및 F(ab')₄ 단편은 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 Fab4(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았다. 8D 내지 8F는 전장 항-cKIT Ab1 및 F(ab')₁ 단편이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 Fab1(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음을 보여준다. 8G 내지 8I는 전장 항-cKIT Ab2 및 F(ab')₂ 단편이 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에서 Fab2(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음을 보여준다. 8J 내지 8L은 전장 항-cKIT Ab3 및 F(ab')₃ 단편은 가교되었을 때 비만세포 탈과립을 유발하였으나, 모든 시험한 농도에

서 Fab3(HC-E152C) 단편에 의해서는 비만세포 탈과립이 전혀 촉발되지 않았음을 보여준다. 이는 환자가 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 발달시켰거나 기존의 Fab 단편을 인식하는 항-약물 항체를 가지고 있을 경우 관찰될 수 있는 바와 같이 Fab 단편은 결합되고 더 큰 복합체로 다량체화될 때에도 비만세포 탈과립을 초래하지 않음을 시사한다. 한편, F(ab')₂ 단편은 결합되고 더 큰 복합체로 다량체화될 때 전장 항-cKIT 항체와 비슷한 수준으로 비만세포 탈과립을 유발한다.

[1037] 실시예 11 면역 적격 마우스에서의 공통 유전자형 골수 이식

[1038] 특정 실험에서, C57BL/6J(CD45.2, 수컷, 10주령, Jackson Laboratory, 재고 #000664) 마우스에 2.5, 5, 또는 10 mg/ml 항-c-KIT Fab'5-(1)(Fab'-DAR4)를 등 피하에 위치한 미니 펌프(Alzet, 카탈로그 #2001)로 투여하였다. 이 미니 펌프는 200 μ l의 부피를 수용하였으며, 7일 동안 1 μ l/시간의 일정한 속도로 주입하였다. 미니 펌프를 이식하고 7일 후, 임의의 추가적인 약물 투여를 중단하기 위하여 미니 펌프를 제거하였다. 미니 펌프 제거 48시간 후, 이 마우스에 CD45에 유사유전자형 표시된 공여자 마우스(CD45.1, B6.SJL-Ptprc^a Pepc^b/BoyJ, 수컷, 10주령, Jackson Laboratory, 재고 #002014)로부터의 골수를 이식하였다. 1개월 간격으로 CD45.1 키메리즘을 살펴 말초 혈액에서 이식의 진행을 모니터링하였다. 이 실험에서, 도 10에 나타난 바와 같이, 4개월 동안 혈액 키메리즘을 모니터링하였다. 말초 혈액에서의 키메리즘을 유세포 분석으로 평가하였다. 혈액 샘플을 항-mCD45.1-PerCP-Cy5.5(1:100, BD #560580), 항-mCD45.2-BUV395(1:100, BD #564616), 항-Mac-PE(1:500, BD #553331), 항-GR1-FITC(1:100, BD #553127), 항-B220-APC(1:400, BD #553092), 및 항-CD3-V450(1:100, BD #560801)으로 염색하고, Fortessa 유세포분석기(Becton Dickinson)에서 획득하고, FlowJo 소프트웨어(TreeStar)로 분석하였다. CD45.2(숙주) 또는 CD45.1(공여자)에 대해 양성인 집단을 비교하여 키메리즘 수준을 결정하였다. 총 공여자 키메리즘은 전체 백혈구 집단을 대표하였다. 또한, T 세포, B 세포 및 골수성 세포의 하위 집단의 공여자 키메리즘을 추가로 평가하였다. T 세포 공여자 키메리즘은 CD3⁺ 세포에서 CD45.2(숙주) 대 CD45.1(공여자)를 관찰한 것을 기반으로 한 것이었다. B 세포 공여자 키메리즘은 CD45R⁺ 세포에서 CD45.2(숙주) 대 CD45.1(공여자)를 관찰한 것을 기반으로 한 것이었다. 골수성 세포 키메리즘은 Mac-1⁺/Gr-1⁺ 세포에서 CD45.2(숙주) 대 CD45.2(공여자)를 관찰한 것을 기반으로 한 것이었다. 이 실험은 항-cKit-Fab' 접합체로 컨디션 조절한 마우스는 골수성, B 세포 및 T 세포 계통을 재구성하는 공여자 세포와 생착될 수 있음을 보여주며, 이는 성공적인 HSC 생착을 나타낸다.

[1039] 또 다른 실험에서, C57BL/6J(CD45.2, 수컷, 10주령, Jackson Laboratory, 재고 #000664) 마우스에 2.5, 5, 또는 10 mg/ml 항-c-KIT Fab'5-(1)(Fab'-DAR4) 또는 10 mg/ml 항-c-KIT Fab'5-mc-MMAF(Fab'-DAR4)를 등 피하에 위치한 미니 펌프(Alzet, 카탈로그 #2001)로 투여하였다. 이 미니 펌프는 200 μ l의 부피를 수용하였으며, 7일 동안 1 μ l/시간의 일정한 속도로 주입하였다. 미니 펌프를 이식하고 5일 후, 임의의 추가적인 약물 투여를 중단하기 위하여 미니 펌프를 제거하였다. 미니 펌프 제거 24시간 이내에, 이 마우스에 CD45에 유사유전자형 표시된 공여자 마우스(CD45.1, B6.SJL-Ptprc^a Pepc^b/BoyJ, 수컷, 10주령, Jackson Laboratory, 재고 #002014)로부터의 골수를 이식하였다. 1개월 간격으로 CD45.1 키메리즘을 살펴 말초 혈액에서 이식의 진행을 모니터링하였다. 이 실험에서, 도 11에 나타난 바와 같이, 2개월 동안 혈액 키메리즘을 모니터링하였다. 말초 혈액에서의 키메리즘을 유세포 분석으로 평가하였다. 혈액 샘플을 (항-mCD45.1-PerCP-Cy5.5(1:100, BD #560580), 항-mCD45.2-BUV395(1:100, BD #564616), 항-Mac-PE(1:500, BD #553331), 항-GR1-FITC(1:100, BD #553127), 항-B220-APC(1:400, BD #553092), 및 항-CD3-V450(1:100, BD #560801))으로 염색하고, Fortessa 유세포분석기(Becton Dickinson)에서 획득하고, FlowJo 소프트웨어(TreeStar)로 분석하였다. CD45.2(숙주) 또는 CD45.1(공여자)에 대해 양성인 집단을 비교하여 키메리즘 수준을 결정하였다. 총 공여자 키메리즘은 전체 백혈구 집단을 대표하였다. 또한, 공여자 키메리즘에 대해 말초 혈액의 골수성 세포를 더 평가하였다. 골수성 세포 키메리즘은 Mac-1⁺/Gr-1⁺ 세포에서 CD45.2(숙주) 대 CD45.2(공여자)를 관찰한 것을 기반으로 한 것이었다. 이 실험은 항-cKit-Fab' 접합체로 컨디션 조절한 마우스는 치사량의 방사선 조사로 컨디션 조절한 마우스와 비슷한 정도로 골수성 구획을 재구성하는 공여자 세포와 성공적으로 생착될 수 있음을 보여준다(도 11의 B). 방사선 조사된 마우스와 비교하여 항-cKit 컨디션 조절된 마우스에서의 더 낮은 총 공여자 키메리즘 수준(도 11의 A)은, 순환으로부터 오래 가는 CD45.2⁺ B 세포 및 T 세포를 제거하지 않는 항-cKit 컨디션 조절제의 더욱 표적화된 속성에 기인할 가능성이 높다.

[1040] 또 다른 실험에서, C57BL/6J(CD45.2, 수컷, 10주령, Jackson Laboratory, 재고 #000664) 마우스에 300라드의 방사선을 조사하였다. 3일 후, 마우스에 2.5 또는 5 mg/ml 항-c-KIT Fab'5-(1)(Fab'-DAR4)을 등 피하에 위치한 미니 펌프(Alzet, 카탈로그 #2001)로 투여하였다. 1개 군은 방사선 조사만 처리하였고, 1개 군은 2.5 mg/ml 항-

c-KIT Fab'5-(1)(Fab'-DAR4)만을 처리하였다. 이 미니 펌프는 200 μ l의 부피를 수용하였으며, 7일 동안 1 μ l/시간의 일정한 속도로 주입하였다. 미니 펌프를 이식하고 3일 후, 임의의 추가적인 약물 투여를 중단하기 위하여 미니 펌프를 제거하였다. 미니 펌프 제거 48시간 이내에, 이 마우스에 CD45에 유사유전자형 표시된 공여자 마우스(CD45.1, B6.SJL-Ptprc^a Pepc^b/BoyJ, 수컷, 10주령, Jackson Laboratory, 재고 #002014)로부터의 골수를 이식하였다. 1개월 간격으로 CD45.1 키메리즘을 살펴 말초 혈액에서 이식의 진행을 모니터링하였다. 이 실험에서, 도 12에 나타난 바와 같이, 4개월 동안 혈액 키메리즘을 모니터링하였다. 말초 혈액에서의 키메리즘을 유세포 분석으로 평가하였다. 혈액 샘플을 (항-mCD45.1-PerCP-Cy5.5(1:100, BD #560580), 항-mCD45.2-BUV395(1:100, BD #564616), 항-Mac-PE(1:500, BD #553331), 항-GR1-FITC(1:100, BD #553127), 항-B220-APC(1:400, BD #553092), 및 항-CD3-V450(1:100, BD #560801))으로 염색하고, Fortessa 유세포분석기(Becton Dickinson)에서 획득하고, FlowJo 소프트웨어(TreeStar)로 분석하였다. CD45.2(숙주) 또는 CD45.1(공여자)에 대해 양성인 집단을 비교하여 키메리즘 수준을 결정하였다. 총 공여자 키메리즘은 전체 백혈구 집단을 대표하였다. 또한, 공여자 키메리즘에 대해 말초 혈액의 골수성 세포를 더 평가하였다. 골수성 세포 키메리즘은 Mac-1+/Gr-1+ 세포에서 CD45.2(숙주) 대 CD45.2(공여자)를 관찰한 것을 기반으로 한 것이었다. 이 실험은 항-cKit-Fab' 접합체가 낮은 용량의 방사선 조사와 같은 다른 작용제와 조합하여 컨디션 조절제로서 사용될 수 있으며, 이러한 방식으로 컨디션 조절된 마우스는 공여자 세포와 성공적으로 생착될 수 있음을 보여준다.

[1041] 달리 정의되지 않는 한, 본 설명에 사용된 기술 및 과학 용어는 본 개시가 속하는 분야에 친숙한 전문가가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다.

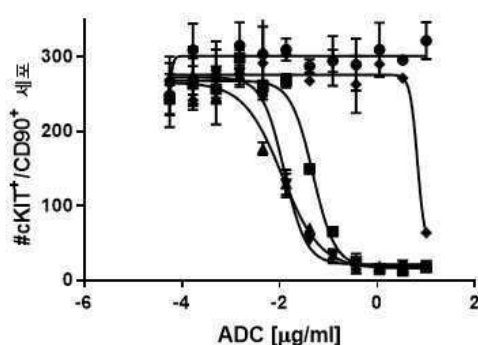
[1042] 달리 나타내지 않는 한, 구체적으로 상세히 기술되지 않은 모든 방법, 단계, 기술 및 조작은, 당업자에게 명백할 바와 같이 그 자체로 공지된 방식으로 수행될 수 있고 수행되어 왔다. 예를 들어 표준 핸드북 및 본 설명에 언급된 일반적인 배경기술, 및 그에 인용된 추가의 참고문헌을 또한 참조한다. 달리 나타내지 않는 한, 본 설명에 인용된 참고문헌은 각각 그 전문이 참조로 포함된다.

[1043] 본 발명에 대한 청구범위는 비제한적이며, 아래에 제공된다.

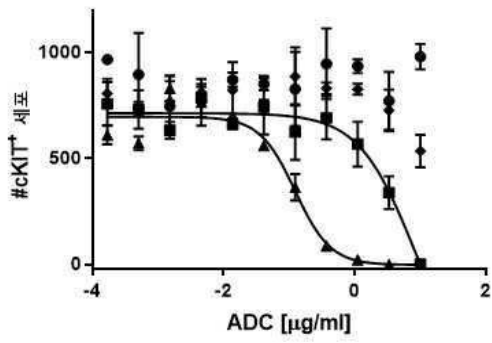
[1044] 특정한 양태 및 청구범위가 본 설명에 상세히 개시되어 있을지라도, 이는 단지 예시의 목적으로 예로서 행해진 것이며, 첨부된 청구범위의 범위, 또는 임의의 상응하는 추후 출원의 청구범위의 대상의 범위와 관련하여 제한하려는 의도가 아니다. 특히, 본 발명자들은 청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 개시의 취지 및 범위를 벗어나지 않으면서, 본 개시에 다양한 치환, 변경 및 변형이 이루어질 수 있음을 고려한다. 핵산 출발 물질, 관심 클론, 또는 라이브러리 유형의 선택은 본 설명에 기술된 양태의 지식을 가진 당업자에게는 통상적인 사항인 것으로 여겨진다. 다른 양태, 이점 및 변형이 다음의 청구범위의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 당업자는 통상적인 실험 범위를 넘지 않고 이를 사용하여 본 설명에 기술된 발명의 구체적 양태의 다수의 균등물을 인식하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 다음의 청구범위에 포함된다. 다양한 국가의 특허법에 의한 제한으로 인하여 이후 출원되는 상응하는 출원의 청구범위가 고쳐질 수 있으며, 이것을 청구범위의 대상을 포기하는 것으로 해석해서는 안 된다.

도면

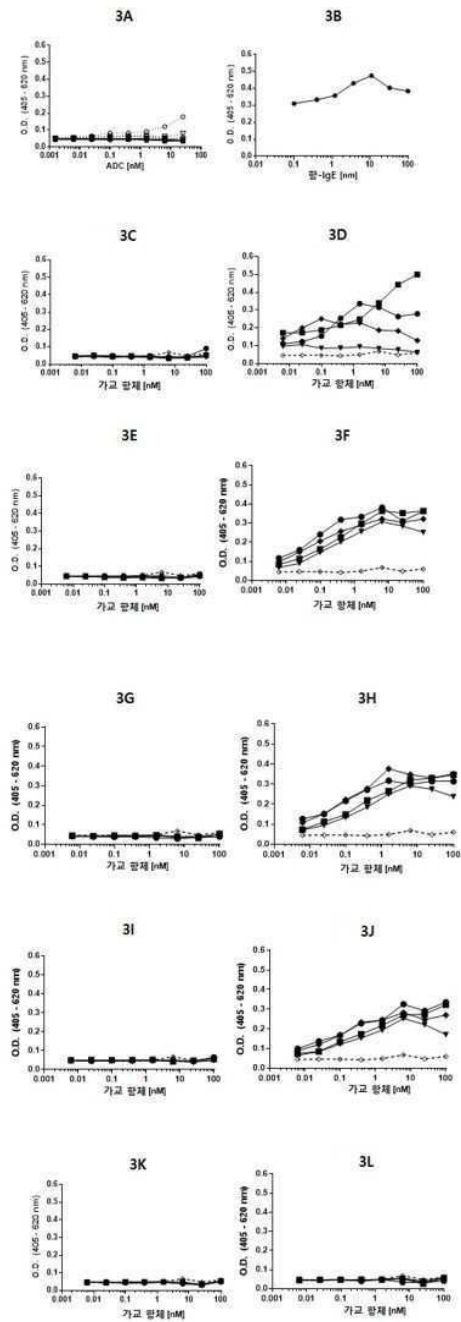
도면1



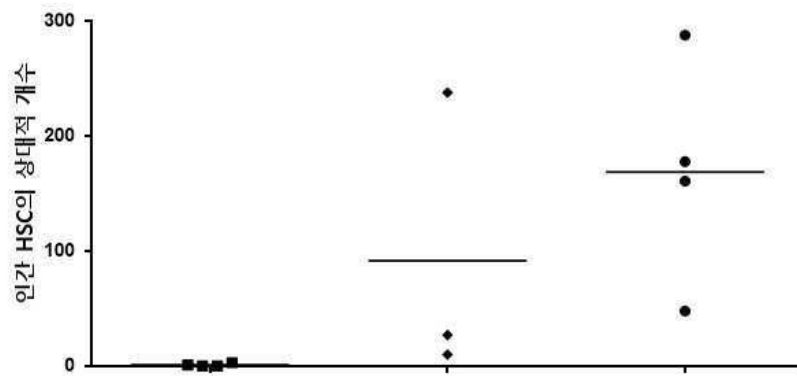
도면2



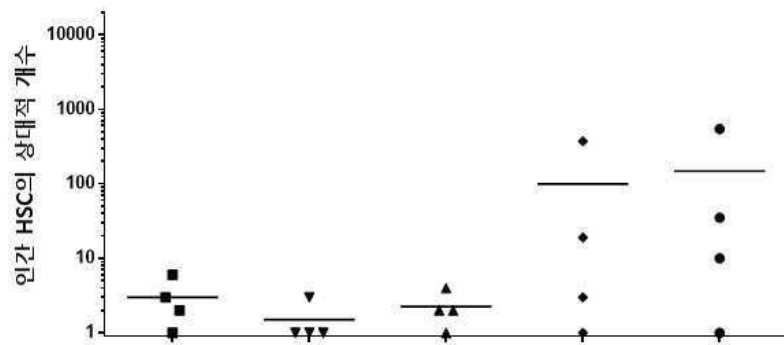
도면3



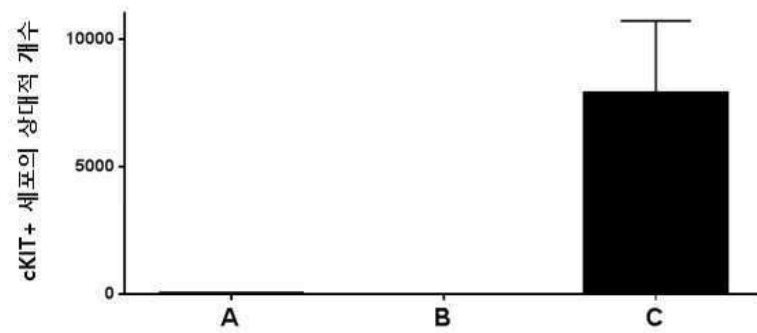
도면4



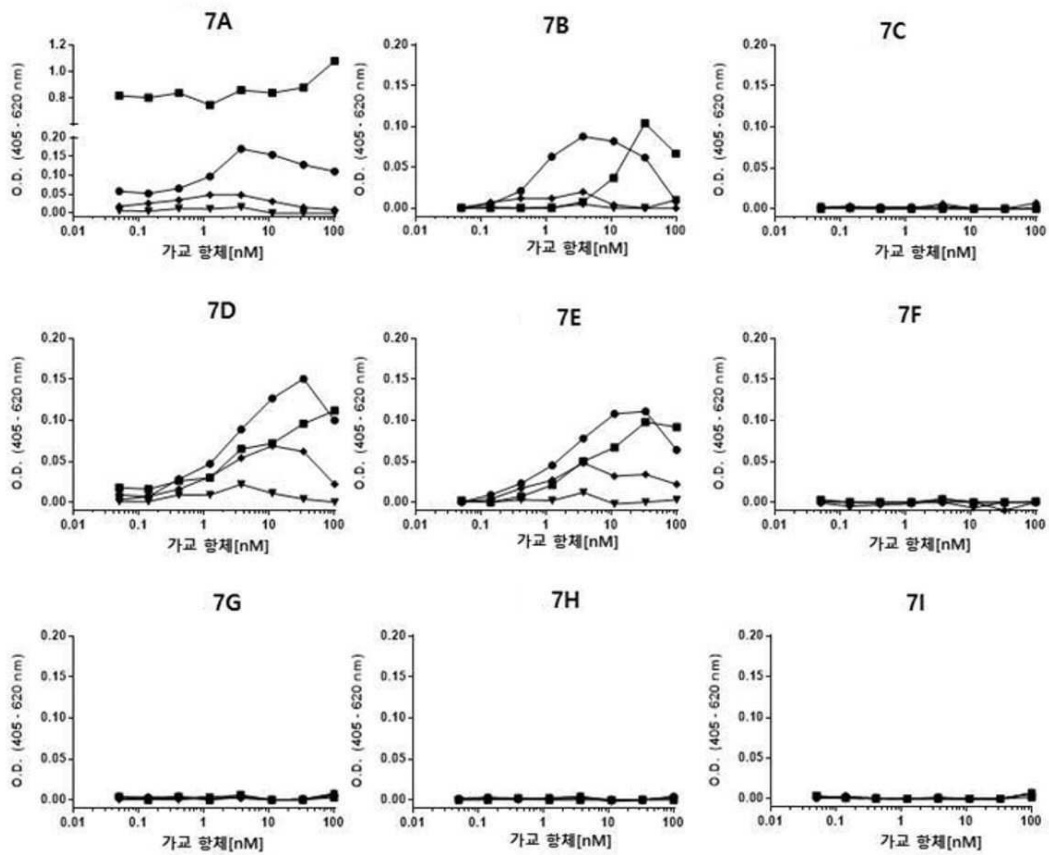
도면5



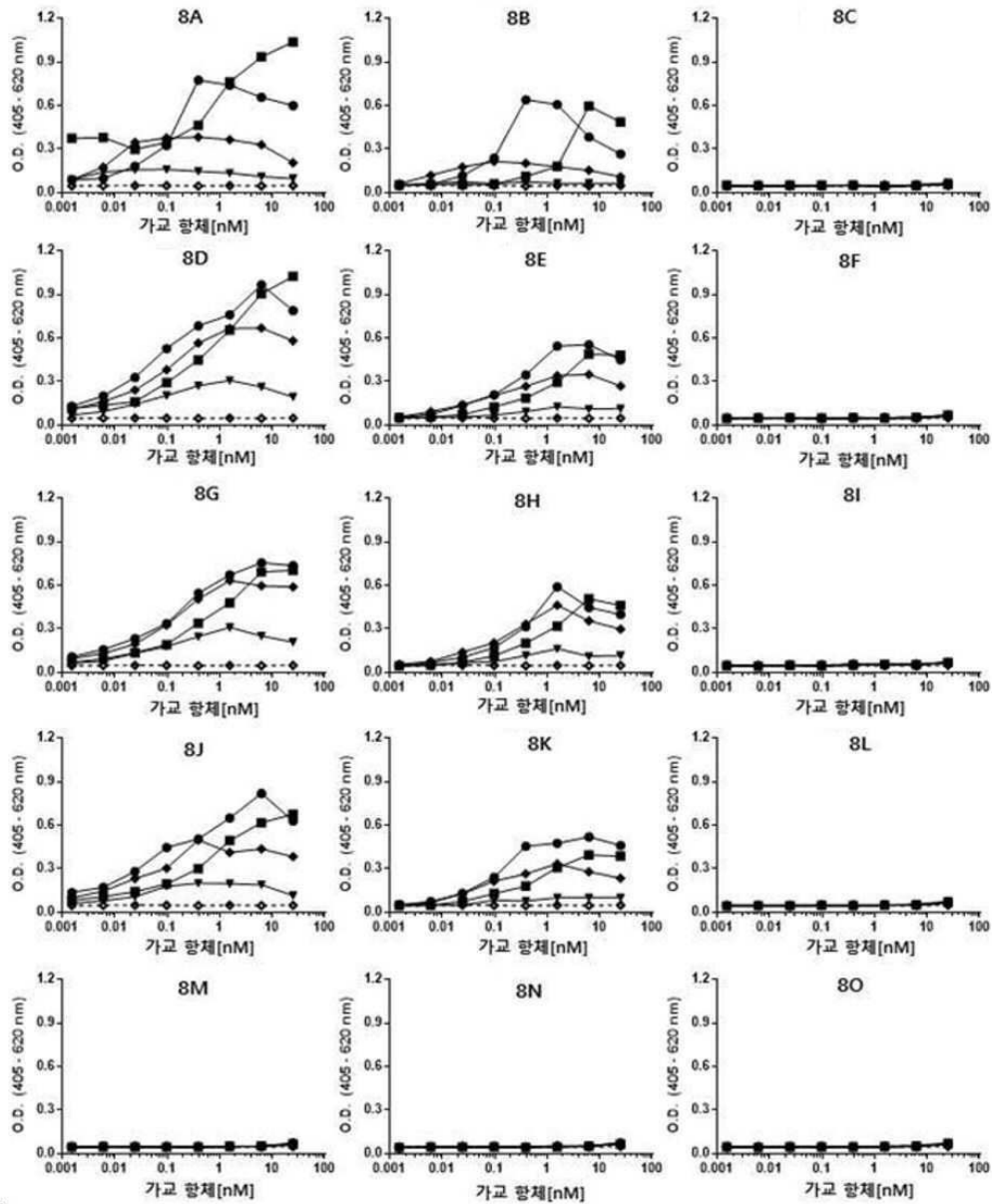
도면6



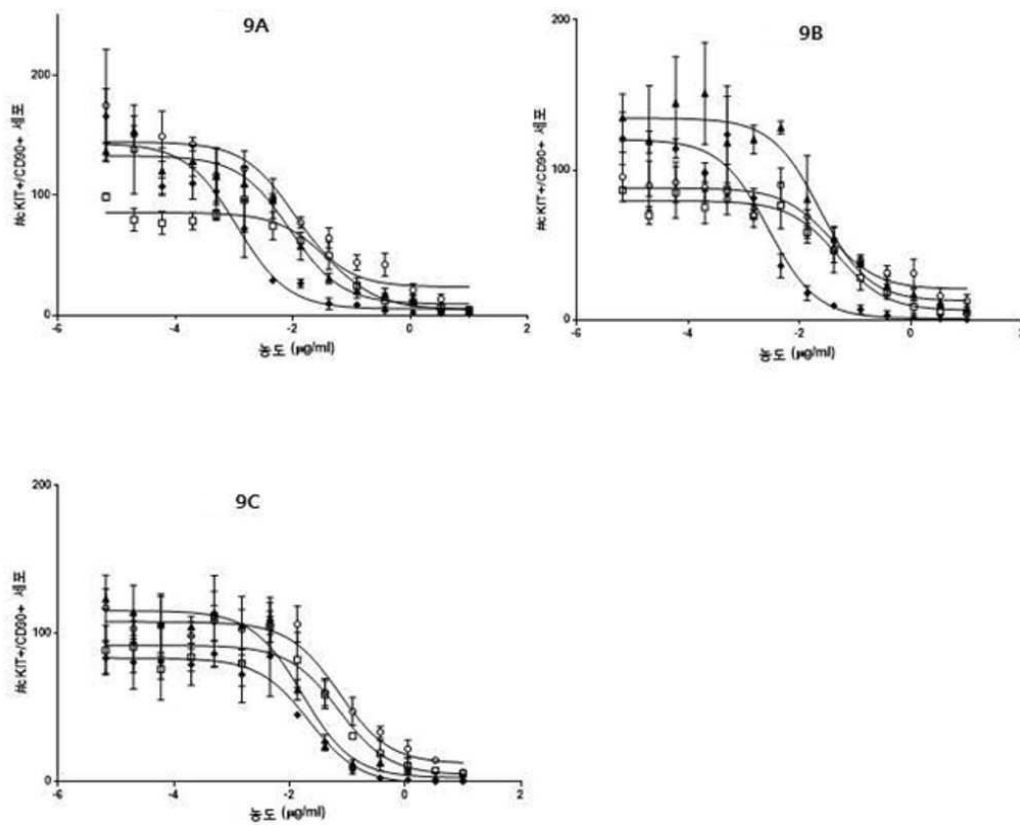
도면7



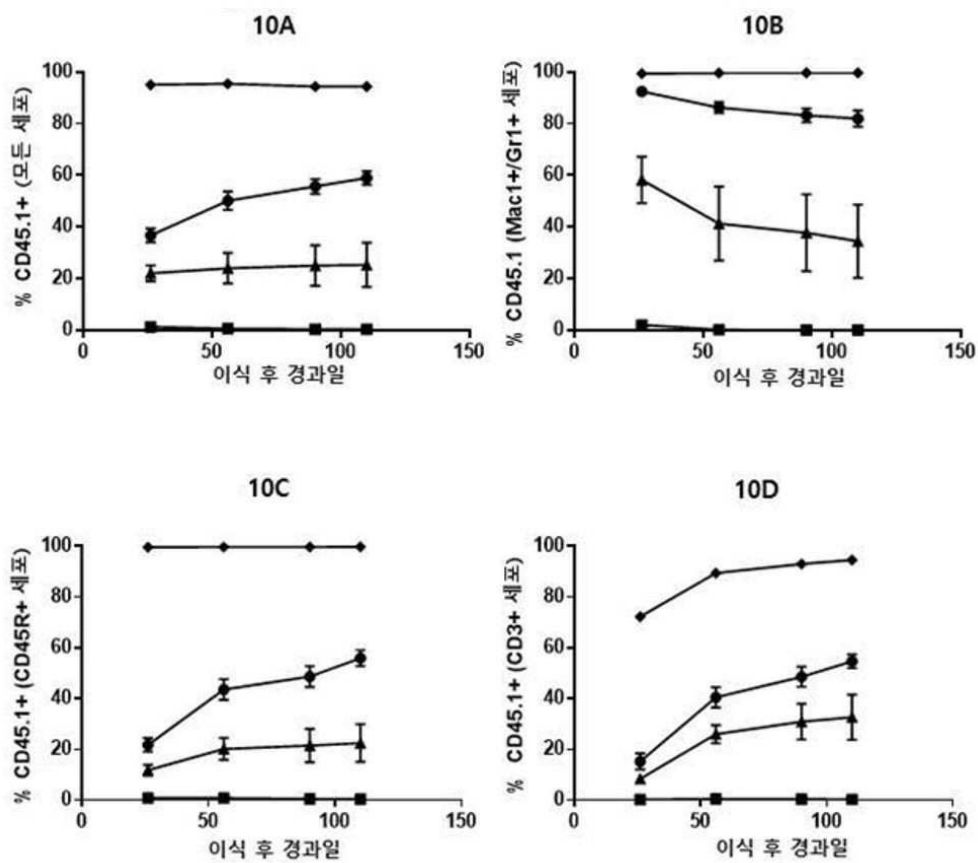
도면8



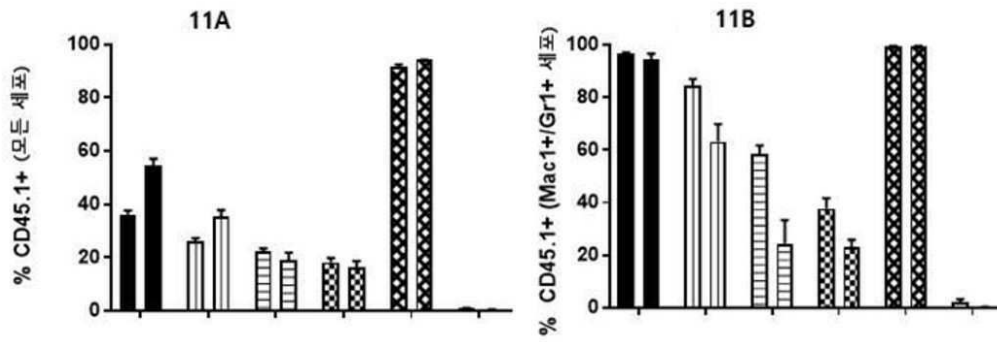
도면9



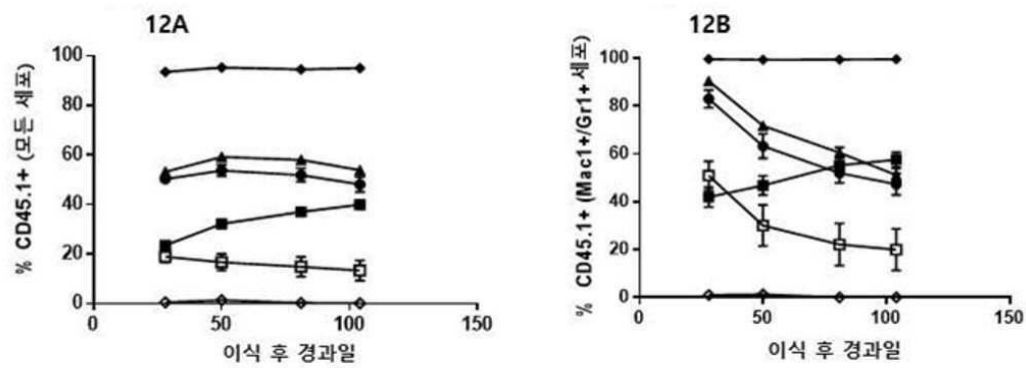
도면10



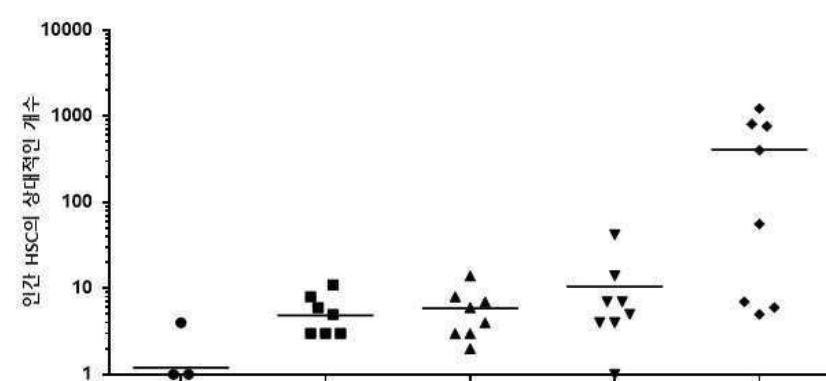
도면11



도면12



도면13



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> NOVARTIS AG

<120> ANTIBODY DRUG CONJUGATES FOR ABLATING HEMATOPOIETIC STEM CELLS

<130> PAT057400-WO-PCT

<140><141><150> 62/520,854

<151> 2017-06-16

<150> 62/437,622

<151> 2016-12-21

<160> 162

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val

1 5

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Phe Pro Ala Glu Gly Ala

1 5

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<400> 6

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 7
 Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 8
 Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro

1 5

<210> 9
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 9
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val

1 5 10

<210> 10
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 10

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

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

<210> 11

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 11

caggtgcaat tgggtgcagag cgggtgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt 60
agctgcaaa catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc 120
ccgggccagg gcctcgagt gatgggcgtt atcttcccg ctgaaggcgc tccgggttac 180
gccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtgggtgt 300
tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctca 354

<210> 12

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

<210> 13

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

caggtgcaat tggatgcagag cggatgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt 60
agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc 120
ccgggccagg gcctcgagt gatgggcgtt atcttcccgg ctgaaggcgc tccgggttac 180

gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300
tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctgagctagc 360
accaagggcc ccagcgtgtt cccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaact 420
gtgcccctgg gttgcctggt gaaggactac ttcccgcgag ccgtgacagt gtcctggaac 480
tctggggctc tgacttcgag cgtgcacacc ttcccgcgag tgctgcagag cagcggcctg 540
tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaacca gacctatc 600

tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtgga gccaagagc 660
tgcgacaaga cccacacctg ccccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttc 720
gtgttcctgt tccccccaa gccaaggac accctgatga tcagcaggac ccccaggtg 780
acctgcgtgg tggatggact gtcccacgag gaccagagg tgaagttaa ctggtacgtg 840
gacggcgtgg aggtgcaca cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc 900
tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac 960
aagtgcgaag tctccaaca ggccctgcc gcccgaatcg aaaagacaat cagcaaggcc 1020

aagggccagc caggggagcc ccaggtgtac accctgcccc ccagccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggttctt accccagcga tatcgccgtg 1140

gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccccc agtgctggac 1200
 agcgacggca gcttcttctt gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag 1260
 ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggcctgc acaaccacta caccagaag 1320
 tccctgagcc tgagccccgg caag 1344

<210> 14

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

<210> 15

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

<400> 15

caggtgcaat tggatgcagag cgggtccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt	60
agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc	120
ccgggccagg gcctcgagt gatgggcgtt atcttcccgg ctgaaggcgc tccgggttac	180
gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat	240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt	300
tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctcagctagc	360

accaagggcc ccagcgtgtt cccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaact	420
gctgccttgg gtgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcctggaac	480
tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg	540
tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcgc tccagctctc tgggaacca gacctatc	600
tgcaactga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtga gcccaagagc	660
tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg a	711

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ile Thr

1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 20

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

Asp Ala Ser

1

<210> 21

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ile

1 5

<210> 22

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

Gln Ser Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 24

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc

60

attacctgca gagccagcca gtctatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120
ggcaaagcgc cgaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180
cgcttttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg 240
gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tactactacg aatctatcac ctttggccag 300

ggcacgaaag ttgaaattaa a 321

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

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

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 26

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc	60
attacctgca gagccagcca gtctatttct aactacctgg cttggtacca gcagaaaccg	120
ggcaaagcgc cgaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc	180
cgcttttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg	240
gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tactactacg aatctatcac ctttggccag	300
ggcacgaaag ttgaaattaa acgtacgggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc	360

agcgacgagc agctgaagag tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac	420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag	480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc	642

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 27

Ser His Ala Leu Ser

1 5

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 28

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

1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 29

Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 30

Gly Gly Thr Phe Ser Ser His

1 5

<210> 31

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

Ile Pro Ser Phe Gly Thr

1 5

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

Gly Gly Thr Phe Ser Ser His Ala Leu Ser

1 5 10

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 33

Gly Gly Thr Phe Ser Ser His Ala

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 34

Ile Ile Pro Ser Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 36

<211> 116

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 37

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

caggtgcaat tgggtgcagag cgggtccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt	60
agctgcaaag catccggagg gacgttttct tctcatgctc tgtcttgggt gcgccaggcc	120
ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcggt atcatcccg ctttcggcac tgcggactac	180
gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat	240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtctg	300
tacgacttcg actactgggg ccaaggcacc ctggtgactg ttagctca	348

<210> 38

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 39
 <211> 1338
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

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

<400> 39

caggtgcaat tggatgcagag cggatgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt 60

agctgcaaag catccggagg gacgttttct tctcatgctc tgtcttgggt gcgccaggcc 120

ccgggccagg gcctcgagt gatgggcgg atcatcccg ctttcggcac tgcggactac 180

gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtctg 300

tacgacttcg actactgggg ccaaggcacc ctggtgactg ttagctcagc tagcaccaag 360

ggccccagcg tgttccccct ggccccagc agcaagtcta cttccggcgg aactgctgcc 420

ctgggttgcc tggatgaagga ctacttcccc gagcccgatga cagtgtctg gaactctggg 480

gctctgactt ccggcgtgca cacttcccc gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc 540

ctgagcagcg tggatgacgt gccctccagc tctctgggaa ccagaccta tatctgcaac 600

gtgaaccaca agccagcaa caccaagggt gacaagagag tggagccaa gagctcgcac 660

aagaccaca cctgccccct ctgcccagct ccagaactgc tgggagggcc ttccgtgttc 720

ctgttcccc ccaagccaa ggacacctg atgacagca ggacccccga ggtgacctgc 780

gtggtggtgg acgtgtccca cgaggacca gaggtgaagt tcaactgga cgtggacggc 840

gtggaggtgc aacacccaa gaccaagccc agagaggagc agtacaacag cacctacagg 900

gtggtgtccg tctgaccgt gctgcaccag gactggctga acggcaaaga atacaagtgc 960

aaagtctcca acaaggccct gccagcccca atcgaaaaga caatcagcaa ggccaagggc 1020

cagccacggg agccccaggt gtacacctg cccccagcc gggaggagat gaccaagaac 1080

caggtgtccc tgacctgtct ggtgaagggc ttctaccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1140

gagagcaacg gccagccga gaacaactac aagaccacc cccagtgct ggacagcgac 1200

ggcagcttct tctgtacag caagctgacc gtggacaagt ccagtgga gcagggaac 1260

gtgttcagct gcagcgtgat gcacaggcc ctgcacaacc actacacca gaagtcctg 1320

agcctgagcc ccggcaag 1338

<210> 40

<211> 235

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235

<210> 41

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

caggtgcaat tggatgcagag cggatgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt 60
agctgcaaag catccggagg gacgttttct tctcatgctc tgtcttgggt gcgccaggcc 120
ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcggg atcatcccg ctttcggcac tgcggactac 180
gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtctg 300
tacgacttcg actactgggg ccaaggcacc ctggtgactg ttagctcagc tagcaccaag 360
ggccccagcg tgttccccct ggccccagc agcaagtcta cttccggcgg aactgctgcc 420
ctgggttgcc tggatgaagga ctacttccc gagcccgatg cagtgtcctg gaactctggg 480
gctctgactt ccggcgtgca cacttccc gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc 540
ctgagcagcg tggatgacagt gccctccagc tctctgggaa ccagaccta tatctgcaac 600
gtgaaccaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag tggagcccaa gagctgcgac 660

aagaccaca cctgcccccc ctgccagct ccagaactgc tggga 705

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Gln Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 43

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 43
 Gln Gln Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser Thr

1 5
 <210> 44
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 44
 Ser Gln Asp Ile Ser Gln Asp

1 5
 <210> 45
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 45
 Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser

1 5
 <210> 46
 <211> 6

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

Gln Asp Ile Ser Gln Asp

1 5

<210> 47

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 48

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

gatatccaga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc	60
attacctgca gagccagcca ggacatttct caggacctgg cttggtacca gcagaaaccg	120
ggcaaagcgc cgaaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc	180
cgcttttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg	240
gaagactttg cgggtgtatta ttgccagcag tactactacc tgccgtctac ctttggccag	300
ggcacgaaag ttgaaattaa a	321

<210> 49

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

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

115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 50

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60
 attacctgca gagccagcca ggacatttct caggacctgg cttggtacca gcagaaaccg 120
 ggcaaagcgc cgaactatt aatctacgac gcttcttctc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180
 cgcttttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cggtgtatta ttgccagcag tactactacc tgccgtctac ctttgccag 300
 ggcacgaaag ttgaaattaa acgtacggtg gccgtccca gcgtgttcat cttcccccc 360
 agcgacgagc agctgaagag tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caactctac 420
 ccccgaggagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgcc tgcaagcgg caacagccag 480
 gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc

642

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

Gly Pro Phe Glu Gly Gln

1 5

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro

1 5

<210> 54

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 55

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

caggtgcaat tggcgcagag cggtgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagt 60

agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc 120

ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcaact atcggtccgt tcgaaggcca gccgcgttac 180

gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300

tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctca 354

<210> 56

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130	135	140	
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn			
145	150	155	160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln			
	165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser			
	180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser			
	195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr			
	210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
	245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
	260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
	275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
	290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	340	345	350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
	355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
	370	375	380

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

<210> 57

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

caggtgcaat tggtgcagag cgggtccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt	60
agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc	120
ccgggccagg gcctcgagt gatgggcact atcggtcctg tcgaaggcca gccgcgttac	180
gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat	240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt	300
tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcaccctgg tgactgttag ctgagctagc	360
accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaaact	420
gctgccttgg gttgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtcttggaa	480
tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg	540
tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaacca gacctatc	600
tgcaactga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtga gcccaagagc	660
tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttc	720
gtgttctctg tccccccaa gcccaaggac accctgatga tcagcaggac ccccaggtg	780
acctgcgtgg tgggtggact gtcccacgag gaccagagg tgaagttaa ctggtacgtg	840
gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc	900
tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac	960

aagtgc aaag tctcca acaa ggccct gcccaaatcg aaaagacaat cagcaaggcc 1020
aagggccagc cacgggagcc ccaggtgtac accctgcccc ccagccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggttct accccagcga tatcgccgtg 1140

gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccc agtgctggac 1200
agcgacggca gcttcttct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag 1260
ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggcctgc acaaccacta caccagaag 1320
tccctgagcc tgagccccgg caag 1344

<210> 58

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

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

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

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

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

130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235

<210> 59

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

caggtgcaat tgggtgcagag cgggtgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt 60

agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc 120

ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcact atcggtcctg tcgaaggcca gccgcgttac 180

gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300

tacatctctg acttcgatgt ttggggccaa ggcacctgg tgactgttag ctacagtagc 360

accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc cccagcagca agtctacttc cggcggaact 420

gtgcccctgg gttgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgacagt gtccctggaac 480

tctggggctc tgacttcggt cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg 540

tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaaccca gacctatc 600
 tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtgga gcccaagagc 660
 tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg a 711

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

Thr Asn Ser Ala Ala Trp Asn

1 5

<210> 61

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val

1 5 10 15

Lys Ser

<210> 62

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 62

Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys Ala Leu Asp Val

1 5 10 15

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 63

Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn Ser Ala

1 5

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu

1 5

<210> 65

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 65

Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn Ser Ala Ala Trp Asn

1 5 10

<210> 66

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 66
 Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn Ser Ala Ala
 1 5 10

<210> 67
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 67
 Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn
 1 5

<210> 68
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 68
 Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys Ala Leu Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 69
 <211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys

100 105 110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 70

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

caggtgcaat tgcagcagag cgggtccgggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg 60

acctgcgcga tttccggaga tagcgtgagc actaactctg ctgcttgaa ctggattcgt 120

cagagcccga gccgtggcct cgagtggctg ggccgtatct actaccgtag ccagtggctg 180
aacgactatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccgatac ttcgaaaaac 240
cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg 300
cgtcagctga cttaccgta cactgtttac cataaagctc tggatgtttg gggtaagga 360
accctggta ccgtctctc g 381

<210> 71

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 71

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys

100 105 110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 165 170 175
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 180 185 190

 Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 195 200 205
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
 210 215 220
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230 235 240
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 245 250 255

 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 260 265 270
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 275 280 285
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 290 295 300
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 305 310 315 320

 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 325 330 335
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 340 345 350
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 355 360 365
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 370 375 380

 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
405 410 415
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
420 425 430
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 72

<211> 1371

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

cagggtgcaat tgcagcagag cgggtccgggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg 60
acctgcgcga tticcggaga tagcgtgagc actaactctg ctgcttgga cttggattcgt 120
cagagcccga gccgtggcct cgagtggctg ggccgtatct actaccgtag ccagtggctg 180
aacgactatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccggtac ttcgaaaaac 240

cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg 300
cgtcagctga cttaccgta cactgtttac cataaagctc tggatgtttg gggtaagga 360
accctggta ccgtctctc ggctagcacc aagggcccca gcgtgttccc cctggcccc 420
agcagcaagt ctacttcgg cggaactgct gcctgggtt gcctggtgaa ggactactc 480
cccagcccc tgacagtgtc ctggaactct ggggtctga cttccggcgt gcacacctc 540
cccgcctgc tgacagagc cggtctgtac agcctgagca gcgtggtgac agtgcctcc 600
agctctctgg gaaccagac ctatatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag 660

gtggacaaga gaggtagacc caagagctgc gacaagacc acactgccc cccctgccc 720
gtccagaac tgctgggagg gccttcctg ttctgttcc ccccaagcc caaggacacc 780
ctgatgatca gcaggacccc cgaggtgacc tgcgtggtg tggacgtgtc ccacaggac 840
ccagaggtga agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcacaacgc caagaccaag 900
cccagagagg agcagtacaa cagcacctac aggggtggtg ccgtgctgac cgtgctgcac 960

caggactggc tgaacggcaa agaatacaag tgcaaagtct ccaacaaggc cctgccagcc 1020
ccaatcgaaa agacaatcag caaggccaag ggccagccac gggagcccca ggtgtacacc 1080

ctgcccccca gccgggagga gatgaccaag aaccaggtgt ccctgacctg tctggtgaag 1140
ggctttctacc ccagcgatat cgccgtggag tgggagagca acggccagcc cgagaacaac 1200
tacaagacca cccccccagt gctggacagc gacggcagct tcttcctgta cagcaagctg 1260
accgtggaca agtccaggtg gcagcagggc aacgtgttca gctgcagcgt gatgcacgag 1320
gccctgcaca accactacac ccagaagtcc ctgagcctga gccccggcaa g 1371

<210> 73

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 73

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys

100 105 110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 130 135 140
 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 145 150 155 160
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 165 170 175
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 195 200 205
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
 210 215 220
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230 235 240
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245

<210> 74

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

caggtgcaat tgcagcagag cggtcgggc ctggtgaaac cgagccagac cctgagcctg	60
acctgcgcga tticcggaga tagcgtgagc actaactctg ctgcttgaa ctggattcgt	120
cagagcccga gccgtggcct cgagtggctg ggccgtatct actaccgtag ccagtggctg	180
aacgactatg ccgtgagcgt gaaaagccgc attaccatta acccgatac ttcgaaaaac	240
cagtttagcc tgcaactgaa cagcgtgacc ccggaagata cggccgtgta ttattgcgcg	300
cgtcagctga cttaccgta cactgtttac cataaagctc tggatgtttg gggtaagga	360
acctggtca ccgtctctc ggctagcacc aagggcccca gcgtgttccc cctggccccc	420
agcagcaagt ctacttcgg cggaactgct gcctgggtt gcctggtgaa ggactacttc	480

cccagagcccg tgacagtgtc ctggaactct ggggctctga cttccggcgt gcacaccttc 540
 cccgcctgtc tgcagagcag cggcctgtac agcctgagca gcgtggtgac agtgccctcc 600
 agctctctgg gaacccagac ctatatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag 660
 gtggacaaga gagtggagcc caagagctgc gacaagaccc acacctgccc cccctgcca 720
 gctccagaac tgctggga 738

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Gln Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

Asp Asp Thr Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

Gln Ser Thr Asp Ser Lys Ser Val Val

1 5

<210> 78

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

Asp Asn Leu Gly Asp Gln Tyr

1 5

<210> 79

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

Asp Asp Thr

1

<210> 80

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

Thr Asp Ser Lys Ser Val

1 5

<210> 81

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 81

Asn Leu Gly Asp Gln Tyr

1 5

<210> 82

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 82

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

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Gln Tyr Val

20 25 30

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

35 40 45

Asp Asp Thr Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 83

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

gatatcgaac tgaccagcc gccgagcgtg agcgtgagcc cgggccagac cgcgagcatt	60
acctgtagcg gcgataacct gggtagcaaa tacgtttctt ggtaccagca gaaaccgggc	120
caggcgccgg tgctggtgat ctacgacgac actgaccgtc cgagcggcat cccggaacgt	180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg acctgacca ttagcggcac ccaggcggaa	240
gacgaagcgg attattactg ccagtctact gactctaaat ctgttgtgtt tggcggcggc	300

acgaagttaa ccgtccta	318
---------------------	-----

<210> 84

<211> 212

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

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

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

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

<210> 85

<211> 636

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

gatatacgaac tgaccacagcc gccgagcgtg agcgtgagcc cgggccagac cgcgagcatt 60
acctgtagcg gcgataacct gggtgaccaa tacgtttctt ggtaccagca gaaaccgggc 120
caggcgccgg tgctggtgat ctacgacgac actgaccgtc cgagcggcat cccggaacgt 180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgag accctgacca ttagcggcac ccaggcggaa 240
gacgaagcgg attattactg ccagtctact gactctaaat ctgttgtgtt tggcggcggc 300
acgaagttaa ccgtcctagg ccagcctaag gccgtccct cctgaccct gttcccccc 360

agctccgagg aactgcaggc caacaaggcc accctggtgt gcctgatcag cgacttctac 420
cctggcgccg tgaccgtggc ctggaaggcc gacagcagcc ccgtgaaggc cggcgtggag 480

acaaccaccc ccagcaagca gagcaacaac aagtagcccg ccagcagcta cctgagcctg 540
 acccccgagc agtgggaagag ccacagaagc tacagctgcc aggtcaccca cgagggcagc 600
 accgtggaga aaaccgtggc cccacccgag tgcagc 636

<210> 86

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 86

Asn Tyr Trp Ile Ala

1 5

<210> 87

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 87

Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 88

Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His

1 5 10

<210> 89

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

1 5

<210> 90

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 90

Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr

1 5

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 91

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Ala

1 5 10

<210> 92

<211> 8

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

<400> 92
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp

1 5
 <210> 93
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 93
 Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr

1 5
 <210> 94
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 94
 Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His

1 5 10 15

<210> 95
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

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

<400> 95

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 96

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 96

caggtgcaat tgggtgcagag cgggtcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt	60
agctgcaaag gctccggata tagcttcact aactactgga tcgcttgggt gcgccagatg	120
ccgggcaaag gtctcgagtg gatgggcata atctaccgt ctaacagcta caccctgtat	180
agcccgagct ttcagggccca ggtgaccatt agcgcggata aaagcatcag caccgcgtat	240
ctgcaatgga gcagcctgaa agcgagcgat accgcgatgt attattgcgc gcgtgttccg	300

ccgggtgggtt ctatctctta cccggctttc gatcattggg gccaaaggcac cctggtgact 360
gtagctca 369

<210> 97

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 97

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

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

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

420 425 430

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

435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 98

<211> 1359

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 98

caggtgcaat tgggtgcagag cgggtcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt 60

agctgcaaag gctccggata tagcttcact aactactgga tcgcttgggt gcgccagatg 120

ccgggcaaag gtctcgagtg gatgggcac atctaccgt ctaacagcta caccctgtat 180

agcccagct ttcaggcca ggtgaccatt agcgcggata aaagcatcag caccgcgtat 240

ctgcaatgga gcagccgaa agcgagcgt accgcgatgt attattgcgc gcgtgttcg 300

ccgggtggtt ctatctctta cccgctttc gatcattggg gccaaaggcac cctggtgact 360

gtagctcag ctacaccaa gggccccagc gtgttcccc tggccccag cagcaagtct 420

acttccggcg gaactgtgc cctgggttgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccggtg 480

acagtgtcct ggaactctgg ggctctgact tccggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg 540

cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgacag tgccctccag ctctctggga 600

accagacct atatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660

gtggagccca agagctgcga caagaccac acctgcccc cctgcccagc tccagaactg 720

ctgggagggc ctccgtgtt cctgttcccc cccaagccca aggacaccct gatgacagc 780

aggaccccc aggtgacctg cgtggtggtg gacgtgtccc acgaggacct agaggtgaag 840

ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cacaaccca agaccaagcc cagagaggag 900

cagtacaaca gcacctacag ggtggtgtcc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg 960

aacggcaaag aatacaagtg caaagtctcc aacaaggccc tgccagcccc aatcgaaaag 1020

acaatcagca aggccaaggg ccagccacgg gagccccagg tgtacacct gccccccagc 1080

cgaggaggaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgtc tggatgaagg cttctacccc 1140

agcgatatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagcccg agaacaacta caagaccacc 1200

ccccagtgc tggacagcga cggcagcttc ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag 1260

tccaggtggc agcagggcaa cgtgttcagc tgcagcgtga tgcacgaggc cctgcacaac 1320

cactacaccc agaagtcctt gagcctgagc cccggcaag 1359

<210> 99

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
 210 215 220
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 225 230 235 240
 Leu Gly

<210> 100

<211> 726

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 100

caggtgcaat tgggtgcagag cgggtcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt 60

agctgcaaag gctccggata tagcttcact aactactgga tcgcttggtt gcgccagatg 120

ccgggcaaag gtctcgagtg gatgggcatt atctaccgtt ctaacagcta caccctgtat 180

agcccgagct ttcagggccg ggtgaccatt agcgcggata aaagcatcag caccgcgtat 240

ctgcaatgga gcagcctgaa agcgagcgat accgcgatgt attattgcgc gcgtgttccg 300

ccgggtggtt ctatctctta cccggctttc gatcattggg gccaaaggcac cctggtgact 360

gttagctcag ctagcaccaa gggccccagc gtgttccccc tggccccag cagcaagtct 420

acttccggcg gaactgctgc cctgggttgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccggtg 480

acagtgtcct ggaactctgg ggctctgact tccggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg 540

cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgacag tgccctccag ctctctggga 600

accagacct atatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660

gtggagccca agagctgcga caagacccac acctgcccc cctgcccagc tccagaactg 720

ctggga 726

<210> 101

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 101

Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr Ala Ser

1 5 10

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 102

Arg Asp Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 103

Ser Val Thr Asp Met Glu Gln His Ser Val

1 5 10

<210> 104

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 104
 Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr
 1 5
 <210> 105
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 105
 Arg Asp Asn
 1
 <210> 106
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 106
 Thr Asp Met Glu Gln His Ser
 1 5
 <210> 107
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

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

<400> 107

Asn Ile Gly Ser Ile Tyr

1 5

<210> 108

<211> 107

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 108

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

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Val Thr Asp Met Glu Gln His Ser

85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 109

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 109

gatatcgaac tgaccagcc gccgagcgtg agcgtgagcc cgggccagac cgcgagcatt	60
acctgtagcg gcgataacat cggttctatc tacgcttctt ggtaccagca gaaaccgggc	120
caggcgccgg tgctggtgat ctaccgtgac aacaaacgtc cgagcggcat cccggaacgt	180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg acctgacca ttagcggcac ccaggcggaa	240
gacgaagcgg attattactg ctccgttact gacatggaac agcattctgt gtttgccggc	300

ggcacgaagt taaccgtcct a	321
-------------------------	-----

<210> 110

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 110

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr Ala

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65	70	75	80
----	----	----	----

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Val Thr Asp Met Glu Gln His Ser

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala

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

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

210

<210> 111

<211> 639

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 111

gatatcgaac tgaccagacc gccgagcgtg agcgtgagcc cgggccagac cgcgagcatt 60
 acctgtagcg gcgataacat cggttctatc tacgcttctt ggtaccagca gaaaccgggc 120
 caggcgccgg tgctggtgat ctaccgtgac aacaaacgtc cgagcggcat cccggaacgt 180
 tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg accctgacca ttagcggcac ccaggcggaa 240
 gacgaagcgg attattactg ctccgttact gacatggaac agcattctgt gtttggcggc 300
 ggcacgaagt taaccgtcct aggccagcct aaggccgctc cctccgtgac cctgttcccc 360

cccagctccg aggaactgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgcctgat cagcgacttc 420
 taccctggcg ccgtgaccgt ggcctggaag gccgacagca gccccgtgaa ggccggcgtg 480
 gagacaacca cccccagcaa gcagagcaac aacaagtagc ccgccagcag ctacctgagc 540
 ctgacccccg agcagtggaa gagccacaga agctacagct gccaggtcac ccacgagggc 600
 agcaccgtgg agaaaaccgt ggccccacc gagtgcagc 639

<210> 112
 <211> 503
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 112

Gln Pro Ser Val Ser Pro Gly Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile His Pro

1 5 10 15

Gly Lys Ser Asp Leu Ile Val Arg Val Gly Asp Glu Ile Arg Leu Leu

20 25 30

Cys Thr Asp Pro Gly Phe Val Lys Trp Thr Phe Glu Ile Leu Asp Glu

35 40 45

Thr Asn Glu Asn Lys Gln Asn Glu Trp Ile Thr Glu Lys Ala Glu Ala

50 55 60

Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Thr Cys Thr Asn Lys His Gly Leu Ser Asn

65 70 75 80

Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg Asp Pro Ala Lys Leu Phe Leu Val Asp

85 90 95

Arg Ser Leu Tyr Gly Lys Glu Asp Asn Asp Thr Leu Val Arg Cys Pro

100 105 110

Leu Thr Asp Pro Glu Val Thr Asn Tyr Ser Leu Lys Gly Cys Gln Gly

115 120 125

Lys Pro Leu Pro Lys Asp Leu Arg Phe Ile Pro Asp Pro Lys Ala Gly

130 135 140

Ile Met Ile Lys Ser Val Lys Arg Ala Tyr His Arg Leu Cys Leu His

145 150 155 160

Cys Ser Val Asp Gln Glu Gly Lys Ser Val Leu Ser Glu Lys Phe Ile

165 170 175

Leu Lys Val Arg Pro Ala Phe Lys Ala Val Pro Val Val Ser Val Ser

				180						185					190				
Lys	Ala	Ser	Tyr	Leu	Leu	Arg	Glu	Gly	Glu	Glu	Phe	Thr	Val	Thr	Cys				
		195					200					205							
Thr	Ile	Lys	Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Tyr	Ser	Thr	Trp	Lys	Arg	Glu				
	210					215					220								
Asn	Ser	Gln	Thr	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Tyr	Asn	Ser	Trp	His	His	Gly				
225					230					235					240				
Asp	Phe	Asn	Tyr	Glu	Arg	Gln	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Ala	Arg				
				245					250					255					
Val	Asn	Asp	Ser	Gly	Val	Phe	Met	Cys	Tyr	Ala	Asn	Asn	Thr	Phe	Gly				
		260						265				270							
Ser	Ala	Asn	Val	Thr	Thr	Thr	Leu	Glu	Val	Val	Asp	Lys	Gly	Phe	Ile				
	275						280				285								
Asn	Ile	Phe	Pro	Met	Ile	Asn	Thr	Thr	Val	Phe	Val	Asn	Asp	Gly	Glu				
	290					295					300								
Asn	Val	Asp	Leu	Ile	Val	Glu	Tyr	Glu	Ala	Phe	Pro	Lys	Pro	Glu	His				
305					310					315					320				
Gln	Gln	Trp	Ile	Tyr	Met	Asn	Arg	Thr	Phe	Thr	Asp	Lys	Trp	Glu	Asp				
				325					330					335					
Tyr	Pro	Lys	Ser	Glu	Asn	Glu	Ser	Asn	Ile	Arg	Tyr	Val	Ser	Glu	Leu				
		340						345					350						
His	Leu	Thr	Arg	Leu	Lys	Gly	Thr	Glu	Gly	Gly	Thr	Tyr	Thr	Phe	Leu				
		355						360				365							
Val	Ser	Asn	Ser	Asp	Val	Asn	Ala	Ala	Ile	Ala	Phe	Asn	Val	Tyr	Val				
	370						375				380								
Asn	Thr	Lys	Pro	Glu	Ile	Leu	Thr	Tyr	Asp	Arg	Leu	Val	Asn	Gly	Met				
385					390					395					400				
Leu	Gln	Cys	Val	Ala	Ala	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Thr	Ile	Asp	Trp	Tyr				
				405					410					415					
Phe	Cys	Pro	Gly	Thr	Glu	Gln	Arg	Cys	Ser	Ala	Ser	Val	Leu	Pro	Val				
				420				425					430						

Asp Val Gln Thr Leu Asn Ser Ser Gly Pro Pro Phe Gly Lys Leu Val
435 440 445

Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ala Phe Lys His Asn Gly Thr Val
450 455 460

Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp Val Gly Lys Thr Ser Ala Tyr Phe Asn
465 470 475 480

Phe Ala Phe Lys Glu Gln Ile His Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Arg
485 490 495

Ser His His His His His His
500

<210> 113

<211> 294

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 113

Gln Pro Ser Val Ser Pro Gly Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile His Pro
1 5 10 15

Gly Lys Ser Asp Leu Ile Val Arg Val Gly Asp Glu Ile Arg Leu Leu
20 25 30

Cys Thr Asp Pro Gly Phe Val Lys Trp Thr Phe Glu Ile Leu Asp Glu
35 40 45

Thr Asn Glu Asn Lys Gln Asn Glu Trp Ile Thr Glu Lys Ala Glu Ala
50 55 60

Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Thr Cys Thr Asn Lys His Gly Leu Ser Asn
65 70 75 80

Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg Asp Pro Ala Lys Leu Phe Leu Val Asp
85 90 95

Arg Ser Leu Tyr Gly Lys Glu Asp Asn Asp Thr Leu Val Arg Cys Pro

100 105 110
 Leu Thr Asp Pro Glu Val Thr Asn Tyr Ser Leu Lys Gly Cys Gln Gly
 115 120 125
 Lys Pro Leu Pro Lys Asp Leu Arg Phe Ile Pro Asp Pro Lys Ala Gly
 130 135 140
 Ile Met Ile Lys Ser Val Lys Arg Ala Tyr His Arg Leu Cys Leu His
 145 150 155 160
 Cys Ser Val Asp Gln Glu Gly Lys Ser Val Leu Ser Glu Lys Phe Ile
 165 170 175

 Leu Lys Val Arg Pro Ala Phe Lys Ala Val Pro Val Val Ser Val Ser
 180 185 190
 Lys Ala Ser Tyr Leu Leu Arg Glu Gly Glu Glu Phe Thr Val Thr Cys
 195 200 205
 Thr Ile Lys Asp Val Ser Ser Ser Val Tyr Ser Thr Trp Lys Arg Glu
 210 215 220
 Asn Ser Gln Thr Lys Leu Gln Glu Lys Tyr Asn Ser Trp His His Gly
 225 230 235 240

 Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser Ala Arg
 245 250 255
 Val Asn Asp Ser Gly Val Phe Met Cys Tyr Ala Asn Asn Thr Phe Gly
 260 265 270
 Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr Leu Glu Val Val Asp Lys Gly Arg Ser
 275 280 285
 His His His His His His
 290
 <210> 114
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 114

Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Met Ile Asn Thr Thr Val Phe Val Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn Arg Thr Phe Thr Asp Lys

35 40 45

Trp Glu Asp Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu Ser Asn Ile Arg Tyr Val

50 55 60

Ser Glu Leu His Leu Thr Arg Leu Lys Gly Thr Glu Gly Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Asn Ala Ala Ile Ala Phe Asn

85 90 95

Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu Thr Tyr Asp Arg Leu Val

100 105 110

Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly Phe Pro Glu Pro Thr Ile

115 120 125

Asp Trp Tyr Phe Cys Pro Gly Thr Glu Gln Arg Cys Ser Ala Ser Val

130 135 140

Leu Pro Val Asp Val Gln Thr Leu Asn Ser Ser Gly Pro Pro Phe Gly

145 150 155 160

Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ala Phe Lys His Asn

165 170 175

Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp Val Gly Lys Thr Ser Ala

180 185 190

Tyr Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Asn Lys Glu Gln Ile His Pro

195 200 205

His Thr Leu Phe Thr Pro Arg Ser His His His His His His

210 215 220

<210> 115

<211> 741

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 115

Ser Gln Pro Ser Ala Ser Pro Gly Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile His

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Cys Ile Asp Pro Asp Phe Val Arg Trp Thr Phe Lys Thr Tyr Phe

35 40 45

Asn Glu Met Val Glu Asn Lys Lys Asn Glu Trp Ile Gln Glu Lys Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ser Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg Asp Pro Ala Lys Leu Phe Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Gly Ile Thr Ile Lys Asn Val Lys Arg Ala Tyr His Arg Leu Cys

145 150 155 160

Val Arg Cys Ala Ala Gln Arg Asp Gly Thr Trp Leu His Ser Asp Lys

165 170 175

Phe Thr Leu Lys Val Arg Ala Ala Ile Lys Ala Ile Pro Val Val Ser

180 185 190

Val Pro Glu Thr Ser His Leu Leu Lys Lys Gly Asp Thr Phe Thr Val

195 200 205
 Val Cys Thr Ile Lys Asp Val Ser Thr Ser Val Asn Ser Met Trp Leu
 210 215 220
 Lys Met Asn Pro Gln Pro Gln His Ile Ala Gln Val Lys His Asn Ser
 225 230 235 240
 Trp His Arg Gly Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln Glu Thr Leu Thr Ile
 245 250 255

 Ser Ser Ala Arg Val Asp Asp Ser Gly Val Phe Met Cys Tyr Ala Asn
 260 265 270
 Asn Thr Phe Gly Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr Leu Lys Val Val Glu
 275 280 285
 Lys Gly Phe Ile Asn Ile Ser Pro Val Lys Asn Thr Thr Val Phe Val
 290 295 300
 Thr Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Val Val Glu Tyr Glu Ala Tyr Pro
 305 310 315 320

 Lys Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn Arg Thr Ser Ala Asn
 325 330 335
 Lys Gly Lys Asp Tyr Val Lys Ser Asp Asn Lys Ser Asn Ile Arg Tyr
 340 345 350
 Val Asn Gln Leu Arg Leu Thr Arg Leu Lys Gly Thr Glu Gly Gly Thr
 355 360 365
 Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Ala Ser Ala Ser Val Thr Phe
 370 375 380

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

Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Val Phe Arg His
450 455 460

Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Ser Asn Asp Val Gly Lys Ser Ser
465 470 475 480

Ala Phe Phe Asn Phe Ala Phe Lys Glu Gln Ile Gln Ala His Thr Leu
485 490 495

Phe Thr Pro Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Arg Ser Pro Arg Gly
500 505 510

Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu
515 520 525

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val
530 535 540

Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
545 550 555 560

Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val
565 570 575

Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser
580 585 590

Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met
595 600 605

Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala
610 615 620

Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro
625 630 635 640

Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln
645 650 655

Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr
660 665 670

Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr
675 680 685

Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu

690 695 700

Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser
705 710 715 720
Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser
725 730 735
Arg Thr Pro Gly Lys
740

<210> 116
<211> 741
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 116

Ser Gln Pro Ser Ala Ser Pro Gly Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile Gln

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

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

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

130

135

140

Gly Ile Thr Ile Lys Asn Val Lys Arg Ala Tyr His Arg Leu Cys Ile

145

150

155

160

Arg Cys Ala Ala Gln Arg Glu Gly Lys Trp Met Arg Ser Asp Lys Phe

165

170

175

Thr Leu Lys Val Arg Ala Ala Ile Lys Ala Ile Pro Val Val Ser Val

180

185

190

Pro Glu Thr Ser His Leu Leu Lys Glu Gly Asp Thr Phe Thr Val Ile

195

200

205

Cys Thr Ile Lys Asp Val Ser Thr Ser Val Asp Ser Met Trp Ile Lys

210

215

220

Leu Asn Pro Gln Pro Gln Ser Lys Ala Gln Val Lys Arg Asn Ser Trp

225

230

235

240

His Gln Gly Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln Glu Thr Leu Thr Ile Ser

245

250

255

Ser Ala Arg Val Asn Asp Ser Gly Val Phe Met Cys Tyr Ala Asn Asn

260

265

270

Thr Phe Gly Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr Leu Lys Val Val Glu Lys

275

280

285

Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Val Lys Asn Thr Thr Val Phe Val Thr

290

295

300

Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Val Val Glu Phe Glu Ala Tyr Pro Lys

305

310

315

320

Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn Arg Thr Pro Thr Asn Arg

325

330

335

Gly Glu Asp Tyr Val Lys Ser Asp Asn Gln Ser Asn Ile Arg Tyr Val

340

345

350

Asn Glu Leu Arg Leu Thr Arg Leu Lys Gly Thr Glu Gly Gly Thr Tyr

355

360

365

Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Ser Ala Ser Val Thr Phe Asp

370 375 380
 Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu Thr Tyr Asp Arg Leu Met

 385 390 395 400
 Asn Gly Arg Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly Phe Pro Glu Pro Thr Ile

 405 410 415
 Asp Trp Tyr Phe Cys Thr Gly Ala Glu Gln Arg Cys Thr Val Pro Val

 420 425 430
 Pro Pro Val Asp Val Gln Ile Gln Asn Ala Ser Val Ser Pro Phe Gly

 435 440 445
 Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Val Phe Arg His Asn

 450 455 460
 Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Ser Asn Ala Val Gly Lys Ser Ser Ala

 465 470 475 480
 Phe Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Ser Lys Glu Gln Ile Gln Pro

 485 490 495
 His Thr Leu Phe Thr Pro Arg Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro

 500 505 510
 Gly Ser Pro Pro Leu Lys Glu Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Asp Leu

 515 520 525
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val

 530 535 540
 Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Met Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

 545 550 555 560
 Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val

 565 570 575
 Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser

 580 585 590
 Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met

 595 600 605
 Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Arg Ala Leu Pro Ser

 610 615 620

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Arg Gly Pro Val Arg Ala Pro
625 630 635 640
Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Met Thr Lys Lys Glu

645 650 655
Phe Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Gly Phe Leu Pro Ala Glu Ile Ala
660 665 670
Val Asp Trp Thr Ser Asn Gly Arg Thr Glu Gln Asn Tyr Lys Asn Thr
675 680 685
Ala Thr Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu
690 695 700
Arg Val Gln Lys Ser Thr Trp Glu Arg Gly Ser Leu Phe Ala Cys Ser

705 710 715 720
Val Val His Glu Gly Leu His Asn His Leu Thr Thr Lys Thr Ile Ser
725 730 735
Arg Ser Leu Gly Lys
740

<210> 117

<211> 527

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 117

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

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

Ile Leu Asp Glu Thr Asn Glu Asn Lys Gln Asn Glu Trp Ile Thr Glu
65 70 75 80

Lys Ala Glu Ala Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Thr Cys Thr Asn Lys His
85 90 95

Gly Leu Ser Ser Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg Asp Pro Ala Lys Leu
100 105 110

Phe Leu Val Asp Arg Ser Leu Tyr Gly Lys Glu Asp Asn Asp Thr Leu
115 120 125

Val Arg Cys Pro Leu Thr Asp Pro Glu Val Thr Ser Tyr Ser Leu Lys
130 135 140

Gly Cys Gln Gly Lys Pro Leu Pro Lys Asp Leu Arg Phe Val Pro Asp
145 150 155 160

Pro Lys Ala Gly Ile Thr Ile Lys Ser Val Lys Arg Ala Tyr His Arg
165 170 175

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

Asp Lys Phe Ile Leu Lys Val Arg Pro Ala Phe Lys Ala Val Pro Val
195 200 205

Val Ser Val Ser Lys Ala Ser Tyr Leu Leu Arg Glu Gly Glu Glu Phe
210 215 220

Thr Val Thr Cys Thr Ile Lys Asp Val Ser Ser Ser Val Tyr Ser Thr
225 230 235 240

Trp Lys Arg Glu Asn Ser Gln Thr Lys Leu Gln Glu Lys Tyr Asn Ser
245 250 255

Trp His His Gly Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln Ala Thr Leu Thr Ile
260 265 270

Ser Ser Ala Arg Val Asn Asp Ser Gly Val Phe Met Cys Tyr Ala Asn
275 280 285

Asn Thr Phe Gly Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr Leu Glu Val Val Asp
290 295 300

Lys Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Met Ile Asn Thr Thr Val Phe Val

305 310 315 320
 Asn Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Ile Val Glu Tyr Glu Ala Phe Pro
 325 330 335

 Lys Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn Arg Thr Phe Thr Asp
 340 345 350
 Lys Trp Glu Asp Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu Ser Asn Ile Arg Tyr
 355 360 365
 Val Ser Glu Leu His Leu Thr Arg Leu Lys Gly Thr Glu Gly Gly Thr
 370 375 380
 Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Asn Ala Ser Ile Ala Phe
 385 390 395 400

 Asn Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu Thr Tyr Asp Arg Leu
 405 410 415
 Val Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly Phe Pro Glu Pro Thr
 420 425 430
 Ile Asp Trp Tyr Phe Cys Pro Gly Thr Glu Gln Arg Cys Ser Ala Ser
 435 440 445
 Val Leu Pro Val Asp Val Gln Thr Leu Asn Ala Ser Gly Pro Pro Phe
 450 455 460

 Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ala Phe Lys His
 465 470 475 480
 Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp Val Gly Lys Thr Ser
 485 490 495
 Ala Tyr Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Asn Lys Glu Gln Ile His
 500 505 510
 Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Arg Ser His His His His His His
 515 520 525

 <210> 118
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 119

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230
 <210> 120
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 120
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

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

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

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

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225

230

<210> 121

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 121

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

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

 130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

 195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro
225 230 235

<210> 122

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 122

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

1 5 10 15

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

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

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

 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Cys Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 123
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 123

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Cys Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 124

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 124

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 125

<211> 229

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 125

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro
225

<210> 126

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 126

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230

<210> 127

<211> 236

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 127

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Gly	Leu	Tyr	Asp	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
100				105				110							
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
115				120				125							
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
130				135				140							
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145				150				155				160			
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
165				170				175							
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
180				185				190							
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
195				200				205							
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
210				215				220							
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Pro				
225				230				235							
<210> 128															
<211> 214															
<212> PRT															
<213> Artificial Sequence															
<220><221> source															
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"															
<400> 128															
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10				15			

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Tyr Leu Pro Ser
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Cys Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 129

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Cys Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 130

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 <210> 131
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 131
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

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

 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230

<210> 132

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

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

85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230

<210> 133

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

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

1 5 10 15

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

20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65						70						75						80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
					85						90						95	
Ala	Arg	Gly	Gly	Tyr	Ile	Ser	Asp	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr			
					100						105						110	
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro			
					115						120						125	
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly			
					130						135						140	
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn			
145						150						155						160
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln			
					165						170						175	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser			
					180						185						190	
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser			
					195						200						205	
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr			
					210						215						220	
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Pro					
225						230						235						
<210>	134																	
<211>	214																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial Sequence																	
<220><221>	source																	
<223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"																	
<400>	134																	
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly			
1					5					10					15			

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

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

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 135

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Cys Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 136

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 136

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

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

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

130 135 140
Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160
Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190

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

195 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg

210 215 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

225 230

<210> 137

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 137

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys

100 105 110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu

180 185 190

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

195 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg

210 215 220

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

225 230 235 240

<210> 138

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 138

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys
100 105 110
Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125
Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
130 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160
Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
195 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
210 215 220
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225 230 235 240
Ala Pro

<210> 139

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 139

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

1 5 10 15

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

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

 130 135 140
 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 145 150 155 160
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 165 170 175
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 180 185 190
 Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr

 195 200 205
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
 210 215 220
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230 235 240
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro
 245

<210> 140

<211> 212

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 140

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

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Gln Tyr Val

20 25 30

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

35 40 45

Asp Asp Thr Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn

115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Cys Val

130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu

145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser

165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser

180 185 190

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

	195		200		205
Thr	Glu	Cys	Ser		
	210				
<210>	141				
<211>	227				
<212>	PRT				
<213>	Artificial Sequence				
<220><221>	source				
<223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"				
<400>	141				
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln
1		5		10	15
Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys
	20		25		30
Trp	Ile	Ala	Trp	Val	Arg
	35		40		45
Gly	Ile	Ile	Tyr	Pro	Ser
	50		55		60
Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile
65		70		75	80
Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu
	85		90		95
Ala	Arg	Val	Pro	Pro	Gly
	100		105		110
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
	115		120		125
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
	130		135		140
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
	145		150		155
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser

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

210 215 220
Ser Cys Asp
225
<210> 142
<211> 236
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 142

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

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

Ala Arg Val Pro Pro Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Pro Ala Phe Asp His
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

225 230 235

<210> 143

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 143

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

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asn Ser Tyr Thr Leu Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

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

65						70						75						80
Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys			
					85						90						95	
Ala	Arg	Val	Pro	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	Ser	Tyr	Pro	Ala	Phe	Asp	His			
					100						105						110	
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly			
					115						120						125	
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly			
					130						135						140	
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val			
					145						150						155	160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe			
					165						170						175	
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val			
					180						185						190	
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val			
					195						200						205	
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys			
					210						215						220	
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro					
					225						230						235	
<210> 144																		
<211> 243																		
<212> PRT																		
<213> Artificial Sequence																		
<220><221> source																		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"																		
<400> 144																		
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu			
1					5					10					15			
Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Asn	Tyr			

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

<210> 145

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 145

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

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Ile Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Val Thr Asp Met Glu Gln His Ser

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala

115 120 125

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

130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr

180 185 190

Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala

195 200 205

Pro Thr Glu Cys Ser

210

<210

> 146

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 146

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235

<210> 147

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 147

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

<210> 148

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 148

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

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys His His His His His His

225 230

<210> 149

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 149

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Cys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 150

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 150

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

245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys

450

<210> 151

<211> 16

<212> PRT

<213> Human cytomegalovirus

<400> 151

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala

1 5 10 15

<210> 152

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 152

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys

20

<210> 153

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 153

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Gln Trp Leu Asn Asp Tyr Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys
100 105 110
Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125
Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
130 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160
Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
195 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
210 215 220
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225 230 235 240
Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245

<210> 154

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 154

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

1 5 10 15

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

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

 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235
 <210> 155
 <211> 225
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 155

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His

225

<210> 156

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 156

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235

<210> 157

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 157

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 Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30

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

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys

225

<210> 158

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 158

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Thr Asn

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

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Leu Thr Tyr Pro Tyr Thr Val Tyr His Lys

100 105 110

Ala Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu

180 185 190

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

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg

210 215
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

225

<210> 159

<211> 223

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 159

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Phe Pro Ala Glu Gly Ala Pro Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 160

<211> 221

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 160

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Leu Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

<210> 161

<211> 223

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

<400> 161

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Gly Pro Phe Glu Gly Gln Pro Arg Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ile Ser Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195

200

205

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

210

215

220

<210> 162

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

6xHis tag"

<400> 162

His His His His His His

1

5