

(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(51) . Int. Cl.⁷

C07K 16/30
A61K 39/395
C07K 16/28

(11) 공개번호 10-2005-0083774
(43) 공개일자 2005년08월26일

| | | | |
|-------------|-------------------|-------------|----------------|
| (21) 출원번호 | 10-2005-7006647 | | |
| (22) 출원일자 | 2005년04월15일 | | |
| 번역문 제출일자 | 2005년04월15일 | | |
| (86) 국제출원번호 | PCT/US2003/032945 | (87) 국제공개번호 | WO 2004/035537 |
| 국제출원일자 | 2003년10월15일 | 국제공개일자 | 2004년04월29일 |

(30) 우선권주장 60/418,828 2002년10월16일 미국(US)
60/485,986 2003년07월10일 미국(US)

(71) 출원인 유로-셀티크 소시에떼 아노늄
룩셈부르그, 불르바르드 드 라 페트뤼쎄, 122

(72) 발명자 엘본, 얼, 에프.
미국, 펜실바니아주 19422 블루밸 1766 쇼필드 드라이브
솔티스, 다니엘, 에이.
미국 뉴저지 08502 벌 미드 7 쇼트랜드 그린

(74) 대리인 이상용
제갈혁
구현서

심사청구 : 없음

(54) 세포-연관된 CA 125/0772P에 결합하는 항체들 및 그것의 용도의 방법들

요약

본 발명은 셰드(shed) CA 125/0772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/0772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 항체들, 항체들의 항원-결합 절편들, 융합 폴리펩타이드들 및 아나로그에 관한 것이다. 본 발명은 CA 125/0772P-관련 이상과 연관된 하나 이상의 증상들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하는 방법을 더욱 제공한다. 특별하게 본 발명은 예를 들어 난소암과 같은 암과 같은 세포 증식 이상과 연관된 하나 이상의 증상들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하는 방법을 제공한다. 본 발명은 셰드(shed) CA 125/0772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/0772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 항체들, 항체들의 항원-결합 절편들을 동정하는 방법 뿐 아니라 CA 125/0772P-관련 이상 또는 그러한 이상을 발생하는 소질을 진단하는 방법들을 제공한다.

1 AAQPARARR TKLFTHRSVV STTSYPTPT VTLGASKTPA SIFGPAASH
 51 LLILPFTLNFT ITNLAYSEEM WPGSRKRFNTT ERVILQGLLRP LFRNTSVCPL
 101 YSGCRLTLLR PENDGEATCV DAICTERPDP TCPCGLDREQL YLELSQLTRE
 151 JTELGPTTLD ADSLXVNGET ERSSVPTTST GYVSEEPFTL NFTIMMLATM
 201 ADWQPGSLK FNTDOWNGH LLSPLPQSS LGARYTGCRV IALRSVNGA
 251 FTRVDLILCTY LQPLSGPGLP IROVFEELSQ CTGKTRLGP YSLDKDLSLYL
 301 MGTNEPGPDE PPTTPKPATL FLPPPLSEATT ANGTYELATLT LNFTISNQY
 351 SPDMGNGSAT FNTSEGVLOH LERPLFQKSS MGPFYLGQJL ISLRPENOGA
 401 ATGVDTTCYI HDPEVVGPGLO IQLLYWELSQ LTBGWTQLGF YVLDQDLSLFI
 451 MCAQPNLSI EGCGXQJIREHI VENNLASHEDF TSSEYITLLR DIOQEVTTLLK
 501 EGGQALDTER FCLAVTSLTMD SYLNTYKALF SSWLDPSELYE OVFLQSTLKA
 551 SFTWLGSTYD LVDIHTMRE SSVYOPTSSS ETOHETLHTT LTNLPYSDMK
 601 AQEGTINYOR HNRHEDALM CLEMSNSRS YHDCOVTYF RYHPRHHTW
 651 YDSLCHNFSPL ABRVIVWLYI EFLMFTLDR SSVYDSEYF
 701 MREHEELTQMS ADTQHSEGRS SLEGPRTFQK LISSECOLNHC TGHHRHHS

명세서

기술분야

본 발명은 쉐드(shed) CA 125/O 0772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 0772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 항체들 또는 항체들의 항원-결합 절편들, 그러한 항체들 및 항원-결합 절편들을 동정하는 방법 및 그러한 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명은 CA 125/O 0772P-관련 이상과 연관된 하나 이상의 증상들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하는 방법을 더욱 제공한다. 특별하게 본 발명은 세포 증식 이상과 연관된 하나 이상의 증상들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하는 방법을 제공한다. 예를 들어 본 발명은 암과 연관된 하나 이상의 증상들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하는 방법을 제공한다. 바람직한 실시예에서 본 발명은 난소암과 연관된 하나 이상의 증상들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 CA 125/O 0772P-관련 이상과 연관된 하나 이상의 증상 예를 들어 암 즉 난소암과 같은 것들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하는데 사용되는 제조물 및 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 CA 125/O 0772P-관련 이상 또는 그러한 이상을 발생하는 소질을 진단하는 방법들을 제공한다.

배경기술

CA 125에 관한 고분자량 폴리펩타이드는 난소암을 갖는 모든 환자의 약 80%에서 검출될 수 있다(Kabawat 외, Am. J. Clin. Pathol. 79: 98-104 (1983); 및 Gadducci 외, Gynecol. Oncol. 44: 147-154 (1992) 참조). CA 125는 종양 세포들의 표면에 존재하고 증가되고 분비 또는 "쉐드(shed)" 형태들의 CA 125가 약 80-90%의 난소암 환자들에서 존재한다.

CA 125에 대한 항체들은 생산되고, CA 125 농도들의 결정 및 세포 배양 배지로부터 CA 125의 정제에 이용된다. 예를 들어 Bast 외, J. Clin. Invest. 685 : 1331-1337 (1981); Krantz 외, J. Cell. Biochem. (Suppl.) 12 EU : 139 (1988); 미국특허 제4,921,790, 5,059,680, 및 5,976, 818; 및 JP11014626 참조.

CA 125의 존재 모니터링을 위한 항체 외에도, 미국특허 제5,858,361 및 6,241,985는 치료제들로서 항-이디오타입 항-CA 125 항체들을 기술한다.

상기에도 불구하고, 난소암과 같은 CA 125-관련 이상들은 여전히 큰 문제로 남고, 그러한 이상들을 치료하기 위한 방법들 및 조성물들에 대한 큰 필요성이 존재한다.

본 명세서의 인용 또는 어떠한 레퍼런스 및 또 다른 부분은 그러한 레퍼런스가 본 발명의 선행기술로 이용될 수 있다는 것을 인정하는 것으로 해석되어서는 안된다.

발명의 상세한 설명

3. 발명의 요약

본 발명은 부분적으로 쇠드 CA 125/O 772P를 생성하는 과정들이 세포-연관된(associated) 형태에서 CA 125/O 772P 아미노산 서열의 세포밖(extracellular) 지역 부분을 남긴다 즉 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P를 낸다는 인식에 기초한다.

본 발명은 쇠드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들 또는 항체들의 항원-결합 절편들이 생성될 수 있고, 예를 들어 그러한 항체들 및 항원-결합 절편들은 CA 125/O 772P-관련 이상 또는 세포 증식성 이상 예를 들어 난소암과 같은 암과 같은 CA 125/O 772P-연관된 하나 이상의 증상을 예방, 관리, 치료 또는 완화하기 위하여 사용될 수 있다는 인식에 부분적으로 더욱 기초한다.

첫번째 면에서 본 발명은 쇠드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 제공한다. 또 도1의 웨브타이드에 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 제공한다. 본 발명의 그러한 항체들 및 항원-결합 항체 절편들은 여기에 기재된 바와 같이 여러 치료, 예방, 진단 및 정제의 목적에 사용될 수 있다.

또 다른 실시예에서 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2의 웨브타이드에 결합하고 세포 연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것이다. 특정한 일 실시예에서 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO: 2에 기재된 비-반복 지역에 결합한다. 또 다른 실시예에서 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO: 2에 기재된 반복 지역(repeat region)에 결합한다.

첫번 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 ELISA 경쟁(Competition) 분석에서, 도 1의 웨브타이드(SEQ ID NO: 1)에 25배(중량/중량) 과량의 쇠드(shed) CA 125/O 772P 존재 하에서 도 1의 웨브타이드(SEQ ID NO: 1)에 약 25% 이하, 약 20% 이하, 약 15% 이하, 약 10% 이하, 또는 약 5% 이하의 결합 저해를 나타낸다.

두번 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 유동 세포 분석(Flow Cytometry Assay)에서, 퍼센트-양성 세포에 의해 측정된 적어도 약 0.05 mg/ml, 적어도 약 0.25 mg/ml, 적어도 약 0.5 mg/ml, 적어도 약 0.75 mg/ml, 또는 적어도 약 1.0mg/ml 쇠드(shed) CA 125/O 772P의 IC₅₀값을 나타낸다. 세번 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 도 1의 웨브타이드에는 결합하나 쇠드(shed) CA 125/O 772P에는 인지할 수 있는 정도로 결합하지 않는다.

이 세가지 실시예 중 하나를 만족하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 쇠드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 "우선적으로 결합하는" 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 구성한다.

본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편 중에서 BIA코어 친화 분석(Affinity Assay)에서 측정된 약 100nM 이하, 약 10nM 이하, 약 1nM 이하, 약 100pM 이하, 또는 약 10pM 이하의 Kd값을 가지며 도1의 웨브타이드(SEQ ID NO: 1)에 결합하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 6.4절 이하에 기재된다.

본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 바람직한 실시에 중 항체-의존적 세포독성(antibody--dependent cellular cytotoxicity;ADCC) 분석에서 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들이다. 그러한 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 예를 들어 ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 50:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재; ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 50:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 20%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는; ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 50:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재; ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 25:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재; ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재; ml 당 0.5 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재; 또는 ml 당 50ng의 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 것을 포함한다.

본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들의 바람직한 실시예들은 보체-의존적 세포독성(complement-dependent cytotoxicity;CDC) 분석에서 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 포함한다. 그러한 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 5 μ g/ml 항체 또는 항원-결합 절편에서 약 15% 라이시스에서부터 0.1 μ g/ml의 항체 또는 항원-결합 절편에서 약 95% 라이시스까지의 범위의 라이시스를 중재하는 것들을 포함한다.

본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들의 바람직한 실시예들은 또한 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 성장을 저해하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 포함한다.

특정한 일 실시예에서 본 발명의 항체는 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5109), 또는 하이브리도마 7A11(ATCC® 액세션 번호 PTA-5110), 또는 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA-5111), 또는 하이브리도마 7F10(ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 또는 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 또는 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 또는 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 또는 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 또는 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 또는 하이브리도마 8E3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 또는 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 또는 하이브리도마 15C9(ATCC®액세션 번호 PTA-5106), 또는 하이브리도마 16C7 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 또는 하이브리도마 16H9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 또는 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 또는 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 또는 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 또는 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 또는 하이브리도마 501.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 또는 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 또는 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 또는 하이브리도마 654.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 또는 하이브리도마 725.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의하여 생성되는 모노클론 항체이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 세포 연관된 CA 125/O 772P에 대한 결합에 대한 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5109), 또는 하이브리도마 7A11(ATCC® 액세션 번호 PTA-5110), 또는 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA-5111), 또는 하이브리도마 7F10(ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 또는 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 또는 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 또는 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 또는 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 또는 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 또는 하이브리도마 8E3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 또는 하이브리도마 15C9(ATCC®액세션 번호 PTA-5106), 또는 하이브리도마 16C7 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 또는 하이브리도마 16H9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 또는 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 또는 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 또는 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 또는 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 또는 하이브리도마 501.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 또는 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 또는 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 또는 하이브리도마 654.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 또는 하이브리도마 725.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의하여 생성되는 모노클론 항체와 경쟁하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편이다.

본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 그들이 ELISA 교차 경쟁 분석(Cross-Competition Assay) 및/또는 FACS 교차-경쟁 분석에서 결합을 경쟁한다면 결합에 대한 경쟁하는 것으로 간주된다. 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 만약 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC₅₀ 값이 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 농도보다 단지 약 100배 농도인 경우에 ELISA 교차 경쟁 분석(Cross-Competition Assay) 또는 FACS 교차-경쟁 분석에서 결합에 대한 경쟁하는 것으로 간주된다. 바람직한 실시예에서 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC₅₀ 값은 항체 또는 항원-결합 절편의 농도보다 단지 약 10배 농도이다. 더욱 바람직한 실시예에서 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC₅₀ 값은 항체 또는 항원-결합 절편의 농도와 보다 단지 약 10배 농도이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 27(117.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 117.1 경쇄 폴리펩타이드 가변부("117.1L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 28(117.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 117.1 중쇄 폴리펩타이드 가변부("117.1H")를 포함하는 것이다. 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 27(117.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 28(117.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 29 (368.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 368.1 경쇄 폴리펩타이드 가변부("368.1L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 30 (368.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 368.1 중쇄 폴리펩타이드 가변부("368.1H")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 29 (368.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부("368.1H")를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 31(501.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 501.1 경쇄 폴리펩타이드 가변부("501.1L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 32 (501.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 501.1 중쇄 폴리펩타이드 가변부("501.1H")를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 31(501.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 32 (501.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33 (776.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 776.1 경쇄 폴리펩타이드 가변부("776.1L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 34 (776.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 776.1 중쇄 폴리펩타이드 가변부("776.1H")를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33 (776.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 34 (776.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 54에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 725.1 경쇄 폴리펩타이드 가변부("725.1L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 53에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 725.1 중쇄 폴리펩타이드 가변부("725.1H")를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 54에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 53에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 56에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 16H9 경쇄 폴리펩타이드 가변부("16H9L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 55에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 16H9 중쇄 폴리펩타이드 가변부("16H9H")를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 56에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 55에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 27(117.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776.1H), SEQ ID NO : 53 (725.1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 29(368.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776. 1H),SEQ ID NO : 53 (725. 1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 31(501. 1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776. 1H),SEQ ID NO : 53 (725. 1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33 (776.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776. 1H),SEQ ID NO : 53 (725. 1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 54 (725. 1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776. 1H),SEQ ID NO : 53 (725. 1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33 (16H9L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776. 1H),SEQ ID NO : 53 (725. 1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

본 발명의 항체들은 폴리클론 항체들, 모노클론 항체들, 키메라 항체들, 인간화된 항체들, 인간 항체들, 바이(bi)-특이적인 항체들, 트리(tri)-특이적인 항체들, 다중-특이적인 항체들, 다이아바디(diabodies), 트리바디(tribodies), 단일 사슬 항체 또는 항-이디오타입 항체들을 포함하나 이에 한정되지 아니한다. 바람직한 실시예에서 본 발명의 항체는 쉘드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 모노클론 항체이다.

본 발명의 항원-결합 항체 절편들은 Fab 절편, $F(ab')_2$ 절편, 가변부 경쇄 폴리펩타이드(VL)-함유 절편, 가변부 중쇄 폴리펩타이드(VH)-함유 절편 또는 컴프리멘타리-결정 지역(complementary-determining region ;CDR)-함유 절편 및 상기 열거한 본 발명의 임의의 항체들의 절편들을 포함하나 이에 한정되지 아니한다.

또 본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 면역글로부린 군 중 하나일 수 있다. 예를 들어 본 발명의 항체들은 IgG, IgM, IgE, IgD, IgA 또는 IgY 군 항체들일 수 있다. 본 발명의 항체들은 아이소타입 중 하나일 수도 있다. 예를 들어 본 발명의 항체는 IgG₁,IgG₂,IgG₃, IgG₄, IgA₁, 또는 IgA₂ 중쇄 아이소타입 중 하나 일 수 있다.

더욱이 본 발명의 항체들은 예를 들어 골격 내에 삽입된 κ 또는 λ와 같은 경쇄 가변부 지역, 가변부 중쇄 지역 또는 그것의 CDR일 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 Cy1 컨스탄트 지역 또는 Cy4 컨스탄트 지역을 포함할 수 있다.

또 다른 면에서 본 발명은 본 발명의 모노클론 항체를 생산하는 하이브리도마 세포들을 제공한다. 일 실시예에서 본 발명의 하이브리도마는 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5109),하이브리도마 7A11 (ATCC 액세션 번호 PTA-5110), 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111),하이브리도마 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112),하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245),하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114),하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 하이브리도마 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 하이브리도마 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 하이브리도마 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 하이브리도마 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 하이브리도마

117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 하이브리도마 501.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)이다.

일 실시예에서 본 발명의 하이브리도마는 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 대한 결합에 대하여 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5109), 하이브리도마 7A11 (ATCC 액세션 번호® PTA-5110), 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111), 하이브리도마 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 하이브리도마 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 하이브리도마 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 하이브리도마 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 하이브리도마 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 하이브리도마 501.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의하여 생성되는 모노클론 항체와 경쟁하는 모노클론 항체들을 생성하는 하이브리도마이다. 만약 그들이 ELISA 교차(Cross)-경쟁(Competition) 분석 및/또는 FACS-교차(Cross)-경쟁(Competition) 분석에서 결합에 대하여 경쟁하면 항체들은 결합에 대하여 경쟁하는 것으로 간주된다. 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 만약 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC₅₀ 값이 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편 농도 보다 단지 약 100배인 경우에 ELISA 교차(Cross)-경쟁(Competition) 분석 또는 FACS-교차(Cross)-경쟁(Competition) 분석에서 결합에 대하여 경쟁하는 것으로 간주된다. 바람직한 실시예에서 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 IC₅₀ 값이 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편 농도보다 단지 약 10배이고, 더욱 바람직한 실시예에서 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 IC₅₀ 값은 상기 항체 또는 항체 절편 농도와 같은 몰 농도이다.

또 다른 측면에서 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 분리된 핵산 분자를 제공한다.

또 다른 면에서 본 발명은 예를 들어 이종성 물질(heterologous agent)과 실시가능하게 연결된 쉐드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것과 같은 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 포함하는 융합 폴리펩타이드를 제공한다. 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 일 실시예에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편 및 이종성 물질(heterologous agent)은 웨بت아이드 결합 또는 다이설파이드 결합과 같은 공유 결합을 통하여 실시 가능하게 연결된다. 또 다른 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 일 실시예에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편 및 이종성 물질(heterologous agent)은 비공유 결합을 통하여 실시가능하게 연결된다. 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 또 다른 실시예에서 상기 이종성 물질(heterologous agent)은 아미노산 서열 또는 방사성 동위원소이다. 여러 비한정적인 실시예들에서 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 상기 이종성 물질(heterologous agent)은 세포독성제 또는 검출가능한 예를 들어 이미지화제(imaging agent)를 포함한다.

또한 본 발명의 부분으로 쉐드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들, 항원-결합 항체 절편들 및 융합 폴리펩타이드의 아나로그를 포함한다. 일 실시예에서 그러한 아나로그는 해당하는 변형 전 항체, 항원-결합 항체 절편 및 융합 폴리펩타이드의 것과 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 대한 증가된 친화도를 나타낸다. 또 다른 실시예에서 그러한 아나로그는 해당하는 변형 전 항체, 항원-결합 항체 절편 및 융합 폴리펩타이드의 것과 비교하여 증가된 혈청 반감기를 나타낸다. 예를 들어 본 발명의 아나로그 중 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5109), 하이브리도마 7A11 (ATCC 액세션 번호® PTA-5110), 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111), 하이브리도마 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 하이브리도마 7G10

(ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 하이브리도마 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 하이브리도마 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 하이브리도마 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 하이브리도마 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 하이브리도마 501.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의하여 생성되는 모노클론 항체의 아나로그들이다.

또 다른 면에서, 셰드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 아나로그 및 약학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 면에서 본 발명은 약학적으로 수용가능한 담체로 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 혼합하는 것을 포함하는 약학 조성물 제조 방법을 제공한다.

또 다른 면에서 본 발명은 포장 물질 및 그 포장 물질 내에 포함된 대상에 바람직하게는 인간에 투여하기 적합한 형태의 본 발명의 약학조성물을 포함하는 제조물을 제공한다. 일 실시예에서 상기 제조물은 약학 조성물의 투여 또는 사용에 관한 지시 및/또는 레이블을 더욱 포함한다. 상기 지시 및/또는 레이블은 예를 들어 난소암, 자궁암, 유방암 또는 폐암과 같은 예를 들어 암과 같은 세포 증식성 이상과 같은 CA 125/O 772P-관련 이상의 하나 이상의 증상들을 예방 또는 치료하는 용량을 제안할 수 있다.

또 다른 실시예에서 본 발명은 셰드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 세포 증식 이상의 증상을 예방, 치료, 관리, 또는 완화하기에 충분한 양의 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 그러한 예방, 치료, 관리, 또는 완화가 필요한 대상에 투여하는 것을 포함하는 CA 125/O 772P-연관된 이상 증상을 예방, 치료, 관리, 또는 완화하는 방법을 제공한다.

일 실시예에서 본 발명의 그러한 방법은 세포 증식 이상의 증상을 예방, 치료, 관리, 또는 완화에 관한 것이다. 또 다른 실시예에서 있어서, 본 발명의 그러한 방법은 암의 증상을 예방, 치료, 관리, 또는 완화에 관한 것이다. 또 다른 실시예에서 본 발명의 그러한 방법은 경부암, 자궁암, 유방암 또는 폐암의 증상을 예방, 치료, 관리, 또는 완화에 관한 것이다. 본 발명의 그러한 방법의 바람직한 실시예에서 그러한 방법들은 난소암의 증상을 예방, 치료, 관리, 또는 완화에 관한 것이다.

본 발명의 그러한 방법들의 또 다른 일실시예에서 투여된 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 모노클론 항체 또는 항원-결합 모노클론 항체 절편이다. 본 발명의 그러한 방법들의 또 다른 일실시예에서 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 약 5 μ g/kg에서 약 10mg/kg, 바람직하게는 약 20 μ g/kg에서 약 5mg/kg, 더욱 바람직하게는 약 100 μ g/kg에서 약 5mg/kg의 용량 농도로 투여된다.

본 발명의 그러한 방법들의 또 다른 일실시예에서 상기 방법은 복합 암 치료의 일부로 수행된다. 그러한 상기 복합 암 치료는 예를 들어 파크리타셀(paclitaxel) 또는 시스프라틴(cisplatin)과 같은 화학요법제의 투여를 포함할 수 있다. 그러한 상기 복합 암 치료는 대안적으로 방사선 요법을 포함하나 이에 한정되지 아니한다.

또 다른 면에서, 본 발명은 셰드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 동정을 돋는 방법을 제공한다. 또 다른 면에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 셰드 CA 125/O 772P 또는 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웨타이드의 결합을 가능하게 하는 조건 하에서 셰드 CA 125/O 772P(바람직하게는 과량(중량/중량)의 셰드) 존재 하에서 세포-연관된 CA 125/O 772P(예를 들어 세포-연관된 CA 125/O 772P 폴리펩타이드 또는 심지어 전장 CA 125/O 772P 폴리펩타이드)를 포함하는 웨타이드와 항체 또는 항원-결합 절편을 접촉하는 것을 포함하는 셰드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 동정을 돋는 방법을 제공한다. 배양 후, 상기 셰드 CA 125/O 772P(항체 또는 결합된 항원-결합 항체 절편을 가지거나 가지지 않은) 및 비결합 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 제거하고, 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웨타이드에 결합된 항체 또는 항원-결합 절편의 양을 측정한다. 만약 그러한 방법으로부터 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 "우선적으로 결합한다"라는 상기에서 언급한 세가지 실시예들 중 하나를 만족하는 경우

예, 그러한 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 쉐드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것이다. 바람직한 실시예에서 반응 혼합물내의 쉐드 CA 125/O 772P 대 세포-연관된 CA 125/O 772P의 비율은 약 25:1(wt/wt)이다. 이 방법의 일부로서, 세포-연관된 CA 125/O 772P는 고체 표면에 고정화될 수 있다. 예를 들어 그러한 방법은 ELISA 포맷에서 수행될 수 있다.

또 다른 실시예에서 본 발명은 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웨타이드의 결합을 가능하게 하는 조건 하에서 쉐드 CA 125/O 772P 존재 하에서 세포-연관된 CA 125/O 772P 및 쉐드 CA 125/O 772P(바람직하게는 과량(중량/중량)의 쉐드), 예를 들어 약 25배 과량(중량/중량)의 쉐드를 포함하는 웨타이드와 항체 또는 항원-결합 절편을 접촉하고, 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 비결합 웨타이드를 제거하고, 항체 또는 항원-결합 절편에 의하여 결합된 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웨타이드의 양을 측정하고, 그러한 양의 쉐드 CA 125/O 772P 부존재(즉 더 적은 양) 하에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 결합할 수 있는 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웨타이드의 양과 위에서 측정된 양을 비교하는 것을 포함하는 쉐드 CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 동정을 돋는 방법을 제공한다. 만약 그러한 방법으로부터 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 "우선적으로 결합한다"라는 상기에서 언급한 세가지 실시예들 중 하나를 만족하는 경우에, 그러한 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 쉐드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것이다. 이 방법의 일부로서, 세포-연관된 CA 125/O 772P는 고체 표면에 고정화될 수 있다. 예를 들어 그러한 방법은 ELISA 포맷에서 수행될 수 있다.

또 다른 실시예에서 본 발명은 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 CA 125/O 772P의 결합을 가능하게 하는 조건 하에서 CA 125/O 772P를 발현하는 세포 및 일정량 예를 들어 적어도 0.05mg/ml의 쉐드 CA 125/O 772P(바람직하게는 과량(중량/중량)의 쉐드)로 항체 또는 항원-결합 절편을 접촉하고, 비결합 세포를 제거하고, 항체 또는 항원-결합 절편에 의하여 결합된 CA 125/O 772P를 발현하는 세포의 양을 측정하고, 그러한 양(즉 더 작은 양)의 쉐드 CA 125/O 772P 부존재 하에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 결합하는 CA 125/O 772P를 발현하는 세포의 양과 측정된 상기 양을 비교하는 것을 포함하는 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 동정을 돋는 방법을 제공한다. 만약 그러한 방법으로부터 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 "우선적으로 결합한다"라는 상기에서 언급한 세가지 실시예들 중 하나를 만족하는 경우에, 그러한 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 쉐드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것이다. 그러한 방법은 예를 들어 상기 측정이 예를 들어 형광 활성화 세포 정렬(fluorescence activated cell sorting)과 같은 유동 세포 분석 기술에 의해 수행된다.

또 다른 면에서 본 발명은 또한 CA 125/O 772P-관련 이상의 진단 또는 CA 125/O 772P-관련 이상에 대한 소인에 대한 진단 방법을 제공한다.

3.1. 용어

본 명세서에서 사용된 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리웨타이드의 내의 "아나로그"라는 용어는 아나로그 내에 존재하는 변형 전에 본 발명의 해당하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리웨타이드(본 발명에서는 본 발명의 "변형 전(pre-modified)" 항체 또는 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리웨타이드로 언급)와 비교하여 변형되었으나, 여전히 쉐드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리웨타이드를 의미한다.

본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 "친화도"(K_d)는 하기 6.4절에서 기재된 친화도 분석에 의하여 결정된다.

본 명세서에서 사용된 "본 발명의 항체"는 쉐드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체를 의미한다. 마찬가지로 본 명세서에서 사용된 "본 발명의 항원-결합 항체 절편"은 쉐드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항원-결합 항체 절편을 의미한다. 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 비록 그것이 CA 125/O 772P 즉 프리-쉐드(pre-shed) CA 125/O 772P와 결합한다하더라도 그럼에도 불구하고 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 쉐드 CA 125/O 772P에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 경우에는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편으로 간주된다. 하기에서도 설명한 바와 같이 CA 125/O 772P 쉐딩(shedding) 전에 세포-연관된 CA 125/O 772P는 프리-쉐드(pre-shed) CA 125/O 772P의 형태로 존재한다는 사실로 인하여 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들은 프리-쉐드(pre-shed) CA 125/O 772P에도 결합할 수 있다는 것이 주목된다. 따라서 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 CA 125/O 772P와 결합할 수 있는지 여부와 독립적으로

"쉐드 CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합한다"는 여기에서 기재된 정의를 만족하는 경우에는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편으로 간주된다. 별도의 다른 지시가 없는 경우에는 "항체"와 "면역글로부린"이란 단어는 상호교환적으로 사용될 수 있다.

본 명세서에서 사용된 "항체-의존적 세포 세포독성 분석(ADCC 분석)"은 하기 6.5절에 기재된다. 그러한 것과 같이, ADCC 분석에서 CA 125/O 772P-양성 종양 세포들의 라이시스를 중재하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 하기 6.5절에 기재된 ADCC 분석에서 테스트된 경우에 양성으로 간주된다.

본 명세서에서 사용된 "약"이라는 용어는 별도의 다른 지시가 없는 경우에는 그 단어에 의하여 변형된 값이 단지 10% 내외인 값을 의미한다. 핵산 또는 아미노산 서열 길이가 변형된 값인 경우에는 그 결과인 변형된 값은 원래 길이의 단지 10% 내외인 값의 정수일 것이다. 더욱이 이 단어에 의해 변형된 10%의 길이가 1이하의 값을 야기하는 경우에는 그 변형된 길이가 원래 값보다 1 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기 내외인 것으로 이해된다.

본 명세서에서 사용된 예를 들어 세포-연관된 CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편과 같이 항체-항원 결합의 내용 속에 "에 결합한다"라는 용어는 특정한 항원(예를 들어 세포-연관된 CA 125/O 772P)에 특이적으로 결합하고 다른 항원들에는 특이적으로 결합하지 않는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 의미한다. 바람직하게는 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 ELISA 특이성 분석에 의하여 결정된 적어도 5 OD/마이크로그램의 항체의 특이성을 가지면서 CA 125/O 772P에 결합할 수 있거나 유동 세포 특이성 분석에서 양성으로 간주되는 것이다. 항원에 결합하는 웨بت아이드 또는 폴리펩타이드는 예를 들어 면역분석, BIA코어, 스캐챠드 분석 또는 당업계의 다른 분석에 의하여 측정된 더 낮은 친화도를 가지면서 다른 웨بت아이드들 또는 폴리펩타이드들에 결합할 수 있다. 항원에 특이적으로 결합하는 항체들 또는 절편들은 연관된 항원들과 교차(cross)-반응성을 가질 수 있다. 바람직하게는 항원에 결합하는 항체들 또는 절편들은 다른 항원들과 교차(cross)-반응하지 않는다. 항체 특이성에 대해서는 예를 들어 Fundamental Immunology 2판, Paul,ed., Raven Press (1989) 페이지 332-336를 참고하라. 바람직하게는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 6.4 절에서 기재된 BIA코어 친화도 분석에 의하여 측정한 경우 도1의 웨بت아이드에 약 100 nM 이하의 K_d 값으로 결합하는 것이고, 더욱 바람직하게는 도1의 웨بت아이드에 약 5 nM 이하의 K_d 값으로 결합하는 것이다. 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체는 또한 다른 비-CA 125/O 772P 항원과 비교하여 쉐드 CA 125/O 772P를 포함하는 CA 125/O 772P에 특이적으로 결합하는 항원을 나타낸다. 결론적으로 본 명세서에서 "특이적으로" 및 "면역특이적으로"라는 용어는 다른 언급이 없으면 상호교환적으로 사용된다.

ELISA 특이성 분석: 본 명세서에서 사용된 본 분석은 하기 6.2 절에서 기재된 ELISA 분석을 의미한다. 항체(또는 항원-결합 항체 절편)은 만약 30 OD/마이크로그램 항체보다 적어도 5 이상의 흡광도를 나타낸다면 본 분석에서 양성(즉 CA 125/O 772P에 특이적)으로 간주된다.

유동 세포 특이성 분석: 본 명세서에서 사용된 본 분석은 하기 6.2 절에서 기재된 유동 세포 분석을 의미한다. 항체(또는 항원-결합 항체 절편)은 만약 그들이 5% 이하의 양성 NIH/3T3 세포들 및 SEQ ID NO : 2 폴리펩타이드를 생성하는 적어도 60%의 양성 NIH/3T3 세포들 및/또는 25% 이하의 양성 SK-OV3 세포들 및 적어도 80% 양성 OVCAR-3 세포들과 같은 양성 세포 범위들 내의 유동 세포 특이성 분석 결과를 나타낸다면 본 분석에서 양성(즉 CA 125/O 772P에 특이적)으로 간주된다.

두 항체 종류들 또는 항원-결합 항체 절편 종류들(또는 그것의 결합들)에서 사용된 "결합에 대하여 경쟁한다" 및 "와 경쟁한다"라는 용어는 상호교환적으로 사용된다. ELISA 교차-경쟁 분석 및/또는 FACS 교차-경쟁 분석에서 첫번째 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 두번째 것과 경쟁하면 첫번째 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 두번째 항체 또는 항원-결합 항체 절편과 경쟁한다고 간주된다.

ELISA 교차-경쟁 분석: 본 명세서에서 사용된 본 분석은 하기 7.0 절에서 기재된 ELISA 분석을 의미한다. 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 만약 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC_{50} 값이 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 농도보다 단지 약 100배 정도의 농도인 경우라면 이 분석에서 결합에 대하여 경쟁한다고 간주된다.

FACS 교차-경쟁 분석: 본 명세서에서 사용된 본 분석은 하기 7.0 절에서 기재된 FACS 분석을 의미한다. 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 만약 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC_{50} 값이 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 농도보다 단지 약 100배 정도의 농도인 경우라면 이 분석에서 결합에 대하여 경쟁한다고 간주된다.

본 명세서에서 사용된 "CA 125/O 772P" 또는 "CA 125/O 772P 폴리펩타이드"라는 용어는 일단 쉐드되면 쉐드 CA 125/O 772P 폴리펩타이드 및 세포-연관된 CA 125/O 772P 폴리펩타이드를 내는 막관통 폴리펩타이드인 프리-쉐드(pre-shed) CA 125/O 772P를 의미한다. 전장 CA 125/O 772P 폴리펩타이드의 서열로 논문에 보고된 아미노산 서열은 사실은 최근에 전장 CA 125/O 772P 폴리펩타이드 서열을 나타내지 않는다는 것이 알려졌다. 특히 예를 들어 폴리펩타이드가 공지된 WO 02/06317(PCT/US01/22635), 및 US 2003/0124140는 "O 772P"로서 언급되었다. O 772P 아미노산 서열은 과거에 전장 CA 125로 생각된 것보다 확장된 것을 포함한다. 상기 폴리펩타이드를 당업계에서는 CA 125 또는 O 772P로서 언급하기 때문에 여기서는 "CA 125/O 772P"로서 언급한다.

본 명세서에서 사용된 "CA 125/O 772P-관련 이상"이란 용어는 관련되거나 해당 정상 상태와 비교하여 세포-연관된 CA 125/O 772P의 차별적인 레벨의 존재 및/또는 해당 정상 상태와 비교하여 쉐드 CA 125/O 772P의 과잉의 특징을 갖는 이상을 의미한다. 예를 들어 난소암의 경우, 정상 상태(예를 들어 비-종양)에서 관찰된 레벨과 비교하여 더 높은 레벨의 쉐드 CA 125/O 772P 또는 세포-연관된 CA 125/O 772P가 관찰된다. 차별적인 레벨의 세포-연관된 CA 125/O 772 및/또는 쉐드 CA 125/O 772P는 상기 이상의 원인 또는 지표일 수 있다.

본 명세서에서 사용된 "세포-연관된(cell-associated) CA 125/O 772P"는 프리-쉐드 CA 125/O 772P 폴리펩타이드의 부분이 쉐드 CA 125/O 772P로 방출된 후 일시적 예를 들어 전환(turn-over) 전에 세포-연관된 형태를 유지하는 CA 125/O 772P 세포외 폴리펩타이드 종을 의미한다. 예를 들어 세포-연관된 CA 125/O 772P 종들은 CA 125/O 772P 폴리펩타이드의 부분이 쉐드 CA 125/O 772P로 방출된 후 OVCAR-3 세포주 세포들(HTB-161 ; ATCC[®]) 또는 인간 어사이티즈(ascites) 세포의 표면에 세포-연관된 형태를 유지하는 CA 125/O 772P 세포외 폴리펩타이드 종이다. CA 125/O 772P 세포-연관된 폴리펩타이드는 SEQ ID NO : 1의 1에서 708 및 SEQ ID NO : 2의 1에서 711 아미노산 잔기내에 존재한다. 게다가 CA125/O 772P는 SEQ ID NO : 2의 아미노산 잔기 659-665에 위치한 프로테이즈 절단 자리에서 절단될 수 있다. O'Brien 외, Tumour Biol. 23 (3): 154-169 (2002) 참조. 그러한 것과 같이 세포-연관된 CA 125/O 772P 폴리펩타이드는 SEQ ID NO : 2의 659-711 아미노산 잔기들을 포함할 수 있다.

본 명세서에서 사용된 "보체(Complement)-의존적 세포독성 분석"(CDC 분석)이란 용어는 6.5절 이하에 기재된 CDC 분석을 의미한다. 예컨대 CDC 분석에서 종양 세포 라이시스를 중재하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 6.5절 이하에 기재된 CDC 분석에서 테스트되는 경우에 양성으로 간주되는 것이다.

본 명세서에서 사용된 "이상" 및 "질환"이란 용어는 대상의 이상을 언급하는 것으로 상호교환적으로 사용된다.

본 명세서에서 사용된 "항원-결합 항체 절편"구 내의 "절편"이란 용어는 예를 들어 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체와 같은 또 다른 폴리펩타이드의 아미노산 서열의 적어도 약 5개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 10개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 15개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 20개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 25개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 40개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 50개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 60개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 70개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 80개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 90개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 100개의 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 110개의 인접한 아미노산 잔기, 또는 적어도 약 120개의 인접한 아미노산 잔기의 아미노산 서열을 포함하는 웹타이드 또는 폴리펩타이드를 의미한다.

본 명세서에서 사용된 "숙주 세포"는 예를 들어 핵산 분자로 형질전환되었거나 트랜스펙션된, 세포 또는 바이러스, 파아지미드 또는 박테이로파지로 감염된 세포, 또는 그러한 세포의 후손 또는 잠재적 후손과 같은 포유류 세포 또는 다른 진핵 세포 또는 원핵 세포들을 의미한다. 그러한 세포의 후손은 숙수 세포 지놈 속으로 핵산 분자의 연속적 생성이나 삽입이 일어날 수 있는 돌연변이 또는 환경적 영향 또는 부가적인 재조합 조작들로 인하여 상기 핵산 분자가 트랜스펙션된 부모 세포와 같지 않을 수 있다.

본 명세서에서 사용된 "엄격한 조건 하에서 교잡하다"라는 용어는 서로 적어도 75%의 동일성의 핵산 서열들이 서로의 보체와 전형적인 교잡을 유지하는 교잡(hybridization) 및 세척 조건을 의미한다. 그러한 엄격한 조건들은 당업자에게 공지되어 있고, Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel 외, eds. , John Wiley & Sons (1989-2002) 6.3. 1-6.3.6절에서 알 수 있다. 하나에서 비한정적인 엄격한 교잡 조건들은 약 45°C에서 6X 염화 나트륨/구연산 나트륨(SSC)에서 교잡, 약 45°C, 0.1X SSC, 0.2% SDS에서 1회 이상 세척이다. 바람직한 비한정적인 엄격한 교잡 조건들은 약 45°C에서 6X SSC에서 교잡, 0.2X SSC, 0.1% SDS, 50-65°C에서 1회이상 세척(즉 50°C, 55°C, 60°C 또는 65°C에서 1회 이상 세척)이다. 일부 실시예에서 본 발명의 핵산들은 이를 조건들 하에서 단지 A 또는 T 뉴클레오타이드들로만 구성된 뉴클레오타이드 서열에만 교잡하는 핵산 분자를 포함하지 않는다.

본 명세서에서 사용된 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편 문맥 내의 "분리된"이란 용어는 그것이 유래된 또는 얻어진 세포 또는 조직원으로부터 실질적으로 세포 물질 또는 오염된 단백질들이 없거나 또는 화학적으로 합성된 경우에 화학적 전구체들 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없는 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 의미한다. "실질적으로 세포 물질 또는 오염된 단백질들이 없는"이란 용어는 상기 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 분리되거나 재조합적으로 생성된 세포들의 세포 구성 요소로부터 분리된 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 조제물을 포함한다. 따라서 실질적으로 세포 물질 또는 오염된 단백질들이 없는 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 약 30% 이하, 약 20% 이하, 약 10% 이하, 또는 약 5% 이하(건조 중량으로)의 다른 단백질을 갖는 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 조제물을 포함한다. 상기 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 재조합적으로 생성되는 경우에는 배양 배지가 실질적으로 없는 것, 즉 단백질 조제물 부피의 약 20% 이하, 약 10% 이하, 또는 약 5% 이하를 나타내는 배양 배지가 바람직하다. 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 화학적으로 합성되는 경우에는 화학적 전구체들 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없는 것, 즉 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 합성에 관여한 화학적 전구체들 또는 다른 화학물질로부터 분리된 것이 바람직하다. 따라서 그러한 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 조제물들은 관심있는 펩타이드, 폴리펩타이드, 융합 단백질, 항체 또는 항원-결합 항체 절편 외에 다른 화학적 전구체들 또는 다른 화합물을 약 30% 이하, 약 20% 이하, 약 10% 이하, 또는 약 5% 이하로 갖는다.

본 명세서에서 사용된 핵산 분자들 문맥에서 "분리된"이란 용어는 핵산 분자의 천연 세포원에 존재하는 다른 핵산 분자들로부터 분리된 핵산 분자를 의미한다. 대안적으로 cDNA 분자와 같은 "분리된" 핵산 분자는 재조합 기술들로 생성된 경우에는 다른 세포 물질이나 배양 배지가 실질적으로 없거나 화학적으로 합성된 경우에는 다른 화학적 전구체 또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

본 명세서에서 사용된 "관리하다(manage)", "관리하는(managing)" 및 "관리(management)"이란 용어는 대상이 예를 들어 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 아나로그와 같은 제제로부터 유래한 유리한 효과를 가지며 상기 질병의 치료를 야기하지 않는 것을 의미한다. 일부 실시예에서 대상에 상기 질병의 진행 또는 악화를 예방하거나 늦추기 위하여 대상을 "관리"하기 위하여 하나 이상의 제제가 투여된다.

본 명세서에서 사용된 "모노클론 항체"라는 용어는 진핵, 원핵 또는 파아지 클론을 포함하고 생산된 방법에 의존하지 않는 단일 세포 클론에서 유래한 항체를 의미한다. 따라서 "모노클론 항체"는 각각이 단일 에피토프에 결합하는 일군의 항체들을 포함하는 상기 일군의 항체들이 결합하는 단일 에피토프보다는 여러 에피토프에 결합하는 항체가 결여된 조성물을 의미한다. 물론 일부 실시예에서 단일 에피토프는 여러 위치에서 폴리펩타이드 내에 존재한다. 그러한 실시예에서 비록 상기 모노클론 항체는 여러 위치들에서 결합할 수 있으나 여전히 단일 에피토프에 결합하는 것으로 간주된다.

본 명세서에서 사용된 "핵산들" 및 "뉴클레오타이드 서열들"이란 용어는 DNA 분자들(예를 들어 cDNA 또는 지노믹 DNA), RNA 분자들(예를 들어 mRNA), DNA 및 RNA 분자들의 조합물 또는 하이브리드 DNA/RNA 분자들, 및 DNA 또는 RNA 분자들의 아나로그를 포함한다. 그러한 아나로그들은 예를 들어 이노신 또는 트리틸레이트된 염기들을 포함하나 이에 한정되지 아니하는 뉴클레오타이드 아나로그들을 사용하여 생성될 수 있다. 그러한 아나로그들은 또한 예를 들어 뉴클레이즈 저항성 또는 세포막들을 통과하는 능력의 증가와 같은 상기 분자들에 유익한 공헌을 하는 변형된 골격을 포함하는 DNA 또는 RNA 분자들을 포함할 수 있다. 핵산들 또는 뉴클레오타이드 서열들은 단일 사슬, 이중 사슬일 수 있고, 단일 사슬 및 이중 사슬 부분들을 모두 함유할 수 있으나 바람직하게는 이중사슬 DNA이다.

본 명세서에서 사용된 융합 폴리펩타이드 문맥 내의 "실시가능적으로 연결된"이란 용어는 이종성 물질에 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 연결하는 공유 또는 비공유 결합을 의미한다. 실시가능적 연결은 직접 또는 간접적일 수 있다.

예를 들어, 아미노산 서열은 항체(또는 항원-결합 항체 절편) 및 이종성 물질 사이에 존재할 수 있다.

본 명세서에서 사용된 "세포-연관된 CA125/O772P에 우선적으로 결합하는", "세포-연관된 CA125/O772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는", "쉐드 CA125/O772P와 비교하여 세포-연관된 CA125/O772P에 우선적으로 결합하는" 또는 "쉐드 CA125/O772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된 CA125/O772P에 우선적으로 결합하는"는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 아나로그는 본 명세서에서 기재된 ELISA 경쟁 분석 또는 유동 세포 경쟁 분석에서 테스트한 경우에 양성인 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 의미한다. 바람직하게는 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 본 명세서에서 기재된 ELISA 경쟁 분석 및 유동 세포 경쟁 분석에서 모두 양성인 것이다.

ELISA 경쟁 분석: 본 명세서에서 사용된 본 분석은 하기 6.3 절에서 기재된 ELISA 분석을 의미한다. 항체(또는 항원-결합 항체 절편)은 만약 도 1의 웨პ타이드(SEQ ID NO: 1)에 25배 w/w 과량의 쉐드 CA 125/O 772P에서 약 25% 이하의 결합 저해를 나타낸다면 본 분석에서 양성(즉 세포 연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합한다)으로 간주된다.

유동 세포 경쟁 분석: 본 명세서에서 사용된 본 분석은 하기 6.3 절에서 기재된 유동 세포 분석을 의미한다. 항체(또는 항원-결합 항체 절편)은 만약 그것이 퍼센트-양성 세포들에 의하여 측정된 적어도 0.05 mg/ml 쉐드 CA 125/O 772P의 IC₅₀ 값을 나타내면, 즉 유동 세포 경쟁 분석에서 절반으로 퍼센트-양성 세포들을 감소시키는데 0.05 mg/ml 쉐드 CA 125/O 772P가 필요하다면 양성(즉 세포 연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합한다)으로 간주된다.

본 명세서에서 사용된 "예방하다", "예방하는" 및 "예방"이란 용어는 대상에서 CA 125/O 772P-연관된 질환 또는 CA 125/O 772P-연관된 질환의 하나 이상의 증상의 재발 또는 진행을 방해하는 것을 의미한다.

본 명세서에서 사용된 "프로토콜"은 투여 스케줄 및 투여량을 포함한다. 여기에서 상기 프로토콜은 용도의 방법들이고 예방 및 치료 프로토콜을 포함한다.

본 명세서에서 사용된 "쉐드 CA 125/O 772P 폴리펩타이드"란 용어는 세포 연관된 CA 125/O 772P 종류를 떠나고, 그러나 일시적으로 세포 표면에 남아 있는 CA 125/O 772P를 발현하는 세포들의 표면에서 발현된 CA 125/O 772P 폴리펩타이드로부터 분리되고 분비되는 CA 125/O 772P 세포밖(extracellular) 폴리펩타이드 서열이다. 본 명세서에서 사용된 상기 용어는 인간 혈청 및/또는 OVCAR-3(HTB-161;ATCC) 세포주 배양 상등액에서 발견된 쉐드 CA 125/O 772P 종들을 의미한다. 그러한 쉐드 CA 125/O 772P 폴리펩타이드들은 인간 어사이티즈(ascites) 또는 OVCAR-3 상등액을 사용한 de los Frailes 외, *Tumour Biol.* 14(1): 18-29 (1993)의 프로토콜을 통하여 얻어질 수 있다. 대안적으로 쉐드 CA 125/O 772P 폴리펩타이드는 Fitzgerald Industries International (Concord, MA), Scripps Laboratories (La Jolla, CA), 또는 United States Biochemical Corp (Cleveland, OH)와 같은 상업적인 공급원을 통하여 얻을 수 있다.

본 명세서에서 사용된 "대상" 및 "환자"라는 용어는 상호교환적으로 사용된다. 본 명세서에서 사용된 "대상" 및 "대상들"은 동물이고 바람직하게는 비영장류(예를 들어 소, 돼지, 말, 당나귀, 염소, 낙타, 고양이, 개, 귀니아 피그, 쥐, 마우스, 양) 및 영장류(예를 들어 시노몰고스 원숭이(cynomolgous monkey), 고릴라, 침팬지, 및 인간과 같은 영장류)을 포함하는 포유류, 바람직하게는 인간을 의미한다. 일 실시예에서 상기 대상은 암 예를 들어 난소암을 가지는 대상이다.

본 명세서에서 사용된 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"이란 용어는 하나 이상의 항체들, 항원-결합 항체 절편들, 융합 폴리펩타이드들 또는 아나로그들의 투여의 결과로 CA 125/O 772P-연관도니 이상을 완화하는 것을 의미한다..

본 명세서에서 사용된 "약학적을 수용가능한"이란 용어는 동물, 더욱 바람직하게는 인간에 사용하기 위하여 연방 정부 또는 주정부의 관리 기관에 의하여 승인되거나, 미합중국 약전 또는 다른 일반적으로 인지된 약전에 기재된 예를 들어 담체, 첨가제 또는 염과 같은 조성물을 의미한다.

도면의 간단한 설명

도 1 : CA 125/O 772P 3-반복 (SEQ ID NO : 1) 아미노산 서열을 도시한다. 아미노산 14에서 아미노산 452까지의 이탈릭체 잔기는 반복 영역을 나타낸다. 상기 14-452 반복 영역 내 각각의 3 반복은 보여지는 바와 같이 수직선과 화살표에 의해 묘사한 것이다. 밑줄친 잔기는 막투과 프록시말(transmembrane-proximal) 비-반복 영역을 나타낸다. 밑줄친 잔기에 뒤따르는 서열은 CA 125/O 772P의 부분이 아니고, 카르복시-Myc-His 태그를 포함한다.

도 2: CA 125/O 772P 3-반복 TM (SEQ ID NO : 2) 아미노산 서열을 도시한다. 이탈릭체 잔기 즉 아미노산 14에서 아미노산 452까지는 반복 영역을 나타낸다. 상기 14-452 반복 영역 내 각각의 3 반복은 보여지는 바와 같이 수직선과 화살표에 의해 묘사한 것이다. 밑줄친 비-이탈릭체 잔기, 즉 아미노산 453에서 아미노산 711까지는 막투과 프록시말(transmembrane-proximal) 비-반복 영역을 나타낸다. 밑줄치지 않은 이탈릭체 잔기, 즉 아미노산 712에서 아미노산 738은 막투과 도메인(transmembrane domain)을 나타낸다. 볼드체 잔기, 즉 아미노산 739에서 아미노산 769까지는 세포질 영역을 나타낸다. 볼드체 잔기에 뒤따르는 서열은 CA 125/O 772P의 부분이 아니고, 카르복시-Myc-His 태그를 포함한다.

도 3: FACS 경쟁 분석으로부터 셰드 CA 125/0772P 농도 대, 본 예에 있어서는, 117.1 항체 및 M11 항체 대조군(스퀘어)에 대한 양성 세포 퍼센트의 대표적인 플롯을 나타낸다. 나타낸 바와 같이, M11은 셰드 CA 125/0772P의 낮은 농도 ($IC_{50} = 0.003\text{mg/ml}$)에서도 OVCAR-3 세포에 결합하기 위해 경쟁할 수 있는 반면, 117.1은 셰드 CA 125/0772P의 높은 농도(1mg/ml 이상의 IC_{50})에서도 경쟁할 수 없다.

도 4: ADCC 분석으로부터 용해 퍼센트 대 117.1 항체(4명의 분리된 기증자의 평균)에 대한 항체 농도의 대표적인 플롯을 나타낸다. 도면에서 보여지듯이, 항체 117.1은 투여-의존 방법(dose-dependent manner)에서 OVCAR-3 세포의 특정 용해를 증재한다.

도 5A: 단일클론 항체 117.1의 가변 경쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:35)을 도시한다. 리더 시퀀스(leader sequence)를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 5B: 단일클론 항체 117.1의 가변 중쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:36)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 5C: 단일클론 항체 117.1의 가변 경쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:27)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 5D: 단일클론 항체 117.1의 가변 중쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:28)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 6A: 단일클론 항체 368.1의 가변 경쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:37)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 6B: 단일클론 항체 368.1의 가변 중쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:38)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 6C: 단일클론 항체 368.1의 가변 경쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:29)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 6D: 단일클론 항체 368.1의 가변 중쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:30)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 7A: 단일클론 항체 501.1의 가변 경쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:39)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 7B: 단일클론 항체 501.1의 가변 중쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:40)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 7C: 단일클론 항체 501.1의 가변 경쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:31)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 7D: 단일클론 항체 501.1의 가변 중쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:32)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 8A: 단일클론 항체 776.1의 가변 경쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:41)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 8B: 단일클론 항체 776.1의 가변 중쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:42)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 8C: 단일클론 항체 776.1의 가변 경쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:33)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 8D: 단일클론 항체 776.1의 가변 중쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:34)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 9A: 단일클론 항체 725.1의 가변 경쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:52)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 9B: 단일클론 항체 725.1의 가변 중쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:57)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 9C: 단일클론 항체 725.1의 가변 경쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:54)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 9D: 단일클론 항체 725.1의 가변 중쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:53)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 10A: 단일클론 항체 16H9의 가변 경쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:59)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 10B: 단일클론 항체 16H9의 가변 중쇄 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:58)을 도시한다. 리더 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 10C: 단일클론 항체 16H9의 가변 경쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:56)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 10D: 단일클론 항체 16H9의 가변 중쇄 영역의 아미노산 서열(SEQ ID NO:55)을 도시한다. 리더 시퀀스는 이중선으로 밑줄 그어졌고, CDR 시퀀스는 단일선으로 밑줄 그어졌다.

도 11: OVCAR-3 상등액의 웨스턴 블럿 분석(western blot analysis)의 결과를 도시하였다. 항체 농도와 검출은 다음 섹션 6.7에 있는 실시예에 표시된다. 각각의 블럿에서 "3 Rpt Ptn"은 0772P 3-반복 재조합 폴리펩타이드를 포함하는 레인(lane)을 나타내고; 각각의 블럿에서 상기 레인의 나머지는 조절된 OVCAR-3 또는 대조 배지를 포함한다. 테스트된 특정 항체는 각각의 블럿의 바닥에서 표시된다(즉, M11, OC125, 776.1 및 368.1 항체). 문자량 표지는 그림의 왼쪽에 표시된다.

도 12: ^{131}I -라벨된 776.1의 인 비보 측정이다. OVCAR-3 종양을 갖는 NCR *nu/nu* 마우스들을 염수, 100 μCi [^{131}I] 776.1 IgG1, 300 μCi [^{131}I] 776.1 IgG1 또는 17 μg 비라밸된 776.1 IgG1 (300 μCi [^{131}I]) 776.1 IgG1 그룹에서와 동일한 단백

질 투여량)로 치료하였다. 치료는 0 날에 정맥내로 투여된 1회 투약이다. [¹³¹I] 776.1의 비활동도는 50% 후-라벨의 면역 반응성을 갖는 15 mCi/mg 였다. 결과는 그룹 당 총 10마리의 마우스에 대한 평균 종양 부피+/-SD로 나타내어 진다. 치료 시작에서 평균 종양크기는 모든 그룹에 대해 199 mm³이었다.

5. 발명의 상세한 설명

본 발명은 쉐드 CA 125/O 772P를 생성하는 과정들이 또한 세포-연관된 형태에서 CA 125/O 772P 아미노산 서열의 세포밖 영역 부분을 남긴다 즉 세포-연관된 CA 125/O 772P를 또한 낸다는 인식에 부분적으로 기초한다. 본 명세서에서 상세하게 기술된 본 발명은 쉐드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들 및 항원-결합 항체절편, 융합 폴리펩타이드 및 유사물들이 생성될 수 있고, 그러한 항체들, 항원-결합 항체절편, 융합 폴리펩타이드 및 유사물들은 예를 들어 CA 125/O 772P-관련 이상 또는 세포 증식성 이상 예를 들어 난소암과 같은 암과 같은 CA 125/O 772P-연관된 하나 이상의 증상들을 예방, 관리, 치료 또는 완화하기 위하여 사용될 수 있다는 인식에 부분적으로 기초한다.

일관되게 논해지는 바와 같이, 본 발명의 항체와 항원-결합 항체 절편은 세포-연관된 CA 125/O 772P를 우선적으로 결합하는 것들이다. 마찬가지로 본 발명의 융합 폴리펩타이드와 유사물도 역시 세포-연관된 CA 125/O 772P를 우선적으로 결합한다. 본 명세서에서 역시 언급되는 바와 같이, CA 125/O 772P 쉐딩에 앞서, 세포-연관된 CA 125/O 772P가 프리-쉐드 CA 125/O 772P의 일부로서 존재한다는 사실로 인해, 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 및 유사물도 역시 프리-쉐드 CA 125/O 772P를 결합할 수 있다는 것을 유념한다. 따라서, 그것에 대해 어떠한 특정 메카니즘이나 이론에 의해 제한되기를 원하지 않는 반면, 이 섹션에서 기술된 방법들은 세포-연관된 CA 125/O 772P에 대한 그들의 결합에 추가적으로 또는 이를 대신하여, 본 발명의 투여된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사물을 프리-쉐드 CA 125/O 772P에 결합에 의해 달성될 수 있다는 것을 유념한다.

5.1. 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편

첫번째 면에서 본 발명은 쉐드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 제공한다. 본 발명의 그러한 항체들 및 항원-결합 항체 절편들은 여기에 기재된 바와 같이 여러 치료, 예방, 진단 및 정제의 목적에 사용될 수 있다.

하나의 실시예에서 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 1 또는 SEQ ID NO: 2에 결합하고 세포 연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것이다. 특정한 일 실시예에서 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO: 2에 기재된 비-반복 영역에 결합한다. 또 다른 실시예에서 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO: 2에 기재된 반복 영역(repeat region)에 결합한다.

첫번 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 ELISA 경쟁(Competition) 분석에서, 도 1의 웨بت이드보다 25배(중량/중량) 과량의 쉐드(shed) CA 125/O 772P 존재 하에서 도 1의 웨بت이드에 약 25% 이하, 약 20% 이하, 약 15% 이하, 약 10% 이하, 또는 약 5% 이하의 결합 저해를 나타낸다. 두번째 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 유동 세포 분석(Flow Cytometry Assay)에서, 퍼센트-양성 세포에 의해 측정된 적어도 약 0.05 mg/ml, 적어도 약 0.1 mg/ml, 적어도 약 0.25 mg/ml, 적어도 약 0.5 mg/ml, 적어도 약 0.75 mg/ml, 또는 적어도 약 1.0mg/ml 쉐드(shed) CA 125/O 772P의 IC₅₀값을 나타낸다. 세번째 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 도 1의 웨بت이드에는 결합하나 쉐드(shed) CA 125/O 772P에는 인지할 수 있는 정도로 결합하지 않는다. 이 세가지 실시예 중 어느 하나를 만족하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 쉐드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 구성한다.

본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편 중에서 BIA코어 친화 분석(Affinity Assay)에서 측정된 약 100nM 이하, 약 10nM 이하, 약 1nM 이하, 약 100pM 이하, 또는 약 10pM 이하의 K_d값을 가지며 도 1의 웨بت이드(SEQ ID NO: 1)에 결합하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 6.4절 이하에 기재된다.

본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 바람직한 실시예 중 ADCC 분석에서 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 용해를 중재하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들이다. 그러한 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 예를 들어 ml 당 5 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 50:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40% 또는 적어도 약 50%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 용해(lysis)를 중재; ml 당 5 μ g 항체 또

는 항원-결합 절편의 농도, 25:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40% 또는 적어도 약 50%의 CA 125/O772P-양성 종양 세포의 용해를 중재; ml 당 5 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40% 또는 적어도 약 50%의 CA 125/O772P-양성 종양 세포의 용해를 중재; ml 당 0.5 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40% 또는 적어도 약 50%의 CA 125/O772P-양성 종양 세포의 용해를 중재; 또는 ml 당 50ng 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40% 또는 적어도 약 50%의 CA 125/O772P-양성 종양 세포의 용해를 중재하는 것들을 포함한다.

본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들의 바람직한 실시예들은 보체-의존적 세포독성(complement-dependent cytotoxicity;CDC) 분석에서 CA 125/O772P-양성 종양 세포의 용해를 중재하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 포함한다. 그러한 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 5 μ g/ml 항체 또는 항원-결합 절편에서 약 15% 용해에서부터 0.1 μ g/ml의 항체 또는 항원-결합 절편에서 약 95% 용해까지의 범위의 용해를 중재하는 것들을 포함한다.

본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들의 바람직한 실시예들은 또한 CA 125/O772P-양성 종양 세포의 성장을 저해하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 포함한다. 예를 들면 그러한 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 바람직하게는 Treskes *et al.*, Eur. J. Cancer. 30A(2):183-187(1994); Ahmad *et al.*, Oncol.Res.11(6):273-280(1999); 및 Kievit *et al.*, Int.J. Radiat. Oncol. Biol.Phys. 38(2): 419-428 (1997)에 기재된 것들로서 그러한 동물 모델 및 하기 섹션 6.8에 기재된 OVCAR-3 이종이식(xenograft) 종양 동물 모델에서 CA 125/O772P-양성 종양을 억제하는 것들이다.

특정한 일 실시예에서 본 발명의 항체는 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5109), 또는 하이브리도마 7A11(ATCC® 액세션 번호 PTA-5110), 또는 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA-5111), 또는 하이브리도마 7F10(ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 또는 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 또는 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 또는 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 또는 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 또는 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 또는 하이브리도마 8E3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 또는 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 또는 하이브리도마 15C9(ATCC®액세션 번호 PTA-5106), 또는 하이브리도마 16C7 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 또는 하이브리도마 16H9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 또는 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 또는 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 또는 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 또는 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 또는 하이브리도마 501.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 또는 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 또는 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 또는 하이브리도마 654.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 또는 하이브리도마 725.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의하여 생성되는 모노클론 항체이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 세포 연관된 CA 125/O772P에 대한 결합에 대한 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5109), 또는 하이브리도마 7A11(ATCC® 액세션 번호 PTA-5110), 또는 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA-5111), 또는 하이브리도마 7F10(ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 또는 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 또는 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 또는 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 또는 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 또는 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 또는 하이브리도마 8E3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 또는 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 또는 하이브리도마 15C9(ATCC®액세션 번호 PTA-5106), 또는 하이브리도마 16C7 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 또는 하이브리도마 16H9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 또는 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 또는 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 또는 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 또는 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 또는 하이브리도마 501.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 또는 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 또는 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 또는 하이브리도마 654.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 또는 하이브리도마 725.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번

호 PTA-4570)에 의하여 생성되는 모노클론 항체와 경쟁하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편이다. 본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 그들이 ELISA 교차 경쟁 분석(Cross-경쟁 분석) 및/또는 FACS 교차-경쟁 분석에서 결합을 경쟁한다면 결합에 대한 경쟁하는 것으로 간주된다. 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 만일 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC₅₀ 값이 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 농도보다 단지 약 100배 농도인 경우에 ELISA 교차 경쟁 분석(Cross-경쟁 분석) 또는 FACS 교차-경쟁 분석에서 결합에 대한 경쟁하는 것으로 간주된다. 바람직한 실시예에서 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC₅₀ 값은 항체 또는 항원-결합 절편의 농도보다 단지 약 10배 농도이다. 더욱 바람직한 실시예에서 경쟁자 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 대한 IC₅₀ 값은 항체 또는 항원-결합 절편의 농도와 단지 같은 몰(equimolar)이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 27(117.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 28(117.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 27(117.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 28(117.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 29 (368.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 30 (368.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 29 (368.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 31(501.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 32 (501.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 31(501.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 32 (501.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33 (776.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 34 (776.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33 (776.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 34 (776.1H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 54에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 725.1 경쇄 폴리펩타이드 가변부("725.1L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 53에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 725.1 중쇄 폴리펩타이드 가변부("725.1H")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 54에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 53에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 56에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 16H9 경쇄 폴리펩타이드 가변부("16H9L")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 55에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 16H9 중쇄 폴리펩타이드 가변부("16H9H")를 포함하는 것이다. 또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 56에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 55에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 27(117.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776.1H), SEQ ID NO : 53 (725.1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 29(368.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 28 (117.1H), SEQ ID NO : 32(501.1H), SEQ ID NO : 34 (776.1H), SEQ ID NO : 53 (725. 1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 31(501.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 28(117.1H), SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 34 (776.1H), SEQ ID NO : 53 (725.1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33(776.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 28(117.1H), SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32 (501.1H), SEQ ID NO : 53 (725.1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 54(725.1L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32 (501.1H), SEQ ID NO : 34 (776.1H), SEQ ID NO : 53 (725.1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

또 다른 특정 실시예에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 SEQ ID NO : 33(16H9L)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩타이드 가변부 및 SEQ ID NO : 30 (368.1H), SEQ ID NO : 32 (501.1H), SEQ ID NO : 34 (776.1H), SEQ ID NO : 53 (725.1H), 또는 SEQ ID NO : 55 (16H9H)에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩타이드 가변부를 포함하는 것이다.

하나의 특정 실시예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어느 하나, 둘 또는 셋의 VL CDR를 포함하는 가변 경쇄 영역을 포함한다. 또 다른 특정 실시예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어느 하나, 둘 또는 셋의 VH CDR를 포함하는 가변 중쇄 영역을 포함한다. 또 다른 특정 실시예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어느 하나, 둘 또는 셋의 VL CDR를 포함하는 가변 경쇄 영역 및 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어느 하나, 둘 또는 셋의 VH CDR를 포함하는 가변 중쇄 영역을 포함한다.

바람직한 실시예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR; 또는 표 2에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR; 또는 표 3에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR; 또는 표 4에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR; 또는 표 5에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR; 또는 표 6에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR를 포함하는 가변 경쇄 영역을 포함한다. 다른 바람직한 실시예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR; 또는 표 2에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR; 또는 표 3에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR; 또는 표 4에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR; 또는 표 5에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR; 또는 표 6에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR를 포함하는 가변 중쇄 영역을 포함한다.

느 둘 또는 셋의 VH CDR를 포함하고; 또는 상기 가변 경쇄 영역은 표 5에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR를 포함하고 상기 가변 중쇄 영역은 표 5에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR를 포함하고; 또는 상기 가변 경쇄 영역은 표 6에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VL CDR를 포함하고 상기 가변 중쇄 영역은 표 6에 기재된 어느 둘 또는 셋의 VH CDR를 포함한다.

예를 들면, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어떤 VL1 CDR를 포함하는 VL1 도메인을 포함할 수 있고; 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어떤 VL2 CDR를 포함하는 VL2 도메인을 포함할 수 있고; 또는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어떤 VL3 CDR를 포함하는 VL3 도메인을 포함할 수 있고; 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어떤 VL1 CDR 및 VL2 CDR를 포함하는 VL1 도메인 및 VL2 도메인을 포함할 수 있고; 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어떤 VL1 CDR 및 VL3 CDR를 포함하는 VL1 도메인 및 VL3 도메인을 포함할 수 있고; 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어떤 VL2 CDR 및 VL3 CDR를 포함하는 VL2 도메인 및 VL3 도메인을 포함할 수 있고; 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 및 표 6에 기재된 어떤 VL1 CDR, VL2 CDR 및 VL3 CDR를 포함하는 VL1 도메인, VL2 도메인 및 VL3 도메인을 포함할 수 있다.

**표 1.
117.1의 CDR 시퀀스**

| CDR | 시퀀스 | SEQ ID NO: |
|-----|------------------|------------|
| VH1 | GFSLSTPGMVG | 3 |
| VH2 | HIWWDDFKRDNPALKS | 4 |
| VH3 | VDGNFLSWYFDV | 5 |
| VL1 | RSSQSLVHSNGNTYLH | 6 |
| VL2 | KVSNRFS | 7 |
| VL3 | SQSRYVPET | 8 |

**표 2.
368.1의 CDR 시퀀스**

| CDR | 시퀀스 | SEQ ID NO: |
|-----|-------------------|------------|
| VH1 | GYSFTGFYMH | 9 |
| VH2 | YVSCYTGATTYTQKFKG | 10 |
| VH3 | EGDYYSMDF | 11 |
| VL1 | RSSQSLERTNGNTYLH | 12 |
| VL2 | KVSSRFS | 13 |
| VL3 | SQTTHGPPT | 14 |

**표 3.
501.1의 CDR 시퀀스**

| CDR | 시퀀스 | SEQ ID NO: |
|-----|-------------------|------------|
| VH1 | GYIFTDYGMN | 15 |
| VH2 | CINTYTGETIYSDDFRG | 16 |
| VH3 | GNYRDAIDY | 17 |
| VL1 | KASQDIKSYLS | 18 |
| VL2 | YATTLAD | 19 |
| VL3 | LHHDESPFT | 20 |

**표 4.
776.1의 CDR 시퀀스**

| CDR | 시퀀스 | SEQ ID NO: |
|-----|-----------------|------------|
| VH1 | GYTFTDYNIH | 21 |
| VH2 | YIYPYNGVSDYNQNF | 22 |
| VH3 | RWDFGSGYYFDY | 23 |
| VL1 | RASSSVIYMC | 24 |
| VL2 | GTSTLAS | 25 |
| VL3 | QQWSSNPFT | 26 |

표 5.
725.1의 CDR 시퀀스

| CDR | 시퀀스 | SEQ ID NO: |
|-----|-------------------|------------|
| VH1 | GYSFTNYGMN | 60 |
| VH2 | WINAYIGEPTYADDFKG | 61 |
| VH3 | GGNSLDF | 62 |
| VL1 | RASSSVSSIH | 63 |
| VL2 | ATSMLAS | 64 |
| VL3 | QQWSIDPAT | 65 |

표 6.
16H9의 CDR 시퀀스

| CDR | 시퀀스 | SEQ ID NO: |
|-----|-------------------|------------|
| VH1 | GFNIKDTYMH | 66 |
| VH2 | RIDPANGNTKYDPKFQG | 67 |
| VH3 | SDIYYGNPGGFAY | 68 |
| VL1 | TASSSVSSSYLH | 69 |
| VL2 | STSMLAS | 70 |
| VL3 | HQYHRSPT | 71 |

본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 Nustad *et al.*, Tumor Biol. 17: 196:219(1996)에 규정된 바와 같이, OC 125-유사 항체, M11-유사 항체 또는 OV 197 항체가 아니며 일반적으로 이들과 경쟁하지 않는다. 하나의 실시예에서, 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 WO 03/076465에 기술된 OC 125-유래(derived) 또는 VK-8-유래 단일 사슬 항체가 아니며, 일반적으로 이들과 경쟁하지 않는다.

본 발명의 항체들은 폴리클론 항체들, 모노클론 항체들, 키메라 항체들, 인간화된 항체들, 인간 항체들, 바이(bi)-특이적인 항체들, 트리(tri)-특이적인 항체들, 다중-특이적인 항체들, 단일-사슬 항체들, 다이설파이드-결합(disulfide-linked) Fvs, 단일-사슬 Fvs 또는 항-이디오타입 항체들을 포함하나 이에 한정되지 아니한다. 바람직한 실시예에서 본 발명의 항체는 셰드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 모노클론 항체이다. 다중 특이적인 항체들은 세포-연관된 CA 125/O 772P의 다른 에피토프에 대해서 특이적일 수 있고, 또는 이종성(heterologous) 폴리펩타이드 또는 고체 지지 물질과 같은 이종성 에피토프에 대해서 뿐만 아니라 세포-연관된 CA 125/O 772P 에피토프 양자에 대해서 특이적일 수 있다. 예를 들면, Tutt *et al.*, J.Immunol. 147(1):60-69(1991); Kostelny *et al.*, J. Immunol. 148(5):1547-1553(1992); 및 미국특허 4,474,893호, 4,714,681호, 4,925,648호, 5,573,920호, 5,601,819호, 5,798,229호, 5,855,866호, 5,869,620호, 5,897,861호, 5,959,084호, 6,106,833호, 6,248,332호, 6,258,358호, 6,303,755호, 및 6,420,140호를 참조한다.

본 발명의 항원-결합 항체 절편들은 Fab 절편, $F(ab')_2$ 절편, 가변 경쇄 폴리펩타이드(VL)-함유 절편, 가변 중쇄 폴리펩타이드(VH)-함유 절편 또는 컴프리멘타리-결정 영역(complementary-determining region; CDR)-함유 절편을 포함할 수 있으나 이에 한정되지는 않는다.

또한, 본 발명의 항체들 및 항원-결합 항체 절편들은 면역글로부린 군 중 하나일 수 있다. 예를 들어 본 발명의 항체들은 IgG, IgM, IgE, IgD, IgA 또는 IgY 군 항체들일 수 있다. 본 발명의 항체들은 아이소타입 중 하나일 수도 있다. 예를 들어 본 발명의 항체는 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 또는 IgA₂ 중에 아이소타입 중 하나일 수 있다. 바람직하게 본 발명의 항체는 IgG₁ 아이소타입이다.

더욱이 본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 하나 이상의 CDR, 예를 들면 본 명세서에 기술된 바와 같이 자연적으로 발생하거나 컨센서스 골격 영역(consensus framework region), 바람직하게는 인간 골격 영역 내로 삽입된 CDR 시퀀스를 포함할 수 있다. 또한 본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 가변 경쇄, 예를 들면 본 명세서에 기술된 바와 같이 자연적으로 발생하거나 컨센서스 골격 영역(consensus framework region), 바람직하게는 인간 골격 영역 내로 삽입된 κ 또는 λ 경쇄 가변부 및/또는 가변 중쇄를 포함할 수 있다. 그러한 골격 영역은 당업자에게 잘 알려져 있는데, 예를 들면 Cy1 컨스탄트 영역 또는 Cy4 컨스탄트 영역을 포함할 수 있다.

세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 예를 들면 닭과 같은 새들, 비영장류(예를 들면 소, 돼지, 말, 당나귀, 염소, 낙타, 고양이, 개, 기니아 피그, 쥐, 마우스, 양) 및 영장류(예를 들면 사이노 몰거스 몽키와 같은 원숭이, 고릴라, 침팬지 및 인간)를 포함하는 포유류를 포함하는 어떤 동물 근원으로부터 얻어질 수 있다. 바람직하게, 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들 및 항원-결합 항체 절편들은 모노클론 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 포함하는 키메라, 인간 또는 인간화된 항체이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "인간" 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들은 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 포함하고, 예를 들면 인간 면역글로불린 라이브러리 또는 인간 유전자로부터 항체를 발현하는 마우스로부터 분리된 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 포함한다.

또 다른 면에서 본 발명은 본 발명의 모노클론 항체를 생산하는 하이브리도마 세포들을 제공한다. 일 실시예에서 본 발명의 하이브리도마는 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5109), 하이브리도마 7A11 (ATCC 액세션 번호 PTA-5110), 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111), 하이브리도마 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 하이브리도마 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 하이브리도마 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 하이브리도마 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 하이브리도마 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 하이브리도마 501.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)이다.

일 실시예에서 본 발명의 하이브리도마는 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 대한 결합에 대하여 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5109), 하이브리도마 7A11 (ATCC 액세션 번호 PTA-5110), 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111), 하이브리도마 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 하이브리도마 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 하이브리도마 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 하이브리도마 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 하이브리도마 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 하이브리도마 501.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)이다.

(ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 또는 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의하여 생성되는 모노클론 항체와 경쟁하는 모노클론 항체들을 생성하는 하이브리도마이다.

5.2 본 발명의 융합 폴리펩타이드

또 다른 면에서 본 발명은 예를 들어 이종성 물질(heterologous agent)과 실시가능하게 연결된 쉘드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것과 같은 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 포함하는 융합 폴리펩타이드를 제공한다. 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 또한 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합한다. 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 일 실시예에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편 및 이종성 물질(heterologous agent)은 웨პ타이드 결합 또는 다이설파이드 결합과 같은 공유 결합을 통하여 실시가능하게 연결된다. 또 다른 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 일 실시예에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편 및 이종성 물질(heterologous agent)은 비공유 결합을 통하여 실시가능하게 연결된다. 이종성 물질은 아미노 말단, 카르복실 말단 또는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편의 연속적인 서열을 따라서 어떠한 위치에 연결될 수 있다. 실시가능한 연결은 항체 또는 항원-결합 항체 절편과 이종성 물질 사이에 직접적으로 연결될 필요는 없으나, 예를 들면 링커 또는 스페이서 물질 또는 서열을 통해 일어날 수 있다.

본 발명의 융합 폴리펩타이드의 또 다른 실시예에서 상기 이종성 물질(heterologous agent)은 아미노산 서열 또는 방사성 동위원소이다. 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 상기 이종성 물질(heterologous agent)은 세포독성제 또는 검출가능한 물질을 포함한다.

본 발명의 융합 폴리펩타이드는 예를 들면 본 발명의 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 생성하는데 사용될 수 있다. 대안적으로, 융합 폴리펩타이드들은 본 명세서에 기재된 바와 같이 예방 또는 치료 방법의 일부로서 사용될 수 있다. 나아가, 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 당업계에 알려진 방법을 사용하여 인 비보 및 인 비트로 면역학적 검정법 및 정제법의 일부로서 사용될 수 있다. 예를 들면 PCT 공개번호 WO 93/21232; 미국특허 5,314,995호, 5,474,981호, 5,514,558호, 6,362,317호 및 6,403,769호; Nakamura *et al.*, *Immunol.Lett.* 39(1): 91-99 (1993); Gillies *et al.*, *Proc.Natl. Acad. Sci. USA.* 89(4): 1428-1432 (1992); 및 Fell *et al.*, *J.Immunol.* 146(7) : 2446-2452 (1991)를 참조하며, 이들은 인용에 의해 전체로서 본 명세서에 포함된다.

이종성 물질이 폴리펩타이드인 경우에, 상기 이종성 폴리펩타이드는 일반적으로 적어도 약 5, 적어도 약 10, 적어도 약 20, 적어도 약 30, 적어도 약 40, 적어도 약 50, 적어도 약 60, 적어도 약 70, 적어도 약 80, 적어도 약 90, 또는 적어도 약 100 아미노산이다.

일 실시예에서, 본 발명의 융합 폴리펩타이드들은 가능한 치료상의 이익을 제공하는 이종성 물질에 실시 가능하게 연결된 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들 또는 항원-결합 항체 절편들을 포함한다. 예를 들면, 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 이들의 항원-결합 절편은 예를 들어 세포증식억제제 또는 세포파괴제와 같은 사이토톡신, 약물, 또는 예를 들어 알파 방사체들인 방사성 이온과 같은 치료 부위에 실시 가능하게 연결될 수 있다. 예를 들면 미국특허 5,624,827호, 5,643,573호, 5,789,554호, 5,824,782호, 5,994,151호, 6,042,829호, 6,074,644호, 6,099,842호, 6,132,722호, 6,187,287호, 6,197,299호, 및 6,207,805호를 참조한다. 사이토톡신 또는 세포독성제는 세포 성장이나 세포 생존능력에 해로운 어떠한 물질을 포함한다. 사이토톡신 또는 세포독성제의 예로서는 파클리탁솔(paclitaxol), 시토칼라신 B(cytochalasin B), 그라미시딘 D(gramicidin D), 에티디움 브로마이드(ethidium bromide), 에메틴(emetine), 마이토마이신(mitomycin), 에토포시드(etoposide), 테노포시드(tenoposide), 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 콜히친(colchicine), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 다이하이드록시 안트라신 디온(dihydroxy anthracin dione), 미토잔트론(mitoxantrone), 미트라마이신(mithramycin), 악티노마이신 D(actinomycin D), 1-디하이드로테스토스테론(1-dehydrotestosterone), 글루코코르티코이드(glucocorticoids), 프로카인(procaine), 테트라카인(tetracaine), 리도카인(lidocaine), 프로프라놀롤(propranolol), 및 퓨로마이신과 이들의 유사물질 또는 상응물질을 포함하되 이에 한정되지는 않는다. 가능한 치료상 이익을 갖는 다른 물질들은 대사길항물질(예를 들면, 메토트렉세이트(methotrexate), 6-머캡토푸린(mercaptopurine), 6-티오구아닌(thioguanine), 시타라빈(cytarabine), 5-플루오로우라실 디카바진(fluorouracil decarbazine)), 알킬화제(예를 들면, 메클로에타민(mechlorethamine), 티오에파클로람부실(thioepachlorambucil), 멜파란(melphalan), 카무스틴(carmustine)(BSNU) 및 로무스틴(lomustine)(CCNU), 사이클로토스파미드(cyclothosphamide), 부술판(busulfan), 디브로모만니톨(dibromomannitol), 스트렙토조토신(streptozotocin), 미토마이신 C(mitomycin C), 및 시스디클로로디아민 플라티늄 (II)(DDP) 시스플라틴), 안트라사이클린(anthracyclines) (예를 들면, 다우노루비신(이전에는 다우노마이신)

및 독소루비신), 항생제(예를 들면, 닉티노마이신(dactinomycin) (이전에는 약티노마이신), 블레오마이신(bleomycin), 미트라마이신(mithramycin), 및 안트라마이신(anthramycin) (AMC)), 마이탄시노이드(maytansinoids) 및 세포분열 억제제(예를 들면, 빈크리스틴 및 빈블라스틴) 및 비스무트(²¹³Bi), 탄소(¹⁴C), 크롬(⁵¹Cr), 코발트(⁵⁷Co), 플루오르(¹⁸F), 가돌리늄(¹⁵³Gd, ¹⁵⁹Gd), 갈륨(⁶⁸Ga, ⁶⁷Ga), 게르마늄(⁶⁸Ge), 홀뮴(¹⁶⁶Ho), 인듐(¹¹⁵In, ¹¹³In, ¹¹²In, ¹¹¹In), 요오드(¹³¹I, ¹²⁵I, ¹²³I, ¹²¹I), 란탄(¹⁴⁰La), 루테튬(¹⁷⁷Lu), 망간(⁵⁴Mn), 몰리브덴(⁹⁹Mo), 팔라듐(¹⁰³Pd), 인(³²P), 프라세오디뮴(¹⁴²Pr), 프로메튬(¹⁴⁹Pm), 레늄(¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re), 로듐(¹⁰⁵Rh), 루데뮴(⁹⁷Ru), 사마륨(¹⁵³Sm), 스칸듐(⁴⁷Sc), 셀레늄(⁷⁵Se), 스트론튬(⁸⁵Sr), 황(³⁵S), 테크네튬(⁹⁹Tc), 탈륨(²⁰¹Tl), 주석(¹¹³Sn, ¹¹⁷Sn), 트리튬(³H), 제논(¹³³Xe), 이테르븀(¹⁶⁹Yb, ¹⁷⁵Yb), 이트륨(⁹⁰Y) 및 아연(⁶⁵Zn)을 포함하되 이에 한정되지는 않는 방사성 물질을 포함하되 이에 한정되지는 않는다.

또한, 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 치료제 또는 약물 부위에 결합될 수 있다. 치료제 또는 약물 부위들은 고전적인 화학 치료제에 한정되는 것으로 해석되어지지 않는다. 예를 들면, 약물 부위는 바람직한 생물학적 활성을 갖는 단백질 또는 폴리펩타이드일 수 있다. 그러한 단백질로는 예를 들어 아브린(abrin), 리신(ricin) A, 슈도모나스 엑소톡신(pseudomonas exotoxin)(즉, PE-40), 또는 디프테리아 톡신(diphtheria toxin)과 같은 독소, 리신(ricin), 겔로닌(gelonin), 및 억새풀 항바이러스성 단백질(pokeweed antiviral protein), 종양 괴사 인자와 같은 단백질, α -인터페론(IFN- α), β -인터페론(IFN- β)을 포함하되 이에 한정되지는 않는 인터페론들, 신경 성장 인자(NGF), 혈소판 유래 성장 인자(PDGF), 조직 플라스미노겐 액티베이터(TPA), 세포사멸제(apoptotic agent) (예를 들면, PCT 공개번호 WO 97/33899에 기재된 바와 같이 TNF- α TNF- β , AIM I, AIM II (PCT 공개번호 WO 97/34911 참조), Fas 리간드(Takahashi *et al.*, *J. Immunol.*, 6:1567-1574, 1994), 및 VEGI (PCT 공개번호 WO 99/23105), 혈전증제 또는 항-혈관형성제(anti-angiogenic agent) (예를 들면, 안티스타틴(antistatin) 또는 엔도스타틴(endostatin)), 또는 예를 들면 림포카인(예를 들면, 인터루킨-1("IL-1"), 인터루킨-2("IL-2"), 인터루킨-6("IL-6"), 과립구 매크로파지 콜로니 자극인자("GM-CSF"), 및 과립구 콜로니 자극인자(G-CSF)), 매크로파지 콜로니 자극인자("M-CSF"), 또는 성장인자(예를 들면, 성장 호르몬("GH"))와 같은 생물학적 반응 조절물질(biological response modifier); 프로테아제 또는 리보뉴클레아제를 포함한다.

본 발명의 용합 폴리펩타이드들은 대안적으로 진단하는데 사용될 수 있는데, 예를 들면 항체가 검출가능한 물질에 결합되어 있는 곳과 같은 주어진 치료 방식의 효율을 결정하기 위해 예를 들어 임상 실험 과정의 일부로서 암 또는 종양의 진행 또는 경과를 모니터한다. 검출가능한 물질의 예로서는 다양한 효소, 배합군(prosthetic groups), 형광물질, 발광물질, 생발광물질, 방사성 물질, 양전자 방출 금속 및 비방사성 상자성체 금속 이온을 포함한다. 상기 검출가능한 물질은 당업계에 알려진 기술을 이용하여 중간체(예를 들면 당업계에 알려진 링커)를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 항체에 연결 또는 결합될 수 있다. 예를 들면, 미국특허 4,741,900호, 5,693,764호, 5,776,095호, 6,008,002호, 6,013,531호, 6,110,750호, 6,124,105호, 6,197,523호, 및 6,225,050호를 참조한다.

본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편과 결합될 수 있는 적절한 효소의 비제한적인 예로서는 홍당무 퍼록시다제, 알칼라인 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스테라제와 같은 β -락타마제, β -갈락토시다제, 포스파타제, 퍼록시다제, 리덕타제(reductases), 에스테라제, 하이드롤라제, 아이소미라제 및 프로테아제를 포함하고; 적절한 배합군 복합체의 비제한적인 예로서는 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴을 포함한다. 적절한 형광 물질의 비제한적인 예는 웜벨리페론(umbelliferone), 플루오리신(fluorescein), 플루오리신 이소티오시아네이트(fluorescein isothiocyanate), 로다민(rhodamine), 디클로로트리아지닐아민 플루오리신(dichlorotriazinylamine fluorescein), 녹색 형광 단백질(green fluorescent protein), 적색 형광 단백질(red fluorescent protein), 댄실 클로라이드(dansyl chloride) 또는 피코에리트린(phycoerythrin)을 포함하고; 발광 물질의 비제한적인 예로는 루미놀(luminol)을 포함한다. 생발광물질의 비제한적인 예는 루시페라제(luciferase), 루시페린(luciferin), 및 에퀴린(aequorin)을 포함하고; 적절한 방사성 물질의 예는 ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹¹¹In, ^{99m}Tc, 또는 ⁹⁰Y을 포함한다.

또한 본 발명은 정제를 용이하게 하는 웨პ타이드와 같이 마커 서열에 용합된 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체들 또는 그들의 항원-결합 절편들을 포함한다. 예를 들면, 마커 아미노산 서열은 상업적으로 이용할 수 있는 다른 것들 중에서 pQE 벡터 (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311)에 제공된 태그와 같이 헥사-히스티딘 웨პ타이드일 수 있다. Gentz *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86(3):821-824 (1989)에 기재되어 있는 바와 같이, 예를 들면 히스티딘, 예를 들어 헥사-히스티딘은 용합 단백질의 편리한 정제를 위해 제공한다. 정제에 유용한 다른 웨პ타이드 태그들은 인플루엔자 헤마글루티닌(hemagglutinin) 단백질로부터 유래된 애피토프에 상당하는 헤마글루티닌(hemagglutinin) "HA" 태그(Wilson *et al.*, Cell. 37(3): 767-778 (1984)) 및 "플래그(flag)" 태그(Brizzard *et al.*, Biotechniques. 16(4) : 730-735 (1994))를 포함하는데 이에 한정되지는 않는다. 바람직하게, 그러한 태그 또는 마커 서열은 사용, 예를 들면 치료방법의 일부로서의 사용 전에 용합 폴리펩타이드로부터 분리된다.

세포-연관된 CA 125/O 0772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 이들의 항원-결합 절편은 또한 예를 들면 미국특허 4,676,980호에 기재된 바와 같이 항체 헤테로접합(heteroconjugate)을 형성하기 위하여 2차 항체에 실시가능하게 연결될 수 있는데, 이러한 문현은 인용에 의해 본 명세서에 전체로서 포함된다.

항체에 실시가능하게 연결하는 부위에 대한 기술은 잘 알려져 있는데, 예를 들면 Arnon *et al.*, "Monoclonal 항체 For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", *Monoclonal 항체 And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.*, eds., Alan R. Liss, Inc. (1985) 243-256쪽; Hellstrom *et al.*, "항체 For Drug Delivery", *Controlled Drug elivery (2nd Ed.)*, Robinson *et al.*, eds., Marcel Dekker, Inc. (1987) 623-653쪽; Thorpe, "항체 운반체s Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", *Monoclonal 항체'84 : Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.*, eds. , Editrice Kurtis (1985) 475-506쪽; Order *et al.*, "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled 항체 In Cancer Therapy", *Monoclonal 항체 For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin *et al.*, eds., Academic Press (1985) 303-316쪽; Thorpe *et al.*, *Immunol.Rev.* 62: 119-158 (1982); 및 미국특허 5,639,879호, 5,744,119호, 5,773,001호, 및 6,441,163호를 참조한다.

항체들의 컨스탄트 영역에 폴리펩타이드를 융합하거나 접합하기 위한 방법은 당업계에 알려져 있다. 예를 들면 미국특허 5,336,603호, 5,622,929호, 5,359,046호, 5,349,053호, 5,447,851호, 5,648,218호, 5,723,125호, 5,783,181호, 5,908,626호, 5,844,095호, 5,112,946호, 6,030,613호, 6,086,875호, 6,194,177호, 6,238,667호, 6,262,026호, 및 6,277,375호; EP 307,434; EP 367,166; EP 394,827 ; PCT 공개번호 WO 91/06570; Ashkenazi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88(23):10535-10539 (1991); Traunecker *et al.*, *Nature.* 331(6151): 84-86 (1988); Zheng *et al.*, *J. Immunol.* 154(10) : 5590-5600 (1995) 및 Vie *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89(23) : 11337-11341 (1992)등을 참조하는데, 이들은 인용에 의해 본 명세서에 전체로서 포함된다.

5.3. 본 발명의 유사물질들

또한 본 발명의 항체들, 항원-결합 항체 절편들 및 융합 폴리펩타이드들 중에 쉐드(shed) CA 125/O 0772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 0772P에 우선적으로 결합하는 항체, 항원-결합 항체 절편 및 융합 폴리펩타이드 유사물질들을 포함한다. 예를 들어 본 발명의 유사물질 중 하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5109),하이브리도마 7A11 (ATCC 액세션 번호® PTA-5110), 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111),하이브리도마 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112),하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245),하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114),하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 하이브리도마 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 하이브리도마 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 하이브리도마 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 하이브리도마 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 하이브리도마 501.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 하이브리도마 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570) 또는 이들의 항원-결합 항체 절편의 유사물질들에 의하여 생성되는 모노클론 항체의 유사물질들이다.

이러한 유사물질은 다음 구조적 특징들 중 적어도 하나를 갖는다: (a) 바람직하게 변형전 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 웹타이드의 아미노산 서열에 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99% 일치하는 아미노산 서열; (b) 변형전 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드의 아미노산 서열의 적어도 5 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 10 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 15 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 20 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 25 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 40 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 50 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 60 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 70 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 80 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 90 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 100 인접한 아미노산 잔기, 적어도 약 110 인접한 아미노산 잔기, 또는 적어도 약 120 인접한 아미노산 잔기를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 보체에 엄격한 조건

하에서 혼성화시킨 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되고; 또는(c) 변형전 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% or 적어도 약 99% 일치하는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다.

특정 실시예에서, 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 또는 융합 폴리펩타이드의 유사물질은 바람직하게 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5109), 하이브리도마 7A11 (ATCC 액세션 번호® PTA-5110), 하이브리도마 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111), 하이브리도마 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 하이브리도마 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 하이브리도마 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 하이브리도마 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 하이브리도마 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 하이브리도마 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 하이브리도마 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 하이브리도마 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 하이브리도마 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 하이브리도마 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 하이브리도마 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 하이브리도마 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 하이브리도마 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 하이브리도마 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 하이브리도마 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 하이브리도마 501.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 하이브리도마 621.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 하이브리도마 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 하이브리도마 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 하이브리도마 725.1(ATCC® PTA-5124), 하이브리도마 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의해 생성된 모노클론 항체의 아미노산 서열과 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, or 적어도 약 99% 일치하는 아미노산 서열을 포함한다.

바람직하게, 유사물질들은 본래 문자와 비교하여 약 25 이하, 약 20 이하, 약 15 이하, 약 10 이하, 약 5 이하, 약 4 이하, 약 3 이하, 또는 약 2 이하의 아미노산 치환, 부가 또는 결손, 또는 이들의 조합을 포함한다. 바람직한 실시예에서, 유사물질은 비-본질적으로 예상되는 하나 이상의 아미노산 잔기(즉, 항체가 세포-연관된 CA 125/O 772P에 특정적으로 또는 우선적으로 결합하는데 중요하지 않은 아미노산 잔기)에서 형성되는 보존적 아미노산 치환을 갖는다. "보존적 아미노산 치환 (conservative amino acid substitution)"은 아미노산 잔기가 유사한 전하 또는 극성을 갖는 결사슬을 갖는 아미노산 잔기, 모방체 또는 유사물질로 대체된 것이다. 유사한 전하를 갖는 결가지를 갖는 아미노산 잔기의 계열들은 당업계에 규정되어 있다. 이러한 계열들은 염기성 결사슬(예를 들면, 리신(lysine), 아르기닌, 히스티딘), 산성 결사슬(예를 들면, 아스파틱 애시드, 글루타믹 애시드), 전하를 띠지 않는 극성 결사슬(예를 들면, 글리신, 아스파라긴(asparagine), 글루타민, 세린, 트레오닌(threonine), 티로신, 시스테인), 비극성 결사슬(예를 들면, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분기된 결사슬(예를 들면, 트레오닌(threonin), 발린, 이소류신) 및 방향성 결사슬(예를 들면, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)을 갖는 아미노산들을 포함한다.

또한, 본 발명의 유사물질들은 본래의 문자와 비교하여 부가를 포함하고, 및/또는 적어도 부분적으로 결손으로부터 생성된다. 부가 및/또는 결손은 상기 언급된 본 발명의 유사물질에 대한 구조적인 특징이 만족되는 한 어떠한 일체성 또는 조합일 수 있다.

두개의 아미노산 서열 또는 두개의 핵산 서열의 퍼센트 동일성(percent identity)을 결정하기 위하여, 서열들은 최적 비교 목적을 위해 정렬된다(예를 들면, 두번째 아미노산 또는 핵산 서열을 갖는 최적의 정렬을 위하여 첫번째 아미노산 또는 핵산 서열의 서열에 간격들이 도입될 수 있다). 그런 다음 대응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오타이드 위치에서 아미노산 잔기들 또는 뉴클레오타이드들이 비교된다. 첫번째 서열에서의 위치가 두번째 서열에서 대응하는 위치와 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드에 의해 점유될 때, 그 문자들은 그 위치에서 일치한다. 두 서열 간의 퍼센트 동일성은 서열에 의해 나누어지는 동일한 위치수의 함수이다(즉, % 동일성 = 동일하고 중복하는 위치 수/전체 위치 수 x 100%). 일 실시예에서, 두 서열들은 동일한 길이이다.

두 서열간의 퍼센트 동일성의 결정은 또한 수학적 알고리듬으로 얻어질 수 있다. 두 서열의 비교에 사용된 수학적 알고리듬의 바람직한 비-제한적인 예는 Karlin *et al.*, Proc.Natl. Acad.Sci. USA. 87(6): 2264-2268 (1990)의 알고리듬으로, Karlin *et al.*, Proc.Natl. Acad.Sci. USA. 90(12) : 5873-5877 (1993)에서 변형된 바와 같다. 그러한 알고리듬은 Altschul *et al.*, J.Mol. Biol. 215(3) : 403-410 (1990)의 BLASTN 및 BLASTX 내에 포함된다. 본 발명의 핵산 문자와

일치하는 뉴클레오타이드 서열을 얻기 위해 BLAST 뉴클레오타이드 검색은 BLASTN 뉴클레오타이드 프로그램 파라미터 세트, 예를 들면 포스코어(forscore)=100, 워드렝스(wordlength)=12를 가지고 실행될 수 있다. 본 발명의 단백질 분자와 일치하는 아미노산 서열을 얻기 위해 BLAST 단백질 검색은 BLASTX 프로그램 파라미터 세트, 예를 들면 포스코어(forscore)=50, 워드렝스(wordlength)=3를 가지고 실행될 수 있다. 비교 목적을 위해 틈이 많은 정렬을 얻기 위하여, 캡을 허용한(Gapped) BLAST가 Altschul *et al.*, Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402 (1997)에 기술된 바와 같이 사용될 수 있다. 대안적으로, PSI-BLAST는 문자간의 먼 관계를 검출하는 반복된 검색을 실행하는데 사용될 수 있다 (*Id.*). BLAST, 캡을 허용한 BLAST, 및 PSI-Blast 프로그램을 사용하는 경우, 개개 프로그램의 (예를 들면, BLASTX 및 BLASTN의) 기본 파라미터가 사용될 수 있다. 서열의 비교를 위해 사용된 수학적 알고리듬의 또 다른 바람직한 비-제한적인 예는 Myers 및 Miller (Myers *et al.*, Comput. Appl. Biosci. 4(1): 11-17 (1988))의 알고리듬이다. 그러한 알고리듬은 GCG 서열 정렬 소프트웨어 패키지의 일부분인 ALIGN 프로그램 (버전 2.0)에 포함된다. 아미노산 서열을 비교하기 위하여 ALIGN 프로그램을 사용하는 경우, PAM120 중량 잔기 표, 12의 캡 길이 페널티(gap length penalty) 12, 및 캡 페널티 4가 사용될 수 있다.

두 서열간의 퍼센트 동일성은 캡을 허용하거나 또는 허용하지 않으면서 상기 기술된 바와 유사한 기술로 결정될 수 있다. 퍼센트 동일성을 계산하는데 있어서, 전형적으로 정확한 짹(match)들만이 계수된다.

또한, 유사물질은 대응하는 변형전 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 어떠한 타입의 분자의 부착, 예를 들면 공유적인 부착에 의해 변형되어지고, 여전히 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드를 의미할 수 있다. 제한되지 않는 예를 들면, 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드는 당화(glycosylation), 아세틸화(acetylation), 알킬화(alkylation), 에스테르화(esterification), 지질화(lipidation), 포르밀화(formylation), 페질화(pegylation), 인산화(phosphorylation), 아미드화(amidation), 프로텍팅/블로킹 그룹에 의한 유도체화(derivatization by protecting/blocking groups), 단백질 가수분해 분할(proteolytic cleavage), 세포적 리간드 또는 다른 단백질에 결합 등에 의해 변형될 수 있다. 또한, 유사물질은 하나 이상의 비-고전적인 아미노산을 포함할 수 있다. 비-고전적인 아미노산은 일반적인 아미노산의 D-이성질체, α -아미노 이소부티릭 애시드, 4-아미노부티릭 애시드 (4-Abu), 2-아미노부티릭 애시드(2-Abu), 6-아미노 핵사노익 애시드(Ahx), 2-아미노 이소부티릭 애시드 (2-Aib), 3-아미노 프로파오닉 애시드, 오르니틴(ornithine), 노르류신(norleucine), 노르발린(norvaline), 하이드록시프롤린(hydroxyproline), 사코신(sarcosine), 시트룰린(citrulline), 시스테익 애시드(cysteic acid), t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, β -알라닌, 플루오로-아미노산들, β -메틸 아미노산, Ca-메틸 아미노산, Na-메틸 아미노산과 같은 변조 아미노산들(designer amino acids) 및 일반적인 아미노산 유사물질을 포함하되 이에 한정되지는 않는다.

일 실시예에서, 본 발명의 유사물질은 대응하는 변형전 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드의 것과 비교하여 세포-연관된 CA125/O 772P에 대한 증가된 친화도를 나타낸다. 다른 특정 실시예에서, 세포-연관된 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드는 대응하는 변형전 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드와 비교하여 증가된 혈청 반감기를 갖는다. 예를 들면, 유사물질은 동물, 바람직하게는 포유류이고 가장 바람직하게는 인간에 있어서 약 1일, 약 2일 이상, 약 3일 이상, 약 7일 이상, 약 10일 이상, 바람직하게 약 15일 이상, 약 25일 이상, 약 30일 이상, 약 35일 이상, 약 40일 이상, 또는 약 45일 이상의 반감기를 나타낼 수 있다.

인 비보 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드의 혈청 순환을 연장하기 위해서, 예를 들면 고분자량 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 불활성 폴리머 분자들은 다중기능성 링커로 또는 이것 없이 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드의 아미노 또는 카르복실-말단에 대한 PEG의 부위-특이적 접합을 통해서나 리신(lysine) 잔기에 존재하는 엡실론 아미노기를 경유하여 항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드에 부착될 수 있다. 생물학적 활성의 최소 손실을 가져오는 선형 또는 분지된 폴리머 유도체화가 바람직하다. 접합의 정도는 항체에 대한 PEG 분자의 적절한 접합을 보증하기 위하여 SDS-PAGE 및 질량 분광법에 의해 면밀하게 측정될 수 있다. 반응하지 않은 PEG는 크기배제에 의해 또는 이온교환 크로마토그래피에 의해 항체-, 항원-결합 항체 절편- 또는 융합 폴리펩타이드-PEG 접합체로부터 분리될 수 있다. PEG-유도체화된 항체, 항원-결합 항체 절편 및 융합 폴리펩타이드는 본 발명이 속하는 기술 분야에 알려진 방법, 예를 들면 본 명세서에 기술된 면역분석법에 의해 인 비보 효능에 대해서 뿐만 아니라 결합 활성에 대해서도 측정될 수 있다.

증가된 인비보 반감기를 갖는 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 또한 IgG 컨스탄트 도메인, 또는 그들의 FcRn 결합 절편(바람직하게는 Fc 또는 경첩(hinge)-Fc 도메인 절편) 내로 하나 이상의 아미노산 변형(즉, 치환, 삽입 또는 결손)을 도입함으로써 발생될 수 있다. 예를 들면 PCT 공기번호 WO 98/23289 및 미국특허 6,277,375를 참조하며, 이들 각각은 인용에 의해 본 명세서에 전체로서 포함된다.

5.4. 본 발명의 핵산분자

또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 이들의 유사물질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 분리된 핵산 분자를 제공한다.

일 실시예에서, 본 발명의 핵산 분자는 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 또는 표 6에 기재된 경쇄 CDR의 적어도 하나, 바람직하게는 둘 또는 셋을 포함하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 이들의 유사물질을 암호화한다. 예를 들면, 본 발명의 핵산 분자는 상기 경쇄 CDR을 적어도 하나, 우선적으로 둘 또는 셋을 암호화하는 SEQ ID NO : 35, SEQ ID NO : 37, SEQ ID NO : 39, SEQ ID NO : 41, SEQID NO : 52, 또는 SEQ ID NO : 59의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

또 다른 실시예에서, 본 발명의 핵산 분자는 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 또는 표 6에 기재된 중쇄 CDR의 적어도 하나, 바람직하게는 둘 또는 셋을 포함하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 이들의 유사물질을 암호화한다. 예를 들면, 본 발명의 핵산 분자는 상기 중쇄 CDR을 적어도 하나, 우선적으로 둘 또는 셋을 암호화하는 SEQ ID NO : 36, SEQ ID NO : 38, SEQ ID NO : 40, SEQ ID NO : 42, SEQ ID NO : 57 또는 SEQ ID NO : 58의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

또 다른 실시예에서, 본 발명의 핵산 분자는 도 5C, 도 6C, 도 7C, 도 8C, 도 9C 또는 도 10C에 나타낸 가변 경쇄 폴리펩타이드 서열을 포함하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 이들의 유사물질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 예를 들면, 본 발명의 핵산 분자는 SEQ ID NO : 35 (117.1), SEQ ID NO : 37(368.1), SEQ ID NO : 39 (501.1), SEQ ID NO : 41 (776.1), SEQ ID NO : 52 (725.1) 또는 SEQ ID NO : 59 (16H9)의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

또 다른 실시예에서, 본 발명의 핵산 분자는 도 5D, 도 6D, 도 7D, 도 8D, 도 9D 또는 도 10D에 나타낸 가변 중쇄 폴리펩타이드 서열을 포함하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 이들의 유사물질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 예를 들면, 본 발명의 핵산 분자는 SEQ ID NO : 36 (117.1), SEQ ID NO : 38 (368.1), SEQ ID NO : 40 (501.1), SEQ ID NO : 42 (776.1), SEQ ID NO : 57 (725.1) 또는 SEQ ID NO : 58 (16H9)의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

본 발명의 핵산 분자들 중에는 퇴화한 변이체들인 핵산 분자, 또는 엄격한 조건 하에서 본 발명의 항체 또는 항원-결합 절편을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는 핵산분자의 보체에 혼성화하는 핵산 분자가 있다. 예를 들면, 일 실시예에서 본 발명의 핵산분자는 엄격한 조건 하에서 SEQ ID NO : 35, SEQ ID NO : 36, SEQ ID NO : 37, SEQ ID NO : 38, SEQ ID NO : 39, SEQ ID NO : 40, SEQ ID NO : 41, SEQ ID NO : 42, SEQ ID NO : 52, SEQ ID NO : 57, SEQ ID NO : 58, 또는 SEQ ID NO : 59의 보체에 혼성화하는 것이다. 바람직하게, 본 발명의 이러한 혼성화 핵산 분자는 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 암호화한다.

5.5 본 발명의 약학적 조성물

또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 유사물질 또는 핵산 분자 및 약학적으로 수용 가능한 운반체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

바람직하게, 본 발명의 약학적 조성물은 섹션 6.4에 기술된 바와 같이 BIAcore Affinity Assay에 의해 측정된 바와 같이 도 1(SEQ ID NO: 1)의 웨بت아이드에 대해 약 100nM 이하, 약 10 nM 이하, 약 1nM 이하, 약 100 pM 이하, 약 10 pM이하의 K_d 를 나타내는 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 유사물질을 포함한다. 대안적으로, 본 발명의 약학적 조성물은 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 용해를 막개하는 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 유사물질 또는 핵산 분자를 포함할 수 있다. 가장 바람직하게는 본 발명의 약학적 조성물은 스스로 또는 세포독성 물질(cytotoxic agent)에 접합된 때 CA 125/O 772P양성 종양 세포를 저해하는 폴리펩타이드를 암호화하는 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 유사물질 또는 핵산 분자를 포함한다.

일 실시예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드 또는 이들의 유사물질은 본 명세서 섹션 5.2에서 언급된 그러한 세포독성 물질과 같은 세포-증식성 질병을 치료하는데 유용한 세포독성 물질에 접합된다. 특정 실시예에서, 상기 세포독성 물질은 방사성 동위원소이다. 보다 특정한 실시예에서, 상기 방사성 동위원소는 ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 및 ^{90}Y 로 이루어진 군으로부터 선택된다.

"운반체"라는 용어는 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 유사물질의 투여를 위하여 희석제, 보조제(예를 들면, Freund 보조제(완전하거나 불완전한)), 첨가제, 안정화제, 보존제, 바인더, 또는 매개제(vehicle)를 의미한다. 그러한 약학적 운반체는 땅콩 오일, 대두 오일, 미네랄 오일, 참깨 오일 및 이와 유사한 것과 같은 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것을 포함하는 물 및 오일과 같은 멸균 액상일 수 있다. 약학적 조성물이 정맥내로 투여되는 경우 물은 바람직한 운반체이다. 생리식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액 또한 액상 운반체, 특히 주사용 용액으로 적용될 수 있다. 적당한 약학적 첨가제는 전분, 글루코스, 락토스, 슈크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 초크, 실리카겔, 소디움 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 소디움 클로라이드, 건조 탈지 우유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 및 이와 유사한 것을 포함한다. 본 조성물은, 바람직하다면, 또한 소량의 습윤 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 용액, 혼탁액, 유제, 정제, 필제, 캡슐, 파우더, 방출-지연 제제 등의 형태를 취할 수 있다. 구강 제형은 약학적 등급의 만니톨(mannitol), 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소디움 사카린, 셀룰로오스, 마그네슘 카보네이트 등과 같은 표준 운반체를 포함할 수 있다. 적절한 약학적 운반체의 예들은 *Remington : The Science & Practice of Pharmacy, 20th edition*, Gennaro, ed., Lippincott (2000)에 기재되어 있다.

바람직한 실시예에서, 약학적 조성물은 멸균이고, 대상, 바람직하게는 동물 대상, 더욱 바람직하게는 포유류 대상, 가장 바람직하게는 인간 대상에 투여하기 위한 적절한 형태이다.

특정 실시예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 치료가 필요한 영역에 국부적으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 이것은 예를 들면 국소 주입에 의해, 주사에 의해, 또는 임플란트에 의해 이루어질 수 있으나 이에 한정되지는 않으며, 상기 임플란트는 시알라스틱 멤브레인(sialastic membrane) 또는 섬유와 같은 멤브레인을 포함하는 다공성, 비다공성 또는 젤라틴으로 된 재질이다. 바람직하게, 약학적 조성물을 투여하는 때, 약학적 조성물 또는 조성물들 내의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사물질이 흡착되지 않는 물질을 사용하는데 주의하여야 한다.

또 다른 실시예에서, 약학적 조성물은 소포체, 특히 리포좀 내에 존재하고 운반될 수 있다(예를 들면, Langer, *Science* 249 (4976) : 1527- 1533 (1990); Treat *et al.*, in *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein *et al.*, eds., Liss (1989) 353-365쪽; Lopez-Berestein *et al.*, *ibid.*, 317-327쪽; Lopez-Berestein *et al.*, *ibid.*, 일반적으로; 및 미국특허RE35,338, 5,662,931, 5,759,519, 5,879,713, 6,027,726, 6,099,857, 6,132,764, 6,245,427, 6,284,375, 6,350,466, 및 6,417,326).

또 다른 실시예에서, 조성물은 조절된 방출(controlled release) 또는 지속된 방출(sustained release) 시스템에 존재하고 운반될 수 있다. 일 실시예에서, 펌프는 조절된 또는 지속된 방출을 얻는데 사용될 수 있다(예를 들면, Langer, *Science* 249(4976):1527-1533 (1990); Sefton, *Crit.Rev. Biomed.Eng.* 14(3): 201-40 (1987); Buchwald *et al.*, *Surgery* 88(4) : 507-516 (1980); Saudek *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 321(9) : 574-579 (1989); 및 미국특허 5,720,720 및 6,352,683 참조). 또 다른 실시예에서, 고분자 물질은 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사물질 또는 이들의 절편의 조절된 또는 지속된 방출을 이루는데 사용될 수 있다(예를 들면, *Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974) *Medical Applications of Controlled Release*, Langer *et al.*, eds., CRC Press (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen *et al.*, eds., Wiley (1984); Ranger *et al.*, *J.Macromol.Sci.Rev. Macromol.Chem.* 23:61(1983); Levy *et al.*, *Science* 228(4696):190-192 (1985); During *et al.*, *Ann.Neurol.* 25(4): 351-356 (1989); Howard *et al.*, *J.Neurosurg.* 71(1):105-112(1989); 미국특허 5,128,326, 5,679,377, 5,863,985, 5,912,015, 5,916,597, 5,989,463, 5,994,492, 6,011,011, 6,020,004, 6,066,325, 6,180,608, 6,190,702, 6,214,966, 6,221,958, 6,221,977, 6,267,981, 6,362,276, 6,365,173, 6,375,985, 6,394,997, 및 6,399,103; 및 PCT 공개번호 WO99/20253 참조). 지속된 방출 제형에 사용된 폴리머의 예로서는 폴리(2-하이드록시 에틸 메타크릴레이트), 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(아크릴산), 폴리(에틸렌-co-비닐 아세테이트), 폴리(메타크릴산), 폴리글리콜라이드(PLG), 폴리안하이드라이드, 폴리(N-비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알코올), 폴리아크릴아마이드, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리락타이드(PLA), 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA), 및 폴리오르토에스테르를 포함하되 이에 한정되지는 않는다.

본 발명의 약학적 조성물은 투여의 의도된 경로와 양립가능하도록 제제화된다. 투여 경로의 예로서는 비경구(예를 들면, 정맥내, 피부내, 근육내, 피하), 경구, 코안, 흡입, 경피(국소), 점막, 및 직장 투여를 포함하되 이에 한정되지는 않는다. 특정 실시예에서, 조성물은 인간에게의 정맥내, 피하, 근육내, 경구, 코안 또는 국소 투여에 적당한 약학적 조성물로서 통상적인 절차에 따라 제제화된다. 바람직한 실시예에서 약학적 조성물은 인간에게의 피하 투여에 대한 통상적인 절차에 따라 제제화된다. 일반적으로, 정맥내 투여를 위한 조성물은 멸균 등장 수용성 완충 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 또한 가용화제 및 주사 부위의 통증을 완화하기 위한 국소 마취제를 포함할 수 있다.

만일 본 발명의 약학적 조성물이 국부적으로 투여된다면, 조성물은 연고, 크림, 경피 패치, 로션, 젤, 샴푸, 스프레이, 에어로졸, 용액, 에멀션, 또는 본 발명이 속하는 기술분야에서 당업자에게 잘 알려진 다른 형태의 형태로 제제화될 수 있다. 예를 들면, *Remington : The Science & Practice of Pharmacy, 20th edition*, Gennaro, ed., Lippincott (2000)을 참조한다. 비-스프레이성 국부 투여 형태를 위해서, 국부적 적용과 양립가능한 운반체 또는 하나 이상의 부형제를 포함하고 바람직하게는 물 보다 큰 동점도를 갖는 반고체 또는 고체정도의 점성을 갖는 형태가 일반적으로 사용된다. 적절한 제형은 용액, 혼탁액, 에멀션, 크림, 연고, 파우더, 도포제, 고약 등을 포함하되 이에 한정되지 않으며, 이것은 바람직하다면 멸균되거나 예를 들면 삼투압과 같은 다양한 성질에 영향을 주기 위하여 보조제(예를 들면, 보존제, 안정화제, 습윤제, 완충제 또는 염)와 혼합될 수 있다. 다른 적절한 국부적 투여 형태는 활성 성분, 바람직하게는 고체 또는 액체 불활성 운반체와 조합한 것이 고압 휘발물질(예를 들면, 프레온과 같은 가스 추진제)과의 혼합물 내 또는 압축병(squeeze bottle) 내에 포장된 스프레이성 에어로졸 제제를 포함한다. 보습제 또는 습윤제도 또한 약학적 조성물 및 바람직하다면 투여 형태에 첨가될 수 있다. 이러한 추가적인 성분들의 예는 본 발명이 속하는 기술분야에 잘 알려져 있다.

만일 본 발명의 약학적 조성물이 코안으로 투여되는 것이라면, 조성물은 에어로졸 형태, 스프레이, 미스트 또는 점적약제의 형태로 제제화될 수 있다. 특히, 본 발명에 따른 용도를 위한 약물은 적절한 추진제, 예를 들면 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적절한 가스를 사용하여 고압 팩 또는 네뷸리저(nebuliser)로부터의 에어로졸 스프레이 형태로 간편하게 운반될 수 있다. 고압 에어로졸의 경우, 투여 단위는 계량된 양을 전달하는 벨브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 예를 들면 흡입기 또는 취입기에 사용되는 젤라틴의 캡슐 및 약포는 화합물과 락토스 또는 전분과 같은 적절한 파우더 베이스의 파우더 혼합을 포함하여 제제화될 수 있다.

만일 본 발명의 약학적 조성물이 경구적으로 사용되는 것이라면, 약학적 조성물은 타블렛, 캡슐, 카셋, 젤캡, 용액, 혼탁액 등의 형태로 경구적으로 제제화될 수 있다. 타블렛 또는 캡슐은 결합제 (예를 들면, 전젤라킨화 메이즈 전분(pregelatinised maize starch), 폴리비닐피롤리돈 또는 하이드록시프로 메틸셀룰로오스); 충전물 (예를 들면, 락토스, 마이크로크리스탈린 셀룰로오 또는 칼슘 하이드로겐 포스페이트); 유행제(예를 들면, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 또는 실리카); 봉괴제(disintegrant) (예를 들면, 포테이토 스타치 또는 소디움 스타치 글리콜레이트); 또는 습윤제(wetting agent) (예를 들면, 소디움 라우릴 설페이트)와 같은 약학적으로 수용 가능한 부형제와 함께 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 타블렛은 본 발명이 속하는 기술분야에 잘 알려진 방법에 의해 코팅될 수 있다. 경구 투여를 위한 액상 제제는 예를 들면 용액, 시럽 또는 혼탁액의 형태를 취할 수 있거나, 그들은 사용 전에 물 또는 다른 적절한 매개제와 함께 구성하는 건조한 결과물로서 주어질 수 있다. 이러한 액상 제제는 혼탁제(suspending agent)(예를 들면, 솔비톨 시럽, 셀룰로오스 유도체 또는 수소화된 식용 지방); 유화제(emulsifying agent) (예를 들면, 레시틴(lecithin) 또는 아카시아); 비-수용성 매개제(non-aqueous vehicle) (예를 들면, 아몬드 오일, 오일성 에스테르, 에틸 알코올 또는 분류된 식물 오일); 및 보존제(preservatives)(예를 들면, 메틸 또는 프로필-p-하이드록시벤조에이트 또는 소르비 애시드)와 같은 약학적으로 수용 가능한 첨가제와 함께 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 제제는 또한 적절한 완충염, 향료, 색소 및 감미제를 포함할 수 있다. 경구 투여를 위한 제제는 예방 또는 치료제의 느린 방출, 조절된 방출 또는 지속된 방출을 위해 적절하게 제제화될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 주사에 의해, 예를 들면 일시주사 도는 연속주입에 의해 비경구적인 투여를 위해 제제화될 수 있다. 주사를 위한 제제화는 첨가된 보존제와 함께 단위 투여 형태로, 예를 들면 앰플 또는 다회용(multi-dose) 용기로 제공될 수 있다. 약학적 조성물은 오일성 또는 수성 매개제 내에 혼탁액, 용액, 또는 에멀션과 같은 형태를 취할 수 있고, 혼탁제, 안정화제 및 또는 분산제와 같은 제형제(formulatory agents)를 포함할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 사용 전에 적절한 매개제, 예를 들면 멸균된 발열원없는 물(sterile pyrogen-free water)과 함께 구성하는 파우더 형태일 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 또한 예를 들면 코코아 버터 도는 다른 글리세라이드와 같은 통상적인 죄약 베이스를 포함하는 죄약 또는 정체 관장과 같은 직장 조성물로 제제화될 수 있다.

앞서 기술된 제형에 추가하여, 본 발명의 조성물은 또한 저장 제제로서 제제화될 수 있다. 이러한 오래 작용하는 제형은 이식에 의해(예를 들면, 피하로 또는 근육내로) 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들면 약학적 조성물은 적절한 고분자성 또는 소수성 물질(예를 들면, as an emulsion in an acceptor oil), 또는 이온교환 수지와 함께 또는 드물게 녹는 유도체(sparingly soluble derivatives)로서, 예를 들면 드물게 녹는 염(sparingly soluble salt)로서 제제화될 수 있다.

일반적으로, 본 발명의 약학적 조성물의 성분들은 별개로 또는 단위 투여 형태로 함께 혼합되어 제공되는데, 예를 들면 활성 성분의 양을 표시하는 앰플 또는 사세트(sachette)와 같은 밀폐된 용기에 건조한 동결건조된 파우더 또는 물이 없는 농축액으로서이다. 약학적 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우, 멸균된 약학적 등급의 물 또는 염수를 포함하는 주입병을 가지고 투여될 수 있다. 약학적 조성물을 주사에 의해 투여하는 경우, 주사를 위한 멸균수 또는 염수의 앰플은 성분들이 투여 전에 혼합될 수 있도록 제공될 수 있다.

본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 및 유사물질에 대해서, 대상에 투여된 투여량은 일반적으로 약 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서 10 mg/kg, 보다 바람직하게는 대상의 몸무게의 약 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서 5 mg/kg, 가장 바람직하게는 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서 약 5 mg/kg이다. 투여는 지시한 의사의 결정에 따라 주주 내지 수개월의 기간 동안 약 6번 치료까지 투여될 수 있다. 일반적으로 인간 항체는 이종 폴리펩타이드에 대한 면역반응으로 인하여 다른 종으로부터의 항체보다 인간 신체 내에서 보다 긴 반감기를 갖는다. 따라서, 인간 항체의 보다 낮은 투여량과 빈도가 낮은 투여는 종종 가능하다. 또한, 본 발명의 항체 또는 이들의 절편의 투여량과 투여 빈도는 예를 들면 지질화와 같은 변형에 의해 항체의 섭취(uptake) 및 조직 투과(tissue penetration)를 진행함으로써 감소될 수 있다.

또한 조성물 내에 사용되는 정확한 투여량은 투여의 경로와 조건의 중대함에 의존할 것이고, 의사의 판단과 공개된 임상 연구의 관점에서 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 유효한 투여량은 인 비트로 또는 동물 모델 테스트 시스템으로부터 유래한 투여량-반응 곡선(dose-response curves)으로부터 외삽될 수 있다.

일 실시예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사물질의 양을 표시하는 앰플 또는 사세트(sachette)와 같은 밀폐된 용기에 포장된다. 또 다른 실시예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 밀폐된 용기 내 건조한 동결건조된 파우더 또는 물이 없는 농축액으로서 제공되고, 예를 들면 물 또는 염수로 대상에 투여하기 위한 적절한 농도로 재구성될 수 있다. 또 다른 실시예에서, 약학적 조성물은 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사물질의 양을 표시하는 밀폐된 용기 내에 액체 형태로 혼탁된다.

또 다른 실시예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 적어도 약 5 mg, 보다 바람직하게는 적어도 약 1 mg, 보다 바람직하게는 적어도 약 2 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 25 mg, 35 mg, 45 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, or 500 mg의 단위 투여량으로 밀폐된 용기 내에 공급된다. 액체 형태로 공급될 때, 약학적 조성물은 적어도 1 mg/ml의 농도로 그러한 밀폐 용기 내에 공급될 수 있다.

본 발명은 또한 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사물질을 약학적으로 수용 가능한 운반체와 혼합하는 것을 포함하여 본 발명의 약학적 조성물을 제조하는 방법을 제조한다.

5.6. 본 발명의 제조품(Articles of Manufacture)

또 다른 측면으로, 본 발명은 포장 물질(packaging material) 및 포장 물질 내에 포함된 본 발명의 약학 조성물을 함유하는 제조품을 제공하며, 상기 약학 조성물은 개체, 바람직하게는 인간에게 투여하기에 적당한 형태이거나, 또는 개체에게 투여하기 위해 희석 또는 재구성(reconstituted)될 수 있는 형태이다. 일 실시예에서, 제조품은 약학 조성물의 사용 또는 투여를 지시하는 인쇄된 설명서(instructions) 및/또는 레이블(label)을 더 포함한다. 설명서 및/또는 레이블은 예를 들어, CA-125/O772P-관련 장애, 예를 들어 세포 증식성 장애, 예를 들어 난소암, 자궁암, 유방암, 또는 폐암과 같은 암의 하나 또는 그 이상의 증상의 예방 또는 치료를 위한 투여 처방을 제시한다. 따라서, 설명서 및/또는 레이블은 CA-125/O772P-관련 장애 또는 이러한 장애의 하나 또는 그 이상의 증상, 예를 들어 난소암과 같은 암을 예로 들 수 있는 세포 증식성 장애를 적절히 예방, 처리, 치료 또는 경감하는 방법을 의사, 기술자(technician) 또는 개체(subject)에 충고하는 정보물을 제공할 수 있다.

어떠한 제약 제품에 있어, 포장 물질 및 본 발명 제조품의 용기(container)는 보관 및 이송 동안 제품의 안정성을 보호하도록 설계된다. 더 구체적으로, 본 발명은 예를 들어, 박스, 병, 튜브, 바이알, 컨테이너, 분무기(sprayer), 취입기(insufflator), 정맥주사용(i.v.) 백, 포장(envelope) 및 이와 유사한 것; 및 상기 포장 물질 내에 포함된 본 발명의 약학 조성물의 적어도 하나의 유닛(unit) 투여 형태를 포함하는 제조품(article of manufacture)을 제공한다.

5.7. 세포-관련(cell-associated) CA-125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체 및 항원-결합 항체 절편의 확인 방법

본 발명은 쉘드(shed) CA 125/O772P에 관련된 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 식별하는데 도움이 되는 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 식별하는 방법은 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 세포-관련 CA 125/O772P 또는 쉘드 CA 125/O772P를 포함하는 하기 웨타이드에 결합하는 것을 허락하는 조건 및 쉘드 CA 125/O772P의 존재 하에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 세포-관련 CA 125/O772P를 포함하는 웨타이드에 접촉시키는 것을 포함한다. 배양 후에, (결합한 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 있는 또는 없는) 쉘드 CA 125/O772P 및 미결합 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 제거되고, 세포-관련 CA 125/O772P를 포함하는 웨타이드에 결합한 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 양이 측정된다. 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 "우선적 결합(preference binding)"으로 전술한 3가지 실시예들 중 어떠한 하나를 만족시킨다면, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 쉘드 CA 125/O772P 폴리웨타이드 관련된 세포-관련 CA 125/O772P 폴리웨타이드에 우선적으로 결합하는 하나이다. 바람직한 실시예에서, 세포-관련 CA 125/O772P에 대한 쉘드 CA 125/O772P의 반응 혼합물 내 비율은 약 25:1 (중량/중량)이다. 본 방법의 일부로서, 세포-관련 CA 125/O772P는 고체 표면 위에 고정화(immobilized)될 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 ELISA 형식으로 수행될 수 있다.

다른 실시예에서, 본 발명은 항체, 또는 항원-결합 절편을 세포-관련 CA 125/O772P를 포함하는 웨타이드가 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 결합하는 것을 허락하는 조건 하에서 세포-관련 CA 125/O772P 및 쉘드 CA 125/O772P(예를 들어, 약 25-배(중량/중량) 과량)를 포함하는 웨타이드와 접촉시키는 것, 세포-관련 CA 125/O772P를 포함하는 비결합 웨타이드를 제거하는 것, 항체, 또는 항원-결합 절편에 의해 결합된 세포-관련 CA 125/O772P를 포함하는 웨타이드의 양을 측정하는 것, 및 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 그러한 양의 쉘드 CA 125/O772P가 없는 조건 하에서 결합할 수 있는 세포-관련 CA 125/O772P를 포함하는 웨타이드의 양과 상기 측정된 양을 비교하는 것을 포함하는 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체, 또는 항원-결합 항체 절편을 식별하는데 도움이 되는 방법을 제공한다. 만약 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 "우선적 결합(preference binding)"으로 전술한 3가지 실시예들 중 어떠한 하나를 만족시킨다면, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 쉘드 CA 125/O772P 폴리웨타이드 관련된 세포-관련 CA 125/O772P 폴리웨타이드에 우선적으로 결합하는 하나이다. 본 방법의 일부로서, 항체, 또는 항원-결합 항체 절편은 고체 표면 위에 고정화(immobilized)될 수 있고, 예를 들어, 상기 방법은 ELISA 형식으로 수행될 수 있다. 본 명세서에서 제공된 개시는 본 발명에 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 표준 기술과 함께 본 발명의 항체, 또는 항원-결합 항체 절편을 식별하는 그러한 방법을 수행하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 확인하는데 이용될 수 있는 분석으로 아래의 섹션 6 및 그 부속 섹션에서 설명된 ELISA 경쟁 분석(ELISA Competition Assay)가 있다.

또 다른 실시예에서, 본 발명은 항체, 또는 항원-결합 절편을 상기 CA 125/O772P가 항체 또는 항원-결합 항체에 결합하는 조건 하에서 CA 125/O772P를 발현하는 세포 및 일정량, 예를 들어 적어도 약 0.05 mg/ml의 쉘드 CA 125/O772P와 접촉시키는 것, 미결합 세포를 제거하는 것, 항체, 또는 항원-결합 절편에 의해 결합된 CA 125/O772P를 발현하는 세포의 양을 측정하는 것, 및 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 그러한 양의 쉘드 CA 125/O772P가 없는 조건 하에서 결합하는 CA 125/O772P를 발현하는 세포의 양과 상기 측정된 양을 비교하는 것을 포함하는 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체, 또는 항원-결합 항체 절편을 식별하는데 도움이 되는 방법을 제공한다. 본 방법의 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 "우선적 결합(preference binding)"으로 전술한 3가지 실시예들 중 어떠한 하나를 만족시킨다면, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 쉘드 CA 125/O772P 폴리웨타이드 관련된 세포-관련 CA 125/O772P 폴리웨타이드에 우선적으로 결합하는 하나이다. 그러한 방법은, 예를 들어 형광 활성화된 세포 분류(fluorescence activated cell sorting)를 포함하는 유동 세포분석 기술(flow cytometry technique)로 수행될 수 있다. 본 명세서에서 제공된 개시는 본 발명에 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 표준 기술과 함께 본 발명의 항체, 또는 항원-결합 항체 절편을 식별하는 그러한 방법을 수행하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 확인하는데 이용될 수 있는 분석으로 아래의 섹션 6 및 그 부속 섹션에서 설명된 유동 세포측정 경쟁 분석(Flow Cytometry Competition Assay)이 있다.

본 발명의 실시예들 중에 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 CA 125/O 772P에 특이적인 항체 및 항원-결합 항체 절편이 있다. CA 125/O 772P에 특이적인 항체는 일반적으로 예를 들어 아래의 섹션 6 및 그의 부속 섹션에서 설명되는 ELISA 특이 분석 및 유동 세포측정 특이 분석을 사용하여 확인될 수 있다. 그러한 것처럼, 본 발명은 또한 CA 125/O 772P에 특이적이고 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 및 항원-결합 항체 절편을 식별하는 방법을 제공한다. 그러한 일 실시예에서, 첫째로, CA 125/O 772P에 특이적인 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 예를 들어 ELISA 특이성 분석 및/또는 유동 세포측정 특이성 분석을 사용하여 확인된다. 그 후 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 예를 들어 본 명세서에서 설명된 방법들 중 하나를 사용하여 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 능력이 시험된다.

또한 본 발명의 실시예들 중에 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 섹션 6.4에 설명된 BIAcore 친화 분석(Affinity Assay)에 의해 측정될 때, 약 100 nM 보다 적은, 약 10 nM 보다 적은, 약 1 nM 보다 적은, 약 100 pM 보다 적은, 또는 약 10 pM 보다 적은 Kd를 보이며 도 1 (서열번호 1)의 웨타이드에 결합하는 항체 및 항원-결합 항체 절편이 있다. 그러한 항체는 일반적으로 예를 들어 아래의 섹션 6 및 그의 부속 섹션에 설명된 ELISA 친화 분석을 채택하여 확인될 수 있다. 그러한 것처럼, 본 발명은 또한 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 또한 적어도 일정 최소 레벨의 친화성을 가지고 세포-관련 CA 125/O 772P에 결합하는 항체 및 항원-관련 항체 절편을 식별하는 방법을 제공한다. 그러한 일 실시예에서, 첫째로, 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는지 여부는 예를 들어 본 명세서에서 설명된 방법들 중 하나로 확인된다. 그 후 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 예를 들어 본 명세서에서 설명된 기술들 중 하나를 사용하여 약 100 nM 보다 적은, 약 10 nM 보다 적은, 약 1 nM 보다 적은, 약 100 pM 보다 적은, 또는 약 10 pM 보다 적은 Kd를 보이며 세포-관련 CA 125/O 772P(또는 동일한 것을 포함하는 웨타이드)에 결합하는 능력이 시험된다.

본 발명의 실시예들은 또한 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 예를 들어 종양 세포와 같은 CA 125/O 772P-양성 세포들의 라이시스(lysis)를 중재하는 능력을 보이는 항체 및 항원-결합 항체 절편을 포함한다. 그러한 항체 및 항원-결합 항체 절편은 일반적으로 예를 들어 아래의 섹션 6 및 그의 부속 섹션에 설명된 ADCC 및/또는 CDC 분석을 수행하여 분석될 수 있다. 그러한 것처럼, 본 발명은 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 또한 CA 125/O 772P-양성 세포의 라이시스를 중재하는 능력을 보이는 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 확인하는 방법을 제공한다. 그러한 일 실시예에서, 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 예를 들어 본 명세서에서 제시된 방법들 중 하나를 사용하여 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는지 여부가 확인된다. 그 후 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 예를 들어 본 명세서에서 설명된 ADCC 및/또는 CDC 분석을 통하여 CA 125/O 772P-양성 세포의 라이시스를 중재하는 능력이 시험된다.

본 발명의 실시예들은 또한 우선적으로 CA 125/O 772P에 결합하고 CA 125/O 772P-양성 종양의 성장을 억제 또는 지연시키는 능력을 보이는 항체 및 항원-결합 항체 절편을 포함한다. 그러한 항체는 일반적으로 예를 들어 Treskes 등., Eur. J. Cancer. 30(2): 183-187 (1994); Ahmad 등., Oncol. Res. 11(6): 273-280 (1999); 및 Kievit 등., Int. J. Radiat. Onc. Biol. Phys. 38(2): 419-428 (1997)에 개시된 것들과 같은 전에 설명된 *in vivo* 분석을 수행하여 확인될 수 있으며, 상기 문헌 각각은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다. 그러한 것처럼, 본 발명은 또한 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 또한 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 성장을 억제하는 능력을 나타내는 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 식별하는 방법을 제공한다. 그러한 일 실시예에서, 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 예를 들어 본 명세서에서 제시된 방법들 중 하나를 사용하여 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는지 여부가 확인된다. 그 후 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 예를 들어 위의 인용문헌들에 설명된 *in vivo* 시스템들 중 하나와 같은 시스템 내에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 시험함으로써 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 성장을 억제하는 능력이 시험된다.

5.8. CA 125/O 772P-관련 장애의 증상을 예방, 치료, 처리, 또는 경감하는 방법

본 발명은 CA 125/O 772P-관련 장애를 예방, 치료, 또는 처리, 또는 CA 125/O 772P-관련 장애의 증상을 경감하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 개체에서 원하는 결과를 얻기에 효과적인 양의 항체, 항원-결합 항체 절편, 또는 유사체(analog)를 그러한 예방, 치료, 처리, 또는 경감이 필요한 개체에 투여함으로써 세포 증식성 장애의 증상을 예방, 치료, 처리, 또는 경감하는 방법을 제공한다.

충분히 설명된 바와 같이, 본 발명의 항체 및 항원-결합 항체 절편은 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것이다. 마찬가지로 본 발명의 융합 폴리웨타이드 및 유사체 또한 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합한다. 또한 본 명세서에서 개시된 것처럼, CA 125/O 772P 쇼딩(shedding) 전에 세포-관련 CA 125/O 772P는 CA 125/O 772P에 존재하거나 일부이기 때문에 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리웨타이드, 및 유사체 또한 CA 125/O 772P

에 결합할 수 있다. 따라서, 이의 어떤 특정한 기전(mechanism) 또는 이론에 얹매임 없이 이 섹션에서 설명된 방법들은 본 발명의 투여된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드, 또는 유사체가 쇠드-후(post-shed) 세포-관련 CA 125/O 772P에 결합하는 것에 더하여, 또는 쇠드-후 세포-관련 CA 125/O 772P에 결합하는 것 대신에 쇠드-전(pre-shed) CA 125/O 772P에 결합함으로써 효과를 발휘, 적어도 부분적으로 효과를 발휘할 것이다.

일 실시예에서, 본 발명의 방법들은 암의 증상의 예방, 치료, 처리, 또는 경감에 관한 것이다. 예를 들어, 본 발명의 이러한 방법들은 암 또는 암-관련 장애의 예방, 치료, 처리, 또는 경감에 관한 것이고, 상기 암은 암종(carcinoma), 육종(sarcoma), 골수종, 백혈병, 림프종 및 혼합 타입 암을 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 특정 실시예에서, 본 발명의 그러한 방법은 난소암, 자궁경부암(cervical cancer), 자궁암(uterine cancer), 유방암 또는 폐암, 또는 이들의 증상을 예방, 치료, 처리, 또는 경감하는 것에 관한 것이다. 본 발명의 그러한 방법들의 바람직한 실시예에서, 그러한 방법은 난소암의 증상의 예방, 치료, 처리, 또는 경감에 관한 것이다.

다른 실시예에서, 본 발명은 세포 증식성 장애를 치료하기에 충분한 또는 그들의 증상을 경감하기에 충분한 양의 본 발명의 항체, 항체의 항원-결합 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 그러한 치료 또는 경감이 필요한 개체에게 투여하는 것을 포함하는 CA 125/O 772P-관련 장애를 치료하거나 이들의 증상을 경감하는 방법을 제공한다. CA 125/O 772P-관련 장애는 예를 들어 암과 같은 세포 증식성 장애일 수 있고 예를 들어 난소암, 자궁경부암, 자궁암, 유방암 또는 폐암을 포함할 수 있다. 그러한 실시예는 바람직하게는 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체가 섹션 5.2.에 개시된 것과 같은 세포-증식 질환을 치료하는데 유용한 세포독성 성분에 결합하여 수행된다. 특정 실시예에서, 세포독성 성분은 방사성 동위원소이다. 더욱 특정한 실시예에서, 방사성 동위원소는 ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹¹¹In, ⁹⁹mTc 및 ⁹⁰Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 그러한 실시예는 예를 들어 개체에 파크리탁셀 또는 시스플라틴과 같은 화학요법제 성분을 투여하거나, 또는 방사선 치료에 의한 복합 암 치료의 일부로써 수행될 수 있다.

또 다른 실시예에서, 본 발명은 CA 125/O 772P-관련 장애, 또는 그것의 증상을 예방하기에 충분한 양의 본 발명의 항체, 항체의 항원-결합 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 그러한 예방이 필요한 개체에게 투여하는 것을 포함하는 CA 125/O 772P-관련 장애 또는 CA 125/O 772P-관련 장애의 증상을 예방하는 방법을 제공한다. CA 125/O 772P-관련 장애는 예를 들어 암과 같은 세포 증식성 장애일 수 있고 예를 들어 난소암, 자궁경부암, 자궁암, 유방암 또는 폐암을 포함할 수 있다.

추가적 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 예를 들어 Ewing의 육종(sarcoma), 골육종(osteosarcoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 또는 다른 연-조직(soft-tissue) 육종과 같은 골암(bone cancer)이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 뇌암이고, 예를 들어 희소돌기아교세포종(oligodendrogloma), 뇌실막세포종(ependymoma), 수막종(menengioma), 림프종, 신경집종(schwannoma), 또는 속질모세포종(medulloblastoma)이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 유방암이고, 예를 들어 유방 관상 피내암(ductal carcinoma *in situ* of the breast)이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 내분비계통 암이고, 예를 들어 부신, 췌장, 부갑상선, 뇌하수체(pituitary), 또는 갑상선 암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 위장관 암이고, 예를 들어 항문(anal), 직장결장(rectal), 식도, 쓸개, 위, 간, 췌장, 또는 소장 암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 부인과성 암(gynecological cancer)이고, 예를 들어 자궁경부, 자궁내막(endometrial), 자궁, 자궁관(fallopian tube), 임신영양모세포병(gestational trophoblastic disease), 융모막암종(choriocarcinoma), 난소, 질, 또는 음문(vulvar) 암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 머리 및 목 암이고, 예를 들어 후두(laryngeal), 입인두(oropharyngeal), 부갑상선 또는 갑상선 암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 백혈병 암이고, 예를 들어 급성 림프모구 백혈병(acute lymphocytic leukemia), 급성 골수 백혈병(acute myelogenous leukemia), 만성 림프구 백혈병(chronic lymphocytic leukemia), 만성 골수 백혈병(chronic myelogenous leukemia), 모발 세포 백혈병(hairy cell leukemia), 또는 골수증식성(myeloproliferative) 장애이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 폐암이고, 예를 들어 중피종(mesothelioma), 비-작은 세포 폐암(non-small cell lung cancer), 또는 작은 세포 폐암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 림프종이고, 예를 들어 AIDS-관련 림프종, 피부 T 세포 림프종(cutaneous T cell lymphoma), Hodgkin 질병, 또는 비-Hodgkin 질병이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 전이암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 골수종이고, 예를 들어 다발성 골수종이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 소아암이고, 예를 들어 뇌암, Ewing 육종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구 백혈병 또는 급성 골수 백혈병), 간암, 림프종(예를 들어, Hodgkin 림프종 또는 비-Hodgkin 림프종), 신경모세포종(neuroblastoma), 망막모세포종(retinoblastoma), 육종(예를 들어, 골육종, 횡문근육종 또는 다른 연-조직 육종), 또는 Wilms 종양이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 음경 암(penile cancer)이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 전립선 암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 피부암이고, 예를 들어 피부 T 세포 림프종, 균상식육종(mycosis fungoides), 카포시 육종, 또는 흑색종이다. 다른 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애는 고환 암이다. 다른 실시예에

서, CA 125/O772P-관련 장애는 갑상샘 암이고, 예를 들어 유두모양(papillary), 소낭(follicular), 속질(medullary), 역형성(anaplastic), 또는 미분화 갑상샘 암종이다. 다른 실시예에서, CA 125/O772P-관련 장애는 요로 암(urinary tract cancer)이고, 예를 들어 담낭, 신장, 또는 요도 암이다. 다른 실시예에서, CA 125/O772P-관련 장애 또는 암-관련 상태는 모세혈관화장성조화운동불능(ataxia-telangiectasia), 알려지지 않은 주요 기원의 암종, Li-Fraumeni 신드롬, 또는 가슴샘종(thymoma)이다.

본 발명의 그러한 방법들 중 하나의 실시예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 투여된다. 다른 실시예에서, 단일클론 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 투여된다. 전형적으로, 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 약 5 µg/개체 체중kg 내지 약 10 mg/개체 체중kg, 더 바람직하게는 약 20 µg/개체 체중kg 내지 약 5 mg/개체 체중kg, 및 가장 바람직하게는 약 100 µg/개체 체중kg 내지 약 5 mg/개체 체중kg의 투여 농도로 투여된다.

일반적으로, 본 명세서에서 설명된 방법들은 본 발명의 약학 조성물을 투여함으로써 이용될 수 있다. 본 발명의 일부로서 수행된 특정 프로토콜에 따라 투여된 조성물의 독성 및/또는 효율성은 세포 배양 또는 실험 동물에서의 표준 약학 절차, 예를 들어 LD₅₀ (일군의 50%가 치사하는 양) 및 ED₅₀ (일군의 50%에서 치료 효과를 발휘하는 양)을 결정함으로써 측정될 수 있다. 독성 및 치료 효과 사이의 투여 비율이 치료 계수(therapeutic index)이고 이것은 비율 LD₅₀/ED₅₀로서 표현될 수 있다. 높은 치료 계수를 나타내는 조성물이 바람직하다. 독성 부작용을 나타내는 조성물이 사용될 수도 있지만, 그러한 조성물을 영향받는 조직, 예를 들어 난소 조직의 부위로 타깃 하여 그것에 의하여 부작용을 줄이는 전달 시스템이 사용되는 것이 바람직하다.

세포 배양 분석 및 동물 연구로부터 얻어진 데이터는 인간에서의 사용을 위하여 조성물의 투여 범위를 설계하는데 사용될 수 있다. 그러한 조성물의 투여량은 바람직하게는 독성이 없거나 적은 상태로 ED₅₀을 포함하는 순환 농도를 초래할 수 있는 범위 내이다. 투여량은 사용된 투여 경로 및 적용된 투여 형태에 따라 이러한 범위 내에서 다양할 수 있다. 본 발명의 방법 내에 사용된 어떠한 성분에 대하여, 치료적으로 유효한 용량이 세포 배양 분석으로부터 처음으로 측정될 수 있다. 투여량은 세포 배양 분석, 예를 들어 증식 분석(proliferation assay)에서 결정된 것처럼 IC₅₀(즉, 하나 또는 그 이상의 증상의 반-최대 억제를 달성하는 화합물의 농도)를 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하기 위하여 동물 모델 내에서 설계될 수 있다. 그러한 정보는 인간 내에서 유용한 투여량을 더욱 정확히 결정하기 위하여 사용될 수 있다. 혈장 내 레벨은 예를 들어 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다.

다양한 전달 시스템이 알려져 있고, 예를 들어 리포솜으로의 캡슐화(encapsulation) (예를 들어, Langer, *Science* 249(4976): 1527-1533 (1990); Treat 등., in *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein 등., eds., Liss (1989) at pages 353-365 참조), 마이크로파티클, 마이크로캡슐, 또는 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 발현할 수 있는 재조합 세포와 같은 전달 시스템이 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 투여하기 위하여 사용될 수 있다.

본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체, 또는 이들을 포함하는 약학 조성물을 투여하는 방법은 투여의 비경구적(parenteral) (예를 들어, 피내(intradermal), 근육내(intramuscular), 복강내(intraperitoneal), 정맥내 및 피하(subcutaneous) 투여), 경막외적(epidural), 또는 점막적(mucosal) (예를 들어, 비강내(intranasal) 및 경구) 경로를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 미국특허 제5,679,377호, 제5,702,727호, 제5,783,193호, 제5,817,624호, 제6,074,689호, 제6,156,731호, 제6,174,529호, 제6,187,803호, 제6,331,175호, 및 제6,387,406호 참조. 특정 실시예에서, 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체, 또는 이들의 약학 조성물은 근육내, 정맥내, 또한 피하내로 투여된다. 조성물은 예를 들어 주입 또는 대량 주사(bolus injection)와 같은 어떤 편리한 경로에 의해서, 상피 또는 점막피부 내충(예를 들어, 경구 점막, 직장 및 장관 점막 등)을 통한 흡수에 의해서 투여될 수도 있고, 또한 다른 생물학적 활성 성분과 함께 투여될 수도 있다. 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다. 첨가적으로, 폐 투여 또한, 예를 들어 흡입기(inhaler) 또는 분무기(nebulizer)를 사용하고, 에어로졸화 성분(aerosolizing agent)과 제제화하여 적용될 수 있다. 예를 들어, 미국특허 제RE37,525호, 제5,290,540호, 제5,855,913호, 제5,874,064호, 제5,934,272호, 제5,985,309호, 제5,985,320호, 제6,019,968호, 제6,165,463호, 제6,358,530호, 및 제6,402,733호 및 PCT 공개 제WO99/66903호 참조, 상기 문현 각각은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다. 일 실시예에서, 항체, 융합 단백질, 접합(conjugated) 분자, 또는 약학 조성물은 Alkermes AIR™ 폐 약물 전달 기술(pulmonary drug delivery technology)(Alkermes, Inc., Cambridge, MA)을 사용하여 투여될 수 있다.

바람직한 일 실시예에서, 약학 조성물은 인간 개체에 정맥 투여되도록 적용되기 위하여 일반적 절차를 따라 제제화된다. 일반적으로, 정맥 투여용 약학 조성물은 멸균 등장 수 완충액(aqueous buffer) 형태의 용액이다. 필요하다면, 조성물은 또한 가용화제 및 주사 부위의 통증을 경감하기 위한 국소 마취제를 포함할 수 있다.

다른 특정 실시예에서, 치료가 필요한 부위에 국소적으로 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 것이 바람직하다. 이것은 국소 주입, 주사, 또는 이식의 수단에 의해 달성될 수 있고, 상기 이식물은 다공성, 비-다공성, 또는 젤라틴 모양의 (gelatinous) 물질이다.

또 다른 실시예에서, 상기 방법은 병용 치료의 일부, 예를 들어 병용 암 치료의 일부로써 수행된다. 그러한 병용 암 치료는 예를 들어, 시스플라틴, 이포스파미드(ifosfamide), 파크리탁센, 탁산(taxanes), 토포아이소머라제 I 억제제(예를 들어, CPT-11, 토포데칸, 9-AC, 또는 GG-211), 쟈시타빈(gemcitabine), 미토마이신, 에메틴, 에토프사이드(etoposide), 테노사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜키신(colchicin), 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온(anthracin dione), 미톡산트론(mitoxantrone), 미트라마이신(mithramycin), 비노렐빈(vinorelbine), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 5-플루오로우라실(5-FU), 루코보린(leucovorin), 비노렐빈(vinorelbine), 테모달(temodal), 또는 탁솔과 같은 화학요법제 성분의 투여를 포함할 수 있다. 그러한 병용 암 치료는 대안적으로 또는 부가적으로 방사선 치료를 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

용어 "병용 치료(combination therapy)" 또는 "병용 암 치료(combination cancer therapy)"의 사용이 CA 125/0772P-관련 장애를 가진 개체에 성분 또는 치료가 투여되는 순서를 제한하는 것은 아니다. 예를 들어, 병용 치료의 성분들은 동시에, 어떠한 순서로 순차적으로 또는 주기적으로 개체에 투여될 수 있다. 바람직한 실시예에서, 병용 치료의 두개 또는 그 이상의 성분들이 개체에 동시에 투여된다. 용어 "동시에(concurrently)"는 두개 또는 그 이상의 성분들이 정확히 동시에 투여되는 것을 의미하는 것이 아니라, 그것은 성분들이 개체에 순차적으로, 성분들이 그들이 이와 다르게 투여되는 것과 비교하여 증가한 이점을 제공하도록 함께 작용할 수 있는 시간 이내에 투여되는 것을 의미한다.

병용 치료의 일부로서 투여되는 성분들은 예를 들어 동일한 약학 조성물 내에서 개체에 투여될 수 있다. 대안적으로, 병용 치료의 성분들은 분리된 약학 조성물들로 동일한 또는 다른 투여 경로를 통하여 개체에 투여될 수 있다.

5.9. CA 125/0772P-관련 장애를 진단하는 방법

다른 측면으로, 본 발명은 또한 CA 125/0772P-관련 장애 또는 CA 125/0772P-관련 장애 소인(predisposition)을 진단하는 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 표지된 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 및 유사체는 암과 같은 CA 125/0772P-관련 장애를 검출, 진단, 또는 탐색하기 위한 진단 목적으로 사용될 수 있다.

예를 들어, 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 및 유사체는 본 발명이 속한 분야에 잘 알려지거나(예를 들어, Jalkanen 등, *J. Cell. Biol.* 101(3): 976-984 (1985); Jalkanen 등, *J. Cell. Biol.* 105(6 Pt 2): 3087-3096 (1987) 참조). 또는 본 명세서에서 설명된 것처럼 통상의 면역조직학적(immunohistological) 방법을 사용하여 생물학적 샘플 내의 세포-관련 CA 125/0772P 레벨을 측정하기 위하여 사용될 수 있다. 단백질 유전자 발현을 검출하는데 유용한 다른 항체-기초 방법들은 효소 링크된 면역흡착 분석 (ELISA) 및 방사선면역측정법 (RIA)과 같은 면역분석을 포함한다. 적당한 항체 분석 표지(label)는 본 발명이 속한 분야에 알려져 있으며, 예를 들어 알칼린 포스파타제, 글루코스 옥시다제와 같은 효소 표지; 요오드(¹²⁵I, ¹³¹I), 탄소(¹⁴C), 황(³⁵S), 트리튬(³H), ○이인듐(¹¹¹In), 및 테크네튬(technetium, ^{99m}Tc)과 같은 방사성 동위원소들; 루미놀(luminol)과 같은 발광 표지(luminescent label); 및 플루오레세인(fluorescein) 및 및 로다민과 같은 형광 표지를 포함한다.

본 발명의 다른 측면은 인간에 있어 암, 특히 난소암의 소질을 검출하고 진단하는 것이다. 일 실시예에서, 진단은 a) 세포-관련 CA 125/0772P에 우선적으로 결합하는 진단에 효과적인 양의 표지된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 개체에 투여(예를 들어, 비경구적으로, 피하로, 또는 복강내로)하는 것, 및 b) 상기 진단을 위하여 개체 내에서 표지된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 검출하는 것을 포함한다. 이러한 실시예에 따라, 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체는 바람직하게는 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 이미징 시스템을 사용하여 검출가능한 이미징 부문(imaging moiety)을 가지고 표지 된다. 배경 레벨은 특정 시스템을 위하여 미리 결정된 표준 값과 검출된 표지된 분자의 양을 비교하는 것을 포함하는 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다.

표지된 분자의 존재는 *in vivo* 스캐닝에 있어 본 발명이 속한 분야에 알려진 방법을 사용하여 개체에서 검출될 수 있다. 이러한 방법은 사용된 표지(label)의 종류에 달려 있다. 능숙한 당업자는 특정 표지를 검출하기 위한 적절한 방법을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명의 진단 방법에 사용될 수 있는 방법들은 컴퓨터 단층촬영술(CT), 양전자 방사 단층촬영술(positron emission tomography, PET), 자기 공명 이미징(magnetic resonance imaging, MRI), 및 초음파촬영술(sonography)과 같은 신체 전체 스캔을 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다.

특정 실시예에서, 분자는 방사성 동위원소로 표지되고 방사선 반응 외과 기구(radiation responsive surgical instrument)를 사용하여 개체 내에서 검출된다(예를 들어, 미국특허 제5,441,050호 참조). 다른 실시예에서, 분자는 형광 물질로 표지되고, 형광 반응 스캔 기구를 사용하여 개체 내에서 검출된다. 다른 실시예에서, 분자는 양전자 방출 금속으로 표지되고 PET를 사용하여 개체 내에서 검출된다. 또 다른 실시예에서, 분자는 상자성(paramagnetic) 표지로 표지되고 MRI를 사용하여 개체 내에서 검출된다.

사용된 이미징 시스템의 종류뿐만 아니라 개체의 크기 및 중량도 유용한 진단 이미지를 생성하기 위해 필요한 이미징 부분(imaging moiety)의 종류와 양을 결정한다는 것이 이해될 것이다. ^{99m}Tc -함유 방사성 동위원소 부분의 경우에 있어, 인간 개체에 대하여 주사된 방사활성의 양은 일반적으로 약 5 내지 20 밀리퀴리(millicurie)일 것이다. 표지된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체는 그 후 세포-관련 CA 125/O 772P 폴리펩타이드를 제시하는 세포의 부위에 우선적으로 축적될 것이다. *In vivo* 종양 이미징이 Burchiel 등., "Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments", in *Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer*, Burchiel 등, eds., Masson Publishing Inc. (1982) 13 장(chapter)에 개시되어 있다.

사용된 표지의 종류 및 투여 형식을 포함하는 여러 변수에 따라서, 표지된 분자가 우선적으로 개체 내 부위에 응집하도록 하고 결합하지 않은 표지된 분자가 제거되어 기초 레벨에 도달하도록 하는 투여 후 시간 간격은 약 6 내지 48 시간 또는 약 6 내지 24 시간 또는 약 6 내지 12 시간일 수 있다. 다른 실시예에서, 투여 후 시간 간격은 약 5 내지 20일 또는 약 5 내지 10일이다.

일 실시예에서, CA 125/O 772P-관련 장애, 예를 들어 암의 모니터링은 몇몇 시점, 예를 들어 초기 진단 후 1개월, 초기 진단 후 6개월, 및/또는 초기 진단 후 1년 등의 시점에서 이미징 방법을 반복함으로써 수행될 수 있다.

하기 진단 또는 모니터링이 필요한 개체에 검출하기에 충분한 우선적으로 세포-관련 CA 125/O 772P에 결합하는 표지된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 투여하는 것 및 개체의 조직 또는 장기에 결합한 표지된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 검출하는 것을 포함하는 암을 진단 또는 모니터링하는 방법은 본 발명에 포함된다. 게다가, 본 발명은 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 표지된 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 접촉시키는 것 및 샘플에 결합한 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 검출하는 것을 포함하는 생물학적 샘플 내에서 세포-관련 CA 125/O 772P를 검출하는 방법을 제공한다.

이러한 실시예들에서, 세포-관련 CA 125/O 772P에 결합한 표지된 분자의 양은 그 후 표준 양 또는 대조군, 또는 초기 시점에서 개체 내에서 미리 검출된 양과 비교될 수 있다.

5.10. 항체를 제조하는 방법

본 발명의 항체는 항체의 합성에 관하여 본 발명이 속한 분야에서 알려진 방법, 예를 들어, 하이브리도마 기술, 화학적 합성 또는 바람직하게는 재조합 발현 기술에 의하여 제조될 수 있다.

다클론 항체(Polyclonal antibody)는 본 발명이 속한 분야에서 잘 알려진 다양한 절차에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 세포-관련 CA 125/O 772P 폴리펩타이드를 포함하는 인간 CA 125/O 772P는 인간 항원에 특이적인 다클론 항체를 함유하는 혈청의 생성을 유도하기 위하여 토끼, 생쥐, 쥐 및 말을 포함하는, 하지만 이에 한정되지 않는, 다양한 숙주 동물에 투여될 수 있다. 다양한 애주번트가 숙주 종에 따라서 면역반응을 증가시키기 위해 사용될 수도 있으며, 애주번트는 Freund 애주번트(complete 또는 incomplete), 알루미늄 히드록사이드와 같은 미네랄 젤, 라이소레시틴(lyssolecithin)과 같은 표면 활성 물질, 플루로닉 폴리올(pluronic polyol), 다가음이온(polyanion), 웨타이드, 오일 에멀션, 키홀 립페트 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin), 디니트로페놀, 및 BCG (bacille Calmette-Guerin) 및 *Corynebacterium parvum*과 같은 잠재적으로 유용한 인간 애주번트를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 그러한 애주번트는 본 발명이 속한 분야에서 잘 알려져 있다.

단일클론 항체는 하이브리도마, 재조합, 및 파지 디스플레이 기술, 또는 이들의 조합의 사용을 포함하는 본 발명이 속한 분야에 알려진 매우 다양한 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 단일클론 항체는 Harlow 등, *Antibodies: A Laboratory Manual, 2nd ed.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); 또는 Hammering 등, *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas*, Elsevier (1981) 563-681쪽에 개시된 것 및 본 발명이 속한 분야에 알려진 것을 포함하는 하이브리도마를 사용하여 제조될 수 있다. 상기 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

하이브리도마 기술을 상용하여 특정 항체를 제조하고 스크리닝하는 방법은 일반적으로 본 발명이 속한 분야에 잘 알려져 있다. 간단히, 일 실시예에서, 생쥐는 CA 125/O 772P 폴리펩타이드, 예를 들어 세포-관련 CA 125/O 772P 폴리펩타이드로 면역될 수 있고 일단 면역 반응이 검출되면, 예를 들어 항원에 특이적인 항체가 생쥐 혈청에서 검출되면 생쥐 비장이 얻어지고 비장세포(splenocyte)가 분리된다. 비장세포는 그 후 잘 알려진 기술로 어떠한 적당한 골수종 세포, 예를 들어 ATCC(액세션 번호 CRL-1581)에서 이용가능한 세포계 SP2/0-Agl4의 세포에 융합된다. 하이브리도마는 희석을 제한함으로써 선택되고 클론화된다. 하이브리도마 클론은 그 후 세포-관련 CA 125/O 772P에 결합할 수 있는 항체를 분비하는 세포에 대하여 본 발명이 속한 분야에서 잘 알려진 방법에 의해 분석된다. 일반적으로 높은 레벨의 항체를 함유하는 복수 액이 생쥐에 양성 하이브리도마 클론을 주사함으로써 생성될 수 있다.

따라서, 본 발명은 바람직하게는 하이브리도마가 CA 125/O 772P 폴리펩타이드, 예를 들어 세포-관련 CA 125/O 772P 폴리펩타이드로 면역된 생쥐로부터 분리된 비장세포를 골수종 세포와 융합시키고 그 후 CA 125/O 772P 폴리펩타이드, 예를 들어 세포-관련 CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 결합할 수 있는 항체를 분비하는 하이브리도마 클론의 융합으로부터 생성된 하이브리도마를 스크리닝함으로써 생성된, 본 발명의 항체를 분비하는 하이브리도마 세포를 배양하는 것을 포함하는 그러한 방법에 의해 생성된 항체뿐만 아니라 단일클론 항체를 생성하는 방법을 제공한다.

특이 에피토프를 인식하는 항체 절편은 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 어떠한 기술을 사용하여 제조될 수도 있다. 예를 들어, 본 발명의 Fab 및 $F(ab')_2$ 절편은 파파인 (Fab 절편을 생성) 또는 펩신 ($F(ab')_2$ 절편을 생성)과 같은 효소를 사용하여 면역글로불린 분자의 단백분해 절단에 의해 생성될 수 있다. $F(ab')_2$ 절편은 가변부 (variable region), 경쇄 컨스탄트 영역(light chain constant region) 및 중쇄의 CH1 도메인을 포함한다. 게다가, 본 발명의 항체는 또한 본 발명이 속한 분야에 알려진 다양한 파지 디스플레이 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

파지 디스플레이(phage display) 방법에서, 기능 항체 도메인은 그들을 코팅하는 폴리뉴클레오티드 서열을 운반하는 파지 입자의 표면 위로 디스플레이된다. CA 125/O 772P 폴리펩타이드 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현하는 파지는 선택되거나 항원, 예를 들어 표지된 항원 또는 고체 표면 또는 비드에 결합 또는 포착된 항원을 사용하여 식별될 수 있다. 채택되어 본 발명의 항체를 만들거나 식별하는데 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예는 Brinkmann 등, *J. Immunol. Methods*. 182(1): 41-50 (1995); Ames 등., *J. Immunol. Methods*. 184(2): 177-186 (1995); Kettleborough 등, *Eur. J. Immunol.* 24(4): 952-958 (1994); Persic 등, *Gene*. 187(1): 9-18 (1997); Burton 등, *Adv. Immunol.* 57: 191-280 (1994); PCT 공개 WO 91/10737 및 WO 95/15982; EP 853,661; 미국특허 제5,223,409호, 제5,403,484호, 제5,427,908호, 제5,516,637호, 제5,571,698호, 제5,580,717호, 제5,685,727호, 제5,667,988호, 제5,698,426호, 제5,712,089호, 제5,733,743호, 제5,780,225호, 제5,789,208호, 제5,821,047호, 제5,885,793호, 제5,969,108호, 제6,096,551호, 제6,140,470호, 제6,376,170호, 제6,265,150호 및 제6,335,163호에 개시된 것을 포함한다. 상기 문헌인 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

상기 문헌에 설명된 것처럼, 파지 선택 후에, 파지로부터의 영역을 코딩하는 항체는 분리되고 인간 항체를 포함하는 전체 항체, 또는 바람직한 항원 결합 절편을 생성하도록 사용될 수 있으며, 아래에서 설명되는 포유류 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 효모, 및 박테리아를 포함하는 숙주 내에서 발현될 수 있다. 재조합적으로 Fab, Fab' 및 $F(ab')_2$ 절편을 생성하는 기술 또한 미국특허 제5,595,898호, 제5,698,417호, 및 제6,204,023호; Mullinax 등, *Bio Techniques*. 12(6):864-869 (1992); Sawai 등, *Am. J. Reprod. Immunol.* 34(1):26-34 (1995); 및 Better 등, *Science*. 240(4855): 1041-1043 (1988)에 개시된 것과 같은 본 발명이 속한 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 적용될 수 있다. 상기 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

전체 항체를 생성하기 위하여, VH 또는 VL 뉴클레오티드 서열, 제한 부위, 및 제한 부위를 보호하기 위한 플랭킹 서열 (flanking sequence)를 포함하는 PCR 프라이머가 scF_v 클론 내 VH 또는 VL 서열을 증폭하기 위하여 사용될 수 있다. 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 클로닝 기술을 사용하여, PCR 증폭된 VH 도메인은 VH 컨스탄트 영역(constant region)를 발현하는 벡터 내로 클론될 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인은 예를 들어, 인간 카파

(kappa) 또는 람다(lambda) 컨스탄트 영역과 같은 VL 컨스탄트 영역을 발현하는 벡터 내로 클론될 수 있다. 바람직하게는, VH 또는 VL 도메인을 발현하기 위한 벡터는 EF-1 α 프로모터, 분비 시그널, 가변 도메인을 위한 클로닝 부위, 불변 도메인(constant domain), 및 네오마이신과 같은 분비 마커를 포함한다. VH 및 VL 도메인은 또한 필요한 컨스탄트 영역(constant region)를 발현하는 하나의 벡터 내로 클론될 수 있다. 중쇄(heavy chain) 발현 벡터 및 경쇄 발현 벡터는 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 기술을 사용하여 그 후 총-길이 항체, 예를 들어 IgG를 발현하는 안정한 또는 일시적 세포계를 생성하기 위하여 세포계 내로 트랜스펙션된다.

몇몇 이유로, 특히 인간 내 항체의 *in vivo* 사용 및 *in vivo* 검출 분석에 있어, 키메라, 인간화된(humanized), 또는 완전한 인간 항체를 사용하는 것이 바람직하다. 키메라 항체는 항체의 다른 부분이 다른 종으로부터의 면역글로불린 분자로부터 유래된 분자이다. 예를 들어, 비한정적으로, 키메라 항체는 생쥐 항체로부터 유래된 경쇄 및/또는 중쇄 가변부 및 인간 면역글로불린으로부터 유래된 경쇄 및/또는 중쇄 컨스탄트 영역을 가질 수 있다. 키메라 항체를 생성하는 방법은 본 발명이 속한 분야에 알려져 있다. 예를 들어, Morrison, *Science*. 229(4719): 1202-1207 (1985); Oi 등, *Bio Techniques*. 4(3):214-221(1986); Gillies 등, *J. Immunol. Methods*. 125(1-2):191-202 (1989); 및 미국특허 제4,816,397호, 제4,816,567호, 및 제5,807,715호 참조. 상기 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

인간화된 항체는 인간 컨스탄트 영역, 및 하나 또는 그 이상의 인간이 아닌 종, 예를 들어, 생쥐 종으로부터의 CDR을 포함하는 인간 구조(framework)를 포함하는 항체이다. 그러한 인간화된 항체는 일반적으로 예를 들어 CDR-이식(grafting) (EP 239,400; PCT 공개번호 WO 91/09967; 및 미국특허 제5,225,539호, 제5,530,101호, 제5,585,089호, 제5,766,886호, 제5,859,205호, 제6,180,370호, 및 제6,407,213호), 베니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing) (미국특허 제5,639,641호; EP 519,596; Padlan, *Mol. Immunol.* 28(4/5): 489-498(1991); Studnicka 등, *Protein Eng.* 7(6):805-814 (1994); 및 Roguska 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 91(3): 969-973 (1994)), 및 체인 셔플링(chain shuffling) (미국특허 제5,565,332호 및 제6,455,253호)를 포함하는 본 발명이 속한 분야에 알려진 다양한 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 바람직한 실시예에서, 인간화된 항체는 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5 또는 표 6에 기재된 CDR들 중 어느 하나의 아미노산 서열 및 인간 구조 부위(human framework region)를 포함한다. 종종 구조 부위 내의 구조 잔여부(residue)는 항체 결합을 변경하거나, 바람직하게는 개선하기 위하여 CDR 제공 항체로부터의 대응하는 잔여부로 치환될 수 있다. 이러한 구조 치환은 예를 들어, 항체 결합에 중요한 구조 잔여부를 확인하기 위하여 CDR과 구조의 상호작용을 모델링함 및 특정 위치의 일반적이지 않은 구조 잔여부를 확인하기 위하여 서열 비교함과 같은 본 발명이 속한 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 식별된다. 예를 들어, 미국특허 제5,585,089호, 제5,770,196호, 및 제5,869,619호; 및 Riechmann 등, *Nature*. 332(6162):323-327 (1988) 참조. 상기 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

완전한 또는 충분한 인간 항체는 인간 개체의 치료상 처리를 위해 바람직하다. 인간 항체는 인간 면역글로불린 서열로부터 유래한 항체 라이브러리를 사용하여 위에서 설명된 파지 디스플레이 방법을 포함하는 본 발명이 속한 분야에 알려진 다양한 방법으로 제조될 수 있다. 또한 미국특허 제4,444,887호, 제4,716,111호, 제5,916,771호, 제5,939,598호, 제6,075,181호, 제6,114,598호, 제6,150,584호, 제6,162,963호, 제6,235,883호; PCT 공개 WO98/46645; 및 EP 463,151 참조. 상기 각각의 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

인간 항체는 또한 기능하는 내부 면역글로불린을 발현할 수 없고 인간 면역글로불린 유전자를 발현하는 트랜스제닉 생쥐를 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 인간 중쇄(heavy chain) 및 경쇄 면역글로불린 유전자 복합체가 무질서하게 또는 상동 재조합(homologous recombination)으로 생쥐 배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 대안적으로, 인간 가변부(variable region), 컨스탄트 영역(constant region), 및 다양부(diversity region)가 인간 중쇄 및 경쇄 유전자에 더하여 생쥐 배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 생쥐 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자는 분리되어 또는 동시에 상동 재조합에 의하여 인간 면역글로불린 유전자자리의 도입으로 비-기능적으로 만들어질 수 있다. 특히 JH 영역의 동종접합(homozygous) 결실은 내부 항체 생성을 억제한다. 조절된 배아 줄기 세포는 중식되고 키메라 생쥐를 생성하기 위하여 배반포(blastocyst) 내로 미세주사(microinjection)된다. 키메라 생쥐는 그 후 인간 항체를 발현하는 동종접합 후손을 생성하기 위하여 사육된다. 트랜스제닉 생쥐는 선택된 항원, 예를 들어 세포-관련 CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 같은 CA 125/O 772P 폴리펩타이드의 전부 또는 일부로 통상적인 형태로 면역화된다. 항체에 대항하도록 유도된 단일클론 항체는 통상적인 하이브리도마 기술을 사용하여 면역화된, 트랜스제닉 생쥐로부터 얻어질 수 있다. 트랜스제닉 생쥐에 의해 잠복된(harbored) 인간 면역글로불린 전이유전자(transgene)는 B 세포 분화 동안 재배열하고, 연속적으로 클래스 스위칭 및 체세포 돌연변이를 일으킨다. 따라서, 그러한 기술을 사용하여, 치료학적으로 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체를 생성하는 것이 가능하다. 인간 항체를 생성하기 위한 이러한 기술의 검토를 위해, Lonberg 등, *Int. Rev. Immunol.* 13(1): 65-93 (1995) 참조하기 바람. 인간 항체 및 인간 단일클론 항체를 생성하는 이러한 기술 및 그러한 항체를 생성하기 위한 프로토콜의 구체적 설명을 위해, 예를 들어 미국특허 제5,413,923호, 제5,625,126호, 제5,633,425호, 제5,569,825호, 제5,661,016호, 제5,545,806호, 제5,814,318호, 제5,939,598호, 제6,075,181호, 제6,091,001호, 제6,114,598호, 제

6,150,584호, 및 제6,162,963호 참조. 상기 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다. 부가적으로, Abgenix, Inc. (Fremont, CA) 및 Genpharm (San Jose, CA)와 같은 회사들이 위에서 설명된 것과 유사한 기술을 사용하여 선택된 항원에 대항하는 인간 항체를 제공하고 있다.

선택된 에피토프를 인식하는 완전한 인간 항체는 "가이드된 선택(guided selection)"으로 언급되는 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 접근에 있어, 선택된 비-인간 단일클론 항체, 예를 들어 생쥐 항체는 동일한 에피토프를 인식하는 완전한 인간 항체의 선택을 가이드하기 위하여 사용된다. 예를 들어, Jespers 등, Bio/Technology. 12(4):899-903 (1994) 참조.

게다가, 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 번갈아 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 기술을 사용하여 항원을 "흉내(mimic)"내는 항-이디오타입(idiotype) 항체 및 그것으로부터 제조될 수 있는 항원에 결합하는 항-항-이디오타입(anti-anti-idiotype) 항체를 생성하기 위하여 사용될 수 있다. 예를 들어, Greenspan 등, FASEB J. 7(5):437-444 (1993); 및 Nisonoff, J. Immunol. 147(8):2429-2438 (1991) 참조.

5.11. 항체 및 폴리펩타이드의 재조합 발현

세포-관련 CA 125/O 0772P에 우선적으로 결합하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체의 재조합 발현은 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터로 사용하여 수행될 수 있다. 일단 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 얻어지면, 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체의 생성을 위한 벡터는 본 발명이 속한 분야에서 잘 알려진 기술을 사용하여 재조합 DNA 기술로 생성될 수 있다. 예를 들어, 미국특허 제4,816,567호, 제5,545,405호, 및 제6,331,415호 참조. 상기 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 방법이 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 단백질 또는 유사체 서열 및 적절한 전사 및 번역 조절 시그널을 포함하는 발현 벡터를 건조하기 위하여 사용될 수 있다. 이러한 방법은 예를 들어 *in vitro* 재조합 DNA 기술, 합성 기술, 및 *in vivo* 유전학적 재조합을 포함한다. 본 발명은 그러므로 기능적으로 프로모터와 링크된 본 발명의 항체, 본 발명의 항원-결합 항체 절편, 본 발명의 융합 폴리펩타이드 또는 유사체, 항체의 중쇄 또는 경쇄, 항체 또는 그 부분의 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인, 또는 중쇄 또는 경쇄 CDR을 코팅하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 복제 가능한 벡터를 제공한다. 그러한 벡터는 또한 항체 분자 컨스탄트 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있고(예를 들어, EP 216,846, EP 323,997, 및 미국특허 제5,122,464호 참조), 및 항체의 가변 도메인은 전체 중쇄, 전체 경쇄, 또는 양쪽 전체 중쇄 및 경쇄 모두의 발현을 위한 그러한 벡터 내로 클론될 수 있다.

발현 벡터는 통상적 기술에 의하여 숙주 세포 내로 이동되고, 형질전환된(transformed) 또는 트랜스펙션된 세포는 그 후 통상적인 기술을 사용하여 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체의 생성을 유도 또는 허락하는 조건 하에서 배양된다. 따라서, 본 발명은 폴리뉴클레오티드 분자가 기능적으로 이종 유래 프로모터에 링크된 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체 또는 그들의 절편, 또는 그들의 중쇄 또는 경쇄, 또는 그들의 부분, 또는 본 발명의 단일 체인 항체를 포함하는 숙주 세포를 포함한다. 이중-체인 항체의 발현을 위한 바람직한 실시예에서, 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 벡터는 아래에서 설명되는 것처럼 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위한 숙주 세포 내에서 공동-발현될 수 있다.

다양한 숙주-발현 벡터 시스템이 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 발현하기 위하여 사용될 수 있다(예를 들어, 미국특허 제5,807,715호 참조). 그러한 숙주-발현 시스템은 흥미있는 코딩 서열을 생성하고 연속적으로 정제할 수 있는 비히클을 제공하지만, 또한 적절한 뉴클레오티드 코딩 서열로 형질전환 또는 트랜스펙션될 때 *in situ*적으로 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 발현할 수 있는 세포를 제공한다. 이러한 것은 서열을 코딩하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 포함하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 박테리아(예를 들어, *E. coli* 또는 *B. subtilis*); 서열을 코딩하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 포함하는 재조합 효모 벡터로 형질전환된 효모(예를 들어, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, 또는 *Pichia maetlanolica*); 서열을 코딩하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 포함하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, baculovirus)로 트랜스펙션된 곤충 세포 시스템; 서열을 코딩하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 포함하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 카울리플라워 모자이크 바이러스(cauliflower mosaic virus), CaMV; 담배 모자이크 바이러스, 또는 TMV)로 트랜스펙션된 또는 재조합 플라스미드 벡터(예를 들어, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유류 세포의 유전체(예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터(metallothionein promoter)) 또는 포유류 바이러스(예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터 또는 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)로부터 유래된 프로모터를 포함하는 재조합

발현 구조물을 포함하는 포유류 세포 시스템(예를 들어, COS, CHO, BHK, 293, NSO, 또는 3T3 세포)를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위해서 바람직하게는, *Escherichia coli*와 같은 박테리아 세포, 및 더욱 바람직하게는 진핵 세포가 재조합 항체 분자의 발현을 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간 거대세포바이러스로부터의 주 중간체 초기 유전자 프로모터 엘리먼트(major intermediate early gene promoter element)와 같은 벡터와 관련하여 Chinese hamster ovary (CHO) 세포와 같은 포유류 세포가 항체를 위한 효과적인 발현 시스템이다 (Foecking 등, *Gene*. 45(1):101-105 (1986) 및 Cockett 등, *Bio/Technology*. 8(7):662-667 (1990) 참조). 특정 실시예에서, 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 발현은 구조적(constitutive) 프로모터, 유도성 프로모터, 세포 타입 또는 조직 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

박테리아 시스템에서, 발현되는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체에 대하여 의도된 용도에 따라 많은 발현 벡터가 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 많은 양의 그러한 단백질이 생성되어야 할 때, 예를 들어 항체 분자의 약학 조성물의 생성을 위하여, 쉽게 경제되는 단백질 산물의 높은 레벨의 발현을 가능하게 하는 벡터가 바람직하다. 그러한 벡터는 *E. coli* 발현 벡터 pUR278 (Ruther 등., *EMBO J.* 2(10):1791-1794 (1983)), 여기에서 항체 코딩 서열은 벡터의 lacZ 영역을 가진 구조 내에 개별적으로 연결되어 융합 단백질이 생성된다; pIN 벡터들 (Inouye 등, *Nucleic Acids Res.* 13(9):3101-3110 (1985); Van Heeke 등, *J. Biol. Chem.* 264(10):5503-5509 (1989)); 및 이와 유사한 것을 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. pGEX 벡터는 또한 글루타티온 5-트랜스페라제(glutathione 5-transferase, GST)를 가진 융합 단백질로서 외래의 폴리펩타이드를 발현하기 위해 사용될 수 있다 (Hakes 등, *Anal. Biochem.* 202(2): 293-298 (1992)). 일반적으로, 그러한 융합 단백질은 가용성이고 매트릭스 글루타티온 아가로스 비드에 흡착 및 결합하고 유리 글루타티온의 존재 하에서 용출함으로써 용해된 세포로부터 쉽게 정제될 수 있다. pGEX 벡터는 클론된 타깃 유전자 산물이 GST 부분으로부터 방출될 수 있도록 트롬빈 또는 factor Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 설계된다.

곤충 시스템에서, *Autographa californica* nuclear polyhedrosis 바이러스(AcNPV)가 외래 유전자를 발현하는 벡터로 사용된다. 상기 바이러스는 *Spodoptera frugiperda* 세포 내에서 성장한다. 항체 코딩 서열은 개별적으로 바이러스의 비-필수 영역(non-essential regions)(예를 들어, 폴리헤드린 유전자)으로 클론되고 AcNPV 프로모터의 조절하에 위치된다 (예를 들어, 폴리헤드린 프로모터). 예를 들어, Kumar 등, *Biosci. Rep.* 19(3): 227-234 (1999).

포유류 숙주 세포 내에서, 많은 바이러스-기초 발현 시스템이 사용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로 사용되는 경우에 있어, 서열을 코딩하는 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체는 아데노바이러스 전사/번역 조절 복합체, 예를 들어 후기 프로모터 및 트리파르다이트(tripartite) 리더 서열에 연결될 수 있다. 이러한 키메라 유전자는 그 후 *in vitro* 또는 *in vivo* 재조합에 의해 아데노바이러스 유전체에 삽입될 수 있다. 바이러스 유전체의 비-필수 영역 내 (예를 들어, E1 또는 E3 영역) 삽입은 생존할 수 있고 항체 분자 감염 숙주를 발현할 수 있는 재조합 바이러스를 만들어낸다 (예를 들어, Logan 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 81(12): 3655-3659 (1984) 참조). 특히 개시 시그널 또한 삽입된 코딩 서열의 효율적 번역을 위해 필요할 수 있다. 이러한 시그널은 ATG 개시 코돈 및 인접한 서열을 포함한다. 더욱이, 개시 코돈은 전체 삽입물의 번역을 보증하기 위하여 바람직한 코딩 서열의 리딩 프레임을 가진 프레임 내에 있어야 한다. 이러한 외인성 번역 조절 시그널 및 개시 코돈은 다양한 기원일 수 있으며, 천연의 또는 합성된 것일 수 있다. 발현의 효율성은 적절한 전사 인핸서 엘리먼트, 전사 터미네이터 등의 포함에 의해 촉진될 수 있다 (예를 들어, Bitter 등, *Methods Enzymol.* 153:516-544 (1987) 참조).

부가적으로, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나, 특정한 바람직한 형태로 유전자 산물을 조정 및 프로세싱하는 숙주 세포 주(strain)가 이용될 수 있다. 단백질 산물의 그러한 조절 (예를 들어, 당화) 및 프로세싱 (예를 들어, 절단)는 단백질의 기능에 있어 중요할 수 있다. 다른 숙주 세포는 단백질 및 유전자 산물의 번역-후 프로세싱 및 조정에 있어 특징적이고 특히 한 기전을 가진다. 적절한 세포 계 또는 숙주 시스템이 발현된 외래 단백질의 올바른 조절 및 프로세싱을 보증하기 위하여 선택될 수 있다. 마지막으로, 유전자 산물의 주 전사(primary transcript), 당화, 및 인산화의 올바른 프로세싱을 위하여 세포성 기계를 함유하는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다. 그러한 포유류 숙주 세포는 CHO, VERO, BHK, Hela, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NSO (내부적으로 어떠한 면역글로불린 체인을 생성하지 않는 생쥐 골수종 세포 계), CRL7030 및 HsS78Bst 세포를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다.

장기적으로, 재조합 단백질의 고-효율 생산, 단백질의 안정한 발현이 바람직하다. 예를 들어, 안정적으로 항체 분자를 발현하는 세포 계가 제작(engineering)될 수 있다. 복제의 바이러스 기원을 함유하는 발현 벡터를 사용하는 것보다, 숙주 세포가 적절한 발현 조절 엘리먼트 (예를 들어, 프로모터 서열, 인핸서 서열, 전사 터미네이터, 폴리아데닐화 영역 등), 및 선택 가능한 마커에 의해 조절되는 DNA로 형질전환될 수 있다. 외래 DNA의 도입 후에, 조작된(engineered) 세포는 영양소가 풍부한 매질에서 1-2일 동안 성장하도록 방치되고, 그 후 선택 매질로 바뀌어진다. 재조합 플라스미드 내 선택 가능한

마커는 선택에 저항성을 부여하고 세포가 그들의 염색체 내로 플라스미드를 안정하게 통합하고 성장하여 포커스(focus)를 형성하도록 하며, 포커스는 번갈아 클론되고 세포 계로 팽창될 수 있다. 이러한 방법은 안정하게 항체 분자를 발현하는 세포 계를 조작하기 위하여 유리하게 사용될 수 있다.

많은 선택 시스템이 사용될 수 있으며, 각각 tk-, hprt- 또는 aprt-세포에 적용될 수 있는 헤르페스 심플렉스 티미딘 키나제(herpes simplex virus thymidine kinase) (Wigler 등, *Cell*. 11(1):223-232 (1977)), 하이포산틴구아닌(hypoxanthineguanine) 포스포리보실트랜스페라제(phosphoribosyltransferase) (Spring 등, *Biochim. Biophys. Acta*. 2118(2): 158-162 (1994)), 및 아데닌 포스포리보실트랜스페라제 (Lowy 등, *Cell*. 22(3): 817-823 (1980)) 유전자를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다. 또한 항대사체(antimetabolite) 저항성이 다음의 유전자에 대한 선택의 기초로 사용될 수 있다: 메토트랙세이트에 대한 저항성을 부여하는 *dlzfr* (Wigler 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 77(6):3567-3570 (1980); O'Hare 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 78(3): 1527-1531 (1981)); 마이코페놀릭 산에 대한 저항성을 부여하는 *gpt* (Mulligan 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 78(4):2072-2076 (1981)); 아미노글리코사이드 G-418에 대한 저항성을 부여하는 *neo* (Wu 등, *Biotherapy*. 3(1): 87-95 (1991); Tolstoshev, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 33:573-596 (1993); Mulligan, *Science*. 260(5110): 926-932 (1993); 및 Morgan 등, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217 (1993)); 및 하이드로마이신(hygromycin)에 저항성을 부여하는 *hygro* (Santerre 등, *Gene* 30(1-3):147-156 (1984)). 재조합 DNA 기술 분야에 일반적으로 알려진 방법들이 통상적으로 원하는 재조합 클론을 선택하기 위하여 적용될 수 있고, 그러한 방법들은 예를 들어, *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel 등, eds., John Wiley & Sons(1989-2002); Kriegler, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press (1990); *Current Protocols in Human Genetics*의 12 및 13장, Dracopoli 등, eds., John Wiley & Sons(1994); 및 Colbere-Garapin 등, *J. Mol. Biol.* 150(1): 1-14 (1981)에 개시되어 있다. 상기 문헌은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

항체, 항원-결합 항체 절편 또는 융합 폴리펩타이드 분자의 발현 레벨은 벡터 증폭(amplification)에 의해 증가될 수 있다 (검토를 위해서, Bebbington 등, *The Use of Vectors Based on Gene Amplification for the Expression of Cloned Genes in Mammalian Cells in DNA Cloning*, Vol. 3, Academic Press (1987) 참조). 항체를 발현하는 벡터 시스템 내 마커가 증폭가능할 때, 숙주 세포의 배양액 내 존재하는 억제제(inhibitor) 레벨의 증가는 마커 유전자의 복제수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역이 항체 유전자와 관련있을 경우, 항체의 생성 또한 증가할 것이다 (Crouse 등, *Mol. Cell. Biol.* 3(2):257-266 (1983) 참조).

숙주 세포는 본 발명의 두 개의 발현 벡터 즉 중쇄 유래 폴리펩타이드를 코딩하는 첫 번째 벡터와 경쇄 유래 폴리펩타이드를 코딩하는 두 번째 벡터로 공동-트랜스펙션될 수 있다. 두 개 벡터는 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드를 동일하게 발현할 수 있도록 하기 위한 동일한 선택 가능한 마커를 함유할 수 있다. 대안적으로, 중쇄 및 경쇄 폴리펩타이드 두 개를 코딩하고, 발현할 수 있는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 그러한 상황에서, 경쇄는 독성있는 유리 중쇄가 과량 형성되는 것을 피하기 위하여 중쇄의 앞에 위치되는 것이 바람직하다 (Proudfoot, *Nature*. 322(6079):562-565 (1986); 및 Kohler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 77(4):2197-2199 (1980) 참조). 중쇄 및 경쇄의 코딩 서열은 cDNA 또는 유전체 DNA, 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

일단 본 발명의 항체, 항원-결합 항체 절편, 융합 폴리펩타이드 또는 유사체가 재조합 발현으로 생성된다면, 면역글로불린 분자의 정제를 위하여 본 발명이 속하는 분야에서 어떠한 알려진 방법, 예를 들어 크로마토그라피 (예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 초기 단백질 A 정제 후에 특이 CA 125/0772P 항원에 대한 친화도에 의해, 및 크기 컬럼 크로마토그라피), 원심분리, 용해도 감별, 또는 단백질의 정제를 위한 어떠한 다른 표준 기술에 의해서 정제될 수 있다. 게다가, 본 발명의 항체 또는 그들의 절편은 정제를 촉진하기 위하여 본 명세서에서 설명된 또는 본 발명이 속한 분야에서 알려진 이종 유래 폴리펩타이드 서열에 융합될 수 있다.

다음의 실시예들은 예시적 수단으로 제공되며 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

실시예

6. 실시예들

본 명세서에서 제공되는 결과는 CA 125/0772P의 세포외 부분은 CA 125/0772P 폴리펩타이드의 일 부분이 쉐드 CA 125/0772P로 방출된 후에도 세포-관련 형태로 남아있다는 것을 보여준다. 특히, 세포-관련 CA 125/0772P의 존재는 쉐드 CA 125/0772P 종과 비교하여 세포-관련 CA 125/0772P 종에 우선적으로 결합하는 몇몇 항체의 성공적 생성 및 특성화(characterization)에 의해 증명된다. 우선적 결합에 더하여, 본 명세서에서 제공된 결과는 CA 125/0772P에 대한

높은 정도의 특이성 및 세포-관련 CA 125/O 772P 항원에 대한 친화성을 나타내는 항체를 개시한다. 더욱이, 본 명세서에서 제공되는 결과는 그러한 항체가 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 용해를 중재하는 기능을 할 수 있다는 사실을 보여준다.

6.1. 항체 생성

본 명세서에서 제공된 실험은 CA 125/O 772P의 세포외 부분에 대한 단일클론 항체의 생성을 설명한다. 연속되는 서브섹션에서 설명되는 바와 같이, 그러한 기술에 의해 생성된 항체는 CA 125/O 772P에 특이적이고, 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고, 세포-관련 CA 125/O 772P에 높은 정도의 친화성을 나타내고, 및 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 용해를 중재하는 기능을 할 수 있는 항체를 포함한다.

항체 및 항체-발현 구조물(Construct):

발현 구조물은 항체 생성에 사용될 CA 125/O 772P 항원을 발현하기 위해 생성되었다. O 772P 3-repeat (도 1; SEQ ID NO: 1)로 명명된 발현될 첫 번째 항원은 CA 125/O 772P 세포외 도메인의 카복실-대부분 삼 일렬반복(carboxyl-most three tandem repeat)를 포함하나, CA 125/O 772P 막통과(transmembrane) 서열을 포함하지는 않는다. O 772P 3-repeat TM (도 2; SEQ ID NO: 2)로 명명된 발현될 두 번째 항원은 도 2에 묘사된 막통과 및 세포질 서열 뿐만 아니라 CA 125/O 772P의 세포외 도메인의 카복실-대부분 삼 일렬반복을 포함한다. 특히, 항원의 각각을 코딩하는 서열은 pSecTag2B 벡터 (Invitrogen)로 서브클론되었다. 벡터는 분비를 위한 Ig 카파 시그널 서열과 발현된 단백질의 검출 및 정제를 위한 myc 및 6xhis 태그를 코딩한다.

항원 발현:

재조합 항원이 위에서 설명된 구조물을 가지고 일시적으로 혼탁 CHO-K1 세포를 트랜스펙션시킴으로써 생성되었다. 트랜스펙션을 위해 사용된 매질은 GS supplements (JRH Biosciences Lenexa, KS)가 함유된 ProCHO CDM (BioWhittaker Inc. Walkersville, MD)이었다. 일 리터의 물질을 생성하기 위하여, 트랜스펙션 시약 Clonfection™ (Clontech, Palo Alto, Ca) 2 mg이 재수화되었고, 24 ml의 트랜스펙션 매질로 희석되었으며, 동일 매질에서 125 μ g의 DNA와 배양되었다. 트랜스펙션 혼합물이 1.25×10^9 혼탁 CHO-K1 세포를 함유하는 트랜스펙션 매질 450 ml로 첨가되었고 케도 혼합기 상에서 37°C로 4시간 동안 배양되었다. 배양 후에, GS supplement, 페니실린-스트렙토마이신 및 10% 초저(ultra low) IgG FBS (Life Technologies Rockville, MD)가 함유된 ProCHO 4-CDM 500 ml가 트랜스펙션된 세포에 첨가되었고 배양액은 롤러 병(roller bottle)으로 옮겨졌다. 샘플은 3일째 모아지고 배양(culture)은 7일째 수집되었다.

항원 정제:

트랜스펙션 상등액이 50K 컷-오프 막을 가진 Millipore Pellicon 시스템을 사용하여 250 ml로 농축되었다. TALON Purification 키트 (cat # K1253-1)로부터 얻은 2 ml Talon 레진 (Clontech, Palo Alto, CA)이 2 ml 컬럼으로 옮겨지고 20 ml 1X 세척/추출 완충액(키트와 함께 공급됨, pH 7.0)으로 세척되었다. 농축 샘플은 그 후 1 ml/분의 유속을 가진 컬럼에 로딩되었다. 컬럼은 그 후 15 ml 추출/세척 완충액으로 세척되었다. 결합된 단백질은 그 후 4×1 ml 용출 완충액 (50 mM Na Phosphate, 300 mM NaCl, 150 mM 이미디졸(imidazole), pH 7.0)로 용출되었다. 0.5 ml 분획 모아졌고 SDS-PAGE로 분석되었고, Coomassie Brilliant Blue G-250로 관찰되었다. O 772P 3-repeat 재조합 단백질을 함유하는 분획이 추가로 Con-A Sepharose chromatography를 이용하여 정제되었다. 1 ml의 Con A Sepharose (Vector Laboratories, Inc., cat # AC-1003, lot # K0425)가 15 ml 코니칼 원심분리 투브로 옮겨졌고 10 ml 1X 인산-완충 생리식염수 (PBS), pH 7.2로 세척되었다. 세척 완충액은 원심분리에 의해 제거되었다. O 772P 3-repeat 단백질을 함유하는 TALON 정제로부터의 분획들이 1X PBS, pH 7.2로 1:1로 희석되었고 세척된 ConA Sepharose에 첨가되었으며 4°C에서 하룻밤 동안 희전되었다. 그 후 레진 슬러리가 5 ml 중력-흐름(gravity-flow) 컬럼으로 옮겨졌고 10 ml 1X PBS, pH 7.2로 세척되었다. 총 부피 6 ml 내 0.5 ml 분획 내 샘플이 0.6M 매틸 a-D-만노피라노사이드(mannopyranoside)의 1X PBS, pH 7.2로 용출되었다. 분획들은 SDS-PAGE로 분석되었고 Coomassie Brilliant Blue G-250를 사용하여 관찰되었다. 순수한 O 772P 3-repeat 단백질을 함유하는 분획들이 합쳐지고 2L 1X PBS, pH 7.2로 투석되었으며 4°C에서 보관되었다.

면역화(Immunization):

BALB/c 생쥐를 0, 21, 42, 및 63일째에 복강내(i.p.)로 면역화시켰다. 첫 번째 주사는 NIH:OVCAR-3 (ATCC HTB-161) 세포를 포함하였고, 연속된 주사는 막통과 도메인 없이 O 772P 3-repeat 단백질을 포함하였다. 완전(Complete) Freund 애주번트가 첫 번째 단백질 주사에 사용되었고 불완전 Freund 애주번트가 남은 주사들에 사용되었다. 혈청은 35, 56, 및 77일에 모아졌고 아래에서 설명되는 것처럼 ELISA 및 유동 세포측정(flow cytometry)으로 분석되었다. 가장 좋은 혈청 역가를 가진 생쥐가 세포 융합을 위해 선택되었다. 융합 하루 및 이틀 전에, 선택된 생쥐는 포유류 발현 O 772P 3-repeat 단백질을 가지고 i.p. 및 정맥으로(i.v.) 추가접종(boost) 되었다. 융합 전일에 생쥐는 i.v.로 추가접종 되었다.

하이브리도마 생쥐:

생쥐 비장이 제거되었고 비장 세포들이 펀셋으로 민싱(mincing)하고 체를 통하여 세포를 스트레이닝(straining)하여 모아졌다. 세포는 IMDM 매질에서 두 번 세척되었고 세포 카운트가 수행되었다. 로그 폐이스 성장(log phase growth)의 P3X63Ag8.653 생쥐 골수종 세포 (ATCC CRL-1580)가 모아졌고, IMDM 매질로 두 번 세척되었고 세포가 계수되었다. 비장 세포 및 골수종 세포는 5:1의 비율로 혼합되었고 5분 동안 $200\times g$ 로 원심분리되었다. 흡인(aspiration) 후에, 펠릿을 튜브의 바닥을 가볍게 두드려서 느슨하게 만들었다. 1 ml의 50% PEG (m.w. 1450) 용액이 30초 동안 방울씩 추가되었고 그 후 펠릿은 피펫을 사용하여 30초 동안 부드럽게 혼합되었다. 생성되는 혼탁액을 추가 30초 동안 방해받지 않는 상태로 방치하였다. 5 ml의 IMDM이 90초 동안 첨가되었고 즉시 추가 5 ml가 가해졌다. 생성되는 세포 혼탁이 5분 동안 방해받지 않는 상태로 방치되었다. 원심분리 후에, 세포는 ml 당 5×10^5 세포의 농도로 HAT 매질(10% FBS, 2 mM L-글루타민, 0.6% 2-머캅토에탄올(0.04% 용액), 하이포산틴(hypoxanthine), 아미노프테린(aminopterin), 티미딘, 및 10% ORIGENO 하이브리도마 클로닝 요인 (IGEN International, Gaithersburg, MD)를 함유하는 IMDM)에 재현탁되었고 96 웰 플레이트에 웰 당 0.2 ml 또는 1×10^5 로 플레이팅되었다. 플레이트는 37°C에서 100% 습기를 가진 7% CO₂ 대기 내에서 배양되었다. 융합 7일 후에, 매질은 제거되었고 10% FBS, 2 mM L-글루타민, 0.6% 2-머캅토에탄올 스톡(0.04%), 하이포산틴(hypoxanthine) 및 티미딘을 함유하는 IMDM로 대체되었다. 융합 10일 내지 14일 후에, 상등액이 성장하는 하이브리도마 콜로니를 가진 웰로부터 취해졌고 본 명세서에서 설명된 것처럼 CA 125/O 772P에 결합하는지 여부가 시험 되었다.

하이브리도마 상등액에서 유래한 항체의 정제:

0.5 ml 단백질 G 레진 (Sigma, St. Louis, MO)이 5 ml 일회용(disposable) 컬럼 (Bio-Rad, Hercules, CA)에 충전(pack)되었다. 컬럼은 20 ml 결합 완충액 (20 mM PBS, pH 7.0)으로 미리-평형화되었다. 하이브리도마 상등액이 컬럼 위로 0.5 ml/min 보다 적은 유속으로 로딩 되었다. 컬럼은 그 후 1 ml/min의 유속으로 20 ml 결합 완충액을 사용하여 세척되었다. 대안적으로, 미리 충전된 단백질 G 칼럼이 사용되었다 (Amersham Pharmacia Biotech). 항체는 그 후 3 ml 용출 완충액 (0.1 M 클리신, pH 2.7)으로 용출되었다. 0.5 ml 분획들인 50 µl 1M Tris, pH 9.0를 함유한 1 ml 튜브로 모아졌다. 샘플들은 PBS (0.5 L)로 투석되었고 약 1 mg/ml 단백질로 농축되었다.

하이브리도마 상등액 내의 항체 농도:

항체의 농도는 Easy-Titer 생쥐 IgG 분석 키트 (Pierce Biotechnology, Rockford, IL)를 사용하여 측정되었다. 간략하게, 생쥐 IgG 전체 분자 표준품(standard) (Pierce Biotechnology, Rockford, IL)이 (키트와 함께 공급된) 희석 완충액으로 500 ng/ml로 희석되었다. 이 표준품을 희석 완충액을 이용하여 1:2로 연속적으로 여섯 번 희석하여 표준 커브를 작성하였다. 각 표준품의 20 µl가 96- 웰 플레이트 내 대응하는 웰에 첨가되었다. 하이드리도마 상등액(20 µl)의 희석액 또한 플레이트에 첨가되었다. 각 표준품 및 샘플에 대하여 듀플리케이트 웰(Duplicate well)이 수행되었다. (키트와 함께 공급된) 20 µl의 폴리스티렌 비드가 각 웰에 첨가되었고, 샘플은 혼합되었고, 플레이트는 밀봉되었고, 실온에서 5분 동안 플레이트 혼합기 상에서 배양되었다. 키트에서 유래한 100 µl의 Blocking 시약이 그 후 각 웰에 첨가되었다. 플레이트는 다시 실온에서 5분 동안 교반되었다. 흡광도가 그 후 405 nm에서 Vmax plate reader (Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA)로 측정되었고 4 parameter fit가 표준 커브를 생성하기 위하여 사용되었다.

6.2. CA 125/O 772P 특이성(Specificity)

본 명세서에서 제공되는 결과는 위에서 설명된 기술에 의한 항체 생성이 CA 125/O 772P에 특이적인 항체의 생성을 약화한다는 것을 보여준다.

ELISA 특이성 분석:

방법:

96 웰 플레이트가 배양되었고 웰 당 100 μ l의 1 μ g/ml O 772P 3-repeat 단백질 (SEQ ID NO: 1) (친화도-정제된) 바이카보네이트 완충액 (0.2 M Na_2CO_3 /NaHCO₃, pH 9.6, Sigma)로 4°C에서 하룻밤 동안 코딩되었다. 다음날, 플레이트는 200 μ l 1x PBST (1x 포스페이트-완충된 생리식염수 (PBS), 0.05% 트윈 20)로 세번 세척되었고 1% 소 혈청 알부민 (BSA)을 함유하는 100 μ l의 1x PBST로 37°C에서 2 시간 동안 블로킹 되었다. 플레이트를 1x PBST로 세 번 세척한 후에, 생쥐 항-CA 125/O 772P 선택된 하이브리도마-제조된 항체(0.04 mg/ μ l)가 플레이트(개별 웰)에 첨가되었다. 37°C에서 1 시간 동안 배양한 후에, 플레이트는 그 후 1x PBST로 세 번 세척되었다. 시그널 검출을 위하여, 100 μ l의 HRP(horseradish peroxidase)-접합 양(sheep) 항-생쥐 IgG(1x PBST + 1% BSA로 1:2000 희석; Amersham Biosciences)가 각 웰에 첨가되었고 37°C에서 1 시간 동안 배양되었다. 플레이트는 다시 1x PBST로 세 번 세척되었다. 최종적으로, TMB (3,3',5,5'-테트라메틸벤자린) 기질 및 H₂O₂ (1:1 비율, KPL Kirkguard Perry Laboratories)의 혼합물 100 μ l가 각 웰에 첨가되었고 5분 배양 후에, 흡광도가 405 nm에서 플레이트 리더(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA)로 측정되었다. 분석은 각 선택된 O 772P 하이브리도마-제조된 항체에 대하여 세 번 수행되었고 데이터가 수집되고 키네틱(kinetic) 분석으로 분석되었고 5분의 기간 동안 측정되었다. 평균값이 계산되었고 제시되었다. 공시료(blank) 및 개별 시약의 대조군들 또한 각 실험에 포함되었다.

결과:

아래의 표 7에 4개의 선택된 항-CA 125/O 772P 하이브리도마-제조된 항체 (117.1, 368.1, 501.1, 776.1)에 대한 ELISA 특이성 분석 결과를 제시하였다. 하기 표는 또한 두 개의 상업적으로 이용 가능한 CA 125/O 772P 항체 (OC125 및 M11, Dako Corp., Carpinteria, CA)에 대한 ELISA 특이성 분석 결과를 제공한다. 항체 (또는 항원-결합 항체 절편)은 적어도 5 내지 30 OD/마이크로그램 항체보다 큰 흡광도를 나타낸다면 이 분석에서 양성으로 생각된다(즉, CA 125/O 772P에 특이성이 있는 것으로). 이러한 결과는 시험 된 항체 각각이 CA 125/O 772P에 특이적이라는 것을 나타낸다. 아래에 예시된 것처럼 비록 OC125 및 M11이 CA 125/O 772P에 특이적이지만 어느 거소 쉐드 CA 125/O 772P와 비교하여 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하지는 않는다. 하기 표에서 SD는 표준 편차이다.

표 7.

| Ab name | absorbance (OD) | SD | absorbance (OD)/ μ g | Ab |
|---------|------------------|-------|--------------------------|----|
| | | | | |
| OC 125 | 0.73 | 0.003 | 18 | |
| M11 | 0.974 | 0.008 | 24 | |
| 117.1 | 0.619 | 0.033 | 15 | |
| 368.1 | 1.293 | 0.004 | 32 | |
| 501.1 | 0.856 | 0.005 | 21 | |
| 776.1 | 1.178 | 0.043 | 29 | |

하기 표 8의 결과는 위에서 설명된 기술을 사용하여 제조된 20개의 추가 항체에 대한 흡광도 데이터를 보여준다. 흡광도 데이터에 의해 나타나는 바와 같이, 이러한 항체의 각각은 또한 CA 125/O 772P에 특이적이다.

표 8.

| Ab name | absorbance (OD)/ $\mu\text{g Ab}$ |
|---------|-----------------------------------|
| 325.1 | 24 |
| 446.1 | 27 |
| 621.1 | 27 |
| 633.1 | 18 |
| 654.1 | 22 |
| 725.1 | 25 |
| 8G9 | 22 |
| 7F10 | 19 |
| 8A1 | 18 |
| 8C3 | 23 |
| 15C9 | 28 |
| 8E3 | 18 |
| 8B5 | 18 |
| 7G10 | 20 |
| 16C7 | 22 |
| 7C6 | 23 |
| 7H1 | 26 |
| 16H9 | 22 |
| 7A11 | 22 |
| 4E7 | 19 |

유동 세포측정 특이성 분석(Flow Cytometry Specificity Assay):

방법:

O 772P 3-repeat 단백질(SEQ ID NO: 2)을 발현하는 서열로 트랜스펙션된 세포(OVCAR-3 (ATCC 액세션 번호 HTB-161), SK-OV3 (ATCC 액세션 번호 HTB-77), NIH/3T3 (ATCC 액세션 번호 CRL-1658), 및 NIH13T3 세포가 티립신(0.25%) 소화처리하여 배양 플레이트로부터 제거되었다. 세포는 계수되었고 생존능력이 트리판(trypan) 블루(0.2%) 배제(exclusion)에 의하여 측정되었다. 세포는 그 후 원심분리(500 \times g, 5분)되었고 FACS 완충액(1% BSA 및 0.1% 소디움아자이드를 함유하는 1x DPBS)에 5-10 \times 10⁷ 세포/ml 농도로 재현탁되었다. 세포는 그 후 96-웰 둥근 바닥 플레이트로 100 μl /웰의 부피로 분배되었고 3분 동안 500xg로 원심분리되었다. 항체 상등액은 흡입에 의해 제거되었고, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 및 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ FACS 완충액으로 희석된 50 μl 하이브리도마 상등액이 세포를 함유하는 각 웰에 첨가되었다. 생쥐 IgG1 카파(kappa) (Sigma, St. Louis, MO) (2.0, 1.0, 0.5, 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 중 어떤 것)가 음성 대조군으로 포함되었고 OC125 및 M11 (DAKO Corp, Carpinteria, CA)이 양성 대조군으로 포함되었다. 플레이트는 30분 동안 4°C에서 흔들면서 배양되었다. 세포는 연속적으로 두 번 FACS 완충액(200 μl /웰)으로 원심분리하며 세척되었고, 각 세척 후에 완충액 흡입을 하였다. 염소항-생쥐 IgG (Fc)-비오틴 (Sigma, St. Louis, MO)은 FACS 완충액으로 1:1000로 희석되었고 50 μl 가 세포를 포함하는 각 웰에 첨가되었다. 플레이트는 30분 동안 4°C에서 흔들면서 배양되었다. 세포는 그 후 위와 같이 FACS 완충액으로 세척되었다. 세포는 그 후 1 ml의 FACS 완충액으로 재현탁되었고 Falcon 2052 튜브로 옮겨졌고 Becton-Dickinson Immunocytometry Systems FACSCalibur 유동 세포측정기(San Jose, CA)로 분석되었다.

결과:

아래 표 9는 4개의 선택된 항-CA 125/O 772P 하이브리도마-제조된 항체(117.1, 368.1, 501.1, 776.1)의 유동 세포측정 특이성 분석 결과를 제시한다. 하기 표는 또한 상업적으로 이용가능한 OC125 및 M11에 대한 유동 세포측정 특이성 분석 결과를 제시한다. NIH/3T3 세포 및 SK-OV3 세포(난소암 세포 계)는 CA 125/O 772P를 생성하지 않기 때문에 음성 대조군으로 생각되었다.

항체 (또는 항원-결합 항체 절편)는 그들이 약 5% 양성 NIH/3T3 세포, 및 적어도 SEQ ID NO: 2 폴리펩타이드를 생성하는 약 60% 양성 NIH/3T3 세포보다 적거나; 또는 약 25% 양성 SK-OV3 세포 및 적어도 약 80% 양성 OVCAR-3 세포보다 적은 양성 세포 범위의 유동 세포측정 특이성 분석 결과를 나타낸다면 양성인 것으로 생각되었다(즉, CA 125/O 772P에 특이적인 것으로). (nd는 측정되지 않음을 나타낸다)

이러한 결과는 시험된 항체 각각이 CA 125/O 772P에 특이적이라는 것을 나타낸다. 아래에 표시된 것처럼 비록 OC125 및 M11은 CA 125/O 772P에 특이적인 것으로 생각되지만, 이 두 개의 항체 중 어느 것도 쉐드 CA 125/O 772P과 비교하여 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하지 않는다.

표 9.

| Antibody | % positive - NIH/3T3 O772P 3-repeat | % positive - NIH/3T3 | % positive - OVCAR-3 | % positive - SK-OV3 |
|-------------------------|--|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| OC 125 (1 μ g/ml) | nd | nd | 98 | 16 |
| OC 125 (0.1 μ g/ml) | nd | nd | 85 | 10 |
| M11 (1 μ g/ml) | 84 | 0.1 | 98 | 17 |
| M11 (0.1 μ g/ml) | nd | nd | 91 | 11 |
| 117.1 (2 μ g/ml) | 83 | 0.1 | 93 | 6 |
| 117.1 (0.5 μ g/ml) | 63 | 0 | nd | nd |
| 368.1 (2 μ g/ml) | 86 | 0.2 | 89 | 5 |
| 368.1 (0.5 μ g/ml) | 75 | 0.2 | nd | nd |
| 501.1 (2 μ g/ml) | 89 | 0 | 95 | 5 |
| 501.1 (0.5 μ g/ml) | 85 | 0.2 | nd | nd |
| 776.1 (2 μ g/ml) | 86 | 0 | 94 | 9 |
| 776.1 (0.5 mg/ml) | 84 | 0 | nd | nd |

아래 표 10에 제공된 결과는 하기 항체들 또한 CA 125/O 772P에 특이적이라는 것을 보여주는 위에서 설명된 것처럼 제조된 20개의 추가 항체에 대한 OVCAR-3/SK-OV3 데이터를 제공한다.

표 10.

| Ab name | % positive OVCAR-3 (0.5 µg/ml) | % positive SK-OV3 (2.0 µg.ml) |
|---------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 325.1 | 98 | 6 |
| 446.1 | 94 | 5 |
| 621.1 | 97 | 9 |
| 633.1 | 89 | 9 |
| 654.1 | 86 | 8 |
| 725.1 | 96 | 10 |
| 8G9 | 97 | 4 |
| 7F10 | 96 | 3 |
| 8A1 | 97 | 3 |
| 8C3 | 97 | 3 |
| 15C9 | 95 | 3 |
| 8E3 | 95 | 1 |
| 8B5 | 94 | 1 |
| 7G10 | 96 | 2 |
| 16C7 | 96 | 3 |
| 7C6 | 96 | 3 |
| 7H1 | 96 | 0 |
| 16H9 | 96 | 3 |
| 7A11 | 94 | 1 |
| 4E7 | 97 | 2 |

6.3. 경쟁(Competition) 분석은 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체의 성공적 생성을 보여준다

본 명세서에서 제시된 결과는 위에서 설명된 기술에 의해 생성된 항체가 쉐드 CA 125/O772P과 비교하여 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합할 수 있는 항체를 생성할 수 있다는 것을 나타낸다. 그러한 항체가 생성될 수 있다는 사실 또한 무엇보다도 세포-관련 CA 125/O772P 폴리펩타이드가 존재함, 즉 CA 125/O772P 폴리펩타이드의 일 부분이 쉐드 CA 125/O772P로 방출된 후에도 CA 125/O772P의 세포외 부분이 세포-관련 형태로 존재, 그러나 일시적으로, 존재한다는 것을 보여준다.

ELISA 경쟁 분석:

방법:

96 웰 플레이트가 배양되었고 웰 당 100 µl의 1 µg/ml O772P 3-repeat (SEQ ID NO: 1) 폴리펩타이드 (친화도-정제된) 바이카보네이트 완충액 (0.2 M Na₂CO₃/NaHCO₃, pH 9.6, Sigma)로 4°C에서 하룻밤 동안 코딩되었다. 다음날, 플레이트는 200µl 1x PBST (1x 포스페이트-완충된 생리식염수 (PBS), 0.05% 트윈 20)로 세번 세척되었고 1% 소 혈청 알부민 (BSA)을 함유하는 100 µl의 1x PBST로 37°C에서 2 시간 동안 블로킹 되었다. 1x PBST로 세 번 세척한 후에, 선택된 항-CA 125/O772P 하이브리도마-제조된 항체가 표시된 농도(예를 들어, 0.04 µg/ml)로 과량(예를 들어, 10-50 배 w/w)의 쉐드 CA 125/O772P (Fitzgerald Industries International, Concord, MA; Scripps Laboratories, La Jolla, CA; 및/또는 United States Biological Corp.)로 20-30분 동안 미리-배양된 웰에 첨가되었다. 37°C에서 1 시간 동안 배양한 후에, 플레이트는 그 후 1x PBST로 세 번 세척되었다. 시그널 검출을 위하여, 100 µl의 HRP(horseradish peroxidase)-접합 양(sheep) 항-생쥐 IgG(1x PBST + 1% BSA로 1:2000 희석; Amersham Biosciences)가 각 웰에 첨가되었고 37°C에서 1 시간 동안 배양되었다. 플레이트는 다시 1x PBST로 세 번 세척되었다. 최종적으로, TMB 기질 및 H₂O₂ (1:1 비율, KPL)의 혼합물 100 µl가 각 웰에 첨가되었고 흡광도가 405 nm에서 플레이트 리더(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA)로 측정되었다. 분석은 각 선택된 항체에 대하여 세 번 수행되었고 평균값이 계산되었고 제시되었다. 비 경쟁(no competition)과 비교한 퍼센트 억제가 평균값에 기초하여 개별 항체에 대하여 계산되었다. 공시료(blank) 및 개별 시약의 대조군들 또한 각 실험에 포함되었다.

결과:

아래의 표 11에 4개의 선택된 항-CA 125/O772P 하이브리도마-제조된 항체 (117.1, 368.1, 501.1, 776.1)에 대한 ELISA 경쟁 분석 결과를 제시하였다. 하기 표는 또한 상업적으로 이용 가능한 CA 125/O772P 항체 (OC125; Dako Corp., Carpinteria, CA)에 대한 ELISA 경쟁 분석 결과를 제공한다. 항체 (또는 항원-결합 항체)은 25배 (w/w) 과량 쉐드 CA 125/O772P에서 약 25% 보다 적은 결합 억제를 나타낸다면 이 분석에서 양성으로 생각된다(즉, 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 것으로). 이러한 결과는 항체 117.1, 368.1, 501.1 및 776.1 각각이 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합한다는 것을 나타낸다. 이러한 결과는 또한 OC125 항체가 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하지 않는다는 것을 보여준다. (SD-표준 편차)

표 11.

| antibody | absorbance | SD | absorbance w/ shed CA 125/O772P competitor (25-fold w/w excess) | SD | percent inhibition of binding | absorbance w/ O772P 3-repeat competitor (10x w/w excess) | SD | percent inhibition of binding |
|----------|------------|-------|--|-------|-------------------------------------|--|-------|-------------------------------------|
| OC 125 | 0.73 | 0.003 | 0.074 | 0.001 | 95 | 0.047 | 0.002 | 99 |
| 117.1 | 0.619 | 0.033 | 0.554 | 0.007 | 11 | 0.071 | 0.001 | 94 |
| 368.1 | 1.293 | 0.004 | 1.333 | 0.009 | 0 | 0.915 | 0.016 | 30 |
| 501.1 | 0.856 | 0.005 | 0.735 | 0.008 | 15 | 0.065 | 0.002 | 96 |
| 776.1 | 1.178 | 0.043 | 0.977 | 0.01 | 17 | 0.077 | 0.001 | 96 |

아래의 표 12에 제시된 결과는 하기 항체들 또한 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체를 표현한다는 것을 보여주는 위에서 설명된 기술에 의해 제조된 20개의 추가 항체에 대한 CA 125/O772P 경쟁자(competitor) 데이터를 제공한다.

표 12.

| Ab name | % inh. binding w/shed CA 125/O772 competitor (25-fold excess)) |
|---------|--|
| 325.1 | 2 |
| 446.1 | 7 |
| 621.1 | 2 |
| 633.1 | 7 |
| 654.1 | 9 |
| 725.1 | 7 |
| 8G9 | 7 |
| 7F10 | 6 |
| 8A1 | 8 |
| 8C3 | 5 |
| 15C9 | 5 |
| 8E3 | 4 |
| 8B5 | 6 |
| 7G10 | 3 |
| 16C7 | 3 |
| 7C6 | 2 |
| 7H1 | 4 |
| 16H9 | 0 |
| 7A11 | 5 |
| 4E7 | 7 |

유동 세포측정 경쟁 분석:

방법:

NIH:OVCAR-3 (ATCC 액세션 번호 HTB-161) 세포가 티립신(0.25%) 소화처리하여 배양 플레이트로부터 제거되었다. 그 후 세포는 계수되었고 생존능력이 트리판(trypan) 블루 (0.2%) 배제(exclusion)에 의하여 평가되었다. 세포는 그 후 원심분리(500×g, 5분)되었고 FACS 완충액(1% BSA 및 0.1% 소디움 아자이드를 함유하는 1x DPBS)에 5-10 × 10⁷ 세포/ml 농도로 재현탁되었다. 세포는 그 후 96-웰 둥근 바닥 플레이트에 분배(100 μl/웰)되었고 3분 동안 500xg로 원심분리되었다. 상등액은 흡입에 의해 제거되었다. 하이브리도마 상등액이 FACS 완충액으로 0.2 μg/ml로 희석되었다. FACS 완충액으로 희석된 50 μl 하이브리도마 상등액이 세포를 함유하는 각 웰에 첨가되었다. CA 125 (Fitzgerald Industries International, Concord, MA)가 FACS 완충액으로 1000 μg/ml, 500 μg/ml, 200 μg/ml, 60 μg/ml, 20 μg/ml, 6 μg/ml, 또는 2 μg/ml로 희석되었다. 30 μl 항체 용액이 30 μl의 희석된 CA 125 또는 단지 완충액과 함께 4 °C에서 30분 동안 배양되었다. 50 μl의 혼합물이 세포를 함유하는 각 웰에 첨가되었다. 생쥐 IgG1 카파(kappa) (Sigma, St. Louis, MO) 및 M11 (DAKO Corp, Carpinteria, CA)이 각각 음성 대조군 및 양성 대조군으로 포함되었다. 플레이트는 30분 동안 4 °C에서 흔들면서 배양되었다. 세포는 연속적으로 두 번 FACS 완충액(200 μl/웰)으로 원심분리하여 세척되었고, 각 세척 후에 완충액 흡입을 하였다. 염소 항-생쥐 IgG (Fc)-비오틴 (Sigma, St. Louis, MO)은 FACS 완충액으로 1:1000로 희석되었고 50 μl 가 세포를 포함하는 각 웰에 첨가되었다. 플레이트는 30분 동안 4 °C에서 흔들면서 배양되었다. 세포는 그 후 위와 같이 FACS 완충액으로 세척되었다. Streptavidin-Alexa-Four 488 (Molecular Probes, Eugene, OR)가 FACS 완충액으로 1:1000로 희석되었고 50 μl가 세포를 포함하는 각 웰에 첨가되었다. 플레이트는 30분 동안 4 °C에서 세척과 함께 배양되었다. 세포는 그 후 위와 같이 FACS 완충액으로 세척되었다. 세포는 그 후 1 ml의 FACS 완충액으로 재현탁되었고 Falcon 2052 튜브로 옮겨졌고 Becton-Dickinson Immunocytometry Systems FACSCalibur 유동 세포측정기(San Jose, CA)로 분석되었다. 퍼센트 양성 세포는 GraphPad plotting 소프트웨어를 사용하여 CA 125/O772P 농도의 함수로서 플롯 되었다. 결합이 50% 저해되는 쉐드 CA 125/O772P의 농도로서 표현된 IC₅₀ 측정값(determination)은 선형회귀분석(linear regression analysis)을 사용하여 만들어졌다.

결과:

도 3은, 이 경우에 있어 117.1 항체 및 M11 항체 대조군(정사각형)에 대한, 퍼센트 양성 세포 대 쉐드 CA 125/O 772P 농도의 대표적 플롯을 보여준다.

아래의 표 13은 유동 세포측정 경쟁 분석 결과의 요약을 나타낸다. 항체 (또는 항원-결합 항체 절편)는 그것이 퍼센트-양성 세포로 측정될 때 적어도 약 0.05 mg/ml 쉐드 CA 125/O 772P의 IC_{50} 을 나타낸다면 양성 (즉, 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 것으로) 생각된다.

아래의 표 13에 나타나는 결과는 117.1, 501.1, 776.1, 8C3, 16H9, 325.1, 633.1 및 725.1 항체 각각이 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합한다는 것을 보여준다. 표 13의 결과는 또한 OC125 및 M11 항체가 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하지 않는다는 것을 보여준다.

표 13.

| antibody | IC_{50} (mg/ml CA 125) function of % positive cells |
|----------|---|
| OC 125 | 0.005 |
| M11 | 0.01 |
| 117.1 | >1.0 |
| 368.1 | nd |
| 501.1 | 0.13 |
| 776.1 | 0.19 |
| 8C3 | >0.5 |
| 16H9 | >0.5 |
| 325.1 | 0.36 |
| 621.1 | >0.5 |
| 633.1 | 0.18 |
| 725.1 | 0.42 |
| 446.1 | nd |
| 654.1 | nd |
| 8G9 | nd |
| 7F10 | nd |
| 8A1 | nd |
| 15C9 | nd |
| 8E3 | nd |
| 8B5 | nd |
| 7G10 | nd |
| 16C7 | nd |
| 7C6 | nd |
| 7H1 | nd |
| 7A11 | nd |

6.4. 친화도 분석

본 명세서에서 제시되는 결과는 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 제조된 항체들 중에서 세포-관련 CA 125/O 772P에 높은 레벨의 친화도를 나타내는 항체를 보여준다.

BIAcore 친화도 분석: 방법:

GM5 BIACore 바이오센서 칩(chip)이 BIACore X 기구(instrument) 내로 도킹 되었고 55 μ l의 1:1 NHS/EDC로 실온에서 활성화되었다. 0.05 M 아세테이트 완충액, pH 4.5 내 10 μ g/ml O 772P 3-repeat 영역 단백질 및 BSA가 1000-2000 RU의 공명 반응(resonance response)을 달성하기 위하여 5 μ l/분의 유속으로 활성화된 칩의 유동 셀(flow cell, FC) 1 및 FC 2에 각각 고정화되었다. 칩은 그 후 55 μ l의 에탄올아민-HCl, pH 8.5를 주사하여 블로킹 되었고, 50 mM NaOH-1 M NaCl을 가지고 5번 세척되었다. 칩에 고정화된 O 772P 3-repeat 영역으로의 항-O722P mAbs의 결합을 측정하기 위하여 BIACore running 완충액 (HBS-EP, Cat. # 1001-080, BIACore, Piscataway, NJ) 내 30 μ l의 항-O722P mAbs이 다양한 농도로 5 μ l/분의 유속으로 센서 표면에 주사되었다. 주사 폐이스(phase)의 완결 후에, 360 초 동안 동일한 유속의 BIACore running 완충액에서 해리(dissociation)가 모니터링되었다. 표면은 30 μ l의 50 mM NaOH-1M NaCl을 사용하는 주사 사이에서 재생성되었다. 개별 센서그램(sensorgram)은 BIAsensor을 사용하여 분석되었다.

BIACore 친화도 분석: 결과:

아래의 표 14는 M11 및 OC125 항체에 대한 것뿐만 아니라 117.1, 368.1, 501.1 및 776.1 항체에 대한 BIACore 친화도 분석 결과의 요약을 제공한다. 하기 표에 보이는 바와 같이, 항체 117.1, 368.1, 501.1, 776.1, 4E7, 7C6, 7F10, 7G10, 7H1, 8A1, 8B5, 8C3, 8E3, 15C9, 16C7, 16H9, 325.1, 621.1, 633.1 및 725.1 각각이 CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 높은 친화도를 가지고 결합한다.

표 14.

| antibody | K _d (nM) |
|----------|---------------------|
| M11 | 1.6 |
| OC125 | 4 |
| 117.1 | 12 |
| 368.1 | 0.7 |
| 501.1 | 70 |
| 776.1 | 0.4 |
| 4E7 | 30 |
| 7A11 | nd |
| 7C6 | 73 |
| 7F10 | 3.7 |
| 7G10 | 47 |
| 7H1 | 69 |
| 8A1 | 2.8 |
| 8B5 | 32 |
| 8C3 | 5.0 |
| 8E3 | 33 |
| 8G9 | 14 |
| 15C9 | 14 |
| 16C7 | 44 |
| 16H9 | 3.9 |
| 325.1 | 15 |
| 446.1 | nd |
| 621.1 | 40 |
| 633.1 | 26 |
| 654.1 | 190 |
| 725.1 | 2.6 |

6.5. 기능적 분석 (Functional Assay):

본 명세서에서 제시된 결과는 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 생성된 항체들 중에서 CA 125/O772P-양성 종양 세포의 용해를 중재하는 기능을 할 수 있는 항체가 있다는 것을 나타낸다.

ADCC 분석:

방법:

인간 백혈구가 Histopaque-1077 경사 원심분리 절차(gradient centrifugation procedure) (Sigma Co., St. Louis, MO)에 의해서 정상 기증자의 말초 혈액으로부터 분리되었고 이펙터(effect) 세포로 사용되었다. U-바닥, 96-웰 플레이트에, 10% FBS로 보충된 총 부피가 120 μ l인 RPMI 1640 내 다양한 농도의 단일클론 항체의 부존재 또는 존재 하에서 OVCAR-3 타깃 세포(5×10^3 /웰)가 이펙터-대-타깃 (E/T) 비율이 12.5:1 내지 50:1이 되도록 Histopaque-정제된 인간 백혈구와 혼합되었다. 플레이트는 가습된 5% CO₂ 대기 하 37°C에서 배양되었다. 시험 항체가 없는 타깃 세포와 이펙터 세포가 음성 대조군으로 사용되었다. 16-18 시간 배양 후에, 배양 상등액의 50 μ l 부분표본(aliquot) 모아졌고 Cytotox 96 Non-radioactive Cytotoxicity 분석 키트 (Promega Co., Madison, WI)를 사용하여 제조자의 지시에 따라 평평-바닥, 96-웰 플레이트에서 락테이트 디하이드로게나제(lactate dehydrogenase) 활성이 분석되었다. 종양 세포의 퍼센트 용해는 다음과 같이 계산되었다: % 세포독성(Cytotoxicity) = [실험 방출(experimental release)-이펙터 즉시 방출(effect spontaneous release)-타깃 즉시 방출]/[타깃 최대 방출-타깃 즉시 방출] × 100. 결과는 평균(mean) 퍼센티지 용해±반복 샘플의 S.D.로 표시되었다.

결과:

도 4는 117.1 항체 (4개의 다른 기증자의 평균)에 대한 항체 농도 대 퍼센트 용해의 대표적 플롯을 나타낸다. 도에 보이는 바와 같이, 117.1 항체는 농도 의존적으로 OVCAR-3 난소암 세포의 용해를 중재한다.

CDC 분석:

U-바닥, 96-웰 플레이트에, 10% FBS로 보충된 총 부피가 120 μ l인 RPMI 1640 내 다양한 농도의 항체의 부존재 또는 존재 하에서 OVCAR-3 타깃 세포(2×10^4 /웰)가 15:1, 20:1, 25:1로 희석된 인간 또는 기니아 피그 보체(complement)와 혼합되었다. 플레이트는 가습된 5% CO₂ 대기 하 37°C에서 배양되었다. 항체가 없는 타깃 세포가 음성 대조군으로 사용되었다. 4시간 배양 후에, 배양 상등액의 50 μ l 부분표본(aliquot) 모아졌고 Cytotox 96 Non-radioactive Cytotoxicity 분석 키트 (Promega Co., Madison, WI)를 사용하여 제조자의 지시에 따라 평평-바닥, 96-웰 플레이트에서 락테이트 디하이드로게나제(lactate dehydrogenase) 활성이 분석되었다. 종양 세포의 퍼센트 용해는 다음과 같이 계산되었다: % 세포독성(Cytotoxicity) = [실험 방출(experimental release)-이펙터 즉시 방출(effect spontaneous release)-타깃 즉시 방출]/[타깃 최대 방출-타깃 즉시 방출] × 100. 결과는 평균(mean) 퍼센티지 용해±반복 샘플의 S.D.로 표시되었다.

6.6. 세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 항체의 서열

본 명세서에서 제시된 결과는 CDR 서열을 포함하는 본 명세서에서 설명된 단일클론 항체 6개: 117.1, 368.1, 501.1, 776.1, 725.1 및 16H9의 가변 영역의 아미노산 서열 및 뉴클레오타이드 서열을 제공한다.

방법:

하이브리도마 세포는 배양되었고 4°C에서 10분 동안 1800 rpm으로 펠렛화되었다. 1 ml의 TRIzol (Invitrogen)이 10^7 세포당 첨가되었고 총 RNA가 프로세스 되었다. 1 ml의 TRIzol 시약 당 200 μ l의 클로로포름이 첨가되었고, 15초 동안 손으로 강하게 흔들었고, 4°C에서 15분 동안 12,000xg로 원심분리하였다. RNA를 함유하는 수상이 새 튜브로 옮겨졌고 초기 균질화(homogenization)를 위해 사용된 TRIzol 시약 1 ml 당 500 μ l의 이소프로필 알코올을 첨가하여 침전되었다. RNA 펠릿이 70% EtOH로 한번 세척되었고 DEPC 물에 재현탁하기 전에 가볍게 공기-건조되었다. 3 μ g의 총 RNA가 5' 포스페이트를 제거하기 위하여 10 유닛의 송아지 장관 포스파타제 (CIP)로 50°C에서 1 시간 동안 처리되었다. 이러한 단계는 연속되는 단계로부터 끝이 절단된(truncated) mRNA 및 비-mRNA를 제거한다. 탈인산화된(Dephosphorylated) RNA가 손상되지 않은, 총 길이 mRNA로부터 5' 캡 구조를 제거하기 위하여 37°C에서 1 시간 동안 0.5 유닛의 타바코산 파이로포스파타제(tobacco acid pyrophosphatase, TAP)로 처리되었다. GeneRacer RNA Oligo (5'-

CGACUGGAGCACGAGGACACUGACAUGGACUGAAGGAGUAGAAA-3'; SEQ ID NO: 43)이 5 유닛의 T4 RNA 리가제를 사용하여 37°C에서 1 시간 동안 mRNA의 5' 말단에 연결되었다. 연결된 mRNA는 5' 및 3' 말단에 알려진 프라이밍(priming) 영역을 갖는 DNA를 생성하기 위하여 5 유닛의 AMV-역전사효소 및 GeneRacer Oligo dT 프라이머(5'-GCTGTCAACGATACGCTACGTAACGGCATGACAGTG(T)₁₈-3'; SEQ ID NO: 44)를 사용하여 42°C에서 1 시간 동안 역-전사되었다. 5' 말단은 원하는 유전자(중쇄 5'-AYCTCCACACACAGGRRCCAGTGGATAGAC (SEQ ID NO: 45), 경쇄 5'-GGATACAGTTGGTGCAGCATC-3' (SEQ ID NO: 46))의 컨스턴트 영역에 위치한 유전자-특이 3' 프라이머 및 GeneRacer RNA Oligo (5'-CGACTGGAGCACGAGGACACTGA-3'; SEQ ID NO: 47)에 상동인 GeneRacer 5' 프라이머를 사용하여 증폭되었다. PCR 반응은 2 μl의 cDNA를 사용하여 GeneAmp 9700 PCR 시스템으로 94°C에서 5분 동안 주형(template)을 변성시키고, 그 후 94°C에서 30초 동안의 변성, 55°C에서 30초 동안의 어닐링(annealing), 및 72°C에서 1분 동안의 연장(elongating)의 사이클을 30회 반복하고, 마지막 사이클에서 72°C 7분 동안 연장(elongating)하였다. 관심 있는 밴드가 Qiagen Gel Purification Kit를 사용하여 젤 정제되었고 TOPO-4 Cloning Kit (Invitrogen)를 사용하여 클론되었다. 생성되는 분리된 콜로니는 GeneAmp 9700 machine으로 올바른 크기의 삽입이 이루어졌는지 PCR로 검색되었다. PCR은 94°C에서 8분 동안 박테리아를 용해시키고, 그 후 94°C에서 30초 동안의 변성, 55°C에서 30초 동안의 어닐링(annealing), 및 72°C에서 1-4분 동안의 연장(elongating)의 사이클을 25회 반복하고, 마지막 사이클에서 72°C 7분 동안 연장(elongating)하여 수행되었다. 스크리닝을 위해 사용된 프라이머는 센스, 5'-ATTAACCCTCACTAAAGGGA-3' (SEQ ID NO: 48) 또는 5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3' (SEQ ID NO: 49), 안티센스 중쇄 또는 경쇄 컨스턴트 영역 프라이머들(상기 참조)이었다. 양성 클론이 클론을 증폭하기 위하여 4 ml 배양액에서 하룻밤 성장되었고 SNAP Miniprep (Invitrogen)이 수행되었다. 클론은 그 후 94°C에서 10초 동안 DNA를 변성시키고, 프라이머 (5'-ATTAACCCTCACTAAAGGGA-3' (SEQ ID NO: 50) 또는 5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3' (SEQ ID NO: 51))를 50°C에서 5초 동안 어닐링시키고, 4분 동안 72°C에서 연장시키는 사이클을 25회 반복하여 GeneAmp 9700 PCR 시스템 내 BigDye (Perkin Elmer) chemistry를 사용하여 시퀀싱되었다. 반응은 그 후 DyeEx Column (Qiagen)으로 끓겨졌고 Biosystems 310 automated DNA sequencer로 시퀀싱되었다.

결과:

세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 6개의 단일클론 항체의 가변 영역을 코딩하는 핵산 서열이 얻어졌고 도 5-10에 개시하였다. 특히 도 5A, 6A, 7A, 8A, 9A 및 10A는 각각 단일클론 항체 117.1, 368.1, 501.1, 776.1, 725.1 및 16H9의 가변 경쇄 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 나타내며, 도 5B, 6B, 7B, 8B, 9B 및 10B는 각각 단일클론 항체 117.1, 368.1, 501.1, 776.1, 725.1 및 16H9의 가변 중쇄 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 리더 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 이중선으로 밑줄그어졌고, CDR 서열을 코팅하는 뉴클레오타이드 서열은 단일선으로 밑줄그어졌다.

세포-관련 CA 125/O772P에 우선적으로 결합하는 6개의 단일클론 항체의 가변 영역의 아미노산 서열이 얻어졌고 도 5-10에 개시하였다. 특히 도 5C, 6C, 7C, 8C, 9C 및 10C는 각각 단일클론 항체 117.1, 368.1, 501.1, 776.1, 725.1 및 16H9의 가변 경쇄 영역의 아미노산 서열을 나타내며, 도 5D, 6D, 7D, 8D, 9D 및 10D는 각각 단일클론 항체 117.1, 368.1, 501.1, 776.1, 725.1 및 16H9의 가변 중쇄 영역의 아미노산 서열을 나타낸다. 리더 서열은 이중선으로 밑줄그어졌고, CDR 서열은 단일선으로 밑줄그어졌다.

6.7. OVCAR-3 상동액의 웨스턴 블로트 분석

본 명세서에서 제시된 실험 실시예들은 쉐드 CA 125/O772P에 결합하는 항체 368.1 또는 776.1의 능력을 직접적으로 시험하기 위해 설계된 웨스턴 블로트 분석을 제공한다. 본 명세서에서 제시된 데이터는 368.1 또는 776.1 항체가 직접적으로 쉐드 CA 125/O772P에 대응하는 고분자량 종(species)을 인식하지 않는다는 것을 보여준다. 대조적으로, 항체 OC125 및 M11은 고분자량 종을 인식하였고, 시험된 항체들 모두 3-repeat-포함 재조합 O772P 폴리펩타이드 대조군에 강하게 결합하였다. 따라서, 이러한 데이터는 368.1 및 776.1 항체가 세포-관련 CA 125/O772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합한다는 것을 추가로 확인하게 해준다.

방법:

배양된 OVCAR-3 세포로부터 매질 (10% 태아 소 혈청으로 보충된 RPMI)이 제거되었고 새롭게 보충된 매질로 대체되었다. 조건화된 매질의 부분표본(aliquot)이 1 시간, 6 시간, 24 시간, 48 시간 및 72 시간에 제거되었다. 보충된 매질은 시간 0 포인트로 사용되었다.

4-12% Bis-Tris (Invitrogen) 겔이 각 시점의 조건화된 매질 10 μ l로 로딩되었고 200 볼트로 45분 동안 전기영동으로 분리되었다. 정제된 O 772P 3-repeat 폴리펩타이드가 양성 대조군으로 100 ng, 10 ng 및 1.0 ng로 로딩되었다.

단백질이 30 볼트 1시간 동안 니트로셀룰로오스 막에 이송되었고 그 후 4°C에서 비-지방 우유로 하룻밤 동안 블로킹 되었다. 주 항체가 PBS 400 μ g/ml로 끓겨졌고 그 후 비-지방 우유 (OC125 Dako #M3519, M11 Dako #M3520)로 1:1000으로 희석되었다. 블렛은 10분 동안 PBS/Tween으로 세 번 세척되었다. 두 번째 항체 (항-생쥐 IgG Fc-특이, Sigma #B-7410)이 비-지방 우유로 1:1000로 희석되었고 실온에서 1 시간 동안 배양되었다. 세척이 위와 같이 수행되었다. NeutraAvidin-HRP (Molecular Probes #A-2664)이 PBS/Tween으로 1:1000으로 희석되었고 15분 동안 실온에서 배양되었다. 블롯은 많은 양의 PBS-Tween로 세척되었고 chemiluminescence (30초 노출)로 관찰되었다.

결과:

368.1 또는 776.1 항체가 쉐드 CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 결합하는지를 평가하기 위하여, 웨스턴 블롯 분석이 그들의 표면으로부터 쉐드 CA 125/O 772P에 알려진 배양된 OVCAR-3 세포의 상등액으로 수행되었다. 그러한 분석은 쉐드 CA 125/O 772P에 결합하는 항체의 능력을 직접 시험한다.

도 11에 나타나는 바와 같이, 웨스턴 분석의 결과는 368.1 또는 776.1 항체 어느 것도 쉐드 CA 125/O 772P에 대응하는 고 분자량 종을 인식하지 않는다는 것을 보여준다. 대조적으로 항체 M11 및 OC125는, 즉, 세포-관련 CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하지 않는 항체는 고 분자량 종을 인식하였다. 시험된 항체 4개 모두 CA 125/O 772P 막통과 도메인에 즉시 인접하는 세포의 도메인 서열을 함유하는 3-repeat-함유 재조합 O 772P 폴리펩타이드, O 772P 3-repeat에는 강하게 결합하였다. 따라서, 이러한 데이터는 368.1 및 776.1 항체가 세포-관련 CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합한다는 것을 추가로 확인하게 해준다.

6.8. 방사선표지된 776.1 항체는 종양 성장을 늦춘다

본 명세서에서 제시된 결과는 방사선표지된 776.1 항체가 성공적으로 인간 난소암 동물 모델에서 종양 성장을 늦춘다는 것을 보여준다.

방법:

동물

암컷 NCr nu/nu ("nude") 생쥐 (Taconic Farms, Germantown, N.Y.) 6-7 주령이 모든 연구에 사용되었다. 모든 동물은 임의로 음식 및 물이 주어졌다.

종양 세포 이식

효능 연구를 위하여, OVCAR-3 인간 난소 암종 세포계가 인간 난소암 모델에 사용되었다. OVCAR-3 세포계 (Hamilton, 등, Cancer Res. 43:5379-5389 (1983))는 인간 기원의 난소 아데노카시노마(adenocarcinoma)부터 유래되었고 ATCC (Catalog #HTB-161)로부터 구입되었다. OVCAR-3 세포는 37°C 5% CO₂에서 10% FBS로 보충된 RPMI-1640 내에 유지되었다. OVCAR-3은 세포 표면 위에 종양-관련 CA 125/O 772P를 발현한다. OVCAR-3 이종이식(xenograft)이 피하 이식되었고 면역-결핍 NCr nude 생쥐에서 엑토피(ectopic) 종양으로 성장되었다. 피하 OVCAR-3 종양 성장의 주된 척도는 이식 2주 후 까지 150-250 mm³ 종양이 성장하는지 여부이며, 이 시점에서 실험 치료가 시작된다.

피하 종양 형성을 촉진하기 위하여, OVCAR-3 계는 연속적으로 NCr nu/nu 생쥐의 복강에서 *in vivo* 증식되었다 (Burbridge 등, Int. J. Oncol. 15:1155-1162 (1999); Guichard 등, Clin. Cancer Res. 7:3222-3228(2001)). 피하 이식 전에, 10×10^6 *in vitro* 배양된 OVCAR-3 세포 (passage 32) 0.9% 생리식염수가 NCr nu/nu 생쥐 (passage 1)로 i.p. 주사되었다. 7주 후에, 종양 세포는 복막 세척(peritoneal lavage)에 의해 배양되었고 5×10^6 세포가 새로운 세트의 수령자

로 주사되었다 (passage 2). 4주 후에 세포는 복막 세척에 의해 배양되었고 한번 이상 통과되었고 (passaged) 5×10^6 세포가 새로운 세트의 수령자에게 주사되었다 (passage 3). 3주 후에 passage 3 세포가 배양되었고 CA 125/O772P 발현 및 생존능력이 평가되었다.

방사선면역치료 연구에서, passage 3 세포는 피하 종양 성장을 위해 이식되었다. passage 3 세포는 일반적으로 > 95% 생존가능하고 유동 세포측정에 의해 확인된 것처럼 높은 레벨의 CA 125/O772P 발현을 보유한다. 엑토피(ectopic), 고형 종양 성장에 있어, 세포는 Matrigel의 최종 농도가 7.3mg/mL이 되는 Matrigel (Matrigel, BD Biosciences: Lot #005002, 14.6mg/mL) 및 0.9% 생리식염수의 혼합액에 최종 농도가 15×10^6 세포/mL가 되게 재현탁되었다. 생쥐는 최종 투여량이 3×10^6 이 되게 세포 혼탁액 0.2 mL를 투여받았다. 세포 혼탁액은 23-게이지 주사바늘을 사용하여 복부 영역의 배 쪽(ventral side)에 피하 주사되었다. 주사 영역은 70% 에탄올 멸균 거즈로 칠해져 살균되었다. 이식 약 10일 후에 측정 가능한 (palpable) 종양이 두 개의 수직 치수 (two perpendicular dimension)로 전자 캘리퍼 (Fowler Instruments)로 측정되었다. 생쥐는 종양 크기에 기초하여 10개의 군으로 분류되었다. 한 연구 내 모든 그룹에 있어 평균 종양 부피에 유의성 있는 차이는 없었다. 종양 측정 및 관찰은 일주에 두 번 기록되었다. 종양 부피는 표준 공식 ($\text{길이} \times \text{폭}^2 \times 0.5$)을 사용하여 계산되었다.

776.1과 ^{131}I 요도드와의 커플링

생쥐 IgG1 776.1이 Perkin-Elmer에서 화학적 및 방사선 유도 손상을 최소화하고 고 용량의 ^{131}I 를 단일클론 항체에 커플링하는 효율적 수단인 수정된 IODO-GEN 방법 (Visser 등, J. Nucl. Med. 42:509-519 (2001))을 사용하여 요오드화되었다. 10 마이크로리터의 아스코르빅산 1.41mg/ml pH 5.0 용액이 10 mCi의 ^{131}I 에 첨가되었고 혼합물은 1분 동안 배양되었다. 이 후 100 μl 의 0.5M 포스페이트 pH 7.4가 추가되었다. 그 후 0.5 mg의 776.1 mAb가 첨가되었다 (필요한 부피를 설정하기 위하여 항체 농도를 사용하여 계산됨). 이 후 35 μl 의 IODO-GEN 1 mg/ml 아세토니트릴 용액이 첨가되었다. 3 분 배양 후에, 100 μl 의 아스코르빅 산 (25 mg/ml, pH 5.0)이 첨가되었다. 추가 5분 동안 배양 후에, 100 μl 의 0.1% 생쥐 혈청 알부민 (MSA) 50 mM PBS가 첨가되었다. 추가로 4분 동안 배양 후에, 보통의 생리식염수를 사용한 인스턴트 박막 크로마토그래피 (instant thin layer chromatography, ITLC)로 ^{131}I 봉입 (incorporation)이 분석되었다. 봉입 되지 않은 요오드는 완충액으로 0.1% MSA를 함유한 PBS를 사용하여 pre-packed NAP-10 컬럼 (Amersham-Pharmacia)를 사용하는 Sephadex G-25 크로마토그래피로 분리 제거되었다. 모든 절차는 실온에서 수행되었다. 정제된 mAb는 다시 ITLC로 유리 요오드 농도가 분석되었고, 유리 요오드 농도가 존재하는 총 요오드의 < 5%인 경우 적당한 것으로 판단하였다.

ELISA에 의한 방사선표지된 776.1의 면역반응성

방사선표지된 776.1의 면역반응성이 ELISA 분석으로 결정되었다. Immunlon 4 (Dynatech) 96 웰 플레이트가 웰 당 100 μl 의, 헤마그루티닌 (hemagglutinin, HA) 태그를 가진 O772P 3-repeat (친화도-정제된) 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ DPBS로 4°C에서 하룻밤 동안 코딩되었다. 다음날, 플레이트는 웰 당 200 μl 의 블로킹 완충액 (1% BSA를 가진 1X PBST)으로 실온에서 1 시간 동안 블로킹 되었다. 표지되지 않은 및 방사선표지된 776.1이 블로킹 완충액으로 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 희석되었고 웰 당 150 μl 로 세 번 블로킹된 플레이트의 첫 열에 첨가되었고; 남은 웰에 블로킹 완충액 100 μl 이 첨가되었다. 항체는 그 후 연속적으로 3배로 총 7회 희석되었다. 플레이트는 실온에서 1 시간 동안 배양되었고 0.05% Tween-20을 함유하는 DPBS (PBST; 웰 당 200 μl)로 세번 세척되었다. 시그널 검출을 위하여, 100 μl 의 1:2000으로 희석된 HRP-접합 염소 (goat) 항-생쥐 IgG (Amersham Biosciences Piscataway, NJ)가 각 웰에 첨가되었고 실온에서 1시간 동안 배양되었다. 플레이트는 PBST로 세 번 세척되었고 HRP 접합물을 TMB (KPL) 기질 및 H_2O_2 (1:1 비율, 100 $\mu\text{l}/\text{웰}$)의 혼합물을 첨가함으로써 검출되었다. 플레이트는 10분 동안 배양되었고 흡광도는 650 nm에서 플레이트 리더 (Molecular Devices)로 측정되었다. 면역 반응성은 50% 포화가 달성될 경우의 방사선표지된 및 표지되지 않는 항체의 농도를 비교함으로써 측정되었다.

[^{131}I]776.1을 이용한 단회-투여 방사선피로 치료 (RIT)

설정된 OVCAR-3 종양 (이상적으로는 150 mm^3 내지 250 mm^3 부피 범위)을 가진 생쥐에 [^{131}I] 776.1 (생쥐 IgG₂) 0.2 ml 0.9% 소디움 클로라이드가 단회 i.v. 주사투여되었다. 모든 연구에 있어, 10마리 생쥐 그룹들이 100 또는 300 μCi 의 [^{131}I] 776.1 0.9% 소디움 클로라이드를 투여받았다. 대조군 그룹은 0.9% 소디움 클로라이드 단독 또는 표지되지 않은 776.1을 고-용량 방사선표지된 776.1 그룹에 주어진 단백질 용량과 동일한 용량으로 투여받은 생쥐로 구성되었다. 종양은 일주일에 두 번 측정되었다. 생쥐는 종양 부피가 그들의 체중의 10% 보다 커졌을 때 희생되었다.

결과:

인간 난소암 OVCAR-3 이종이식 종양 모델에 단회, 정맥 투여된 [¹³¹I] 776.1 IgG1 항체는 300 µCi 용량에서 세 연구그룹, 및 100 µCi 용량에서 세 연구그룹 중 두 그룹에서 IgG1 대조군과 비교하여 종양 성장을 늦추는데 효과적이었다. 연구그룹 중 하나의 요약은 도 12를 참조. 생리식염수 대조군과 비교하여, [¹³¹I] 776.1 IgG1은 100 µCi 및 300 µCi 용량 모두에서 세 연구그룹 중 두 그룹에서 종양 성장을 늦추는데 효과적이었다. 세 연구그룹 중 두 그룹에서, 300 µCi 용량의 [¹³¹I] 776.1 IgG1는 연구 시작 시점의 출발 종양 부피보다 적은 평균 종양 부피를 얻는 것으로 정의되는 종양 퇴행(regression)을 나타내었다. 한 연구그룹에서, 생리식염수 대조군과 비교하여 두 개의 [¹³¹I] 776.1 IgG1 처리 그룹 모두에 있어 종양 성장의 통계적 늦춤이 관찰되지 않았고 300 µCi [¹³¹I] 776.1 IgG1 투여 그룹에서 퇴행이 관찰되지 않았다. 그러나 이러한 특정 연구의 시작 시점에서 출발 평균 종양 부피는 두 연구의 남아있는 것들보다 상당히 컸다.

유사한 결과가 [⁹⁰Y] 776.1 방사선표지된 항체를 사용하여 얻어졌다. 특히 종양 성장의 유의성 있는 감소($p < 0.05$)가 관측되었다. 4개의 연구그룹 중 3개에서, 성장의 유의성 있는 감소가 항체의 50 µCi 및 150 µCi에서 관측되었다. 이러한 동일한 세 연구그룹에서, 종양 성장의 퇴행이 [⁹⁰Y] 776.1의 높은 용량에서 관측되었고, 종양 성장에 대한 효과는 6 mg/kg 시스플라틴 3회 투여와 동등하거나 더 좋았다.

7.0. 항체/항원-결합 항체 절편 경쟁 분석

ELISA 교차-경쟁 분석

시험된 항체는 EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotinylation 키트 (Pierce Biotechnology, Rockford, IL)를 사용하여 제조자의 지시서에 따라 비오티닐화(biotinylated)되었고 반응하지 않은 비오티닐화 시약은 1L 포스페이트-완충된 생리식염수로 48시간 동안 4°C에서 완충액 2번 교환하며 투석하여 제거하였다. 96 웰 플레이트가 (웰 당) 100 µl의 1 µg/ml 3 rpt-O 772P 바이카보네이트 완충액 (0.2 M Na₂CO₃/NaHCO₃, pH 9.6, Sigma)로 4°C에서 하룻밤 동안 코딩되었다.

다음날, 플레이트는 200µl 1x PBST (1x 포스페이트-완충된 생리식염수 (PBS), 0.05% 트윈 20)로 세 번 세척되었고 1% 소 혈청 알부민 (BSA)을 함유하는 100 µl의 1x PBST로 실온에서 1 시간 동안 블로킹 되었다. 1x PBST로 세 번 세척한 후에, 플레이트의 분리된 웰에 첨가된 95 µl 1 x PBST + 1% BSA 내 (나중 단계에서 첨가되는 표지된 항체와 비교하여) 0- 내지 1000-배 과량의 경쟁자 항체로부터 적정 곡선(titration curve)이 그려졌고 1시간 동안 37°C에서 배양되었다. 비오티닐화된 항체는 그 후 5 µl 1 x PBST + 1% BSA로 첨가되었고, 실온에서 추가 1시간 동안 배양되었다. 첨가된 비오티닐화된 항체의 농도는 아래에서 설명된 검출 조건을 사용하여 경쟁자가 없는 조건에서 O 772P3-rpt 단백질의 70% 최대 결합이 달성될 수 있는 농도이다. 첨가된 항체의 양은 결합 특성에 달려 있고 일반적으로 예비 연구에서 실험적으로 결정된다.

플레이트는 그 후 1x PBST로 세 번 세척되었다. 시그널 검출을 위하여, 100 µl의 Streptavidin-HRP (1x PBST + 1% BSA로 1:4000-1:8000 희석; Southern Biotechnology Associates, Inc. (Birmingham, Alabama))가 각 웰에 첨가되었고 실온에서 1 시간 동안 배양되었다. 플레이트는 다시 1x PBST로 세 번 세척되었다. 최종적으로, TMB 기질 및 H₂O₂ (1:1 비율, KPL)의 혼합물 100 µl가 각 웰에 첨가되었고 흡광도가 405 nm에서 플레이트 리더(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA)로 측정되었다. 분석은 각 항체에 대하여 세 번 수행되었고 평균값이 계산되었다.

비-특이 경쟁(competition)은 특정 경쟁자(competitor)의 존재하에서 정상적인 생쥐 IgG1를 사용하여 결정되었다. 자가-경쟁(self-competition) 뿐만 아니라 공시료(blank) 및 개별 시약의 대조군들 또한 각 실험에 포함되었다. 퍼센트 억제(마이너스 비-특이 경쟁)은 경쟁자 경쟁의 함수로 플롯 되었고, IC₅₀ 또는 50% 경쟁이 관측되는 경쟁자의 농도가 측정되었다.

FACS 교차-경쟁 분석

시험된 항체는 EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotinylation 키트 (Pierce Biotechnology, Rockford, IL)를 사용하여 제조자의 지시서에 따라 비오티닐화(biotinylated)되었고 반응하지 않은 비오티닐화 시약은 1L 포스페이트-완충된 생리식염수

로 48시간 동안 4°C에서 완충액 2번 교환하며 투석하여 제거하였다. 배양된 OVCAR-3 세포가 모아졌고 FACS 완충액(1 x Dulbecco's 포스페이트-완충된 생리식염수(DPBS), 0.05% NaN₃, 2% BSA)로 세척되었다. 경쟁 분석은 50 μl의 총 부피로 96 웰 플레이트에 준비되었다.

(나중 단계에서 첨가되는 비오티닐화된 항체와 비교하여) 0- 내지 1000-배 과량의 표지되지 않은 경쟁자 항체로부터 적정(titration) 20 μl가 (분리된 웰 내) FACS 완충액 내 혼탁된 25 μl의 OVCAR-3 세포 (4×10^5)에 첨가되었고, 강하게 교반된 후, 96 웰 플레이트에 분배되었고, 실온에서 30분 동안 배양되었다. FACS 완충액 내 비오티닐화된 항체 5 마이크로리터가 그 후 세포를 함유하는 각 웰에 첨가되었고, 강하게 혼합되었고, 실온에서 추가 30분 동안 배양되었다. 사용된 항체의 양은 퍼센트 양성 세포로 발현된 OVCAR-3 세포의 최대 결합이 달성되는 최소 농도이다. 사용된 항체의 양은 결합 특성에 달려 있고 일반적으로 예비 연구에서 실험적으로 결정된다.

세포는 그 후 수집되었고 200 μl의 FACS 완충액으로 두 번 세척되었다. 시그널 검출을 위하여, 세포는 500 μl의 1 μg/ml FITC-접합 Streptavidin (FACS 완충액으로 제조된, Molecular Probes, Eugene, OR)으로 실온에서 30분 동안 배양되었다. 200 μl의 FACS 완충액으로 두 번 세척한 후에, 개별 웰의 세포는 400 μl의 FACS 완충액에 재현탁되었고 FACS 분석이 수행되었다. FACS 분석은 FACScan instrumentation 및 CellQuest 소프트웨어 (Becton Dickinson)를 사용하여 제조자의 추천서에 따라 수행되었다. 각 실험 조건에서 얻어진 데이터는 10,000 이벤트를 나타낸다. 공시료(blank) 및 개별 시약들에 대한 대조군들, 및 자가-경쟁 또한 각 실험에서 수행되었다. 퍼센트 억제 (마이너스 비-특이 경쟁), 또는 퍼센트-양성 염색 OVCAR-3 세포 내 감소는 경쟁자 경쟁의 함수로 플롯 되었고, IC₅₀ 또는 50% 경쟁이 관측되는 경쟁자의 농도가 측정되었다.

항체는 경쟁자에 대한 IC₅₀이 표지된 항체 위 단지 약 100-배의 농도에 있다면 경쟁적(competetive)인 것으로 생각된다. 더 바람직하게, 항체는 경쟁자에 대한 IC₅₀이 표지된 항체 위 단지 약 10-배의 농도에 있다면 경쟁적(competetive)인 것으로 생각된다. 더욱 바람직하게, 항체는 경쟁자에 대한 IC₅₀이 표지된 항체와 단지 대등한 몰의 농도에 있다면 경쟁적(competetive)인 것으로 생각된다.

8.0. 하이브리도마 기탁

단일클론 항체 117.1을 분비하는 하이브리도마 117.1이 2002년 8월 2일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 American Type Culture Collection (ATCC®), 10801 Boulevard 대학, Manassass, Virginia 20110-2209에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-4567이다.

단일클론 항체 368.1을 분비하는 하이브리도마 368.1이 2002년 8월 2일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-4568이다.

단일클론 항체 501.1을 분비하는 하이브리도마 501.1이 2002년 8월 2일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-4569이다.

단일클론 항체 776.1을 분비하는 하이브리도마 776.1이 2002년 8월 2일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-4570이다.

단일클론 항체 15C9을 분비하는 하이브리도마 15C9이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5106이다.

단일클론 항체 16C7을 분비하는 하이브리도마 16C7이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5107이다.

단일클론 항체 16H9을 분비하는 하이브리도마 16H9이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5108이다.

단일클론 항체 4E7을 분비하는 하이브리도마 4E7이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5109이다.

단일클론 항체 7A11을 분비하는 하이브리도마 7A11이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5110이다.

단일클론 항체 7C6을 분비하는 하이브리도마 7C6이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5111이다.

단일클론 항체 7F10을 분비하는 하이브리도마 7F10이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5112이다.

단일클론 항체 7G10을 분비하는 하이브리도마 7G10이 2003년 6월 4일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5245이다.

단일클론 항체 7H1을 분비하는 하이브리도마 7H1이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5114이다.

단일클론 항체 8A1을 분비하는 하이브리도마 8A1이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5115이다.

단일클론 항체 8B5을 분비하는 하이브리도마 8B5이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5116이다.

단일클론 항체 8C3을 분비하는 하이브리도마 8C3이 2003년 6월 4일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 5246이다.

단일클론 항체 8E3을 분비하는 하이브리도마 8E3이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5118이다.

단일클론 항체 8G9을 분비하는 하이브리도마 8G9이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5119이다.

단일클론 항체 325.1을 분비하는 하이브리도마 325.1이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5120이다. 단일클론 항체 325.1을 분비하는 하이브리도마 325.1이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5120이다.

단일클론 항체 621.1을 분비하는 하이브리도마 621.1이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5121이다.

단일클론 항체 633.1을 분비하는 하이브리도마 633.1이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5122이다.

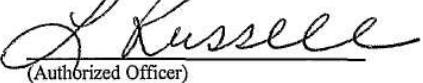
단일클론 항체 654.1을 분비하는 하이브리도마 654.1이 2003년 6월 4일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5247이다.

단일클론 항체 725.1을 분비하는 하이브리도마 725.1이 2003년 4월 3일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5124이다.

단일클론 항체 446.1을 분비하는 하이브리도마 446.1이 2003년 9월 25일 특허 절차의 목적을 위한 미생물 기탁의 국제적 인식에 대한 부다페스트 조약의 규정에 따라 ATCC®에 기탁 되었으며, 액세션 번호는 PTA-5549이다.

본 발명은 본 명세서에서 설명된 특정 실시예에 의해 그 범위가 한정되지 않는다. 정말로, 본 명세서에서 설명된 것들에 대하여 본 발명의 다양한 변형들이 전술한 설명 및 다음의 도면으로부터 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 분명할 것이다. 그러한 변형들은 첨부된 특허청구범위의 범위 내에 있도록 의도된 것이다.

본 명세서에서 언급된 모든 문헌, 특히 및 특허출원은 인용에 의하여 개별 문헌, 특히 또는 특허출원이 특정적이고 개별적으로 인용에 의하여 본 명세서에 포함된다고 표시된 것과 같이 동일한 정도로 본 명세서에 포함된다. 본 명세서 참고문헌의 언급 또는 설명이 그러한 문헌이 본 발명에 대한 선행문헌이라고 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

| MICROORGANISMS | |
|---|--|
| Optional Sheet in connection with the microorganism referred to on page 67-68, lines 1-30; 1-18 of the description : | |
| A. IDENTIFICATION OF DEPOSIT : | |
| Further deposits are identified on an additional sheet : | |
| Name of depositary institution : American Type Culture Collection | |
| Address of depositary institution (including postal code and country) : 10801 University Blvd. Manassas, VA 20110-2209 US | |
| Date of deposit : August 2, 2002 Accession Number : PTA-4567 | |
| B. ADDITIONAL INDICATIONS : (leave blank if not applicable). This information is continued on a separate attached sheet | |
| | |
| C. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE : (if the indications are not all designated States) | |
| | |
| D. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS : (leave blank if not applicable) | |
| The indications listed below will be submitted to the International Bureau later. (Specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit") | |
| | |
| E. <input checked="" type="checkbox"/> This sheet was received with the International application when filed (to be checked by the receiving Office) | |
|  (Authorized Officer) | |
| <input type="checkbox"/> The date of receipt (from the applicant) by the International Bureau : | |
| was _____ _____ (Authorized Officer) | |

Form PCT/RO/134 (January 1981)

Form PCT/RO/134 (cont.)

American Type Culture Collection

10801 University Blvd.,
Manassas, VA 20110-2209
US

| <u>Accession No.</u> | <u>Date of Deposit</u> |
|----------------------|------------------------|
| PTA-4568 | August 2, 2002 |
| PTA-4569 | August 2, 2002 |
| PTA-4570 | August 2, 2002 |
| PTA-5106 | April 3, 2003 |
| PTA-5107 | April 3, 2003 |
| PTA-5108 | April 3, 2003 |
| PTA-5109 | April 3, 2003 |
| PTA-5110 | April 3, 2003 |
| PTA-5111 | April 3, 2003 |
| PTA-5112 | April 3, 2003 |
| PTA-5114 | April 3, 2003 |
| PTA-5115 | April 3, 2003 |
| PTA-5116 | April 3, 2003 |
| PTA-5118 | April 3, 2003 |
| PTA-5119 | April 3, 2003 |
| PTA-5120 | April 3, 2003 |
| PTA-5121 | April 3, 2003 |
| PTA-5122 | April 3, 2003 |
| PTA-5124 | April 3, 2003 |
| PTA-5245 | June 4, 2003 |
| PTA-5246 | June 4, 2003 |
| PTA-5247 | June 4, 2003 |
| PTA-5549 | September 25, 2003 |

(57) 청구의 범위**청구항 1.**

쉐드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ELISA 경쟁(Competition) 분석에서, 도 1의 웨بت이드에 25배(중량/중량) 과량의 쉐드(shed) CA 125/O 772P 존재 하에서 도 1의 웨بت이드에 약 25% 이하의 결합 저해를 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 3.

제2항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ELISA 경쟁(Competition) 분석에서, 도 1의 웨بت이드에 25배(중량/중량) 과량의 쉐드(shed) CA 125/O 772P 존재 하에서 도 1의 웨بت이드에 약 20% 이하의 결합 저해를 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 4.

제3항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ELISA 경쟁(Competition) 분석에서, 도 1의 웹타이드에 25배(중량/중량) 과량의 쉘드(shed) CA 125/O 772P 존재 하에서 도 1의 웹타이드에 약 15% 이하의 결합 저해를 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 5.

제4항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ELISA 경쟁(Competition) 분석에서, 도 1의 웹타이드에 25배(중량/중량) 과량의 쉘드(shed) CA 125/O 772P 존재 하에서 도 1의 웹타이드에 약 10% 이하의 결합 저해를 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 6.

제5항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ELISA 경쟁(Competition) 분석에서, 도 1의 웹타이드에 25배(중량/중량) 과량의 쉘드(shed) CA 125/O 772P 존재 하에서 도 1의 웹타이드에 약 5% 이하의 결합 저해를 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 7.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 유동 세포 분석(Flow Cytometry Assay)에서, 퍼센트-양성 세포에 의해 측정된 적어도 약 0.05 mg/ml 쉘드(shed) CA 125/O 772P의 IC_{50} 값을 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 8.

제7항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 유동 세포 분석(Flow Cytometry Assay)에서, 퍼센트-양성 세포에 의해 측정된 적어도 약 0.25 mg/ml 쉘드(shed) CA 125/O 772P의 IC_{50} 값을 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 9.

제8항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 유동 세포 분석(Flow Cytometry Assay)에서, 퍼센트-양성 세포에 의해 측정된 적어도 약 0.5 mg/ml 쉘드(shed) CA 125/O 772P의 IC_{50} 값을 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 10.

제9항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 유동 세포 분석(Flow Cytometry Assay)에서, 퍼센트-양성 세포에 의해 측정된 적어도 약 0.75 mg/ml 쉘드(shed) CA 125/O 772P의 IC_{50} 값을 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 11.

제10항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 유동 세포 분석(Flow Cytometry Assay)에서, 퍼센트-양성 세포에 의해 측정된 적어도 약 1.0 mg/ml 쉘드(shed) CA 125/O 772P의 IC₅₀값을 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 12.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 도 1의 웨타이드에는 결합하나 쉘드(shed) CA 125/O 772P에는 인지할 수 있는 정도로 결합하지 않는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 13.

제1항에 있어서, 상기 항체는 IgG 군 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 14.

제13항에 있어서, 상기 항체는 IgG₁ 아이소타입인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 15.

제1항에 있어서, 상기 항체는 모노클론 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 16.

제15항에 있어서, 상기 항체는 키메라 모노클론 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 17.

제16항에 있어서, 상기 키메라 모노클론 항체는 Cy1 컨스탄트 지역을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 18.

제16항에 있어서, 상기 키메라 모노클론 항체는 Cy4 컨스탄트 지역을 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 19.

제1항에 있어서, 상기 항체는 인간화된(humanized) 모노클론 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 20.

제15항에 있어서, 상기 항체는 인간화된(humanized) 모노클론 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 21.

제1항에 있어서, 상기 항체는 바이(bi)-특이적인 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 22.

제1항에 있어서, 상기 항체는 다중(multi)-특이적인 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 23.

제1항에 있어서, 상기 항체는 키메라 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 24.

제1항에 있어서, 상기 항체는 단일 체인 항체, 다이설파이트-링크된 F_v s, 단일 체인 F_v s, 또는 항-이디오타입 항체인 것을 특징으로 하는 분리된 항체.

청구항 25.

제1항에 있어서, 상기 항원-결합 항체 절편은 Fab 절편, $F(ab') 절편, VL-함유 절편, VH-함유 절편 또는 캠프리멘타리-결정 지역(complementary-determining region ;CDR)-함유 절편인 것을 특징으로 하는 항원-결합 항체 절편.$

청구항 26.

하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호PTA-5109), 7A11 (ATCC 액세션 번호® PTA-5110), 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5111), 7F10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 8E3 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 15C9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5106), 16C7(ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 16H9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 501.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA- 5121), 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 654.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 725.1(ATCC® PTA-5124), 또는 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)에 의하여 생산되는 모노클론 항체.

청구항 27.

제26항의 모노클론 항체와 결합을 경쟁하는 모노클론 항체.

청구항 28.

하이브리도마 4E7(ATCC® 액세션 번호 PTA- 5109), 7A11(ATCC® 액세션 번호 PTA-5110), 7C6(ATCC® 액세션 번호 PTA-5111), 7F10(ATCC® 액세션 번호 PTA-5112), 7G10 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5245), 7H1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5114), 8A1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5115), 8B5(ATCC® 액세션 번호 PTA-5116), 8C3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5246), 8E3(ATCC® 액세션 번호 PTA-5118), 8G9(ATCC® 액세션 번호 PTA-5119), 15C9(ATCC®액세션 번호 PTA-5106), 16C7 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5107), 16H9 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5108), 117.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4567), 325.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5120), 368.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4568), 446.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5549), 501.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-4569), 621. 1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-5121), 633.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5122), 654.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5247), 725.1(ATCC® 액세션 번호 PTA-5124), 또는 776.1 (ATCC® 액세션 번호 PTA-4570)로 기탁된 하이브리도마.

청구항 29.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 27에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 (light chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 30.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 29에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 (light chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 31.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 31에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 (light chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 32.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 33에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 (light chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 33.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 54에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 (light chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 34.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 56에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 (light chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 35.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 28에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 36.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 30에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 37.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 32에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 38.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 34에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 39.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 53에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 40.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 55에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 41.

제29항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 28에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 42.

제30항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 30에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 43.

제31항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 32에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 44.

제32항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 34에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 45.

제33항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 53에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 46.

제34항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 서열번호 55에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 (heavy chain variable region)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 47.

제29항 내지 제40항 중의 임의의 한항의 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 가변 체인 부분을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 분리된 핵산 분자.

청구항 48.

제41항에 있어서, 상기 핵산 분자는 서열번호 35,36,37,38,39,40, 41,42, 52,57, 58 또는 59의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 분자.

청구항 49.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 BIA코어 친화 분석(Affinity Assay)에서 측정된 약 100nM 이하의 Kd값을 가지며 도1의 웹타이드에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 50.

제49항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 BIA코어 친화 분석(Affinity Assay)에서 측정된 약 10nM 이하의 Kd값을 가지며 도1의 웹타이드에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 51.

제50항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 BIA코어 친화 분석(Affinity Assay)에서 측정된 약 1nM 이하의 Kd값을 가지며 도1의 웹타이드에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 52.

제51항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 BIA코어 친화 분석(Affinity Assay)에서 측정된 약 100pM 이하의 Kd값을 가지며 도1의 웹타이드에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 53.

제52항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 BIA코어 친화 분석(Affinity Assay)에서 측정된 약 10pM 이하의 Kd값을 가지며 도1의 웹타이드에 결합하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 54.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 아미노산 치환, 결손 또는 부가 또는 그것의 결합에 의하여 변형되고, 변형되지 아니한 해당 항체 또는 항원-결합 항체 절편과 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 대하여 동일 또는 증가된 친화도를 갖는 것을 특징으로 하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 55.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 아미노산 치환, 결손 또는 부가 또는 그것의 결합에 의하여 변형되고, 변형되지 아니한 해당 항체 또는 항원-결합 항체 절편과 비교하여 동일 또는 증가된 혈청 반감기를 나타내는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 56.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ADCC 분석에서 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 57.

제56항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 50:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 58.

제56항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 25:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 59.

제56항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ml 당 5.0 μ g 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 60.

제56항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 ml 당 50ng 항체 또는 항원-결합 절편의 농도, 12.5:1의 이펙터:타겟 비율의 ADCC 분석에서 적어도 약 10%의 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 61.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 보체-의존적 세포독성(complement-dependent cytotoxicity;CDC) 분석에서 CA 125/O 772P-양성 종양 세포의 라이시스를 중재하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 62.

제61항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 5 μ g/ml 항체 또는 항원-결합 절편에서 약 15% 라이시스에서부터 0.1 μ g/ml의 항체 또는 항원-결합 절편에서 약 95% 라이시스까지의 범위의 라이시스를 중재하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 63.

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 절편은 CA 125/O 772P-양성 종양 세포 성장을 저해하는 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 64.

쉐드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편 및 약학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 65.

쉐드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 모노클론 항체 또는 항원-결합 모노클론 항체 절편 및 약학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 66.

포장 물질 및 그 포장 물질내에 포함된 쉐드(shed) CA 125/O 772P 폴리펩타이드와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P 폴리펩타이드에 우선적으로 결합하는 분리된 항체 또는 항원-결합 항체 절편 및 약학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 대상에 투여하기 적합한 형태의 약학 조성물을 포함하는 제조물.

청구항 67.

제66항에 있어서, 약학 조성물의 투여 또는 사용에 관한 인쇄 지시물을 더욱 포함하는 제조물.

청구항 68.

제67항에 있어서, 상기 지시물은 하나 이상의 CA 125/0772P-연관된 이상 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 69.

제67항에 있어서, 상기 지시물은 하나 이상의 세포 증식 이상 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 70.

제69항에 있어서, 상기 지시물은 하나 이상의 암 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 71.

제70항에 있어서, 상기 지시물은 하나 이상의 난소암 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 72.

제66항에 있어서, 약학 조성물의 투여 또는 사용에 관한 레이블을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 73.

제66항에 있어서, 상기 레이블은 하나 이상의 CA 125/0772P-연관된 이상 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 74.

제73항에 있어서, 상기 레이블은 하나 이상의 세포 증식 이상 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 75.

제74항에 있어서, 상기 레이블은 하나 이상의 암 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 76.

제75항에 있어서, 상기 레이블은 하나 이상의 난소암 증상의 치료 또는 예방에 필요한 투여량을 시사하는 것을 특징으로 하는 제조물.

청구항 77.

이종성 물질(heterologous agent)과 실시가능하게 연결된 쉘드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 포함하는 융합 폴리펩타이드.

청구항 78.

쉘드(shed) CA 125/O 772P와 비교하여 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하고 세포 증식 이상의 증상을 완화하기에 충분한 양의 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 그러한 완화가 필요한 대상에 투여하는 것을 포함하는 CA 125/O 772P-연관된 이상 증상을 완화하는 방법.

청구항 79.

제78항에 있어서, 상기 CA 125/O 772P-연관된 이상은 세포 증식 이상인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 80.

제79항에 있어서, 상기 세포 증식 이상은 암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 81.

제80항에 있어서, 상기 암은 경부암 또는 자궁암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 82.

제80항에 있어서, 상기 암은 유방암 또는 폐암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 83.

제80항에 있어서, 상기 암은 난소암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 84.

제78항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 모노클론 항체 또는 항원-결합 모노클론 항체 절편인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 85.

제78항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 약 5 μ g/kg에서 약 10mg/kg의 용량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 86.

제78항에 있어서, 상기 방법은 복합 암 치료의 일부로 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 87.

제86항에 있어서, 상기 복합 암 치료는 대상에 화학요법제의 투여를 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 88.

제87항에 있어서, 상기 화학요법제는 파크리타셀(paclitaxel) 또는 시스프라틴(cisplatin)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 89.

제86항에 있어서, 상기 복합 암 치료는 방사선 요법을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 90.

제78항에 있어서, 상기 항체는 325.1, 621.1, 633.1, 654.1, 725.1, 8G9, 7F10, 8A1, 8C3, 15C9, 8E3, 8B5, 7G10, 16C7, 7C6, 7H1, 16H9, 7All, 4E7, 117.1, 368.1, 446.1, 501.1 및 776.1로 구성된 군으로부터 선택된 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 91.

(a) 세포-연관된 CA 125/O 772P 또는 쉐드 CA 125/O 772P를 포함하는 웨타이드에 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 결합을 가능하게 하는 조건 하에서 쉐드 CA 125/O 772P 존재 하에서 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웨타이드와 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 배양하는 단계;

(b) 쉐드 CA 125/O 772P 및 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 상기 웨타이드와 결합하지 않은 항체 또는 항원-결합 항체 절편을 제거하는 단계;

(c) 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 상기 웨타이드와 결합한 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 양을 측정하는 단계; 및

(d) 쉐드 CA 125/O 772P 부존재 하에서 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 상기 웨타이드와 결합한 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 양과 (c)에서 측정한 양을 비교하는 것을 포함하는 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 동정을 돋는 방법.

청구항 92.

제91항에 있어서, 상기 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 상기 웨타이드는 고체 표면에 고정화된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 93.

제92항에 있어서, 상기 방법은 ELISA에서 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 94.

제91항에 있어서, 상기 쉐드 CA 125/O 772P 및 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웹타이드는 쉐드 CA 125/O 772P 대 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웹타이드의 비율이 약 25:1(중량/중량)의 비로 존재하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 95.

(a) 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웹타이드의 결합을 가능하게 하는 조건 하에서 쉐드 CA 125/O 772P 존재 하에서 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웹타이드와 항체 또는 항원-결합 절편을 접촉하는 단계;

(b) 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 비결합 웹타이드를 제거하는 단계;

(c) 항체 또는 항원-결합 절편에 의하여 결합된 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웹타이드의 양을 측정하는 단계; 및

(d) 쉐드 CA 125/O 772P 부존재 하에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 결합한 세포-연관된 CA 125/O 772P를 포함하는 웹타이드의 양과 (c)에서 측정한 양을 비교하는 것을 포함하는 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 동정을 돋는 방법.

청구항 96.

제95항에 있어서, 상기 쉐드 CA 125/O 772P의 양은 약 25배(중량/중량) 과량인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 97.

제95항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 항체 절편은 고체 표면에 고정화된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 98.

제97항에 있어서, 상기 방법은 ELISA에서 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 99.

(a) 항체 또는 항원-결합 항체 절편에 CA 125/O 772P의 결합을 가능하게 하는 조건 하에서 쉐드 CA 125/O 772P 존재 하에서 CA 125/O 772P를 발현하는 세포로 항체 또는 항원-결합 절편을 접촉하는 단계;

(b) 비결합 세포를 제거하는 단계;

(c) 항체 또는 항원-결합 절편에 의하여 결합된 CA 125/O 772P를 발현하는 세포의 양을 측정하는 단계; 및

(d) 상기 쉐드 CA 125/O 772P 부존재 하에서 항체 또는 항원-결합 항체 절편이 결합하는 CA 125/O 772P를 발현하는 세포의 양과 (c)에서 측정한 양을 비교하는 것을 포함하는 세포-연관된(associated) CA 125/O 772P에 우선적으로 결합하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편의 동정을 돋는 방법.

청구항 100.

제99항에 있어서, 상기 쉐드 CA 125/O 772P의 양은 적어도 약 0.5mg/ml인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 101.

제99항에 있어서, 상기 측정은 유동 세포 분석(flow cytometry)에 의하여 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 102.

제99항에 있어서, 상기 측정은 형광 활성화 세포 정렬(fluorescence activated cell sorting)에 의하여 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 103.

제1항의 항체를 분비하는 하이브리도마 세포.

청구항 104.

세포 독성제에 부착된 제1항의 분리된 항체 또는 항원-결합 절편.

청구항 105.

제104항에 있어서, 상기 세포 독성제는 방사성 동위원소인 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 절편.

청구항 106.

제105항에 있어서, 상기 방사성 동위원소는 ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 및 ^{90}Y 로 구성된 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 분리된 항체 또는 항원-결합 절편.

청구항 107.

세포 독성제에 부착된 제26 또는 제27항의 모노클론 항체.

청구항 108.

제107항에 있어서, 상기 세포 독성제는 방사성 동위원소인 것을 특징으로 하는 모노클론 항체.

청구항 109.

제108항에 있어서, 상기 방사성 동위원소는 ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 및 ^{90}Y 로 구성된 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 모노클론 항체.

청구항 110.

제64항 또는 제65항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 절편은 세포 독성제에 부착된 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 111.

제110항에 있어서, 상기 세포 독성제는 방사성 동위원소인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 112.

제111항에 있어서, 상기 방사성 동위원소는 ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 및 ^{90}Y 로 구성된 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 113.

제78항에 있어서, 상기 항체 또는 항원-결합 절편은 세포 독성제로부터 부착된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 114.

제113항에 있어서, 상기 세포 독성제는 방사성 동위원소인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 115.

제114항에 있어서, 상기 방사성 동위원소는 ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 및 ^{90}Y 로 구성된 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 116.

325.1, 621.1, 633.1, 654.1, 725.1, 8G9, 7F10, 8A1, 8C3, 15C9, 8E3, 8B5, 7G10, 16C7, 7C6, 7H1, 16H9, 7A11, 4E7, 117.1, 368.1, 446.1, 501.1, 및 776.1로 구성된 군으로부터 선택된 모노클론 항체 또는 그것의 항원-결합 항체 절편.

청구항 117.

제116항의 모노클론 항체의 결합과 경쟁하는 항체 또는 항원-결합 항체 절편.

청구항 118.

325.1, 621.1, 633.1, 654.1, 725.1, 8G9, 7F10, 8A1, 8C3, 15C9, 8E3, 8B5, 7G10, 16C7, 7C6, 7H1, 16H9, 7A11, 4E7, 117.1, 368.1, 446.1, 501.1, 및 776.1로 구성된 군으로부터 선택된 모노클론 항체 또는 그것의 항원-결합 항체 절편 및 약학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 119.

도1의 웹타이드에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 항체 절편.

도면

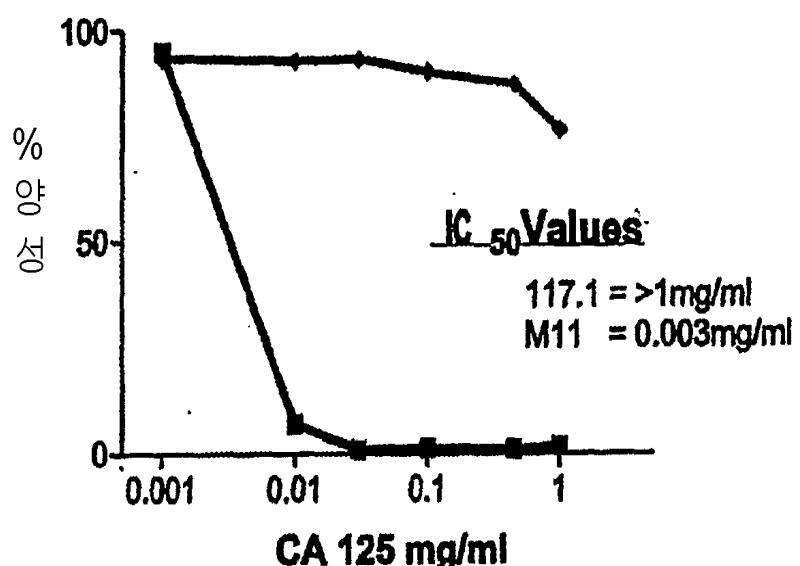
도면1

1 AAQPARRARR TKLFTHRSSV STTSTPGTPT VYLGASKTPA SIFGPSAASH
 51 LLILIFTLNFT ITNLRYEENN WPGSRKFNTT ERVLQGLLRP LFKNTSVGPL
 101 YSGCRLTLLR PEKDGEATGV DAICTHRPDP TGPGLDREQL YLELSQLTHS
 151 ITTELGPYTLID RDSLYVNGFT HRSSVPTTST GVVSEEPFTL. NFTINNLRYM
 201 ADMGQPGSLK FNITDNVMKH LLSPFLQRSS LGARYTGCRV IALRSVKNGA
 251 ETRVDLLCTY LQPLSGPGLP IKQVFHELSQ QTHGITRLGP YSLDKDSLYL
 301 NGYNEPGPDE PPTTPKPATT FLPPPLSEATT AMGYHLKLT LTNFTISNLQY
 351 SPDMGKGSAT FNSTEGVILQH LLRPLFQKSS MGPFYLGCQL ISLRPEKOGA
 401 ATGVDTTCTY HPDÈVPGPLD IQQLYNLSQ LTHGVTOOLGF YVLDRDSLFI
 451 NGYAPONLSI RGEYQINFH VNNNLSNPDP TSSEYITLLR DIODKVTTLY
 501 KGSOLHDTFR FCLVTNLTMD SVIYTVKALF SSNLDPSLVE OVFLDKTINA
 551 SFRMLGSTXO LVDIHWTEME SSVYOPTSSS STOHFYLNFT ITMLPYSODK
 601 AOPGTTNYOR NKRNLIEDALN QLERNSSIKS YFSDCOVSTF RSVENRHTG
 651 VDSILCNESPL ARRYDVRVAIX EEFLEMTRNG TOLONFTLDR SSVLVDGYFP
 701 NRNEPLTGNS ADIQHSGGRS SLEGPRFZQK LISEEDILNMH TGHHRHH

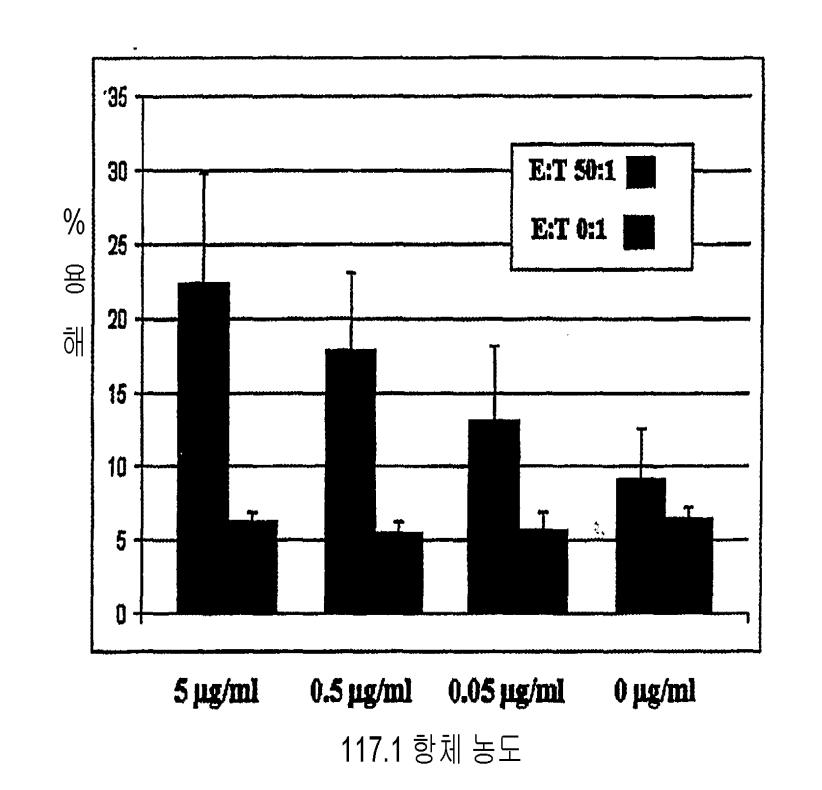
도면2

1 AAQPARRARR TKL¹ETHRSSV STTSTEGTET VYLGASKTPA SIEG²SAASH
 51 LLILIFTLNFT ITNLRYEENM WPGSRKNTTT ERVLOGLLRP LEXNTSVGPL
 101 YSGCRITLLR PEKDG³EATGV DAICTHRPDP TGPGLDREOL YLELSOLTHS
 151 LTTELGPXTLD ROSLXVNGET HRS⁴SVEETST GVVSEEPFTL NFTINLRYM
 201 ADMG0RGSILK FNITDNUMKH LLSPPLFORSS LGARYTGCRV TALRSVXNGA
 251 ETRVDSLICTY LOPLSGPGLP IKNVHESL⁵SO OTHGITRLGP YSLDADSLYL
 301 NGXNERGP0E PPTTPKPAATT FLPP⁶PLSEATT AMGYH⁷LNTLT LNETISNLOX
 351 SPDMGKGSAT FNSTEGVLOH LIRPLFONSS MGPFYLGCOL ISLRPEKDGA
 401 ATGVDTTCTY RPD⁸FVGPGLD I00LYWELSO LTHAGVTDLGF YVLD⁹RDSLET
 451 NGYAPONLSI RGEXQINFHI VNNWLSNPDP TSSE¹⁰ITLLR DIO¹¹AVTTLY
 501 KGSOLHDTER FCLVTNL¹²TMD SVLTVKALE SSNLDPSLVE OVFLDXTLNA
 551 SFHNLGSTXO LVDIHYTEME SSVYOPTSSS STO¹³HYLNFT ITNL¹⁴LYPSODK
 601 AOPGTTNYOR NKRNIEDALN OLFRNSSIKS XESDCOVSTF RSVENB¹⁵HTG
 651 YD¹⁶SLCNESEL ARRVD¹⁷VAIX EEF¹⁸LRMTRNG TOLONFTLDR SSVLYDGYFP
 701 NRN¹⁹EPLTGS DLPFWAVILY GLAGLLGLIT CLICGVLVTT HRRKKEG²⁰YIN
 751 VQ²¹QC²²GT²³Q SHD²⁴LEDLQ²⁵ SADIQHSGGR SSLEGPRF²⁶EQ KLISEEDLN²⁷M
 801 HTGHHHHHH

도면3



도면4



도면5a

117.1 경쇄

ATGAAGTTCCTGTTAGGCTGTGGTGTGATGTTCTGGATTCCTGGTCCAGCA
GTGATGCTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCA
GGCCTCCATCTCTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGAAACACC
TATTTACATTGGTACCTGCAGAACGCCAGGCCAGTCTCCAAAACTCCTGATCTACA
AAAGTTCCAACCGATTTCTGGGTCCCAGACACGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGG
GACAGATTTCACACTCAGGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGAGTTA
TTTCTGCTCTCAAAGTAGATATGTTCCGTGGACGTTGGTGGAGGCACCAAGCTG
GAAATCAAA

도면5b

117.1 중쇄

ATGGGCAGGCCTTACTCTTICATTCCTGGTACTGATGTTGCTGCATATGTCCTGTC
CCAGGTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCAGACCCCTC
AGTCTGACTTGTCTTCTCTGGGTTTCACTGAGCAGCCTGGTATGGGTAGG
CTGGATTGTCAGCCATCAGGAAAGGGCTGGAGTGGCTGGCACACATTGGTG
GGATGATTTCAAGCGCGATAATCCAGCCTTAAGAGCGACTGACTATCTCAAG
GATACCTCCAGCAGCCAGGTTTCCCTAAAATGCCAGTGTGGACACTGCAGATA
CTGCCACATATTACTGTTGAGTGGATGGTAACTCCCTCTCTGGTATTCGAT
GCTGGGGCGCTGGGACCACGGTCACCGTCTCCCTCA

도면5c

117.1 경쇄

MKLPVRLLVLMFWPGSSSDAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSOSLVHSNGNTYL
HWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRESGPDRFSGSGSGTDFTLRISKVEAEDLGVYFCSS
RYVPWTFGGGTKLEIK

도면5d

117.1 중쇄

MGRLLTSSELLIVPAYVLSQVTLKESGPGLQPSQTLSLTCFSFESLSTPGMVGWIR
QPSGKGLEWLAHTWWDDFKRDNPALKSRLTISKDTSSQVFLKIASVDTADTATYYC
VRVDGNELSWYEDYWGAGTIVTVSS

도면6a

368.1 경쇄

ATGAAGTTGCCCTGTTAGGCTGTTGGTGCATGTTCTGGATTCCTGCTTCAGCAG
TGATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCCTGTCAGTCCTGGAGATCAA
GCCTCCATCTCTGCAGATCTAGTCAGAGCCCTGAACGCACTAATGGAAAACACCT
ATTACATTGGTACCTGCAAGAACGCCAGGCCAGTCTCCAAAACCTCTGATCTACAA
AGTTTCCAGCCGATTTCTGGGTCCCAGATAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG
ACAGATTTCACACTCAAGATCAGTAGAGTGAGGGCTGAGGATCTGGGAATTATT
TCTGTTCTCAAAACTACACATGGCTCCGACGTGCGGTGGAGGCACCAAGCTGGA
AATCAAA

도면6b

368.1 중쇄

ATGGGATGGATCIGGATCTTCTCTCTCTGTCAAGGAACCTGCAGGTGTCAC
TGAGGTCCAGCTGCAGCAGCTGGACCTGAGTTAGTGAGGACTGGGGCTTCAGT
GAAGATATCCTGCAAGGCTCTGGTTACTCATTCACTGGTTCTACATGCACTGG
GTCAAGCAGAGCCTTGGAAAGAGCCCTGAGTGGATTGGATATGTTAGTTGTTACA
CTGGTGTACTACCTACACCCAGAAGTCAAGGGCAAGGCCACATTACTGTTGA
CACATCCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAACAGCCTGACATCTGAAGACTCT
GCGGTCTATTACTGTGCAAGAGAAGGGGATTACIATCTATGGACTCTGGGGTC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

도면6c

368.1 경쇄

MKLPVALLVLMWTPASSSDVVMQTPLSLFVSLGDQASISCRSSOSLERTNGNTYH
WYLOKPGQSPKLLIVKVSSRSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIVFCOTT
GPPTCGGGTLEIK

도면6d

368.1 중쇄

MGWVWIELELISGTAGVHSBVQLQQSGPELVRTGASVKISCKASGYSFTGFYMHWV
KQSLGKSLEWIGYVSCYTGATTYTOKEKKAATFTVDTSSSTAYMQLNSLTSEDSAVY
YCAREGDYYSMDFWGQGTSVTVSS

도면7a

501.1 경쇄:

ATGGACATGAGGGCCCTCTGCTCAGTTTGGGACTTGTGCTCTGGTTTCCAGG
TATCAGATGTGACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCGTCCATTATGCATCGCTG
GGAGAGAGGGTCACTATAACTTGCAGGCGAGTCAGGACATTAAAAGCTATTTA
AGCTGGTACCAACAGAAACCTGGAAATCTCTAACAGACCTGATCTATTATGCAA
CAACCTTGGCAGATGGGGTCCCATCAAGATTCAAGTGGCAGTGGATCTGGCAAG
ATTATTCTCTAAATCATCAACAGCTGGAGTCTGACGATATAGCTACTTATTCTGT
CTACACCATGATGAGAGCCCCATTACACGTTGGCTCGGGACAAAATTGAAATA
AA

도면7b

501.1 중쇄:

ATGGCTTGGGTGTTGGACCTTGCCTGCTCTGATGGCAGCTGCCAAAGTGCCAAG
CACAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAG
TCCAGATCTCTGCAAGGCTCTGGCTATATCTTACAGACTATGGAATGAACCTG
GGTGAAACAGGCTCCAGGAAAGGGTTAAATGGATGGCTGTATAAAACACCTA
CACTGGAGAGACAATATATAGTGTGACTTCAGGGACGGTTGCCATCTCTTG
GAAACCTCTGCCAGCACTGCCCTTATTCAGATCAACACCTCAAAATGAGGACG
CGGCAACATATTCTGTGCAAGGGAAATTACAGGGATGCTATTGACTATTGGGG
TCAAGGAACCTCAGTCACCGCTCTCTCA

도면 7c

501.1 경쇠

MDMRAPAOFGILLLWEPGIRCDIKMTQSPSSIVASLGERVTTCKASODIKSYLSWYQOKPWKSPKTLIYYATLADGVPSRFSGSGSGQDYSLIINSLESDDIATYFCLEHHDESPFTFGSGTKLEI

도면 7d

501-1 주식

MAWVTLIELMAAAOSAOAQIQLVQSGPELKPGETVQISCKASGYFTDYGMNW
VKQAPGKGLXWMGCINTYTGETIYSDDRGRFAISLETSASTAFQINNLKNEDAATY
FCARGNYRDAIDYWGOGTSVTVSS

도면8a

776.1 경쇠

ATGGGATTTCAGTGCAGATTTCACTCTCTGCTAACTAGTGTTCAGTCATAAT
GTCCAGAGGACAATTGTCTCTCCAGTCTCCAGCAATCTGTGGCATCTCCA
GGGGAGACGGTCACAATGACTTGCAGGGCCAGTCAAGTGTAAATTACATGTGTT
GGAATCAGCAGAAGCCAGGATCTCCCCAAACCTGGATTATGGCACATCCA
CCCTGGCTCTGGAGTCCCTACTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTA
CTCTCTACAATCAGCAGAGTAGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGGCAG
CAGTGGAGTAGTAAACCCATTCAGTCTGGCTGGGACAATAGTTGGAAATAAA

도면8b

776.1 중쇄:

도면8c

776.1 경쇠:

MDFOYQIESELLISASVMSRGQIVLSQSPAILEASPGETVITMTCRASSSVYMCWNQQ
 KPGSSPKPWYGTSTLASCPTRSGSGGTYSLTISRVEAEDAATYYCOOWSSNPF
TFGSGTKLEI

도면8d

776.1 중쇠:

MGWSWIRLELLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVPGASVKISCKASGYTFIDYNI
HVVVKQSEGKILEWIGTYPPNGSDYNONFKSKATLIVDNSSNTAYMELRSLTSEDS
AVVYCARWDEFGSGYYFDYWGQGTTITVSS

도면9a

725.1 LC

ATGGATTTCAAGTGCAGATTTCAGCTTCTGCTAATCAGTGCCTCAGTCATAAT
GTCCAGAGGAACAAATTATCTCTCCCAGTCTCCAGCAATCCTGCTGCTCATCTCCA
GGGGAGAAGGTACAATGACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAAGTICCACTCAC
TGGTACCAAGCAGAACGAGAATCCTCCCCAAACCTGGATTACGCCACATCCA
ACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGTCGCTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTAT
ACTCTACAATCAGCAGAAATGGAGGCTGCAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGC
AGTGGAGTATTGATCCAGCCACGTTGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAA

도면9b

725.1 HC

ATGGCTTGGGTTGGGACCTTGTCTATTCCTGATGGCAGCTGGGAAAGTGCCCAAG
CACAGATCCAGTGGTGCAGCTGGACTCTGAACCTGAAGAACGCTGGAGAGACAG
TCAAGATCTCTGCAAGGCTCTGGATATTCCCTCACAAACTATGGAATGAACCTG
GGTGAAGCAGGCTCCAGGGAAAGGGTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAAACGGCTA
CATTGGAGAGGCCAACATACTGCTGACTTCAAGGGACGATTTGCCTTCTCTCTG
GAAGCCTCTACCCACACTGCCCTATTGCAAGTCAACAGCCTCAAAAGTGAGGAC
ACGGCTACATAATTCTGTGCAAGTGGGGTAACTCCCTTGACTTTGGGGCAAG
GCACCACTCTCACAGTCTCTCAG

도면9c

725.1 LC

**MDFOVOIRESSELLISASVIMSRGQIVLTSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSVSSYHWYQQK
PESSPKPWIYATENLASGVPVRSQSGSGTSYTLTISRMEEADAATYYCOOWSIPAT
FGGGTKLEI**

도면9d

725.1 HC

**MAWWWTLFLMAAAOSAOAQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYSFTNYGMNW
VKQAPGKGLKWMGWINAYIGEPTYADDFKGRFAFSLEASTHTAYLQINSLKSEDTA
TYPCASGGNSLDFWGQGTTLVSS**

도면10a

16H9 LC

**ATGGATTTCAAGGTGCAGATTTCAAGCTTCCGTCTAATCAGTGCCTCAGTCATAAT
GTCCAGAGGAACAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTA
GGGAAACGGGTCACCATGACCTGCACGTGCCAGCTCAAGTGTAAAGITCCAGTTACT
TGCACITGGTACCAAGCAGAAAGCCAGGATCCTCCCCAAACTCTGGATTATAGCAC
ATCCAACCTGGCTCTGGAGTCCCAGCTCGCTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACC
TCTTACTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACT
GCCACCAAGTATCATCGTTCCCCATTACGTTGGCTCGGGGACAAAGITGGAAAT
AAA**

도면10b

16H9 HC

**ATGAAATGCAGCTGGGTTATCTTCTCTGATGGCAGTGGTACAGGGGTCATT
CAGAGGTTCAAGCTGCAGCAGTGTCTGGGCAAGGCCTGTGAAGGCCAGGGGCTCAG
TCAAGTTGTCCTGCACAGCTCTGGCTTCAACATTTAAAGACACCTATATGCACTG
GGTGAAGCAGAGGGCTGAACAGGGCTGGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTGC
GAATGGTAATACATAATGACCCGAAGTTCAGGGCAAGGCCACTATAACAGC
AGACACATCCTCCAACACAGCCTACGTGCAGCTCAGCAGGCTGACATCTGAGGA
CACTGCCGTCTATTACTGTGCTAGTAGTGAACATCTACTATGGTAACCCCGGGGG
TTTGTCTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA**

도면10c

16H9 LC

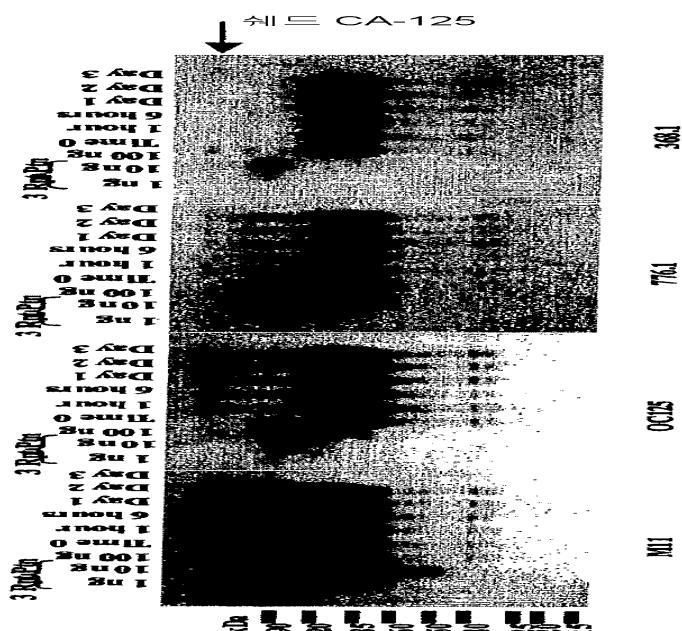
**MDFOVOIRESSELLISASVIMSRGQIVLTSQSPAIMSASLGERVTMTCRASSVSSYHWY
QQKPGSSPKLWVYTSNLASGVPARFSGSGTSYSLTISSMEEADAATYYCHOYHRS
PFTFGSGTKLEI**

도면10d

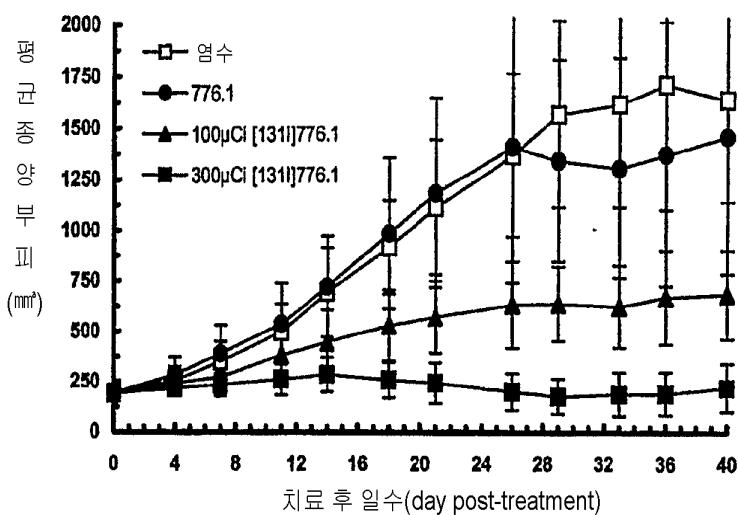
16H9 HC

MKCSWVIFELMAVVTGVNSEVQLQQSGAELVKPGASVQLSCTASGFNKDTYMHW
VKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYDPKFOQKATTADTSSNTAYVQLSSLTSED
YYCASSDIYGNPGGEAYWGQTLTVSA

도면11



도면12



<120> ANTIBODIES THAT BIND CELL-ASSOCIATED CA 125/0772P AND METHODS OF USE THEREOF

<150> US60/485,986

<151> 2003-07-10

<150> US60/418,828

<151> 2002-10-16

<160> 71

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 748

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CA 125/0772P 3-repeat

<400> 1

Ala Ala Gln Pro Ala Arg Arg Ala Arg Arg Thr Lys Leu Phe Thr His
1 5 10 15

Arg Ser Ser Val Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Pro Thr Val Tyr
20 25 30

Leu Gly Ala Ser Lys Thr Pro Ala Ser Ile Phe Gly Pro Ser Ala Ala
35 40 45

Ser His Leu Leu Ile Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu
50 55 60

Arg Tyr Glu Glu Asn Met Trp Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr
65 70 75 80

Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Leu Phe Lys Asn Thr Ser
85 90 95

Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu
100 105 110

Lys Asp Gly Glu Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro
115 120 125

Asp Pro Thr Gly Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln Leu Tyr Leu Glu Leu
130 135 140

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

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Arg Asp Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val Pro | | | |
| 165 | 170 | 175 | |
| Thr Thr Ser Thr Gly Val Val Ser Glu Glu Pro Phe Thr Leu Asn Phe | | | |
| 180 | 185 | 190 | |
| Thr Ile Asn Asn Leu Arg Tyr Met Ala Asp Met Gly Gln Pro Gly Ser | | | |
| 195 | 200 | 205 | |
| Leu Lys Phe Asn Ile Thr Asp Asn Val Met Lys His Leu Leu Ser Pro | | | |
| 210 | 215 | 220 | |
| Leu Phe Gln Arg Ser Ser Leu Gly Ala Arg Tyr Thr Gly Cys Arg Val | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Ile Ala Leu Arg Ser Val Lys Asn Gly Ala Glu Thr Arg Val Asp Leu | | | |
| 245 | 250 | 255 | |
| Leu Cys Thr Tyr Leu Gln Pro Leu Ser Gly Pro Gly Leu Pro Ile Lys | | | |
| 260 | 265 | 270 | |
| Gln Val Phe His Glu Leu Ser Gln Gln Thr His Gly Ile Thr Arg Leu | | | |
| 275 | 280 | 285 | |
| Gly Pro Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Ser Leu Tyr Leu Asn Gly Tyr Asn | | | |
| 290 | 295 | 300 | |
| Glu Pro Gly Pro Asp Glu Pro Pro Thr Thr Pro Lys Pro Ala Thr Thr | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Phe Leu Pro Pro Leu Ser Glu Ala Thr Thr Ala Met Gly Tyr His Leu | | | |
| 325 | 330 | 335 | |
| Lys Thr Leu Thr Leu Asn Phe Thr Ile Ser Asn Leu Gln Tyr Ser Pro | | | |
| 340 | 345 | 350 | |
| Asp Met Gly Lys Gly Ser Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu Gly Val Leu | | | |
| 355 | 360 | 365 | |
| Gln His Leu Leu Arg Pro Leu Phe Gln Lys Ser Ser Met Gly Pro Phe | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| Tyr Leu Gly Cys Gln Leu Ile Ser Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly Ala | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Ala Thr Gly Val Asp Thr Thr Cys Thr Tyr His Pro Asp Pro Val Gly | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Pro Gly Leu Asp Ile Gln Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr | | | |
| 420 | 425 | 430 | |

His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe Tyr Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu
 435 440 445

 Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro Gln Asn Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr
 450 455 460

 Gln Ile Asn Phe His Ile Val Asn Trp Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro
 465 470 475 480

 Thr Ser Ser Glu Tyr Ile Thr Leu Leu Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val
 485 490 495

 Thr Thr Leu Tyr Lys Gly Ser Gln Leu His Asp Thr Phe Arg Phe Cys
 500 505 510

 Leu Val Thr Asn Leu Thr Met Asp Ser Val Leu Val Thr Val Lys Ala
 515 520 525

 Leu Phe Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser Leu Val Glu Gln Val Phe Leu
 530 535 540

 Asp Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His Trp Leu Gly Ser Thr Tyr Gln
 545 550 555 560

 Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met Glu Ser Ser Val Tyr Gln Pro
 565 570 575

 Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe Tyr Leu Asn Phe Thr Ile Thr
 580 585 590

 Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala Gln Pro Gly Thr Thr Asn Tyr
 595 600 605

 Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn Gln Leu Phe Arg
 610 615 620

 Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser Asp Cys Gln Val Ser Thr Phe
 625 630 635 640

 Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr Gly Val Asp Ser Leu Cys Asn
 645 650 655

 Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu
 660 665 670

 Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu
 675 680 685

 Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu
 690 695 700

 Pro Leu Thr Gly Asn Ser Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser

705 710 715 720

Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp
725 730 735

Leu Asn Met His Thr Gly His His His His His His
740 745

<210> 2
<211> 809
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> CA 125/0772P 3-repeat TM

<400> 2
Ala Ala Gln Pro Ala Arg Arg Ala Arg Arg Thr Lys Leu Phe Thr His
1 5 10 15

Arg Ser Ser Val Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Pro Thr Val Tyr
20 25 30

Leu Gly Ala Ser Lys Thr Pro Ala Ser Ile Phe Gly Pro Ser Ala Ala
35 40 45

Ser His Leu Leu Ile Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu
50 55 60

Arg Tyr Glu Glu Asn Met Trp Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr
65 70 75 80

Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Leu Phe Lys Asn Thr Ser
85 90 95

Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu
100 105 110

Lys Asp Gly Glu Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro
115 120 125

Asp Pro Thr Gly Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln Leu Tyr Leu Glu Leu
130 135 140

Ser Gln Leu Thr His Ser Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp
145 150 155 160

Arg Asp Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val Pro
165 170 175

Thr Thr Ser Thr Gly Val Val Ser Glu Glu Pro Phe Thr Leu Asn Phe

| | | |
|---|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
| Thr Ile Asn Asn Leu Arg Tyr Met Ala Asp Met Gly Gln Pro Gly Ser | | |
| 195 | 200 | 205 |
| Leu Lys Phe Asn Ile Thr Asp Asn Val Met Lys His Leu Leu Ser Pro | | |
| 210 | 215 | 220 |
| Leu Phe Gln Arg Ser Ser Leu Gly Ala Arg Tyr Thr Gly Cys Arg Val | | |
| 225 | 230 | 235 |
| Ile Ala Leu Arg Ser Val Lys Asn Gly Ala Glu Thr Arg Val Asp Leu | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Leu Cys Thr Tyr Leu Gln Pro Leu Ser Gly Pro Gly Leu Pro Ile Lys | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Gln Val Phe His Glu Leu Ser Gln Gln Thr His Gly Ile Thr Arg Leu | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Gly Pro Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Ser Leu Tyr Leu Asn Gly Tyr Asn | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Glu Pro Gly Pro Asp Glu Pro Pro Thr Thr Pro Lys Pro Ala Thr Thr | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Phe Leu Pro Pro Leu Ser Glu Ala Thr Thr Ala Met Gly Tyr His Leu | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Lys Thr Leu Thr Leu Asn Phe Thr Ile Ser Asn Leu Gln Tyr Ser Pro | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Asp Met Gly Lys Gly Ser Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu Gly Val Leu | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Gln His Leu Leu Arg Pro Leu Phe Gln Lys Ser Ser Met Gly Pro Phe | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Tyr Leu Gly Cys Gln Leu Ile Ser Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly Ala | | |
| 385 | 390 | 395 |
| Ala Thr Gly Val Asp Thr Thr Cys Thr Tyr His Pro Asp Pro Val Gly | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Pro Gly Leu Asp Ile Gln Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr | | |
| 420 | 425 | 430 |
| His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe Tyr Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro Gln Asn Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr | | |
| 450 | 455 | 460 |

Gln Ile Asn Phe His Ile Val Asn Trp Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro
 465 470 475 480

 Thr Ser Ser Glu Tyr Ile Thr Leu Leu Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val
 485 490 495

 Thr Thr Leu Tyr Lys Gly Ser Gln Leu His Asp Thr Phe Arg Phe Cys
 500 505 510

 Leu Val Thr Asn Leu Thr Met Asp Ser Val Leu Val Thr Val Lys Ala
 515 520 525

 Leu Phe Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser Leu Val Glu Gln Val Phe Leu
 530 535 540

 Asp Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His Trp Leu Gly Ser Thr Tyr Gln
 545 550 555 560

 Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met Glu Ser Ser Val Tyr Gln Pro
 565 570 575

 Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe Tyr Leu Asn Phe Thr Ile Thr
 580 585 590

 Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala Gln Pro Gly Thr Thr Asn Tyr
 595 600 605

 Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn Gln Leu Phe Arg
 610 615 620

 Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser Asp Cys Gln Val Ser Thr Phe
 625 630 635 640

 Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr Gly Val Asp Ser Leu Cys Asn
 645 650 655

 Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu
 660 665 670

 Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu
 675 680 685

 Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu
 690 695 700

 Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile
 705 710 715 720

 Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val
 725 730 735

 Leu Val Thr Thr Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln

| | | |
|---|-----|-----|
| 740 | 745 | 750 |
| Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu | | |
| 755 | 760 | 765 |
| Gln Asn Ser Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu | | |
| 770 | 775 | 780 |
| Gly Pro Arg Phe Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Met | | |
| 785 | 790 | 795 |
| His Thr Gly His His His His His His | | |
| 805 | | |

<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 117.1 VH1 CDR

<400> 3
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro Gly Met Gly Val Gly
1 5 10

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 117.1 VH2 CDR

<400> 4
His Ile Trp Trp Asp Asp Phe Lys Arg Asp Asn Pro Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 5
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 117.1 VH3 CDR

<400> 5
 Val Asp Gly Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 6
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 117.1 VL1 CDR

<400> 6
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

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

<220>
 <223> 117.1 VL2 CDR

<400> 7
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5

<210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 117.1 VL3 CDR

<400> 8
 Ser Gln Ser Arg Tyr Val Pro Glu Thr
 1 5

<210> 9

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

<220>
 <223> 368.1 VH1 CDR

<400> 9
 Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Phe Tyr Met His
 1 5 10

<210> 10
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 368.1 VH2 CDR

<400> 10
 Tyr Val Ser Cys Tyr Thr Gly Ala Thr Thr Tyr Thr Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

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

<220>
 <223> 368.1 VH3 CDR

<400> 11
 Glu Gly Asp Tyr Tyr Ser Met Asp Phe
 1 5

<210> 12
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 368.1 VL1 CDR

<400> 12
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Arg Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

<210> 13
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 368.1 VL2 CDR

<400> 13
 Lys Val Ser Ser Arg Phe Ser
 1 5

<210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 368.1 VL3 CDR

<400> 14
 Ser Gln Thr Thr His Gly Pro Pro Thr
 1 5

<210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 501.1 VH1 CDR

<400> 15
 Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr Gly Met Asn
 1 5 10

<210> 16
 <211> 17
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 501.1 VH2 CDR

<400> 16

Cys Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Ile Tyr Ser Asp Asp Phe Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 501.1 VH3 CDR

<400> 17

Gly Asn Tyr Arg Asp Ala Ile Asp Tyr
1 5

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 501.1 VL1 CDR

<400> 18

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Lys Ser Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 501.1 VL2 CDR

<400> 19

Tyr Ala Thr Thr Leu Ala Asp
1 5

<210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 501.1 VL3 CDR

<400> 20
 Leu His His Asp Glu Ser Pro Phe Thr
 1 5

<210> 21
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 VH1 CDR

<400> 21
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Ile His
 1 5 10

<210> 22
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 VH2 CDR

<400> 22
 Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Val Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
 1 5 10 15

<210> 23
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 VH3 CDR

<400> 23
 Arg Trp Asp Phe Gly Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 24
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 VL1 CDR

<400> 24
 Arg Ala Ser Ser Ser Val Ile Tyr Met Cys
 1 5 10

<210> 25
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 VL2 CDR

<400> 25
 Gly Thr Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 VL3 CDR

<400> 26
 Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
 1 5

<210> 27
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 117.1 light chain polypeptide variable region (117.1L)

<400> 27

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Lys | Leu | Pro | Val | Arg | Leu | Leu | Val | Leu | Met | Phe | Trp | Ile | Pro | Gly |
| 1 | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Ser | Asp | Ala | Val | Met | Thr | Gln | Thr | Pro | Leu | Ser | Leu | Pro | Val |
| | | | | | 20 | | | | 25 | | | | 30 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Gly | Asp | Gln | Ala | Ser | Ile | Ser | Cys | Arg | Ser | Ser | Gln | Ser | Leu |
| | | | | | 35 | | | 40 | | | | 45 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | His | Ser | Asn | Gly | Asn | Thr | Tyr | Leu | His | Trp | Tyr | Leu | Gln | Lys | Pro |
| | | | | | 50 | | | | 55 | | | 60 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Gln | Ser | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Lys | Val | Ser | Asn | Arg | Phe | Ser |
| | | | | | 65 | | | 70 | | 75 | | | 80 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr |
| | | | | | 85 | | | 90 | | | | 95 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Arg | Ile | Ser | Arg | Val | Glu | Ala | Glu | Asp | Leu | Gly | Val | Tyr | Phe | Cys |
| | | | | | 100 | | | | 105 | | | 110 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Gln | Ser | Arg | Tyr | Val | Pro | Trp | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Leu |
| | | | | | 115 | | | 120 | | | | 125 | | | |

Glu Ile Lys

130

<210> 28

<211> 141

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 117.1 heavy chain polypeptide variable region (117.1H)

<400> 28

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Arg | Leu | Thr | Ser | Ser | Phe | Leu | Leu | Ile | Val | Pro | Ala | Tyr |
| 1 | | | | | 5 | | | | 10 | | | 15 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Leu | Ser | Gln | Val | Thr | Leu | Lys | Glu | Ser | Gly | Pro | Gly | Ile | Leu | Gln |
| | | | | | 20 | | | 25 | | | | 30 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Ser | Gln | Thr | Leu | Ser | Leu | Thr | Cys | Ser | Phe | Ser | Gly | Phe | Ser | Leu |
| | | | | | | 35 | | 40 | | | 45 | | | | |

Ser Thr Pro Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys
 50 55 60

Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Phe Lys Arg Asp
 65 70 75 80

Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser
 85 90 95

Ser Gln Val Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala
 100 105 110

Thr Tyr Tyr Cys Val Arg Val Asp Gly Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Phe
 115 120 125

Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 29

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 368.1 light chain polypeptide variable region (368.1L)

<400> 29

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15

Ser Ser Ser Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45

Glu Arg Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Ser Arg Phe Ser
 65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys
 100 105 110

Ser Gln Thr Thr His Gly Pro Pro Thr Cys Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 115 120 125

Glu Ile Lys
 130

<210> 30
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 368.1 heavy chain polypeptide variable region (368.1H)

<400> 30
 Met Gly Trp Ile Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg
 20 25 30

Thr Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
 35 40 45

Thr Gly Phe Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser Leu Gly Lys Ser Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Val Ser Cys Tyr Thr Gly Ala Thr Thr Tyr Thr
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Asp Tyr Tyr Ser Met Asp Phe Trp Gly
 115 120 125

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 31
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 501.1 light chain polypeptide variable region (501.1L)

<400> 31

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Phe Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ile Arg Cys Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Ile Tyr Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser
 35 40 45

Gln Asp Ile Lys Ser Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Trp Lys
 50 55 60

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

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Ile
 85 90 95

Ile Asn Ser Leu Glu Ser Asp Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Leu His
 100 105 110

His Asp Glu Ser Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 115 120 125

<210> 32

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 501.1 heavy chain polypeptide variable region (501.1H)

<400> 32

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
 1 5 10 15

Ala Gln Ala Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Gln Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe
 35 40 45

Thr Asp Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Lys Trp Met Gly Cys Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Ile Tyr Ser

| | | | |
|----|----|----|----|
| 65 | 70 | 75 | 80 |
|----|----|----|----|

| | | | |
|---|----|----|----|
| Asp Asp Phe Arg Gly Arg Phe Ala Ile Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser | 85 | 90 | 95 |
|---|----|----|----|

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| Thr Ala Phe Ile Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Ala Ala Thr | 100 | 105 | 110 |
|---|-----|-----|-----|

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Asn Tyr Arg Asp Ala Ile Asp Tyr Trp Gly | 115 | 120 | 125 |
|---|-----|-----|-----|

| | | | |
|-------------------------------------|-----|-----|--|
| Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser | 130 | 135 | |
|-------------------------------------|-----|-----|--|

<210> 33

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 776.1 light chain polypeptide variable region (776.1L)

<400> 33

| | | | | |
|---|---|---|----|----|
| Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser | 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|---|----|----|

| | | | | |
|---|----|----|----|--|
| Val Ile Met Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile | 20 | 25 | 30 | |
|---|----|----|----|--|

| | | | | |
|---|----|----|----|--|
| Leu Phe Ala Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser | 35 | 40 | 45 | |
|---|----|----|----|--|

| | | | | |
|---|----|----|----|--|
| Ser Ser Val Ile Tyr Met Cys Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser | 50 | 55 | 60 | |
|---|----|----|----|--|

| | | | | |
|---|----|----|----|----|
| Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro | 65 | 70 | 75 | 80 |
|---|----|----|----|----|

| | | | | |
|---|----|----|----|--|
| Thr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile | 85 | 90 | 95 | |
|---|----|----|----|--|

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|--|
| Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp | 100 | 105 | 110 | |
|---|-----|-----|-----|--|

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|--|
| Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile | 115 | 120 | 125 | |
|---|-----|-----|-----|--|

<210> 34
 <211> 139
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 heavy chain polypeptide variable region (776.1H)

<400> 34
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Asp Tyr Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ile Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Val Ser Asp Tyr Asn
 65 70 75 80
 Gln Asn Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Ile Val Asp Asn Ser Ser Asn
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Asp Phe Gly Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 35
 <211> 393
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 117.1 light chain polypeptide variable region (117.1L)

<400> 35
 atgaagttgc ctgttaggct gttgggtgctg atgttctgga ttccctgggttc cagcagtgat 60
 gctgtgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca ggccctccatc 120

| | |
|--|-----|
| tcttcagat ctagtcagag cttgtacac agtaatggaa acacctattt acattggta | 180 |
| ctgcagaagc caggccagtc tccaaaactc ctgatctaca aagttccaa ccgattttct | 240 |
| gggtcccg acaggtagtggc tcagggacag atttcacact caggatcagc | 300 |
| agagtggagg ctgaggatct gggagttat ttctgcttc aaagtagata tgccgtgg | 360 |
| acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaa | 393 |

<210> 36
 <211> 423
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 117.1 heavy chain polypeptide variable region (117.1H)

| | |
|--|-----|
| <400> 36 | |
| atgggcaggc ttacttcttc attcctgcta ctgattgtcc ctgcataatgt cctgtcccg | 60 |
| gttactctga aagagtctgg ccctggata ttgcagccct cccagaccct cagtctgact | 120 |
| tgttctttct ctgggttttc actgagcaact cctggtatgg gtgtaggctg gattcgtcag | 180 |
| ccatcaggga agggctctgga gtggctggca cacatttgggt gggatgattt caagcgcgt | 240 |
| aatccagccc ttaagagccg actgactatac tctaaggata cctccagcag ccaggtttc | 300 |
| ctcaaaatcg ccagtgtgga cactgcagat actgccacat attactgtgt tcgagtggat | 360 |
| ggtaacttcc tctcctggta ttgcgtatgc tggggcgctg ggaccacggc caccgtctcc | 420 |
| tca | 423 |

<210> 37
 <211> 393
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 368.1 light chain polypeptide variable region (368.1L)

| | |
|--|-----|
| <400> 37 | |
| atgaagttgc ctgttaggct gttgggtgc atgttctgga ttccctgcttc cagcagtgtat | 60 |
| gttgtgtatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc | 120 |

| | |
|---|-----|
| tcttcagat ctagtcagag ctttgaacgc actaatggaa acacctattt acattggtag | 180 |
| ctgcagaagc caggccagtc tccaaaactc ctgatctaca aagtttccag ccgattttct | 240 |
| gggtcccg ataggttcag tggcagtgg a cagggacag atttcacact caagatcagt | 300 |
| agagtggagg ctgaggatct gggatttat ttctgttctc aaactacaca tggcctccg | 360 |
| acgtgcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaa | 393 |

<210> 38
 <211> 411
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 368.1 heavy chain polypeptide variable region (368.1H)

| | |
|---|-----|
| <400> 38 | |
| atggatgga tctggatctt tctcttcctc ctgtcaggaa ctgcagggtt ccactctgag | 60 |
| gtccagctgc agcagtctgg acctgagtta gtgaggactg gggcttcagt gaagatatcc | 120 |
| tgcaaggctt ctggtaactc attcactggt ttctacatgc actgggtcaa gcagagcctt | 180 |
| ggaaagagcc ttgagtgat tggatatgtt agttgttaca ctggtgctac tacctacacc | 240 |
| cagaagttca agggcaaggc cacatttact gttgacacat cctccagcac agcctacatg | 300 |
| caactcaaca gcctgacatc tgaagactct gcggcttatt actgtgcaag agaagggat | 360 |
| tactattcta tggacttctg gggtaaggaa acctcagtca ccgtctcctc a | 411 |

<210> 39
 <211> 386
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 501.1 light chain polypeptide variable region (501.1L)

| | |
|---|-----|
| <400> 39 | |
| atggacatga gggccctgc tcagttttt gggatcttgc tgctctgggtt tccaggtatc | 60 |
| agatgtgaca tcaagatgac ccagtctcca tcgtccattt atgcatcgct gggagagagg | 120 |
| gtcactataa cttgcaaggc gagtcaggac attaaaagct attaaagctg gtaccaacag | 180 |

aaaccctgga aatctcctaa gaccctgatc tattatgcaa caaccttggc agatggggtc 240
 ccatcaagat tcagtggcag tggatctggg caagattatt ctctaattcat caacagcctg 300
 gagtctgacg atatagctac ttatttctgt ctacaccatg atgagagccc attcacgttc 360
 ggctcgggga caaaattgga aataaa 386

<210> 40
 <211> 411
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 501.1 heavy chain polypeptide variable region (501.1H)

<400> 40
 atggcttggg tgtggacatt gctgttcctg atggcagctg cccaaagtgc ccaagcacag 60
 atccagttgg tgcagtctgg acctgagctg aagaaggctg gagagacagt ccagatctcc 120
 tgcaaggctt ctggctatat cttcacagac tatggaatga actgggtgaa acaggctcca 180
 ggaaagggtt taaaatggat gggctgtata aacacctaca ctggagagac aatataatag 240
 gatgacttca ggggacgggtt tgccatctct ttggaaacct ctgccagcac tgcctttatt 300
 cagatcaaca acctcaaaaa tgaggacgac gcaacatatt tctgtgcaag gggaaattac 360
 agggatgcta ttgactattt gggtaagga acctcagtca ccgtctcc 411

<210> 41
 <211> 383
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 776.1 light chain polypeptide variable region (776.1L)

<400> 41
 atggattttc aagtgcagat tttcagcttc ctgctaattca gtgcttcagt cataatgtcc 60
 agaggacaaa ttgttctctc ccagtctcca gcaatcctgt ttgcattctcc aggggagacg 120
 gtcacaatga cttgcagggc cagttcaagt gtaatttaca tgtgttgaa tcagcagaag 180
 ccaggatcct ccccaaaacc ctggatttat ggcacatcca ccctggcttc tggagtccct 240

actcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcg cagagtagag 300

gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccatt cacgttcggc 360

tcggggacaa agttggaaat aaa 383

<210> 42

<211> 417

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 776.1 heavy chain polypeptide variable region (776.1H)

<400> 42

atgggatgga gctggatctt tctttccctc ctgtcaggaa ctgcaggcgt ccactctgag 60

gtccagcttc agcagtcagg acctgagctg gtgaaacctg gggcctcagt gaagatatcc 120

tgcaaggcctt ctggatacac attcaactgac tacaacattc actgggtgaa acagagccat 180

ggaaagatcc ttgagtggtt tggatataatt tattccttata atgggtttc tgactacaac 240

cagaatttca agagcaaggc cacattgatt gtagacaatt cctccaacac agcctacatg 300

gaactccgca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt atttgcaag atgggacttc 360

ggttagtggtt actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctccctca 417

<210> 43

<211> 45

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer (see section 6.6)

<400> 43

rcgacuggag cacgaggaca cugacaugga cugaaggagu agaaa 45

<210> 44

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer (see section 6.6)

<400> 44
 gctgtcaacg atacgctacg taacggcatg acagtgtttt tttttttttt tttt 54

<210> 45
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> primer (see section 6.6)

<400> 45
 ayctccacac acaggrrcca gtggatagac 30

<210> 46
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> primer (see section 6.6)

<400> 46
 ggatacagtt ggtgcagcat c 21

<210> 47
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> primer (see section 6.6)

<400> 47
 cgactggagc acgaggacac tga 23

<210> 48
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> primer (see section 6.6)

| | |
|--|----|
| <400> 48 | |
| attaaccctc actaaaggga | 20 |
| | |
| <210> 49 | |
| <211> 20 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| | |
| <220> | |
| <223> primer (see section 6.6) | |
| | |
| <400> 49 | |
| taatacgact cactataggg | 20 |
| | |
| <210> 50 | |
| <211> 20 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| | |
| <220> | |
| <223> primer (see section 6.6) | |
| | |
| <400> 50 | |
| attaaccctc actaaaggga | 20 |
| | |
| <210> 51 | |
| <211> 20 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| | |
| <220> | |
| <223> primer (see section 6.6) | |
| | |
| <400> 51 | |
| taatacgact cactataggg | 20 |
| | |
| <210> 52 | |
| <211> 383 | |
| <212> DNA | |
| <213> Artificial Sequence | |
| | |
| <220> | |
| <223> 725.1 light chain polypeptide variable region (725.1L) | |

<400> 52
atggattttc aagtgcagat tttcagcttc ctgctaatca gtgcttcagt cataatgtcc 60

agaggacaaa ttattctctc ccagtctcca gcaatcctgt ctgcatctcc aggggagaag 120

gtcacaatga cttgcagggc cagttcaagt gtaagttcca ttcactggta ccagcagaag 180

ccagaatcct ccccaaacc ctggatttac gccacatcca acctggcttc tggagtccct 240

gttcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttatactc tcacaatcag cagaatggag 300

gctgcagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta ttgatccagc cacgttcgga 360

ggggggacca agctggaaat aaa 383

<210> 53
<211> 135
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 725.1 heavy chain polypeptide variable region (725.1H)

<400> 53
Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
1 5 10 15

Ala Gln Ala Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Ala Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Ala Ser Thr His
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Ser Gly Gly Asn Ser Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 54
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 725.1 light chain polypeptide variable region (725.1L)

<400> 54
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15
 Val Ile Met Ser Arg Gly Gln Ile Ile Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile
 20 25 30
 Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45
 Ser Ser Val Ser Ser Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Ser Ser
 50 55 60
 Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Val Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Arg Met Glu Ala Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
 100 105 110
 Ser Ile Asp Pro Ala Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 115 120 125

<210> 55
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 heavy chain polypeptide variable region (16H9H)

<400> 55
 Met Lys Cys Ser Trp Val Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly
 1 5 10 15
 Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys

20

25

30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile
 35 40 45

Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp
 65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95

Thr Ala Tyr Val Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Asp Ile Tyr Tyr Gly Asn Pro Gly Gly Phe
 115 120 125

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 130 135 140

<210> 56
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 light chain polypeptide variable region (16H9L)

<400> 56
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Val Ile Met Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
 20 25 30

Met Ser Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser
 35 40 45

Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 50 55 60

Ser Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly
 65 70 75 80

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

85

90

95

Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His
 100 105 110

Gln Tyr His Arg Ser Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu
 115 120 125

Ile

<210> 57

<211> 406

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 725.1 heavy chain polypeptide variable region (725.1H)

<400> 57

atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg cccaaagtgc ccaagcacag 60

atccagttgg tgcagtctgg acctgaactg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc 120

tgcaaggctt ctggatattc cttcacaaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca 180

ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacgcctaca ttggagagcc aacatatgct 240

gatgacttca agggacgatt tgccttctct ctggaagcct ctacccacac tgccatttg 300

cagatcaaca gcctcaaaag tgaggacacg gctacatatt tctgtgcaag tggggtaac 360

tcccttgact tttggggcca aggcaccact ctcacagtct cctcag 406

<210> 58

<211> 423

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 16H9 heavy chain polypeptide variable region (16H9H)

<400> 58

atgaaatgca gctgggttat cttttcctg atggcagtgg ttacaggggt caattcagag 60

gttcagctgc agcagtctgg ggcagagctt gtgaagccag gggcctcagt caagttgtcc 120

tgcacagctt ctggcttcaa cattaaagac acctatatgc actgggtgaa gcagaggcct 180

| | |
|---|-----|
| gaacaggggcc tggagtggat tggaggatt gatcctgcga atggtaatac taaatatgac | 240 |
| ccgaagttcc agggcaaggc cactataaca gcagacacat cctccaacac agcctacgtg | 300 |
| cagctcagca gcctgacatc tgaggacact gccgtctatt actgtgctag tagtgacatc | 360 |
| tactatggta accccggggg gtttgcttac tggggccaag ggactctggt cactgtctct | 420 |
| gca | 423 |

<210> 59
 <211> 389
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 light chain polypeptide variable region (16H9L)

| | |
|--|-----|
| <400> 59 | |
| atggattttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaatac gtgcctcagt cataatgtcc | 60 |
| agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatactct aggggaacgg | 120 |
| gtcaccatga cctgcactgc cagctaagt gtaagttcca gttacttgca ctggtaaccag | 180 |
| cagaagccag gatcctcccc caaactctgg atttatacgca catccaacct ggcttctgga | 240 |
| gtcccagctc gcttcagtggtgg cagtgggtct gggacctctt actctctcac aatcagcagc | 300 |
| atggaggctg aagatgctgc cacttattac tgccaccagt atcatcggtc cccattcacg | 360 |
| ttcggctcgg ggacaaagtt ggaaataaaa | 389 |

<210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 725.1 VH1 CDR

| | | |
|---|---|----|
| <400> 60 | | |
| Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn | | |
| 1 | 5 | 10 |

<210> 61
 <211> 17
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 725.1 VH2 CDR

<400> 61

Trp Ile Asn Ala Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 725.1 VH3 CDR

<400> 62

Gly Gly Asn Ser Leu Asp Phe
1 5

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 725.1 VL1 CDR

<400> 63

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 725.1 VL2 CDR

<400> 64

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 65
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 725.1 VL3 CDR

<400> 65
 Gln Gln Trp Ser Ile Asp Pro Ala Thr
 1 5

<210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 VH1 CDR

<400> 66
 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Met His
 1 5 10

<210> 67
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 VH2 CDR

<400> 67
 Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 68
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 VH3 CDR

<400> 68
 Ser Asp Ile Tyr Tyr Gly Asn Pro Gly Gly Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 69
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 VL1 CDR

<400> 69
 Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Tyr Leu His
 1 5 10

<210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 VL2 CDR

<400> 70
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5

<210> 71
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 16H9 VL3 CDR

<400> 71
 His Gln Tyr His Arg Ser Pro Phe Thr
 1 5