



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년12월08일

(11) 등록번호 10-2611270

(24) 등록일자 2023년12월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 51/04 (2006.01)
A61K 51/10 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 51/0474 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7018477

(22) 출원일자(국제) 2017년12월01일

심사청구일자 2020년11월27일

(85) 번역문제출일자 2019년06월26일

(65) 공개번호 10-2019-0101975

(43) 공개일자 2019년09월02일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/064215

(87) 국제공개번호 WO 2018/102682

국제공개일자 2018년06월07일

(30) 우선권주장

62/428,672 2016년12월01일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020160128309 A

Journal of Nuclear Medicine, 제 57권
(supplement 2), 337면 (2016.05.01)

(73) 특허권자

리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드

미합중국 뉴욕주 10591 타리타운 올드 소우 밀 리
버 로드 777

(72) 발명자

켈리 마르쿠스

미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로
드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내

마 당셰

미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로
드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 33 항

심사관 : 김윤선

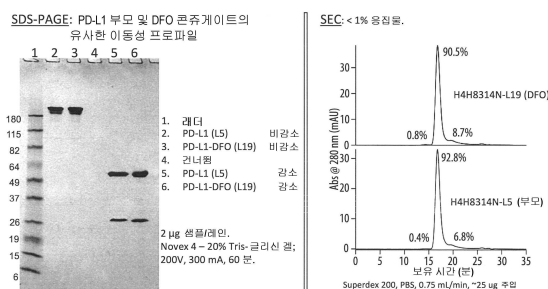
(54) 발명의 명칭 면역-PET 영상화를 위한 방사성 표지된 항-PD-L1 항체

(57) 요약

방사성 표지된 항-PD-L1 항체 및 그것들의 면역-PET 영상화에서의 사용이 본원에 제공된다. 환자 또는 샘플에서 PD-L1 단백질의 존재를 검출하는 방법이 포함된다.

대표도 - 도1

H4H8314N-DFO의 특성화



(52) CPC특허분류

A61K 51/1045 (2020.05)

A61K 51/1093 (2020.05)

C07K 16/22 (2013.01)

A61K 2121/00 (2013.01)

C07K 2317/515 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

울슨 윌리엄

미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로드
777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내

써스톤 케빈

미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로드
777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내

(30) 우선권주장

62/457,267 2017년02월10일 미국(US)

62/569,773 2017년10월09일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

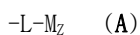
모노머 인간 프로그램된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편, 테스페리옥사민을 포함하는 킬레이트화 모이어티, 및 ^{89}Zr 양전자 방출체를 포함하는 방사성 표지된 항체 콘주게이트로서,

항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하고,

HCDR1은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR2는 SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하며; HCDR3은 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR1은 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR2는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열을 포함하고; 및 LCDR3은 SEQ ID NO: 96의 아미노산 서열을 포함하는, 항체 콘주게이트.

청구항 2

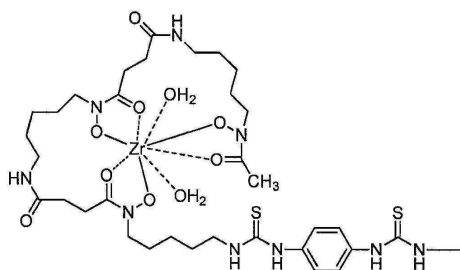
제1 항에 있어서, 상기 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 식 (A)의 하나 이상의 모이어티에 공유 결합되는 것을 특징으로 하는 콘주게이트:



식에서, L은 킬레이트화 모이어티이고; M은 양전자 방출체이며; z는, 각각의 발생시에 독립적으로 0 또는 1이고; 적어도 하나의 z는 1이다.

청구항 3

제2 항에 있어서, -L-M은



이고, Zr은 양전자 방출체 ^{89}Zr 인 것을 특징으로 하는 콘주게이트.

청구항 4

제1 항에 있어서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 식 (A)의 1, 2, 또는 3개의 모이어티에 공유 결합되는 것을 특징으로 하는 콘주게이트.

청구항 5

제1 항에 있어서, 항체는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 특성을 가지는 것을 특징으로 하는 콘주게이트:

(a) 37°C에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정되는 바 310 pM 미만의 결합 해리 평형 상수 (K_D)로 모노머 인간 PD-L1에 결합하고;

(b) 25°C에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 180 pM 미만의 K_D 로 모노머 인간 PD-L1에 결합하며;

(c) 37°C에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정되는 바 15 pM 미만의 K_D 로 다이머 인간 PD-L1에 결합하고; 및

(d) 25℃에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 8 pM 미만의 K_D 로 다이머 인간 PD-L1에 결합한다.

청구항 6

제1 항에 있어서, 항체는 SEQ ID NO: 82/90의 중쇄 가변 영역/경쇄 가변 영역 (HCVR/LCVR) 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는 콘주게이트.

청구항 7

제1 항 내지 제6 항 중 어느 한 항의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 분리된 조직에 투여하는 단계; 및 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 PD-L1 발현을 시각화하는 단계를 포함하는, PD-L1을 발현하는 분리된 조직의 영상화 방법.

청구항 8

제7 항에 있어서, PET 영상화는 방사성 표지된 항체 콘주게이트가 투여된 후 2 내지 7일 후에 시행되는 것을 특징으로 하는 PD-L1을 발현하는 분리된 조직의 영상화 방법.

청구항 9

종양을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 제1 항 내지 제6 항 중 어느 한 항의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 포함하는 약학적 조성물로서, 방법은,

(a) 고체 종양을 가진 대상체를 선택하는 단계;

(b) 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 대상체에게 투여함으로써 고체 종양이 PD-L1-양성인 것을 측정하는 단계; 및

양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 종양의 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 국지화를 영상화하는 단계로, 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 존재는 종양이 PD-L1 양성인 것을 나타내는 것인 단계; 및

(c) PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제의 하나 이상의 용량을, 그것을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 10

제9 항에 있어서, 0.1 내지 10 mg/kg의 방사성 표지된 항체 콘주게이트가 그것을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 11

제9 항에 있어서, 방사성 표지된 항체 콘주게이트는 대상체에게 피하 또는 정맥내 투여를 위해 제제화되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 12

제9 항에 있어서, PET 영상화는 방사성 표지된 항체 콘주게이트가 투여된 후 2 내지 7일 후에 시행되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 13

제9 항에 있어서, 단계 (b)는 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제로 대상체를 치료하기 전에 수행되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 14

제9 항에 있어서,

(a) PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제의 적어도 한 용량으로 대상체를 치료한 후에 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 투여하는 단계; 및

(b) PET 영상화에 의해 종양에서의 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트의 국지화를 영상화하는 단계, 여기서 종양에서의 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트의 국지화의 면적의 기준선으로부터의 감소는 종양 퇴행을 나타내는 것인 단계

를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 15

제14 항에 있어서, 대상체는 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제의 투여 후 1 내지 20주 후에 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트가 투여되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 16

제9 항에 있어서, 종양은 혈액암, 뇌암, 신장세포 암, 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부의 편평세포 암종, 대장암, 중피종, B 세포 림프종, 및 흑색종으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 17

제9 항에 있어서, PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제는 항-PD-1 항체 또는 그것의 항원-결합 단편인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 18

제17 항에 있어서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙, 펌브롤리주맙 및 REGN2810으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 19

제9 항에 있어서, PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제는 항-PD-L1 항체 또는 그것의 항원-결합 단편인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 20

제19 항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 21

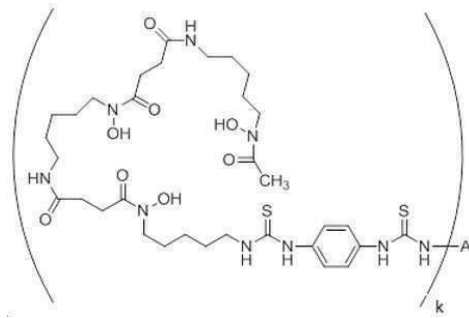
제19 항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 82의 중쇄 가변 영역 (HCVR); 및 SEQ ID NO: 90의 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 22

제19 항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 3개의 HCDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 3개의 LCDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하며, HCDR1은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR2는 SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하며; HCDR3은 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR1은 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR2는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 SEQ ID NO: 96의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 23

식 (III)의 화합물:



식에서 A는

SEQ ID NO: 84에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1;

SEQ ID NO: 86에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2;

SEQ ID NO: 88에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3;

SEQ ID NO: 92에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1;

SEQ ID NO: 94에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및

SEQ ID NO: 96에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3;을 포함하는 PD-L1에 결합하는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이고; k는 1 내지 30의 정수이다.

청구항 24

항-종양 요법의 효능을 모니터링하는 방법에 사용하기 위한 제1 항 내지 제6 항 중 어느 한 항의 방사성 표지된 항체 콘주게이트로서, 방법은 (a) 방사성 표지된 콘주게이트를 그것을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계; 및 (b) 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 PD-L1 국지화를 시각화하는 단계를 포함하는 것인, 방사성 표지된 항체 콘주게이트.

청구항 25

제24 항에 있어서, 방법은 (c) CT 스캔에 의해 종양을 시각화하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘주게이트.

청구항 26

제24 항에 있어서, 항-종양 요법은 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제, LAG3의 억제제, 또는 CTLA4의 억제제를 포함하는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘주게이트.

청구항 27

제24 항에 있어서, 0.1 내지 10 mg/kg으로 투여되도록 제제화되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘주게이트.

청구항 28

제27 항에 있어서, 방사성 표지된 항체 콘주게이트는 피하 또는 정맥내 투여를 위해 제제화되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘주게이트.

청구항 29

제24 항에 있어서, PET 영상화는 방사성 표지된 항체 콘주게이트가 투여 후 2 내지 7일 후에 시행되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘주게이트.

청구항 30

제24 항에 있어서, PD-L1 국지화의 기준선 측정은 항-종양 요법으로 대상체를 치료하기 전에 수행되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트.

청구항 31

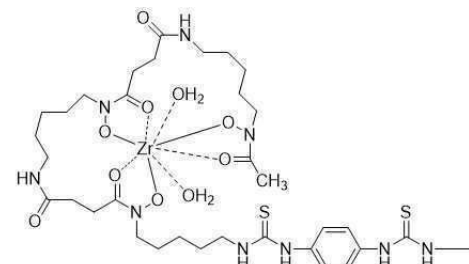
제24 항에 있어서, 종양은 혈액암, 뇌암, 신장세포 암, 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부의 편평세포 암종, 대장암, 중피종, B 세포 림프종, 및 흑색종으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘주게이트.

청구항 32

제24 항에 있어서, PD-L1 발현의 감소는 종양 퇴행을 나타내는 것을 특징으로 하는 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트.

청구항 33

인간 프로그램된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편을 포함하는 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트로서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 3개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3) 및 3개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)을 포함하며; HCDR1은 SEQ ID NO: 84의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR2는 SEQ ID NO: 86의 아미노산 서열을 포함하며; HCDR3은 SEQ ID NO: 88의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR1은 SEQ ID NO: 92의 아미노산 서열을 포함하며; LCDR2는 SEQ ID NO: 94의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고 LCDR3은 SEQ ID NO: 96의 아미노산 서열을 포함하며; 항체 또는 그것의 항원 결합 단편은



에 콘쥬게이트되고, 여기서 Zr은 양전자 방출체 ^{89}Zr 인 것인, 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트.

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시는 방사성 표지된 항-PD-L1 항체 및 면역-PET 영상화에서의 그것들의 사용에 관한 것이다.

[0002] 서열 목록

[0003] 서열 목록의 공식 사본은 명세서와 동시에, "10305W001_SEQ_LIST_ST25.txt"의 파일 명칭, 2017년 12월 1일의 생성일, 및 약 117KB의 크기를 가진 ASCII 포맷의 서열 목록으로서 EPS-Web을 통해 전자 제출된다. 이 ASCII 포맷 서류에 포함된 서열 목록은 명세서의 일부이며 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0004] 프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1) (또한 B7-H1 또는 CD274로도 불림)은 CD4 및 CD8 T-세포, 대식세포 계통 세포, 말초 조직과 같은 림프계 및 비-림프계 조직 둘 다에서뿐만 아니라 종양 세포에서, 및 바이러스로 감염된

세포에서 광범위하게 발현되는 290개 아미노산 단백질 수용체 리간드이다 (Dong et al 1999, Nature Med.). PD-L1은 T-세포 동시-억제성 수용체 (Chen et al 2013, Nature Rev. Immunol. 13: 227-242)의 CD28/CTLA-4 (세포독성 T 림프구 항원)/ ICOS (유도성 동시 자극제) 패밀리에 속하는 수용체 PD-1 및 B7-1에 결합하여 T-세포 활성화를 억제함으로써 면역 반응을 약화시킨다. PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합은 암, 및 바이러스 감염과 같은 질환에서 체액성 및 세포 면역 반응을 포함한, 감소된 T-세포 증식 및 사이토카인 분비를 초래한다. 종양 세포 및 바이러스-감염된 세포 상에서 PD-L1의 발현은 면역 반응을 피하기 위해 종양 및 만성 바이러스 감염에 의해 이용된다. PD-L1은 광범위한 종양에서 발현되며 동물 모델에서의 연구들은 종양 상의 PD-L1이 T-세포 활성화 및 종양 세포의 용해를 억제하고 종양-특이적 T-세포의 증가된 사멸로 이어질 수 있음을 밝혀냈다. 만성 바이러스 감염에서, 바이러스-감염된 세포 상에 발현된 PD-L1은 바이러스-특이적 T-세포 상에서 PD-1에 결합하고 이런 T-세포들은 이펙터 기능 및 증식성 용량의 손실과 함께 "소진"되어간다 (Freeman 2008, PNAS 105: 10275-10276). PD-1: PD-L1 시스템은 또한 유도된 T-조절성 (Treg) 세포 발달에서 및 Treg 기능을 지속시키는 데에 중요한 역할을 한다 (Francisco et al 2010, Immunol. Rev. 236: 219-242). 단클론성 항체를 포함한, 길항물질로 PD-L1을 차단하는 것이 암 및 만성 바이러스 감염의 치료에서 연구되어 왔다 (Ribas 2012, NEJM 366: 2517-2519; Freeman 2008, PNAS 105: 10275-10276; Sheridan 2012, Nature Biotechnology 30: 729-730).

- [0005] 면역-양전자 방출 단층촬영 (PET)은 양전자 방출 단층촬영 카메라의 민감성과 항체의 표적화 특성을 조합하는, 양전자 방출체로 표지된 단클론성 항체를 활용하는 진단용 영상화 도구이다. 예컨대, *The Oncologist*, 12: 1379 (2007); *Journal of Nuclear Medicine*, 52(8): 1171 (2011) 참조. 면역-PET는 생체내에서 항원 및 항체 축적의 시각화 및 정량화를 가능하게 하고, 그로써 진단 및 보완 치료법에 대한 중요한 도구로서 작용할 수 있다. 예를 들어, 면역-PET는 특정 치료법에 대한 잠재적 환자 후보들의 선택과, 뿐만 아니라 치료의 모니터링에 도움을 줄 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] PD1 및 PD-L1이 둘 다 면역요법에 대한 표적으로서 나타나기 때문에, 무엇보다 먼저, 항-PD1 및/또는 항-PD-L1 치료법에 대한 적합한 환자 후보의 검출을 가능하게 하는 진단용 도구를 포함한, 항-PD1 및/또는 항-PD-L1 치료법에 대한 진단용 도구에 대한 필요성이 있다.

과제의 해결 수단

- [0007] 본 개시에는 면역-PET 영상화에 사용하기 위한 방사성 표지된 항-PD-L1 항체 콘쥬게이트가 포함된다.
- [0008] 한 측면으로, 콘쥬게이트는 항-PD-L1 항체 또는 그것의 항원-결합 단편, 킬레이트화 모이어티, 및 양전자 방출체를 포함한다.
- [0009] 본원에는 또한 상기 콘쥬게이트의 합성 과정 및 그것에 유용한 합성 중간체들이 제공된다.
- [0010] 본원에는 또한 PD-L1을 발현하는 조직의 영상화 방법이 제공되며, 그 방법은 본원에 기술된 방사성 표지된 항-PD-L1 항체 콘쥬게이트를 조직에 투여하는 단계; 및 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 PD-L1 발현을 시각화하는 단계를 포함한다.
- [0011] 본원에는 또한 조직에서 PD-L1을 검출하는 방법이 제공되며, 그 방법은 본원에 기술된 방사성 표지된 항-PD-L1 항체 콘쥬게이트를 조직에 투여하는 단계; 및 PET 영상화에 의해 PD-L1 발현을 시각화하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 조직은 인간 대상체에 존재한다. 특정 구체예에서, 대상체는 비인간 동물이다. 특정 구체예에서, 대상체는 암, 염증성 질환, 또는 감염과 같은 질환 또는 질병을 가진다.
- [0012] 일부 측면으로, 대상체는 방사성 표지된 항-PD-L1 항체 콘쥬게이트의 5 mg, 또는 10 mg, 또는 20 mg의 용량으로 투여된다.
- [0013] 본원에는 또한 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 적합한지 환자를 확인하는 방법이 제공되며, 그 방법은 고체 종양을 가진 환자를 선택하는 단계, 본원에 기술된 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트를 투여하는 단계, 및 종양에서 투여된 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트를 PET 영상화에 의해 시각화하는 단계를 포함하며, 여기서 종양에서 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트의 존재는 환자를 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 적합한 것으로 확인해준다.

[0014] 본원에는 또한 종양의 치료 방법이 제공되는데, 그 방법은 고체 종양을 가진 환자를 선택하는 단계; 고체 종양이 PD-L1-양성인지 측정하는 단계; 및 치료를 필요로 하는 대상체에게 항-종양 요법을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, 항-종양 요법은 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제 (예컨대, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체)를 포함한다. 특정 구체예에서, 대상체는 본원에 기술된 방사성 표지된 항체 콘주게이트가 투여되고, 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 국지화는 종양이 PD-L1-양성인지 측정하기 위하여 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화를 통해 영상화된다.

[0015] 본원에는 또한 대상체에서 항-종양 요법의 효능을 모니터링하는 방법이 제공되는데, 그 방법은 대상체가 항-종양 요법으로 치료되는, 고체 종양을 가진 대상체를 선택하는 단계; 본원에 기술된 방사성 표지된 콘주게이트를 대상체에게 투여하는 단계; 종양에서 투여된 방사성 표지된 콘주게이트의 국지화를 PET 영상화에 의해 영상화하는 단계; 및 종양 성장을 측정하는 단계를 포함하며, 이때 콘주게이트 또는 방사성 표지된 신호의 흡수에서 기준선으로부터의 감소는 종양 퇴행 및 항-종양 요법의 효능을 가리킨다. 특정 구체예에서, 항-종양 요법은 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제 (예컨대, 항-PD-1 항체)를 포함한다.

[0016] 본원에는 또한 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 대한 환자의 반응을 예측하는 방법이 제공되며, 그 방법은 고체 종양을 가진 환자를 선택하는 단계; 및 종양이 PD-L1-양성인지를 측정하는 단계를 포함하며, 만약 종양이 PD-L1-양성이면 그것은 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 대한 환자의 양성 반응을 가리킨다. 특정 구체예에서, 종양은 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 투여하고 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 PET 영상화에 의해 국지화함으로써 측정되며, 종양의 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 존재는 종양이 PD-L1-양성인 것을 가리킨다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 미변형 항-PD-L1 항체 및 항-PD-L1 DFO 변형 항체의 SDS-PAGE 및 SEC를 도시한다.

도 2A 및 2B는 연구 1에 대해 ^{89}Zr 방사성 표지화 후 방사성-SEC-HPLC를 도시한다.

도 3은 연구 2에 대해 ^{89}Zr 방사성 표지화 후 DFO-콘주게이트 (항-PD-L1)의 방사성-SEC-HPLC를 도시한다.

도 4는 연구 3에 대해 ^{89}Zr 방사성 표지화 후 방사성-SEC-HPLC를 도시한다.

도 5는 연구 1에 대해 ^{89}Zr 방사성 표지화 후 UV280-SEC-HPLC 크로마토그램 및 방사성-iTLC 트레이스를 도시한다.

도 6A, 6B, 6C, 및 6D는 본원의 실시예 5에서 기술된 것과 같이, 시험관내에서 종양 세포주 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1-/-hPD-L1^{Tg} (도 6A), LOX-IMVI (도 6B), MDA-MB-231 (도 6C), 및 SK-Br-3 (도 6D)에 의한 hPD-L1 발현을 도시한다.

도 7은 본원의 실시예 5에서 기술된 것과 같이, 제 2 실험으로 시험관내에서 인터페론-감마 처리가 있거나 없이 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1-/-hPD-L1^{Tg} 및 LOX-IMVI 종양 세포에 의한 hPD-L1 발현을 도시한다.

도 8은 A, B, D, 및 E에서 나타난 연구들에 대해 ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 방사성면역콘주게이트로부터, 및 C 및 F에서 나타난 연구들에 대해 동위원소 대조군 방사성면역콘주게이트 ^{89}Zr -DFO-IgG4^P의 샘플을 사용한 SEC-HPLC 분석에 의해 생성된 크로마토그램들을 도시한다. 280 nm에서의 흡광도에 대한 크로마토그램은 A 내지 C에서 나타내고 γ -방출의 세기에 대한 방사성-크로마토그램은 D 내지 F에서 나타난다. A 내지 C에서, 완충액 구성요소들의 용출이 또한 검출되었다. 샘플 완충액 중의 염들의 이런 피크들 (보유 시간 >25분, 별표 "*")은 피크 면적의 적분으로부터 배제하였다. 피크들을 HMW (고분자량) 면역콘주게이트 ("1"), 모노머 면역콘주게이트 ("2"), 미통합 ^{89}Zr ("3"), 및 샘플 완충액 중의 염 ("*")을 나타내도록 표지화한다. 약어: mAU = 밀리 흡광 단위; cps = 초당 카운트.

도 9는 PD-1hu/hu-PD-L1hu/hu 마우스에서 ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트에 대한 생체의 생체분포 데이터를 제공한다. 16마리의 마우스 (각각 8마리씩의 2개 그룹)에 단일 정맥내 용량의 50 μCi (1 mg/kg) ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트를 제 0일에 투여하고 투약 후 제 6일에 (검은색 칼럼) 또는 제 10일에 (회색 칼럼) 희생

시켰다. 혈액을 심장 천공을 통해 수집하였고, 표시된 수득된 조직을 무게를 측정하고 방사능을 측정하였다. 제 6일 또는 제 10일에 수집한 개별적인 샘플에 대한 그램당 주사된 용량 퍼센트 (%ID/g) 값을 주사된 물질 (^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트) 및 개별적인 샘플의 무게로부터 용량-표준의 방사능에 비교하여 계산하였다. 데이터를 평균 \pm SD로서 도표화한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] **I. 정의**
- [0019] 본원에서 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 개시된 주제가 속하는 업계에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 공통적으로 인지되는 것과 동일한 의미를 가진다.
- [0020] 용어 "PD-L1"은 CD274 및 B7H1로서도 알려져 있는 프로그램된 사멸-리간드 1을 나타낸다. 전장 PD-L1의 아미노산 서열은 GenBank에 등록 번호 NP_054862.1로서 제공된다. 용어 "PD-L1"은 또한 PD-L1의 변종을 포함한다. 용어 "PD-L1"은 재조합 PD-L1 또는 그것의 단편을 포함한다. 용어는 또한, 예를 들어, 히스티딘 태그, 마우스 또는 인간 Fc, 또는 신호 서열, 예컨대 ROR1에 결합된 PD-L1 또는 그것의 단편을 포함한다. 예를 들어, 용어는 전장 PD-L1 (NP_054862.1)의 아미노산 잔기 19 내지 239에 결합되어 있는, C-말단에서의 마우스 Fc (mIgG2a) 또는 인간 Fc (hIgG1)를 포함하는 서열들을 포함한다. 단백질 변종은 NP_054862.1의 아미노산 잔기 19 내지 239에 결합되어 있는, C-말단에서의 히스티딘 태그를 포함한다. 비인간 종으로부터 유래되는 것이라고 명시되지 않는 한, 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1을 의미한다. PD-L1은 세포외 IgV-유사 및 IgC-유사 도메인 (전장 PD-L1의 아미노산 19 내지 239), 경막 도메인 및 대략 30개 아미노산의 세포내 도메인을 가지는 290개 아미노산 단백질이다. PD-L1은 항원 제공 세포 (예컨대, 수지상 세포, 대식세포, 및 B-세포)와 같은 많은 세포 상에서 및 조혈 및 비조혈 세포 (예컨대 혈관 내피 세포, 체장샘, 및 면역 특권 부위) 상에서 본질적으로 발현된다. PD-L1은 또한 광범위한 다양한 종양, 및 바이러스-감염된 세포 상에서 발현되고, 면역억제 환경의 구성요소이다 (Ribas 2012, NEJM 366: 2517-2519). PD-L1은 2개의 T-세포 보조 억제제 PD-1 및 B7-1 중 하나에 결합한다.
- [0021] 용어 "PD-1"은 프로그램된 사멸-1 단백질, CD279로도 알려져 있는 T-세포 보조 억제제를 나타낸다. 전장 PD-1의 아미노산 서열은 GenBank에 등록 번호 NP_005009.2로서 제공된다. 용어는 또한 예를 들어, 히스티딘 태그, 마우스 또는 인간 Fc, 또는 신호 서열, 예컨대 ROR1에 결합된 PD-1 또는 그것의 단편을 포함한다. 예를 들어, 용어는 C93S 변화를 가진 NP_005009.2의 아미노산 잔기 25 내지 170에 결합된, C-말단에서의 마우스 Fc (mIgG2a) 또는 인간 Fc (hIgG1)를 포함한다. PD-1은 T-세포 보조 억제제의 CD28/CTLA-4/ICOS 패밀리의 구성원이다. PD-1은 IgV-유사한 세포외N-말단 도메인, 경막 도메인 및 면역수용체 티로신-기반 억제성 (ITIM) 모티프 및 면역수용체 티로신-기반 스위치 (ITSM) 모티프를 함유한 세포내 도메인을 가지는 288개 아미노산 단백질이다 (Chattopadhyay et al 2009, Immunol. Rev.). PD-1 수용체는 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2를 가진다.
- [0022] 용어 "B7-1"은 동시자극성 인자 CD80으로도 알려져 있는 T-림프구 활성화 항원을 나타낸다. B7-1은 IgV-유사 (aa 37 - 138) 및 IgC-유사 (aa 154 - 232) 영역을 포함하는 세포외 N-말단 도메인, 경막 도메인 (aa 243 - 263) 및 C-말단 세포내 영역 (aa 263 - 288)을 가지는 288개 아미노산 막 수용체이다. 전장 B7-1의 아미노산 서열은 GenBank에 등록 번호 NP_005182.1로서 제공된다.
- [0023] 본원에서 사용되는 용어 "T-세포 보조 억제제"는 T-세포 활성화 또는 억압을 통해 면역 반응을 조절하는 리간드 및/또는 수용체를 나타낸다. T-세포 보조-신호전달 분자로도 알려져 있는 용어 "T-세포 보조 억제제"는, 한정하는 것은 아니지만 PD-1, 림프구 활성화 유전자 3 단백질 (LAG-3, CD223으로도 알려짐), 세포독성 T-림프구 항원-4 (CTLA-4), B 및 T 림프구 아테뉴에이터 (BTLA), CD-28, 2B4, LY108, T-세포 면역글로불린 및 뮤신-3 (TIM3), 면역글로불린 및 ITIM (TIGIT; VSIG9로도 알려짐)을 가진 T-세포 면역수용체, 백혈구 관련 면역글로불린-유사 수용체 1 (LAIR1; CD305로도 알려짐), 유도성 T-세포 동시자극제 (ICOS; CD278로도 알려짐), B7-1 (CD80), 및 CD160을 포함한다.
- [0024] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 4개의 폴리펩타이드 사슬, 이황화 결합에 의해 상호연결된 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)로 구성된 면역글로불린 분자, 뿐만 아니라 그것의 멀티머 (예컨대 IgM) 또는 그것들의 항원-결합 단편들을 나타내는 것으로 의도된다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 ("HCVR" 또는 "V_H") 및 중쇄 불변 영역 (도메인 C_{H1}, C_{H2} 및 C_{H3}으로 구성됨)으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 ("LCVR 또는 "V_L") 및 경쇄 불변 영역 (C_L)으로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은 더 보존된, 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 영역이 사이에 끼어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 추가변성 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 3개의

CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 다음 순서로 아미노-말단으로부터 카르복시-말단으로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 특정 구체예에서, 항체 (또는 그것의 항원 결합 단편)의 FR은 인간 생식선 서열과 동일하거나, 또는 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다. 아미노산 공통 서열은 둘 이상의 CDR의 사이드 바이 사이드 분석을 기반으로 정의될 수 있다.

[0025] 하나 이상의 CDR 잔기들의 치환 또는 하나 이상의 CDR의 생략이 또한 가능하다. 하나 또는 2개의 CDR이 결합을 위해 생략될 수 있는 항체들이 과학 문헌에서 기술되어 있다. Padlan 등 (1995 FASEB J. 9:133-139)은 항체와 그것들의 항원 사이의 접촉 영역을 공개된 결정 구조를 기반으로 분석하였고, 단지 약 1/5 내지 1/3의 CDR 잔기들이 실제로 항원과 접촉하는 것으로 결론내렸다. Padlan은 또한 하나 또는 2개의 CDR이 항원과 접촉하는 아미노산을 갖지 않는 많은 항체를 발견하였다 (또한 Vajdos *et al.* 2002 J Mol Biol 320:415-428 참조).

[0026] 항원과 접촉하지 않은 CDR 잔기들은 이전의 연구를 기반으로 (예를 들어 CDRH2의 잔기 H60-H65는 종종 필요하지 않음) Chothia CDR 외부에 있는 Kabat CDR 영역으로부터 분자 모델링에 DMLGO 및/또는 실험적으로 확인될 수 있다. 만약 CDR 또는 그것의 잔기(들)이 생략되면, 보통 또 다른 인간 항체 서열 또는 그러한 서열의 공통에서 상응하는 위치를 차지하는 아미노산으로 치환된다. 치환하기 위한 CDR 및 아미노산 내에서의 치환에 대한 위치는 또한 실험적으로 선택될 수 있다. 실험적 치환은 보존성이거나 비보존성 치환일 수 있다.

[0027] 본원에서 개시된 전체 인간 항-PD-L1 단클론성 항체는 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 상응하는 생식선 서열에 비교하여 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에 포함할 수 있다. 그러한 돌연변이는 본원에 개시된 아미노산 서열들을, 예를 들어 공개된 항체 서열 데이터베이스로부터 입수 가능한 생식선 서열과 비교함으로써 쉽게 확인될 수 있다. 본 개시는 본원에 개시된 아미노산 서열들 중 임의의 것로부터 유래된 항체, 및 그것의 항원-결합 단편을 포함하고, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 항체가 유래된 생식선 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 또 다른 인간 생식선 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 상응하는 생식선 잔기(들)의 보존성 아미노산 치환으로 돌연변이된다 (그러한 서열 변화는 본원에서 종합적으로 "생식선 돌연변이"로서 언급됨). 당업자는, 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열로 출발하여, 하나 이상의 개별적인 생식선 돌연변이 또는 그것들의 조합을 포함하는 많은 항체 및 항원-결합 단편을 쉽게 제조할 수 있다. 특정 구체예에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내에 있는 모든 프레임워크 및/또는 CDR 잔기는 그 항체가 유래된 원래의 생식선 서열에서 발견되는 잔기들로 복귀 돌연변이된다. 다른 구체예에서, 특정 잔기만이, 예컨대, FR1의 처음 8개 아미노산 내에서 또는 FR4의 마지막 8개 아미노산 내에서 발견된 돌연변이된 잔기들만, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 발현된 돌연변이된 잔기들만이 원래의 생식선 서열로 복귀 돌연변이된다. 또 다른 구체예에서, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 잔기(들)은 상이한 생식선 서열 (즉, 그 항체가 원래 유래된 생식선 서열과 상이한 생식선 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 나아가, 본 개시의 항체들은 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내에 둘 이상의 생식선 돌연변이의 임의의 조합을 함유할 수 있는데, 예컨대 특정 개별 잔기는 특정 생식선 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이되는 한편 원래의 생식선 서열과 상이한 특정한 다른 잔기는 유지되거나 상이한 생식선 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이된다. 얻어진 후에는, 하나 이상의 생식선 돌연변이를 함유한 항체 및 항원-결합 단편은 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 개선된 또는 향상된 길항물질 또는 작용물질의 생물학적 특성 (경우에 따라), 감소된 면역원성, 등과 같은 하나 이상의 우너하는 특성에 대해 쉽게 테스트될 수 있다. 이런 일반적인 방식으로 얻어진 항체 및 항원-결합 단편들은 본 개시 내에 포함된다.

[0028] 본 개시는 또한 하나 이상의 보존성 치환을 가진 본원에서 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열들 중 임의의 것의 변종을 포함하는 전체 인간 항-PD-L1 단클론성 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 개시는 예컨대 본원에 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 임의의 것에 비해 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하, 등의 보존성 아미노산 치환을 가진 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열을 가지는 항-PD-L1 항체를 포함한다.

[0029] 본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 가지는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 개시의 인간 mAb는 인간 생식선 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기 (예컨대 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이생성에 의해 시험관내에서 또는 생체내에서 체세포 성 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이들)를, 예를 들어 CDR에 및 특히 CDR3에 포함할 수 있다. 그러나, 본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 다른 포유류 중 (예컨대 마우스)의 생식선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 FR 서열 상으로 이식되어 있는 mAb를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0030] 본원에서 사용되는 용어 "다중-특이적 항원-결합 분자"는 이중특이적, 삼중-특이적 또는 다중-특이적 항원-결합

분자, 및 그것들의 항원-결합 단편을 나타낸다. 다중-특이적 항원-결합 분자는 한 표적 폴리펩타이드의 상이한 에피토프들에 특이적이거나 하나 이상의 표적 폴리펩타이드의 에피토프들에 특이적인 항원-결합 도메인들을 함유할 수 있다. 다중-특이적 항원-결합 분자는 단일한 다중기능성 폴리펩타이드이거나, 또는 서로 공유적으로 또는 비공유적으로 회합된 둘 이상의 폴리펩타이드의 멀티머 복합체일 수 있다. 용어 "다중-특이적 항원-결합 분자"는 다른 기능성 분자, 예컨대 다른 펩타이드 또는 단백질에 결합된 또는 그것들과 공동 발현될 수 있는 본 개시의 항체들을 포함한다. 예를 들어, 항체 또는 그것의 단편은 하나 이상의 다른 분자 실체, 예컨대 단백질 또는 그것의 단편에 기능적으로 (예컨대 화학적 결합, 유전자 융합, 비공유 회합 또는 기타에 의해) 연결되어 제 2 결합 특이성을 가지는 이중-특이적 또는 다중-특이적 항원-결합 분자가 생성될 수 있다. 본 개시에 따르면, 용어 "다중-특이적 항원-결합 분자"는 또한 이중-특이적, 삼중-특이적 또는 다중-특이적 항체 또는 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구체예에서, 본 개시의 항체는 또 다른 항체 또는 그것의 항원-결합 단편에 기능적으로 연결되어 제 2 결합 특이성을 가지는 이중특이적 항체가 생성된다. 본 개시의 이중특이적 및 다중-특이적 항체는 본원의 다른 곳에서 기술된다.

[0031] 용어 "특이적으로 결합하다", 또는 "특이적으로 결합하는", 등은 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이 생리적 조건 하에서 상대적으로 안정적인 항원과 복합체를 형성하는 것을 의미한다. 특이적 결합은 적어도 약 1×10^{-8} M 이하의 평형 해리 상수에 의해 특징지어질 수 있다 (예컨대 더 작은 K_D 는 더 단단한 결합을 나타냄). 두 분자가 특이적으로 결합하는지의 여부를 측정하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명, 등을 포함한다. 본원에서 기술되는 것과 같이, 항체는 PD-L1에 특이적으로 결합하는 표면 플라즈몬 공명, 예컨대 BIACORE™에 의해 확인될 수 있다. 더욱이, PD-L1 및 하나 이상의 추가적인 항원의 한 도메인에 결합하는 다중-특이적 항체 또는 PD-L1의 두 상이한 영역에 결합하는 이중특이적 항체는 그럼에도 불구하고 본원에서 사용되는 "특이적으로 결합"하는 항체로 여겨진다.

[0032] 본원에서 사용되는 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편", 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 자연적으로 발생하는, 효소적으로 얻을 수 있는, 합성의, 또는 유전자 조작된 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 항체의 "항원-결합 단편", 또는 "항체 단편"은 PD-L1에 결합하는 능력을 보유한 항체의 하나 이상의 단편을 나타낸다.

[0033] 본원에서 사용되는 "분리된 항체"는 상이한 항원성 특이성을 가진 다른 항체 (Ab)가 실질적으로 없는 항체를 나타낸다 (예컨대, PD-L1에 특이적으로 결합하는 분리된 항체, 또는 그것의 단편은 PD-L1 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 Ab가 실질적으로 없다).

[0034] 본원에서 사용되는 용어 "표면 플라즈몬 공명"은 예를 들어 BIACORE™ 시스템 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)을 사용하여, 바이오센서 매트릭스 내에서 단백질 농도의 변경의 검출에 의해 실시간 생체분자 상호작용의 분석을 허용하는 광학 현상을 나타낸다.

[0035] 본원에서 사용되는 용어 " K_D "는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 나타내는 것으로 의도된다.

[0036] 용어 "에피토프"는 파라토프(paratope)로서 알려져 있는 항체 분자의 가변 영역에서의 특이적 항원 결합 부위와 상호작용하는 항원 결정기를 나타낸다. 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다. 그러므로, 상이한 항체는 항원 상의 상이한 구역들에 결합할 수 있고 상이한 생물학적 효과들을 가질 수 있다. 용어 "에피토프"는 또한 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원 상의 부위를 나타낸다. 그것은 또한 항체에 의해 결합되는 항원의 영역을 나타낸다. 에피토프는 구조적 또는 기능적인 것으로서 규정될 수 있다. 기능적 에피토프는 일반적으로 구조적 에피토프들의 하위세트이고 상호작용의 친화도에 직접적으로 기여하는 잔기들을 가진다. 에피토프들은 또한 형태적일 수 있는데, 즉, 비선형 아미노산들로 구성될 수 있다. 특정 구체예에서, 에피토프들은 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴기, 또는 설포닐기와 같은 분자들의 화학적으로 활성인 표면 그룹인 결정기를 포함할 수 있고, 특정 구체예에서, 특이적인 삼차원 구조적 특징, 및/또는 특이적인 전하 특징을 가질 수 있다.

[0037] 용어 "실질적인 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 핵산 또는 그것의 단편을 언급할 때, 또 다른 핵산 (또는 그것의 상보성 가닥)과 적절한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실로 최적으로 정렬될 때, 서열 동일성의 임의의 잘 알려져 있는 알고리즘, 예컨대 FASTA, BLAST 또는 GAP에 의해 측정되는 바, 뉴클레오타이드 염기의 적어도 약 90%, 보다 바람직하게는 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%에서 뉴클레오타이드 서열 동일성이 있는 것을 가리킨다.

[0038] 폴리펩타이드에 적용될 때, 용어 "실질적인 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은 최적으로 정렬될 때, 예컨대

디폴트 갭 무게를 사용하는 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 두 펩타이드가 적어도 90%의 서열 동일성, 보다 더 바람직하게는 적어도 95%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 공유하는 것을 의미한다. 바람직하게, 동일하지 않은 잔기 위치들은 보존성 아미노산 치환에 의해 상이하다. "보존성 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성 (예컨대 전하 또는 소수성)을 가지는 측쇄 (R 기)를 가진 또 다른 아미노산 잔기에 의해 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존성 아미노산 치환은 단백질의 기능성 특성을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 둘 이상의 아미노산 서열이 보존성 치환에 의해 서로와 상이한 경우에, 유사성의 퍼센트 또는 정도는 치환의 보존성 성질을 교정하기 위해 상향으로 조정될 수 있다. 이런 조정을 만들기 위한 수단은 당업계에서 당업자들에게 잘 알려져 있다. 예컨대, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331 (본원에 참조로 포함됨) 참조. 유사한 화학적 특성을 가진 측쇄를 가지는 아미노산 그룹의 실패로는 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 아이소류신; 2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 리신, 아르기닌, 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파테이트 및 글루타메이트, 및 7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 들 수 있다. 바람직한 보존성 아미노산 치환기는 발린-류신-아이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파테이트, 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안적으로, 보존성 대체는 Gonnet *et al.* (1992) *Science* 256: 1443-45 (본원에 참조로 포함됨)에 개시된 PAM250 로그-가능성 매트릭스에서 양의 값을 가지는 임의의 변화이다. "적당히 보존적인" 대체는 PAM250 로그-가능성 매트릭스에서 음이 아닌 값을 가지는 임의의 변화이다. 폴리펩타이드에 대한 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 다양한 치환, 결실 및 기타 변형, 이를테면 보존성 아미노산 치환에 배정된 유사성의 척도를 사용하여 유사한 서열을 매치시킨다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는 밀접하게 관련된 폴리펩타이드들, 예컨대 유기체의 상이한 종으로부터의 상동하는 폴리펩타이드들 사이의 또는 야생형 단백질과 그것의 뮤테인 사이의 서열 상동성 또는 서열 동일성을 측정하기 위해 디폴트 매개변수들로 사용될 수 있는 GAP 및 BESTFIT과 같은 프로그램을 포함한다. 예컨대, GCG Version 6.1 참조. 폴리펩타이드 서열은 또한 디폴트 또는 권장된 매개변수들을 가지는 FASTA를 사용하여 비교될 수 있다; GCG Version 6.1. FASTA의 프로그램 (예컨대, FASTA2 및 FASTA3)은 문제의 서열 및 조사 서열 사이의 최상의 중복 영역의 배열 및 퍼센트 서열 동일성을 제공한다 ((Pearson (2000) 상기 동일). 개시의 서열을 상이한 유기체로부터의 대다수의 서열을 함유하는 데이터베이스에 비교할 때 또 다른 바람직한 알고리즘은 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 디폴트 매개변수들을 사용하는 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예컨대, Altschul *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 및 (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402 참조 (이것들은 각각 본원에 참조로 포함됨).

[0039] 구절 "치료적 유효량"은 그것이 투여되는 경우 바람직한 효과를 생성하는 양을 의미한다. 정확한 양은 치료 목적에 따라 좌우될 것이고, 공지된 기법들을 사용하여 당업자에 의해 확인될 것이다 (예를 들어, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* 참조).

[0040] 본원에서 사용되는 용어 "대상체"는 만성 바이러스 감염, 암 또는 자가면역 질환과 같은 질환 또는 질병의 개선, 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 동물, 바람직하게는 포유류를 나타낸다.

[0041] II. 면역-PET 영상화를 위한 PD-L1 항체의 방사성 표지된 면역결합제

[0042] 본원에는 프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 방사성 표지된 항원-결합 단백질이 제공된다. 방사성 표지된 항원-결합 단백질은 양전자 방출체를 킬레이트화할 수 있는 화학적 모이어티인, 하나 이상의 킬레이트화 모이어티에 공유적으로 결합된 항원-결합 단백질을 포함한다.

[0043] 일부 구체예에서, 본원에는 PD-L1에 결합하는 항원-결합 단백질, 예컨대, 항체가 제공되며, 상기 PD-L1에 결합하는 항원-결합 단백질은 다음 구조를 가지는 하나 이상의 모이어티에 공유 결합된다:

[0044] $-L-M_z$

[0045] 식에서 L은 킬레이트화 모이어티이고; M은 양전자 방출체이며; z는 독립적으로 각각의 발생시에 0 또는 1이고; 적어도 하나의 z는 1이다.

[0046] 일부 구체예에서, 방사성 표지된 항원-결합 단백질은 식 (I)의 화합물이다:

[0047] $M-L-A-[L-M_z]_k$ (I)

[0048] A는 PD-L1에 결합하는 단백질이고; L은 킬레이트화 모이어티이며; M은 양전자 방출체이고; z는 0 또는 1이며; k는 0 내지 30의 정수이다. 일부 구체예에서, k는 1이다.

[0049] 특정 구체예에서, 방사성 표지된 항원-결합 단백질은 식 (II)의 화합물이다:

[0050] $A-[L-M]_k$ (II)

[0051] 식에서 A는 PD-L1에 결합하는 단백질이고; L은 킬레이트화 모이어티이며; M은 양전자 방출체이고; k는 0 내지 30의 정수이다.

[0052] 일부 구체예에서, 본원에는 다음 구조를 가지는 콘쥬게이트를 포함하는 조성물이 제공된다:

[0053] $A-L_k$

[0054] 식에서 A는 PD-L1에 결합하는 단백질이고; L은 킬레이트화 모이어티이며; k는 0 내지 30의 정수이고; 콘쥬게이트는 임상 PET 영상화에 적합한 비방사능을 제공하기에 충분한 양의 양전자 방출체로 킬레이트화된다.

[0055] 적합한 결합 단백질, 킬레이트화 모이어티, 및 양전자 방출체가 하기에 제공된다.

[0056] A. PD-L1 결합 단백질

[0057] 적합한 PD-L1 결합 단백질은 미국 특허 출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1 (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에서 기술된 것들을 포함한, PD-L1에 특이적으로 결합하는 단백질이다. 본 개시의 예시적인 항-PD-L1 항체는 미국 특허 출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 표 1에서 열거되고, 또한 하기에 제시된다.

표 1

[0058] 아미노산 서열 식별자

	SEQ ID NO:							
항체 명칭	H2M8306N	H2M8307N	H2M8309N	H2M8310N	H2M8312N	H2M8314N	H2M8316N	H2M8317N
	2	4	6	8	10	12	14	16
	18	20	22	24	26	28	30	32
	34	36	38	40	42	44	46	48
	50	52	54	56	58	60	62	64
	66	68	70	72	74	76	78	80
	82	84	86	88	90	92	94	96
	98	100	102	104	106	108	110	112
	114	116	118	120	122	124	126	128
	130	132	134	136	138	140	142	144
	146	148	150	152	154	156	158	160
	162	164	166	168	170	172	174	176
	178	180	182	184	170	172	174	176
	186	188	190	192	194	196	198	200
	202	204	206	208	210	212	214	216
	218	220	222	224	226	228	230	232
	234	236	238	240	242	244	246	248
	250	252	254	256	258	260	262	264
	266	268	270	272	274	276	278	280
	282	284	286	288	274	276	278	280
	290	292	294	296	274	276	278	280
	298	300	302	304	274	276	278	280
	306	308	310	312	274	276	278	280
	314	316	318	320	274	276	278	280
	322	324	326	328	274	276	278	280
	330	332	334	336	274	276	278	280
	338	340	342	344	274	276	278	280

[0059] 표 1은 예시적인 항-PD-L1 항체의 중쇄 가변 영역 (H2M8306N, H2M8307N, H2M8309N, H2M8310N, H2M8312N, H2M8314N, H2M8316N, H2M8317N), 경쇄 가변 영역 (H2M8321N, H2M8323N, H2M8718N, H2M8718N2, H2M8719N), 중쇄 상보성 결정 영역 (H2M8310N, H2M8312N, H2M8314N, H2M8316N, H2M8317N), 및 경쇄 상보성 결정 영역 (H2M8321N, H2M8323N, H2M8718N, H2M8718N2, H2M8719N)의 아미노산 서열 식별자들을 나 타낸다.

[0060] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 H2M8306N 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산

서열, 또는 그것에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0061] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 그것에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0062] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 LCVR 아미노산 서열들 중 임의의 것과 쌍을 이룬 표 1에 열거된 HCVR 아미노산 서열들 중 임의의 것을 포함하는 HCVR 및 LCVR 아미노산 서열쌍 (HCVR/LCVR)을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 특정 구체예에 따르면, 본 개시는 표 1에 열거된 예시적인 항-PD-L1 항체들 중 임의의 항체 내에 함유된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함하는 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구체예에서, HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/170, 186/194, 202/210, 218/226, 234/242, 250/258, 266/274, 282/274, 290/274, 298/274, 306/274, 314/274, 322/274, 330/274, 및 338/274로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 특정 구체예에서, HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍은 SEQ ID NO: 82/90 (예컨대, H2M8314N), 162/170 (예컨대, H2M8718N), 306/274 (예컨대, H1H9364P2), 및 314/274 (예컨대, H1H9373P2) 중 하나로부터 선택된다. 특정한 다른 구체예에서, HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍은 SEQ ID NO: 98/106 (예컨대, H2M8316N), 146/154 (예컨대, H2M8323N), 290/274 (예컨대, H1H9351P2), 및 330/274 (예컨대, H1H9387P2) 중 하나로부터 선택된다.

[0063] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 HCDR1 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 (HCDR1)을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0064] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 HCDR2 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 (HCDR2)를 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0065] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 (HCDR3)을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0066] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 LCDR1 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 (LCDR1)을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0067] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 LCDR2 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 (LCDR2)를 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0068] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열들 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 (LCDR3)을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.

[0069] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열들 중 임의의 것과 쌍을 이룬 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열들 중 임의의 것을 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열쌍 (HCDR3/LCDR3)을 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 특정 구체예에 따르면, 본 개시는 표 1에 열거된 예시적인 항-PD-L1 항체들 중 임의의 것 내에 함유된 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열쌍을 포함하는 항체, 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구체예에서, HCDR3/LCDR3 아미노산 서열쌍은 SEQ ID NO: 88/96 (예컨대, H2M8314N), 168/176 (예컨대, H2M8718N), 312/280 (예컨대, H1H9364P2), 및 320/280 (예컨대, H1H9373P2)으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 특정한 다른 구체예에서, HCDR3/LCDR3 아미노산 서열쌍은 SEQ ID NO: 104/112 (예컨대, H2M8316N), 152/160 (예컨대, H2M8323N), 296/280 (예컨대, H1H9351P2), 및 336/280 (예컨대, H1H9387P2)으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0070] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 예시적인 항-PD-L1 항체들 중 임의의 것 내에 함유된 6개의 CDR 세트 (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 특정 구체예에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 SEQ ID NO: 84-86-88-92-94-96 (예컨대, H2M8314N); 164-166-168-172-174-176 (예컨대, H2M8718N); 308-310-312-276-278-280 (예컨대,

H1H9364P2); 및 316-318-320-276-278-280 (예컨대, H1H9373P2)으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 특정한 다른 구체예에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 SEQ ID NO: 100-102-104-108-110-112 (예컨대, H2M8316N); 148-150-152-156-158-160 (예컨대, H2M8323N); 292-294-296-276-278-280 (예컨대, H1H9351P2); 및 332-334-336-276-278-280 (예컨대, H1H9387P2)으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0071] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 표 1에 열거된 예시적인 항-PD-L1 항체들 중 임의의 것에 의해 정의된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍 내에 함유된 6개의 CDR 세트 (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 결합 단백질은 SEQ ID NO: 82/90 (예컨대, H2M8314N), 98/106 (예컨대, H2M8316N), 146/154 (예컨대, H2M8323N), 162/170 (예컨대, H2M8718N), 290/274 (예컨대, H1H9351P2), 306/274 (예컨대, H1H9364P2), 314/274 (예컨대, H1H9373P2) 및 330/274 (예컨대, H1H9387P2)로 이루어지는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍 내에 함유된 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트를 포함하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 확인하기 위한 방법 및 기법들은 당업계에 잘 알려져 있고 본원에 개시된 명시된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 확인하기 위해 사용될 수 있다. CDR의 경계를 확인하기 위해 사용될 수 있는 예시적인 관례로는, 예컨대 Kabat 정의, Chothia 정의, 및 AbM 정의를 들 수 있다. 일반적인 관점에서, Kabat 정의는 서열 가변성을 기반으로 하고, Chothia 정의는 구조적 루프 영역의 위치를 기반으로 하며, AbM 정의는 Kabat 및 Chothia 접근법 사이의 절충이다. 예컨대, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); 및 Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989) 참조. 공개된 데이터베이스 또한 항체 내에서 CDR 서열을 확인하기 위해 이용될 수 있다.

[0072] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 PD-L1에 대한 특이적 결합에 대해 HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편과 결합하는 항체 및 그것의 항원-결합 단편이며, 이때 HCVR 및 LCVR은 각각 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열들로부터 선택된 아미노산 서열을 가진다.

[0073] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단하는 분리된 항체 및 그것의 항원-결합 단편이다. 일부 구체예에서, PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 PD-1/B7-1과 동일한 PD-L1 상의 에피토프에 결합하거나 PD-1/B7-1과 상이한 PD-L1 상의 에피토프에 결합할 수 있다. 특정 구체예에서, PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단하는 개시의 항체는 표 1에 열거된 HCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCVR의 CDR; 및 표 1에 열거된 LCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCVR의 CDR을 포함한다.

[0074] 대체 구체예에서, 본 개시는 PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단하지 않는 항체 및 그것의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구체예에서, 본 개시는 PD-L1에 결합하는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 제공하는데, 여기서 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 향상시킨다. 일부 구체예에서, PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 향상시키는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 HCVR의 CDR, 이때 HCVR은 SEQ ID NO: 18, 66, 114, 130, 202, 218, 266, 282, 298, 322 및 338로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지며; 및 LCVR의 CDR을 포함하며, 이때 LCVR은 SEQ ID NO: 26, 74, 122, 138, 210, 226, 및 274로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진다. 일부 구체예에서, 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 18/26 (예컨대, H2M8307N), 66/74 (예컨대, H2M8312N), 114/122 (예컨대, H2M8317N), 130/138 (예컨대, H2M8321N), 202/210 (예컨대, H1H9323P), 218/226 (예컨대, H1H9327P), 266/274 (예컨대, H1H9344P2), 282/274 (예컨대, H1H9345P2), 298/274 (예컨대, H1H9354P2), 322/274 (예컨대, H1H9382P2), 및 338/274 (예컨대, H1H9396P2)로 이루어지는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함한다.

[0075] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 인간 또는 다른 종으로부터의 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 및 그것의 항원-결합 단편이다. 특정 구체예에서, 항체는 인간 PD-L1에 및/또는 시노물구스 PD-L1에 결합할 수 있다.

[0076] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 참조 항체 또는 그것의 항원-결합 단편과 PD-L1에 대한 결합에 대해 교차-결합하는 항체 및 그것의 항원-결합 단편이며, 여기서 HCVR 및 LCVR은 각각 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열들로부터 선택된다.

[0077] 한 구체예에서, 결합 단백질은 다음 특징들 중 하나 이상을 가진 분리된 항체 또는 항원-결합 단편이다: (a) PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단하고; (b) 인간 PD-L1 및/또는 시노물구스 PD-L1에 특이적으로 결합하며; (c) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식을 억제하고; 및 (d) MLR 검정에서 IL-2 및/또는 인터페

론-감마 분비를 증가시킨다.

- [0078] 일부 구체예에서, 결합 단백질은 작용성 방식으로 PD-L1에 특이적으로 결합할 수 있고, 즉, 그것은 PD-L1 결합 및/또는 활성을 향상 또는 자극하며; 다른 구체예에서, 항체는 길항성 방식으로 PD-L1에 특이적으로 결합할 수 있는, 즉, 그것의 수용체에 대한 결합으로부터 PD-L1을 차단하는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이다.
- [0079] 특정 구체예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 PD-L1에 대한 제 1 결합 특이성 및 제 2 표적 에피토프에 대한 제 2 결합 특이성을 포함하는 이중특이적이다. 제 2 표적 에피토프는 PD-L1 상의 또는 상이한 단백질, 예컨대 T-세포 보조 억제제 상의 또다른 에피토프일 수 있다. 특정 구체예에서, 표적 에피토프는 예컨대 상이한 T-세포, B-세포, 종양 세포, 자가면역 조직 세포 또는 바이러스로 감염된 세포를 포함한 상이한 세포 상에 있을 수 있다.
- [0080] 일부 구체예에서, 항체 및 항체의 항원-결합 단편은, 예컨대, 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정되는 바 약 318 pM 미만의 K_D 로 모노머 PD-L1에 결합한다 (예컨대, 25°C 또는 37°C에서). 특정 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대, 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정되는 바 약 300 pM 미만, 약 250 pM 미만, 약 150 pM 미만, 약 100 pM 미만, 또는 약 50 pM 미만의 K_D 로 모노머 PD-L1에 결합한다.
- [0081] 일부 구체예에서, 항체 및 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대, 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정되는 바 약 15 pM 미만의 K_D 로 다이머 PD-L1에 결합한다 (예컨대, 25°C 또는 37°C에서). 특정 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대, 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정되는 바 약 12 pM 미만, 약 10 pM 미만, 약 8 pM 미만, 또는 약 5 pM 미만의 K_D 로 모노머 PD-L1에 결합한다.
- [0082] 일부 구체예에서, 항체 및 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대, 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정되는 바 약 28 nM 미만의 K_D 로 시노물구스 (*Macaca fascicularis*) PD-L1에 결합한다 (예컨대, 25°C 또는 37°C에서). 특정 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대, 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정되는 바 약 25 nM 미만, 약 20 nM 미만, 약 15 nM 미만, 약 10 nM 미만, 또는 약 5 nM 미만의 K_D 로 시노물구스 PD-L1에 결합한다.
- [0083] 일부 구체예에서, 항체 및 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 25°C 또는 37°C에서 측정되는 바 약 1분 이상의 해리성 반감기 ($t_{1/2}$)로 PD-L1에 결합한다. 특정 구체예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은, 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 3에서 정의된 검정 포맷 (예컨대, mAb-포획 또는 항원-포획 포맷), 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 25°C 또는 37°C에서 측정되는 바 약 5분 이상, 약 10분 이상, 약 30분 이상, 약 50분 이상, 약 60분 이상, 약 70분 이상, 약 80분 이상, 약 90분 이상, 약 100분 이상, 약 200분 이상, 약 300분 이상, 약 400분 이상, 약 500분 이상, 약 600분 이상, 약 700분 이상, 또는 약 800분 이상의 $t_{1/2}$ 로 PD-L1에 결합한다.
- [0084] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 4에서 나타난 ELISA-기반 면역검정, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 측정되는 바 약 770 pM 미만의 IC_{50} 으로 PD-1에 대한 PD-L1 결합을 차단한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, 예컨대 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 4에서 나타난 ELISA-기반 면역검정, 또는 실질적으로 유사한 검정을 사용하여 측정되는 바 약 10 nM 미만의 IC_{50} 으로 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단한다. 일부 구체예에서, 항체 및 그것의 항원-결합 단편은 PD-L1에 결합하고 PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 향상시킨다.
- [0085] 일부 구체예에서, 항체는 PD-L1의 세포외 도메인에 또는 도메인의 단편에 결합한다. 일부 구체예에서, 항체는 하나 이상의 도메인에 결합한다 (교차 반응성 항체). 특정 구체예에서, 항체는 NP_054862.1의 아미노산 잔기 19 - 239를 포함하는 세포외 도메인에 위치한 에피토프에 결합한다.

- [0086] 특정 구체예에서, 항체는 전장 단백질의 임의의 다른 영역 또는 단편에 대한 결합에 의해 PD-L1과 관련된 PD-1-결합 또는 B7-1-결합 활성을 차단 또는 억제함으로써 기능한다. 특정 구체예에서, 항체는 PD-L1과 PD-1/B7-1 사이의 상호작용을 약화시키거나 조절한다.
- [0087] 특정 구체예에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 이중특이적 항체는 한 도메인의 한 에피토프에 결합할 수 있고 또한 PD-L1의 상이한 도메인의 제 2 에피토프에 결합할 수 있다. 특정 구체예에서, 이중특이적 항체는 동일한 도메인의 2개의 상이한 에피토프에 결합한다. 한 구체예에서, 다중-특이적 항원-결합 분자는 제 1 항원-결합 특이성, 이때 제 1 항원-결합 특이성은 PD-1의 세포외 도메인 또는 그것의 단편을 포함하며; 및 PD-L1의 또 다른 에피토프에 대한 제 2 항원-결합 특이성을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 다중-특이적 항원-결합 분자는 제 1 항원-결합 특이성, 이때 제 1 항원-결합 특이성은 B7-1의 세포외 도메인 또는 그것의 단편을 포함하며; 및 PD-L1의 또 다른 에피토프에 대한 제 2 항원-결합 특이성을 포함한다.
- [0088] 한 구체예에서, 항체 또는 그것의 단편은 PD-L1에 결합하는 전체 인간 단클론성 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이며, 이때 항체 또는 그것의 단편은 다음 특징들 중 하나 이상을 나타낸다: (i) SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 186, 202, 218, 234, 250, 258, 266, 274, 282, 290, 298, 306, 314, 322, 330 및 338로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCVR을 포함하거나; (ii) SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 194, 210, 226, 242, 258, 및 274로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCVR을 포함하거나; (iii) SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 280, 288, 296, 304, 312, 320, 328, 336 및 344로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 200, 216, 232, 248, 264, 및 280으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR3 도메인을 포함하거나; (iv) SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 292, 300, 308, 316, 324, 332, 및 340으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 294, 302, 310, 318, 326, 334, 및 342로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 196, 212, 228, 244, 260, 및 276으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 198, 214, 230, 246, 262, 및 278로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR2 도메인을 포함하거나; (v) PD-L1에 대한 제 1 결합 특이성 및 PD-L1, 종양 특이적 항원, 바이러스로 감염된 세포 항원, 및 T-세포 보조 억제제로 이루어지는 군으로부터 선택된 항원에 대한 제 2 결합 특이성을 포함하는 다중-특이적 항원-결합 분자이거나; (vi) 인간 PD-L1에 약 4 pM 내지 약 645 nM의 K_D 로 결합하거나; (vii) 시노몰 구스 PD-L1에 약 70 pM 내지 약 400 nM의 K_D 로 결합하거나; (viii) PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 $IC_{50} = 770$ pM로 차단 또는 향상시키거나; (ix) B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 $IC_{50} \leq 10$ nM로 차단 또는 향상시키거나; (x) T-세포/APC 루시페라제 리포터 검정에서 PD-1-유도된 T-세포 하향 조절을 차단하거나 및/또는 T-세포 신호전달을 구체하거나; (xi) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식 및 활성을 자극하거나; (xii) MLR 검정에서 IL-2 및/또는 IFN γ 생성을 유도하거나; 및 (xiii) 암에 걸린 대상체에서 종양 성장을 억제하고 생존율을 증가시킨다.
- [0089] 한 구체예에서, 항체 또는 그것의 단편은 PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단하는 전체 인간 단클론성 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이며, 이때 항체 또는 그것의 단편은 다음 특징들 중 하나 이상을 나타낸다: (i) SEQ ID NO: 82, 98, 146, 162, 290, 306, 314, 및 330으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCVR을 포함하거나; (ii) SEQ ID NO: 90, 106, 154, 170, 및 274로 이루어지는 군으로부터 선택된

아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCVR을 포함하거나; (iii) SEQ ID NO: 88, 104, 152, 168, 296, 312, 320, 및 336으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 96, 112, 160, 176, 및 280으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR3 도메인을 포함하거나; (iv) SEQ ID NO: 84, 100, 148, 164, 292, 308, 316, 및 332로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 86, 102, 150, 166, 294, 310, 318, 및 334로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 92, 108, 156, 172, 및 276으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 94, 110, 158, 174, 및 278로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR2 도메인을 포함하거나; (v) PD-L1에 대한 제 1 결합 특이성 및 PD-L1의 상이한 에피토프, 종양 특이적 항원, 바이러스-감염 세포 항원, 및 T-세포 보조 억제제로 이루어지는 군으로부터 선택된 항원에 대한 제 2 결합 특이성을 포함하는 다중-특이적 항원-결합 분자이거나; (vi) 인간 PD-L1에 $K_D = 10^{-10}$ M로 결합하거나; (vii) 시노몰구스 PD-L1에 $K_D = 10^{-7}$ M로 결합하거나; (viii) PD-1 또는 B7-1에 대한 결합을 차단하거나; (ix) T-세포/APC 루시페라제 리포터 검정에서 PD-1-유도된 T-세포 하향 조절을 차단하거나 및/또는 T-세포 신호전달을 구제하거나; (xi) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식 및 활성을 자극하거나; (xii) MLR 검정에서 IL-2 및/또는 IFN γ 생성을 유도하거나; 및 (xiii) 암에 걸린 대상체에서 종양 성장을 억제하고 생존율을 증가시킨다.

[0090] 특정 구체예에서, 항-PD-L1 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, 천연 형태의 또는 재조합으로 제조된, PD-L1에 예시화된 영역들의 임의의 하나 이상의 영역 내의 에피토프, 또는 그것의 단편에 결합한다. 일부 구체예에서, 개시의 항체는 PD-L1의 아미노산 잔기 19 내지 239로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산을 포함하는 세포외 영역에 결합한다. 일부 구체예에서, 개시의 항체는 시노몰구스 PD-L1의 아미노산 잔기 1 내지 221로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산을 포함하는 영역에 결합한다.

[0091] 특정 구체예에서, 개시의 항체는, 표 1에서 나타난 것과 같이, PD-L1의 약 위치 19 내지 약 위치 130의 범위의 아미노산 잔기; 또는 PD-L1의 약 위치 130 내지 약 위치 153의 범위의 아미노산 잔기; 또는 PD-L1의 약 위치 153 내지 약 위치 210의 범위의 아미노산 잔기; 또는 PD-L1의 약 위치 210 내지 약 위치 239의 범위의 아미노산 잔기로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 아미노산 서열과 상호작용한다.

[0092] 일부 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 표 1에서 본원에서 기술된 특정 예시 항체들 중 임의의 것, 또는 표 1에 기술된 예시적인 항체들 중 임의의 항체의 CDR 서열을 가지는 항체로서, 동일한 에피토프, 또는 에피토프의 부분에 결합한다. 마찬가지로, 적합한 항체는 또한 PD-L1 또는 PD-L1 단편에 대한 결합에 대해 표 1에서 본원에 기술된 특정 예시 항체들 중 임의의 항체, 또는 표 1에 기술된 예시적인 항체들 중 임의의 항체의 CDR 서열을 가지는 항체와 경합하는 항-PD-L1 항체를 포함한다. 예를 들어, 적합한 항체는 본원의 실시예 6에서 정의된 하나 이상의 항체 (예컨대, H2aM8309N, H1H9329P, H1H9336P, H2aM8314N, H2aM8316N, H2aM8718N, H1H9387P2, H1H9351P2, H1H9364P2, H1H9373P2, 및 H2aM8306N)와 PD-L1에 대한 결합에 대해 교차 경합하는 항-PD-L1 항체를 포함한다. 본 개시는 또한 PD-L1에 대한 결합에 대해 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 6에서 규정된 하나 이상의 항체 (예컨대, H1H9396P2, H2aM8317N, H2aM8321N, H1H9323P, H1H9382P2, H1H9344P2, H1H9345P2 및 H1H9354P2)와 교차 경합하는 항-PD-L1 항체를 포함한다.

[0093] 본원에 기술된 항체 및 항원-결합 단편은 PD-L1에 특이적으로 결합하고 PD-L1의 PD-1 또는 B7-1과의 상호작용을 조절한다. 항-PD-L1 항체는 고친화도 또는 저친화도로 PD-L1에 결합할 수 있다. 특정 구체예에서, 항체는, 항체가 PD-L1에 결합하여 PD-L1의 PD-1과 또는 B7-1과의 상호작용을 차단하는 차단 항체이다. 일부 구체예에서, 개시의 차단 항체는 PD-L1의 PD-1 또는 B7-1에 대한 결합을 차단하고 및/또는 T-세포 활성화를 자극하거나 향상시킨다. 일부 구체예에서, 차단 항체는 면역 반응을 자극하거나 향상시키는 데에 및/또는 암, 또는 만성 바이러스 감염에 걸린 대상체를 치료하는데에 유용하다. 항체는 그것을 필요로 하는 대상체에게 투여될 때 대상체에서 HIV, LCMV 또는 HBV와 같은 바이러스에 의한 만성 감염을 감소시킬 수 있다. 그것들은 대상체에서 종양 세포의 성장을 억제하기 위해 사용될 수 있다. 그것들은 단독으로 또는 암, 또는 바이러스 감염을 치료하기 위해 업제

에 알려져 있는 다른 치료 모이어티 또는 모달리티와의 부가 치료법으로서 사용될 수 있다. 특정 구체예에서, 저친화도로 PD-L1에 결합하는 항-PD-L1 항체는 제 1 결합 특이성이 저친화도로 PD-L1에 결합하고 제 2 결합 특이성이 PD-L1의 상이한 에피토프, T-세포 보조 억제제, 예컨대 PD-1, 종양 특이적 항원 및 감염된 세포-특이적 항원으로 이루어지는 군으로부터 선택된 항원에 결합하는 다중-특이적 항원-결합 분자로서 사용된다.

[0094] 특정 구체예에서, 본 개시의 항체는 작용물질 항체이며, 이때 항체는 PD-L1에 결합하여 PD-L1과 PD-1/B7-1의 상호작용을 향상시킨다. 일부 구체예에서, 활성화 항체는 PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 향상시키고 및/또는 T-세포 활성화를 억제 또는 억압한다. 본 개시의 활성화 항체는 대상체에서 면역 반응을 억제하는데 및/또는 자가면역 질환을 치료하는 데 유용할 수 있다.

[0095] 특정 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 다중-특이적 항원-결합 분자이고, 이때 그것들은 PD-L1에 대한 제 1 결합 특이성 및 PD-L1의 상이한 에피토프, T-세포 보조 억제제, 예컨대 PD-1, 종양 특이적 항원 및 감염된 세포-특이적 항원으로 이루어지는 군으로부터 선택된 항원에 대한 제 2 결합 특이성을 포함한다. 특정 구체예에서, 제 1 결합 특이성은 PD-L1에 저친화도로, 예컨대 10^{-8} M, 10^{-7} M 또는 그 이상의 K_D 로 결합한다.

[0096] 본 개시의 특정 항-PD-L1 항체는 시험관내 또는 생체내 검정에 의해 측정되는 바, PD-L1에 결합하여 그것의 활성을 중화할 수 있다. 개시의 항체가 PD-L1에 결합하여 그것의 활성을 중화하는 능력은 본원에 기술된 것과 같이, 결합 검정, 또는 활성 검정을 포함하여, 당업자들에게 알려져 있는 임의의 표준 방법을 사용하여 측정될 수 있다.

[0097] 결합 활성을 측정하기 위한 비제한적인, 예시적인 시험관내 검정은 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예3에서 예시된다. 실시예 3에서, 인간 PD-L1 및 시노물구스 PD-L1에 대한 인간 항-PD-L1 항체의 결합 친화도 및 동역학 상수가 플라즈몬 공명에 의해 측정되었고 측정은 T200 Biacore 기기 상에서 수행되었다. 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 4 및 5에서, 차단 검정이 시험관내에서 항-PD-L1 항체가 PD-1 또는 B7-1에 대한 PD-L1-결합 능력을 차단하는 능력을 측정하기 위해 사용되었다. 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 6에서, 차단 검정이 상이한 항-PD-L1 항체들 사이의 교차-경합을 측정하기 위해 사용되었다. 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1의 실시예 7은 PD-L1을 과다발현하는 세포에 대한 항체의 결합을 기술한다. US 2015-0203580 A1의 실시예 8에서, 루시페라제 검정이 항-PD-L1 항체가 T-세포에서 PD-1/PD-L1 신호전달을 길항하는 능력을 측정하기 위해 사용되었다.

[0098] 구체적으로 다르게 표시되지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄 (즉, "전체 항체 분자")와 뿐만 아니라 그것의 항원-결합 단편을 포함하는 것으로 인지되어야 한다. 본원에서 사용되는 용어, 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편", 등은 복합체를 형성하기 위해 항원에 특이적으로 결합하는, 임의의 자연적으로 발생하는, 효소적으로 얻어질 수 있는, 합성의, 또는 유전자적으로 조작된 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 본원에서 사용되는 용어, 항체의 "항원-결합 단편", "항체 단편"은 PD-L1에 특이적으로 결합하는 능력을 보유한 항체의 하나 이상의 단편을 나타낸다. 항체 단편은 Fab 단편, F(ab')₂ 단편, Fv 단편, dAb 단편, CDR을 함유한 단편, 또는 분리된 CDR을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 용어 "항원-결합 단편"은 다중-특이적 항원-결합 분자의 폴리펩타이드 또는 그것의 단편을 나타낸다. 그러한 구체예에서, 용어 "항원-결합 단편"은, 예컨대 PD-L1에 특이적으로 결합하는 PD-L1의 세포외 도메인을 포함한다. 항체의 항원-결합 단편은, 예컨대 전체 항체 분자로부터, 단백질 가수분해성 소화 또는 항체 가변 및 (선택적으로) 불변 도메인을 암호화하는 DNA의 조작 및 발현을 포함한 재조합 유전자 조작 기법과 같은 임의의 적합한 표준 기법을 사용하여 유래될 수 있다. 그러한 DNA는, 예컨대 상업적 공급원, DNA 라이브러리 (예컨대 파지-항체 라이브러리를 포함함)로부터 쉽게 입수할 수 있거나, 또는 합성될 수 있다. DNA는 서열분석될 수 있고 화학적으로 또는, 예를 들어, 적합한 구성으로 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 배열하거나, 코돈을 도입하거나, 시스테인 잔기를 생성시키거나, 아미노산을 변형, 부가 또는 결실시키는 등을 수행하기 위한 분자 생물학 기법을 사용함으로써 조작될 수 있다.

[0099] 항원-결합 단편의 비제한적인 실례로는, (i) Fab 단편; (ii) F(ab')₂ 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단일-사슬 Fv (scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체 (예컨대, CDR3 펩타이드와 같은 분리된 상보성 결정 영역 (CDR))의 초가변 영역, 또는 제한된 FR3-CDR3-FR4 펩타이드를 모방하는 아미노산 잔기들로 이루어지는 최소 인식 단위를 포함한다. 다른 조작된 분자, 예컨대 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결실된 항체, 키메릭 항체, CDR-그래프팅된 항체, 디아바디, 트라이아바디, 테트라바디, 미니바디, 나노바디 (예컨대, 일가 나노바디, 이가 나노바디, 등), 작은 모듈 면역제약 (SMIP), 및 샤프 가변 IgNAR 도메인은 또한 본원

에서 사용되는 표현 "항원-결합 단편" 내에 포함된다.

- [0100] 항체의 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성의 것일 수 있고 일반적으로 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 프레임으로 있는 적어도 하나의 CDR을 포함할 것이다. V_L 도메인과 관련된 V_H 도메인을 가진 항원-결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 임의의 적합한 배열로 서로에 대해 배치될 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 다이머일 수 있고 $V_H - V_H$, $V_H - V_L$ 또는 $V_L - V_L$ 다이머를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원-결합 단편은 모노머 V_H 또는 V_L 도메인을 함유할 수 있다.
- [0101] 특정 구체예에서, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유적으로 결합된 적어도 하나의 가변 도메인을 함유할 수 있다. 본 개시의 항체의 항원-결합 단편 내에서 찾아볼 수 있는 가변 및 불변 도메인의 예시적인 구성으로는 다음을 들 수 있다: (i) $V_H - C_H1$; (ii) $V_H - C_H2$; (iii) $V_H - C_H3$; (iv) $V_H - C_H1 - C_H2$; (v) $V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3$; (vi) $V_H - C_H2 - C_H3$; (vii) $V_H - C_L$; (viii) $V_L - C_H1$; (ix) $V_L - C_H2$; (x) $V_L - C_H3$; (xi) $V_L - C_H1 - C_H2$; (xii) $V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3$; (xiii) $V_L - C_H2 - C_H3$; 및 (xiv) $V_L - C_L$. 상기 열거된 예시적인 구성들 중 임의의 것을 포함한 가변 및 불변 도메인의 임의의 구성에서, 가변 및 불변 도메인은 서로에 대해 직접적으로 결합되거나 또는 전체 또는 부분적인 힌지 또는 링커 영역에 의해 결합될 수 있다. 힌지 영역은 적어도 2개 (예컨대, 5, 10, 15, 20, 40, 60개 또는 그 이상)의 아미노산으로 구성될 수 있고, 그것은 단일한 폴리펩타이드 분자에서 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이에 가요성 또는 반가요성 결합을 초래할 수 있다. 더욱이, 본 개시의 항체의 항원-결합 단편은 서로와 및/또는 하나 이상의 모노머 V_H 또는 V_L 도메인과 비공유 회합으로 (예컨대, 이황화 결합(들)에 의해) 상기 열거된 가변 및 불변 도메인 구성들 중 임의의 단일-다이머 또는 헤테로-다이머 (또는 다른 멀티머)를 포함할 수 있다.
- [0102] 전체 항체 분자와 같이, 항원-결합 단편은 단일-특이적 또는 다중-특이적 (예컨대, 이중특이적)일 수 있다. 항체의 다중-특이적 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함할 것이고, 이때 각 가변 도메인은 별도의 항원 또는 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이중특이적 항체 포맷을 포함한 임의의 다중-특이적 항체 포맷이 업계에서 활용 가능한 기본적인 기법들을 사용하여 본 개시의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서 사용되기 위해 조정될 수 있다.
- [0103] 본 개시의 항-PD-L1 항체 및 항체 단편은 기술된 항체들의 아미노산 서열과는 다른 아미노산들을 갖지만, PD-L1에 결합하는 능력을 보유한 단백질들을 포함한다. 그러한 변종 항체 및 항체 단편은 부모 서열과 비교할 때 하나 이상의 첨가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 기술된 항체의 것과 본질적으로 동등한 생물학적 활성을 나타낸다. 마찬가지로, 본 개시의 항체-암호화 DNA 서열은 개시된 서열과 비교할 때 뉴클레오타이드의 하나 이상의 첨가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 개시의 항체 또는 항체 단편에 본질적으로 생물학적으로 동등한 항체 또는 항체 단편을 암호화하는 서열들을 포함한다.
- [0104] 2개의 항원-결합 단백질, 또는 항체는, 예를 들어, 그것들이 유사한 실험 조건 하에서, 단일 용량 또는 다중 용량으로 동일한 물 용량에서 투여되었을 때 그것들의 흡수 속도 및 정도가 유의한 차이를 보이지 않는 제약학적 동등물 또는 제약학적 대체물이라면 생물학적으로 동등한 것으로 간주될 수 있다. 일부 항체는 그것들이 흡수 정도에서는 동등하지만 흡수 속도에서는 그렇지 않다면 동등물 또는 제약학적 대체물인 것으로 여겨질 수 있고, 흡수 속도에서의 그러한 차이가 의도적이고 표지화를 반영하며, 예컨대 만성 사용시 효과적인 체내 약물 농도의 획득에 본질적이지 않고, 연구된 특정 약물 제품에 대해 의학적으로 무의미한 것으로 여겨지기 때문에 또한 생물학적으로 동등한 것이라고 여겨질 수 있다.
- [0105] 한 구체예에서, 2개의 항원-결합 단백질은, 만약 그것들의 안전성, 순도, 또는 효능에서 임상적으로 의미있는 차이가 없다면 생물학적으로 동등하다.
- [0106] 한 구체예에서, 2개의 항원-결합 단백질은, 만약 환자가 참조 생성물과 생물학적 생성물 사이에서, 스위칭 없이 계속된 치료법과 비교하여, 면역원성의 임상적으로 유의한 변화, 또는 감소된 유효성을 포함한 예상된 증가 없이 한 번 이상 스위치될 수 있다면 생물학적으로 동등하다.
- [0107] 한 구체예에서, 2개의 항원-결합 단백질은, 만약 그것들이 사용 조건 또는 조건들에 대한 통상적인 메커니즘 또는 작용 메커니즘들에 의해 그러한 메커니즘이 알려지는 정도로 둘 다 작용한다면, 생물학적으로 동등하다.
- [0108] 생물학적 동등성은 시험관내 및/또는 생체내 방법에 의해 증명될 수 있다. 생물학적 동등성 척도는, 예컨대 (a)

항체 또는 그것의 대사산물의 농도가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 다른 생물학적 유체에서 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유류에서의 생체내 테스트; (b) 인간 생체내 생체이용률 데이터와 상관이 있고 타당하게 그것을 예측하는 시험관내 테스트; (c) 항체 (또는 그것의 표적)의 적절한 약물학적 효과가 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유류에서의 생체내 테스트; 및 (d) 항체의 안전성, 효능, 또는 생체이용률 또는 생물학적 동등성을 확립하는 잘-제어된 임상 실험을 포함한다.

[0109] 개시의 항체의 생물학적으로 동등한 변종들은, 예를 들어, 생물학적 활성에 필요하지 않은 잔기 또는 서열의 다양한 치환을 만들거나 또는 말단 또는 내부 잔기 또는 서열을 결실시킴으로써 구성될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 활성에 대해 필수적이지 않은 시스템 잔기는 결실되거나 다른 아미노산들로 교체되어 재생시에 불필요한 또는 부정확한 분자내 이황화 가교의 형성이 방지될 수 있다. 다른 맥락으로, 생물학적으로 동등한 항체는 항체의 글리코실화 특징을 변형시키는 아미노산 변화를 포함하는 항체 변종, 예컨대 글리코실화를 없애거나 제거하는 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0110] 본 개시의 특정 구체예에 따르면, 항-PD-L1 항체는, 예컨대 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서, FcRn 수용체에 대한 항체 결합을 향상시키거나 감소시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함한다. 예를 들어, 본 개시는 Fc 도메인의 C_H2 또는 C_H3 영역에 돌연변이를 포함하는 항-PD-L1 항체를 포함하는데, 이때 돌연변이(들)은 산성 환경에서 (예컨대 pH가 약 5.5 내지 약 6.0의 범위인 엔도솜에서) FcRn에 대한 Fc 도메인의 친화도를 증가시킨다. 그러한 돌연변이들은 동물에게 투여되었을 때 혈청 반감기의 증가를 초래할 수 있다. 그러한 Fc 변형의 비제한적인 실례로는, 예컨대, 위치 250 (예컨대, E 또는 Q)에서의 변형; 250 및 428 (예컨대, L 또는 F)에서의 변형; 252 (예컨대, L/Y/F/W 또는 T), 254 (예컨대, S 또는 T)에서의 변형, 및 256 (예컨대, S/R/Q/E/D 또는 T)에서의 변형; 또는 위치 428 및/또는 433 (예컨대, H/L/R/S/P/Q 또는 K) 및/또는 434 (예컨대, A, W, H, F 또는 Y [N434A, N434W, N434H, N434F 또는 N434Y])에서의 변형; 또는 위치 250 및/또는 428에서의 변형; 또는 위치 307 또는 308 (예컨대, 308F, V308F), 및 434에서의 변형을 포함한다. 한 구체예에서, 변형은 428L (예컨대, M428L) 및 434S (예컨대, N434S) 변형; 428L, 259I (예컨대, V259I), 및 308F (예컨대, V308F) 변형; 433K (예컨대, H433K) 및 434 (예컨대, 434Y) 변형; 252, 254, 및 256 (예컨대, 252Y, 254T, 및 256E) 변형; 250Q 및 428L 변형 (예컨대, T250Q 및 M428L); 및 307 및/또는 308 변형 (예컨대, 308F 또는 308P)을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 변형은 265A (예컨대, D265A) 및/또는 297A (예컨대, N297A) 변형을 포함한다.

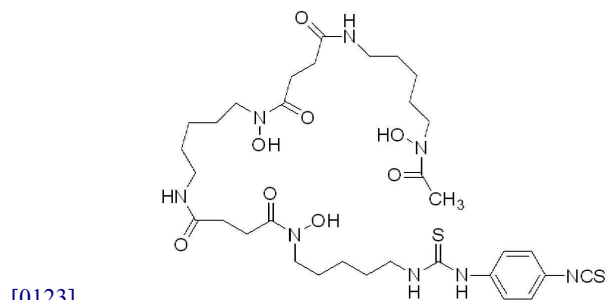
[0111] 예를 들어, 본 개시는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된 돌연변이들의 하나 이상의 쌍 또는 그룹을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-PD-L1 항체를 포함한다: 250Q 및 248L (예컨대, T250Q 및 M248L); 252Y, 254T 및 256E (예컨대, M252Y, S254T 및 T256E); 428L 및 434S (예컨대, M428L 및 N434S); 257I 및 311I (예컨대, P257I 및 Q311I); 257I 및 434H (예컨대, P257I 및 N434H); 376V 및 434H (예컨대, D376V 및 N434H); 307A, 380A 및 434A (예컨대, T307A, E380A 및 N434A); 및 433K 및 434F (예컨대, H433K 및 N434F). 한 구체예에서, 본 개시는 다이머 안정화를 촉진하기 위하여 IgG4의 힌지 영역에 S108P 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-PD-L1 항체를 포함한다. 전술한 Fc 도메인 돌연변이들, 및 본원에 개시된 항체 가변 도메인 내의 다른 돌연변이들의 모든 가능한 조합이 본 개시의 범주 내에 포함된다.

[0112] 본 개시는 또한 키메라 중쇄 불변 (C_H) 영역을 포함하는 항-PD-L1 항체를 포함하며, 이때 키메라 C_H 영역은 하나 이상의 면역글로불린 아이소타입의 C_H 영역들로부터 유래된 분절들을 포함한다. 예를 들어, 개시의 항체는 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 분자로부터 유래된 C_H3 도메인의 부분 또는 전부와 조합된, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 분자로부터 유래된 C_H2 도메인의 부분 또는 전부를 포함하는 키메라 C_H 영역을 포함할 수 있다. 특정 구체예에 따르면, 개시의 항체는 키메라 힌지 영역을 가지는 키메라 C_H 영역을 포함한다. 예를 들어, 키메라 힌지는 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역으로부터 유래된 "하부 힌지" 서열 (EU 넘버링에 따르면 위치 228 내지 236의 아미노산 잔기)과 조합된, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역으로부터 유래된 "상부 힌지" 아미노산 서열 (EU 넘버링에 따르면 위치 216내지 227의 아미노산 잔기)을 포함할 수 있다. 특정 구체예에 따르면, 키메라 힌지 영역은 인간 IgG1 또는 인간 IgG4 상부 힌지로부터 유래된 아미노산 잔기 및 인간 IgG2 하부 힌지로부터 유래된 아미노산 잔기를 포함한다. 본원에 기술된 키메라 C_H 영역을 포함하는 항체는, 특정 구체예에서, 항체의 치료적 또는 약물동역학적 특성에 불리하게 영향을 미치지 않으면서 변형된 Fc 이펙터 기능들을 나타낼 수 있다 (예컨대, 2014년 1월 31일에 출원된 USSN. 14/170,166 참조 (출원의 내용은 그 전문이 참조로 본원에 포함됨)).

- [0113] **B. 양전자 방출체 및 킬레이트화 모이어티**
- [0114] 적합한 양전자 방출체는, 한정하는 것은 아니지만, 킬레이트화 모이어티와 안정적인 복합체를 형성하고 면역-PET 영상화 목적에 적합한 물리적 반감기를 가지는 것들을 포함한다. 예시적인 양전자 방출체로는, 한정하는 것은 아니지만, ^{89}Zr , ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{44}Sc , 및 ^{86}Y 를 들 수 있다. 적합한 양전자 방출체로는, 한정하는 것은 아니지만, ^{76}Br 및 ^{124}I 를 포함한, PD-L1 결합 단백질과 직접 결합하는 것들, 및 보결 분자단을 통해 도입되는 것들, 예컨대, ^{18}F 를 들 수 있다.
- [0115] 본원에 기술된 킬레이트화 모이어티는 PD-L1 결합 단백질, 예컨대, 항-PD-L1 항체에 공유적으로 결합되고 양전자 방출체를 킬레이트화할 수 있는, 즉 배위 킬레이트 복합체를 형성하기 위해 양전자 방출체와 반응할 수 있는 부분을 포함하는 화학적 모이어티이다. 적합한 모이어티는 특별한 금속의 효율적인 로딩을 허용하고 진단 용도, 예컨대, 면역-PET 영상화에 대해 생체내에서 충분히 안정적인 것들을 포함한다. 예시적인 킬레이트화 모이어티는 양전자 방출체의 해리, 및 진단 용도에 적합한 정도로 침착하는 미네랄 뼈, 혈장 단백질 및/또는 골수에서의 축적을 최소화하는 것들을 포함한다.
- [0116] 킬레이트화 모이어티의 실례로는, 한정하는 것은 아니지만, 양전자 방출체 ^{89}Zr , ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{44}Sc , 및/또는 ^{86}Y 와 안정적인 복합체를 형성하는 것들을 포함한다. 예시적인 킬레이트화 모이어티로는, 한정하는 것은 아니지만, *Nature Protocols*, 5(4): 739, 2010; *Bioconjugate Chem.*, 26(12): 2579 (2015); *Chem Commun (Camb)*, 51(12): 2301 (2015); *Mol. Pharmaceutics*, 12: 2142 (2015); *Mol. Imaging Biol.*, 18: 344 (2015); *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 37:250 (2010); *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* (2016). doi:10.1007/s00259-016-3499-x; *Bioconjugate Chem.*, 26(12): 2579 (2015); WO 2015/140212A1; 및 US 5,639,879 (이것들의 전문이 참조로 포함됨)에 기술된 것들을 들 수 있다.
- [0117] 예시적인 킬레이트화 모이어티로는 또한, 한정하는 것은 아니지만, 테스페리옥사민(테스페리옥사민, DFO), 1,4,7,10-테트라아세트산 (DOTA), 다이에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 에틸렌다이아민테트라아세트산 (EDTA), (1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라(메틸렌 포스포)산 (DOTP), 1R, 4R, 7R, 10R)-□'□'□'□'-테트라메틸-1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산 (DOTMA), 1,4,8,11-테트라아자사이클로테트라데칸-1,4,8, 11-테트라아세트산 (TETA), H_4octa , H_6phos , H_2ded , H_5deca , H_2azapa , HOPO, DO2A, 1,4,7,10-테트라키스(카바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸 (DOTAM), 1,4,7-트리아자사이클로노난-N,N',N''-트리아세트산 (NOTA), 1,4,7,10-테트라키스(카바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸 (DOTAM), 1,4,8,11-테트라아자비사이클로[6.6.2]헥사데칸-4, 11-다이아세트산 (CB-TE2A), 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸 (Cyclen), 1,4,8,11-테트라아자사이클로테트라데칸 (Cyclam), 옥타덴테이트 킬레이터, 헥사덴테이트 킬레이터, 포스포네이트-기반 킬레이터, 거대고기 킬레이터, 거대고리 테레프탈아미드 리간드를 포함한 킬레이터, 이중기능성 킬레이터, 푸사리닌 C 및 푸사리닌 C 유도체 킬레이터, 트리아세틸푸사리닌 C (TAFC), 페리옥사민 E (FOX E), 페리옥사민 B (FOX B), 페리크롬 A (FCHA), 등을 포함하는 것들을 들 수 있다.
- [0118] 일부 구체예에서, 킬레이트화 모이어티는 PD-L1 결합 단백질, 예컨대, 항체 또는 그것의 항원 결합 단편에, 킬레이트화 모이어티의 킬레이트화 부분을 결합 단백질에 공유 부착시키는 링커 부분을 통해 공유 결합된다. 일부 구체예에서, 이런 링커 모이어티들은 PD-L1 결합 단백질의 반응성 모이어티, 예컨대 항체의 시스테인 또는 리신과, 예를 들어, p-아이소티오시아나토베닐기 및 하기 콘쥬게이션 방법에서 제공되는 반응성 모이어티를 포함한, 킬레이터에 부착되는 반응성 모이어티 사이의 반응으로부터 형성된다. 더불어, 그러한 링커 모이어티는 킬레이트화 부분과 PD-L1 결합 단백질 사이의 극성, 용해도, 입체적 상호작용, 견고성, 및/또는 길이를 조절할 목적으로 사용된 화학적 기들을 선택적으로 포함한다.
- [0119] **C. 방사성 표지된 항-PD-L1 콘쥬게이트의 제조**
- [0120] 방사성 표지된 항-PD-L1 단백질 콘쥬게이트는 (1) PD-L1 결합 단백질, 예컨대, 항체를 양전자 방출체 킬레이터 및 PD-L1 결합 단백질의 바람직한 콘쥬게이션 부위에 반응성인 모이어티를 포함하는 분자와 반응시키고 (2) 바람직한 양전자 방출체를 로딩함으로써 제조될 수 있다.
- [0121] 적합한 콘쥬게이션 부위로는, 한정하는 것은 아니지만, 리신 및 시스테인을 들 수 있고, 둘 다, 예를 들어, 천연이거나 조작될 수 있으며, 예를 들어, 항체의 중쇄 또는 경쇄 상에 존재할 수 있다. 시스테인 콘쥬게이션 부

위는, 한정하는 것은 아니지만, 돌연변이, 삽입, 또는 항체 이황화 결합의 환원으로부터 얻어진 것들을 포함한다. 시스테인 조작된 항체의 제조 방법은, 한정하는 것은 아니지만, W02011/056983에 개시된 것들을 포함한다. 부위-특이적 콘쥬게이션 방법이 또한 항체의 특이적 부위로의 콘쥬게이션 반응을 지정하고, 바람직한 화학양론을 달성하며, 및/또는 바람직한 약물-대-항체 (DAR) 비율을 달성하기 위해 사용될 수 있다. 그러한 콘쥬게이션 방법은 당업자들에게 알려져 있고, 한정하는 것은 아니지만, 시스테인 조작 및 효소적 및 화학-효소적 방법, 이를테면, 한정하는 것은 아니지만, 글루타민 콘쥬게이션, Q295 콘쥬게이션, 및 트랜스글루타미나제-매개 콘쥬게이션, 뿐만 아니라 *J. Clin. Immunol.*, 36: 100 (2016) (전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기술된 것들을 포함한다. 바람직한 콘쥬게이션 부위에 반응성인 적합한 모이어티는 일반적으로 PD-L1 결합 단백질, 예컨대, 항체 및 양전자 방출체 킬레이터의 효율적이고 용이한 결합을 가능하게 한다. 리신 및 시스테인 부위들에 반응성인 모이어티는 당업자들에게 알려져 있는 친전자성 기들을 포함한다. 특정 측면으로, 원하는 콘쥬게이션 부위가 리신일 때, 반응성 모이어티는 아이소티오시아네이트, 예컨대 p-아이소티오시아나토벤질 또는 반응성 에스테르이다. 특정 측면으로, 원하는 콘쥬게이션 부위가 시스테인일 때, 반응성 모이어티는 말레이미드이다.

[0122] 킬레이터가 데스페리옥사민 (DFO)일 때, 적합한 반응성 모이어티로는, 한정하는 것은 아니지만, 아이소티오시아나토벤질, n-하이드록시석신이미드 에스테르, 2,3,5,6 테트라플루오로페놀 에스테르, n-석신이미딜-S-아세틸티오아세테이트, 및 *BioMed Research International*, Vol 2014, Article ID 203601 (전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기술된 것들을 들 수 있다. 특정 구체예에서, PD-L1 결합 단백질은 항체이고 양전자 방출체 킬레이터 및 콘쥬게이션 부위에 반응성인 모이어티를 포함하는 분자는 p-아이소티오시아나토벤질-데스페리옥사민 (p-SCN-Bn-DFO)이다:



[0124] 양전자 방출체 로딩은, 예컨대 본원에 제공된 실시예에서 기술되는 방법들 또는 실질적으로 유사한 방법을 수행함으로써, PD-L1 결합 단백질 킬레이터 콘쥬게이트를 양전자 방출체와, 상기 양전자 방출체의 킬레이터에의 배위결합을 허용하기에 충분한 시간 동안 인큐베이션함으로써 이루어진다.

[0125] D. 콘쥬게이트의 예시적인 구체예

[0126] 본 개시에는 인간 프로그램된 사멸 리간드 1 (PD-L1), 킬레이트화 모이어티, 및 양전자 방출체에 결합하는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편을 포함하는 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트가 포함된다.

[0127] 일부 구체예에서, 킬레이트화 모이어티는 ⁸⁹Zr과 착체를 형성할 수 있는 킬레이터를 포함한다. 특정 구체예에서, 킬레이트화 모이어티는 데스페리옥사민을 포함한다. 특정 구체예에서, 킬레이트화 모이어티는 p-아이소티오시아나토벤질-데스페리옥사민이다.

[0128] 일부 구체예에서, 양전자 방출체는 ⁸⁹Zr이다.

[0129] 일부 구체예에서, 콘쥬게이트의 킬레이트화 모이어티-대-항체 비율은 1 내지 2이다.

[0130] 특정 구체예에서, 킬레이트화 모이어티는 p-아이소티오시아나토벤질-데스페리옥사민이고 양전자 방출체는 ⁸⁹Zr이다. 또 다른 특정 구체예에서, 킬레이트화 모이어티는 p-아이소티오시아나토벤질-데스페리옥사민이고 양전자 방출체는 ⁸⁹Zr이며, 콘쥬게이트의 킬레이트화 모이어티-대-항체 비율은 1 내지 2이다.

[0131] 일부 구체예에서, 본원에는 PD-L1에 결합하는 항원-결합 단백질이 제공되며, 상기 PD-L1에 결합하는 항원-결합 단백질은 다음 구조를 가지는 하나 이상의 모이어티에 공유 결합된다:

[0132] -L-M_z

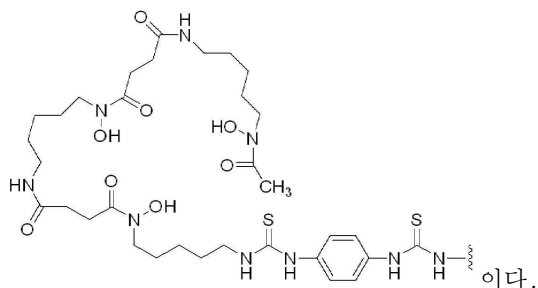
[0133] 상기에서 L은 킬레이트화 모이어티이고; M은 양전자 방출체이며; z는 각각의 발생시에 독립적으로 0 또는

1이고; 여기서 z 중 적어도 하나는 1이다. 특정 구체예에서, 방사성 표지된 항원-결합 단백질은 식 (I)의 화합물이다:

[0134] $M-L-A-[L-M_z]_k$ (I)

[0135] 식에서, A는 PD-L1에 결합하는 단백질이고; L은 킬레이트화 모이어티이며; M은 양전자 방출체이고; z 는 0 또는 1이며; k 는 0 내지 30의 정수이다. 일부 구체예에서, k 는 1이다.

[0136] 일부 구체예에서, L은:

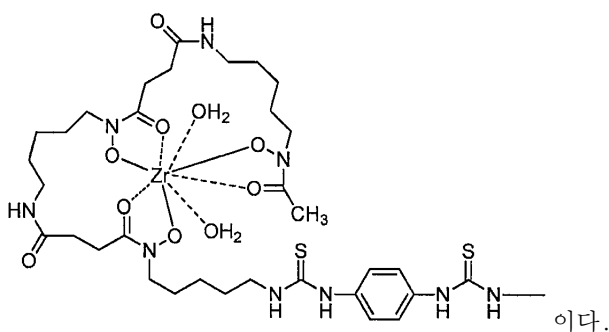


[0137] 이다.

[0138] 일부 구체예에서, M은 ^{89}Zr 이다.

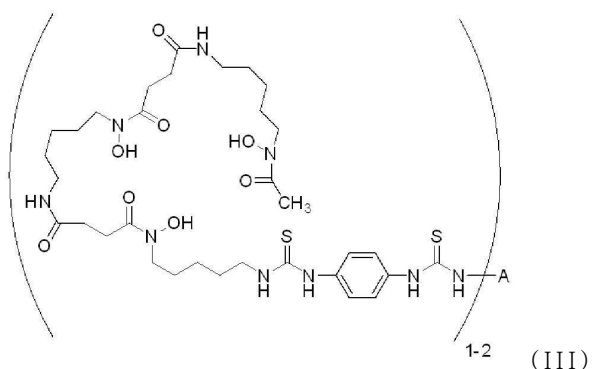
[0139] 일부 구체예에서, k 는 1 내지 2의 정수이다. 일부 구체예에서, k 는 1이다.

[0140] 일부 구체예에서, $-L-M$ 은:



[0141] 이다.

[0142] 본 개시에는 또한 식 (III)의 화합물을 ^{89}Zr 과 접촉시키는 단계를 포함하는, 방사성 표지된 항체 콘쥬게이트를 합성하는 방법이 포함된다:

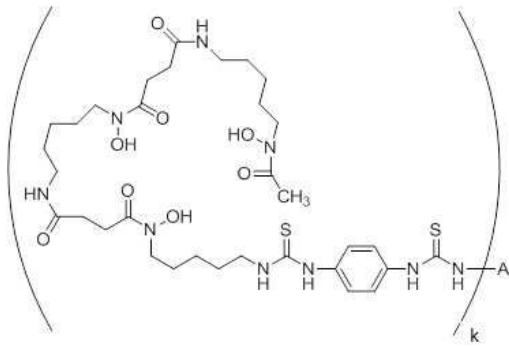


[0143] 1-2 (III)

[0144] 식에서, A는 PD-L1에 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이다. 특정 구체예에서, 식 (III)의 화합물은 PD-L1에 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 p-SCN-Bn-DF0와 접촉시킴으로써 합성된다.

[0145] 본원에는 또한 식 (III)의 화합물과 ^{89}Zr 사이의 반응 생성물이 제공된다.

[0146] 본원에는 식 (III)의 화합물이 제공된다:



[0147]

[0148] 식에서, A는 PD-L1에 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이고 k는 1 내지 30의 정수이다. 일부 구체예에서, k는 1 또는 2이다.

[0149] 일부 구체예에서, 다음 구조를 가지는 콘주게이트를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다:

[0150] A-L_k

[0151] 상기에서 A는 PD-L1에 결합하는 단백질이고; L은 킬레이트화 모이어티이며; k는 1 내지 30의 정수이고; 콘주게이트는 임상에서 PET 영상화에 적합한 비방사능을 제공하기에 충분한 양의 양전자 방출체로 킬레이트화된다. 일부 구체예에서, 킬레이트화된 양전자 방출체의 양은 PD-L1에 결합하는 단백질의 1 내지 50 mg당 1 내지 3 mCi의 비방사능을 제공하기에 충분한 양이다.

[0152] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 모노머 인간 프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1)에, 37°C에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정되는 바 약 310 pM 미만의 결합 해리 평형 상수 (K_D)로 결합한다.

[0153] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 모노머 인간 PD-L1에, 25°C에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정되는 바 약 180 pM 미만의 K_D로 결합한다.

[0154] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 다이머 인간 PD-L1에, 37°C에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정되는 바 약 15 pM 미만의 K_D로 결합한다.

[0155] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 다이머 인간 PD-L1에, 25°C에서 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정되는 바 약 8 pM 미만의 K_D로 결합한다.

[0156] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 HCVR의 상보성 결정 영역 (CDR); 및 LCVR의 CDR을 포함하는 기준 항체와 인간 PD-L1에 대한 결합에 대해 결합하며, 이때에 HCVR은 표 1에 열거된 HCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지며, LCVR은 표 1에 열거된 LCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진다. 일부 구체예에서, 기준 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 표 1에 제시된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함한다. 일부 구체예에서, 기준 항체는 SEQ ID NO: 82/90, 98/106, 146/154, 162/170, 290/274, 306/274, 314/274 및 330/274로 이루어지는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함한다.

[0157] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 PD-1 또는 B7-1 중 하나에 대한 PD-L1 결합을 향상시킨다. 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 PD-1 및/또는 B7-1에 대한 PD-L1 결합을 차단한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 그것의 리간드에 대한 PD-L1 결합을 증가시키거나 감소시키지 않는다.

[0158] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 HCVR의 상보성 결정 영역 (CDR); 및 LCVR의 CDR을 포함하며, 여기서 HCVR은 SEQ ID NO: 18, 66, 114, 130, 202, 218, 266, 282, 298, 322, 및 338로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지며, LCVR은 SEQ ID NO: 26, 74, 122, 138, 210, 226, 및 274로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진다. 특정 구체예에서, 분리된 항체는 SEQ ID NO: 18/26, 66/74, 114/122, 130/138, 202/210, 218/226, 266/274, 282/274, 298/274, 322/274, 및 338/274로 이루어지는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함한다.

- [0159] 일부 구체예에서, 항체는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 인간 단클론성 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이고, 여기서 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 HCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 영역 (HCVR)을 포함한다.
- [0160] 일부 구체예에서, 항체는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 인간 단클론성 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이고, 여기서 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 LCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함한다.
- [0161] 일부 구체예에서, 항체는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 인간 단클론성 항체 또는 그것의 항원-결합 단편이고, 여기서 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 (a) 표 1에 열거된 HCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCVR; 및 (b) 표 1에 열거된 LCVR 서열들로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCVR을 포함한다.
- [0162] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 표 1에 열거된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 서열들 중 임의의 한 서열 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 표 1에 열거된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 서열들 중 임의의 한 서열 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.
- [0163] 일부 구체예에서, the 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은
- [0164] (a) SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 292, 300, 308, 316, 324, 332, 및 340으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR1 도메인;
- [0165] (b) SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 294, 302, 310, 318, 326, 334, 및 342로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR2 도메인;
- [0166] (c) SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 296, 304, 312, 320, 328, 336, 및 344로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR3 도메인;
- [0167] (d) SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 196, 212, 228, 244, 260, 및 276으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR1 도메인;
- [0168] (e) SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 198, 214, 230, 246, 262, 및 278로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR2 도메인; 및
- [0169] (f) SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 200, 216, 232, 248, 264, 및 280으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR3 도메인을 포함한다.
- [0170] 일부 구체예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 82/90, 98/106, 146/154, 162/170, 290/274, 306/274, 314/274 및 330/274로 이루어지는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함한다.
- [0171] 일부 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 HCVR의 CDR; 및 LCVR의 CDR을 포함하며, 여기서 HCVR은 SEQ ID NO: 2, 34, 50, 82, 98, 146, 162, 178, 186, 234, 250, 290, 306, 314, 및 330으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지며, LCVR은 SEQ ID NO: 10, 42, 58, 90, 106, 154, 170, 194, 242, 258, 및 274로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가진다.
- [0172] **E. 항-PD-L1 항체-킬레이터 콘주게이트의 제조를 위한 확대 제조**
- [0173] 본 개시에는 킬레이터에 콘주게이팅된 항-PD-L1 항체를 제조하기 위한 확대 제조 과정이 포함된다. 항-PD-L1 항체-킬레이터 콘주게이트는 방사성표지화에 적합한 형태로 있다.
- [0174] 양호한 제조 과정들이 멸균된 환경을 유지하기, 무균성 과정을 실시하기, 모든 과정의 기록을 보존하기, 및 생성물의 품질, 순도, 강도, 및 정체성, 및 그것으로부터의 임의의 편차를 기록하기를 포함한, 모든 제조 측면에서 준수된다.
- [0175] 확대 제조 과정은, 일부 구체예에서, 연구 및 개발을 위한 제조 과정보다 훨씬 더 빠르다. 일부 구체예에서, 확대 제조 과정은 12시간 미만, 또는 10시간 미만, 또는 8시간 미만, 또는 6시간 미만, 또는 4시간 미만, 또는 약

2시간 미만이 걸릴 수 있다.

- [0176] 일부 구체예에서, 제 1 단계는 부형제, 콘주게이션 간섭중, 및 콘주게이션 과정을 억제하는 염을 제거하기 위해, 30 내지 50 kDa 막을 사용한, 항-PD-L1 항체의 한외여과 및 투석여과 (UFDF)를 포함한다. 예시적인 막 폴리머로는 폴리에테르설폰 (PES), 셀룰로오스 아세테이트 (CA), 및 재생 셀룰로오스 (RC)가 있다. 이 단계에서, 항체는 낮은 이온 강도 및 비간섭 완충제 용액에서 완충액 교환된다. 완충제 pH는 약 4.5 내지 약 6, 또는 약 5 내지 약 6, 또는 약 5.3 내지 약 5.7, 또는 약 5.5일 수 있다. 본원에서 유용한 것으로 고려되는 완충제 시스템은 일차 아민이 없는 임의의 완충제 시스템을 포함한다. 예시적인 완충제로는 아세테이트, 포스페이트, 또는 시트레이트 완충제를 들 수 있다. 완충제는 사전-콘주게이션 프로세싱 중에 단백질 안정성을 제공한다. 공정 부피는 항체를 농축시키기 위해 추가로 감소될 수 있고, 그런 후 멸균 여과될 수 있다.
- [0177] 사전-콘주게이션 UFDF 후에, 농축되고 여과된 항체는 아민 유리 카보네이트 완충제 시스템으로 전달될 수 있다. 카보네이트 완충제 시스템은 약 8.5 내지 약 9.6, 또는 약 9.0 내지 약 9.6, 또는 약 9.2 내지 약 9.4, 또는 약 9.4 내지 약 9.6의 범위의 pH, 또는 약 9.4의 pH를 가질 수 있다.
- [0178] 용매 중의 킬레이터, 예를 들어, DFO는 항체를 함유하는 완충제 시스템 안으로 표적 농도로 첨가되고, 추가적인 용매가 원하는 백분율로 용액에 첨가될 수 있다. 킬레이터는 항체의 몰 과잉량으로, 예를 들어, 3.5 내지 5:1의 킬레이터 대 항체로 첨가될 수 있다. 총 반응 부피는 최대 5 L일 수 있다.
- [0179] 반응 온도 및 반응 시간은 역비례한다. 예를 들어, 만약 반응 온도가 더 높으면, 반응 시간은 더 짧아진다. 만약 반응 온도가 더 낮으면, 반응 시간은 더 길어진다. 예를 들어, 약 18℃를 초과하는 온도에서, 반응은 2시간 미만이 걸릴 수 있고; 18℃보다 아래의 온도에서, 반응은 2시간 이상이 걸릴 수 있다.
- [0180] 콘주게이션 반응은 쿼칭에 의해, 예를 들어, 아세트산의 첨가에 의해 종결될 수 있다.
- [0181] 일부 구체예에서, 항체의 테페록사민과의 콘주게이션은 DFO-mAb 콘주게이트를 제조하기 위해 수행된다. 일부 구체예에서, 항체의 p-SCN-Bn-테페록사민과의 콘주게이션은 DFO-mAb 콘주게이트를 제조하기 위해 수행된다.
- [0182] 킬레이터에 대한 예시적인 용매로는 DMSO와 DMA를 들 수 있다. 후속되는 UFDF 단계는 막을 사용하며, 막은 콘주게이션 단계에서 사용된 용매 시스템을 기반으로 선택된다. 예를 들어, DMA는 PES 막을 용해시키므로, 두 가지는 동일한 시스템에서 사용될 수 없을 것이다.
- [0183] 카보네이트 완충제는 장기간 보관 중에 콘주게이트의 안정성에는 바람직하지 못하다. 그러므로, 일단 항체-킬레이터 콘주게이트가 형성된 후에는, 그것들은 장기간 보관 및 안정성을 위해 특수하게 선택된 완충제로 완충액 교환될 수 있다. 예시적인 완충제로는 시트레이트, 아세테이트, 포스페이트, 아르기닌, 및 히스티딘 완충제를 들 수 있다. 추가의 UFDF 단계는 잔류하는 염을 제거하고 적합한 농도, 부형제 수준, 및 콘주게이션된 단클론성 항체의 pH를 제공하기 위하여 수행될 수 있다. 결과적으로 얻어지는 항체-킬레이터 콘주게이트는 후속되는 제제화를 위해 멸균 여과되고 보관될 수 있다.
- [0184] **III. 방사성 표지된 면역콘주게이트의 사용 방법**
- [0185] 특정 측면으로, 본 개시는 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 진단 및 치료 방법을 제공한다.
- [0186] 한 측면에 따르면, 본 개시는 조직에서 PD-L1을 검출하는 방법을 제공하며, 그 방법은 본원에 제공된 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 조직에 투여하는 단계; 및 PD-L1 발현을 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 시각화하는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, 조직은 세포 또는 세포주를 포함한다. 특정 구체예에서, 조직은 대상체에 존재하며, 대상체는 포유류이다. 특정 구체예에서, 대상체는 인간 대상체이다. 특정 구체예에서, 대상체는 암, 감염성 질환 및 염증성 질환으로 이루어지는 군으로부터 선택된 질환 또는 질병을 가진다. 한 구체예에서, 대상체는 암을 가진다. 특정 구체예에서, 감염성 질환은, 예를 들어, B형 간염 바이러스 (HBV), C형 간염 바이러스 (HCV), 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 및 미코박테리움 튜베르쿨로시스에 의해 유발된 박테리아 또는 바이러스 감염이다.
- [0187] 한 측면에 따르면, 본 개시는 PD-L1을 발현하는 조직의 영상화 방법을 제공하는데, 그 방법은 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 조직에 투여하는 단계; 및 PD-L1 발현을 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 시각화하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 조직은 종양에 포함된다. 한 구체예에서, 조직은 종양 세포 배양물 또는 종양 세포주에 포함된다. 한 구체예에서, 조직은 대상체의 종양 병변에 포함된다.
- [0188] 한 측면에 따르면, 본 개시는 치료법에 대한 반응을 측정하는 방법을 제공하며, 여기서 치료법에 대한 반응은

염증을 측정함으로써 측정된다. 이 측면에 따르면, 방법은 본원에 제공된 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 그것을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계 및 PD-L1 발현을 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 시각화하는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, 염증은 대상체의 종양에 존재한다. 특정 구체예에서, PD-L1 발현의 증가는 종양에서 염증의 증가와 상관이 있다.

[0189] 한 측면에 따르면, 본 개시는 환자가 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 적합한지의 여부를 측정하는 방법을 제공하며, 그 방법은 고체 종양을 가진 환자를 선택하는 단계, 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 투여하는 단계, 및 종양에서 투여된 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 PET 영상화에 의해 국지화하는 단계로, 이때 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 존재는 환자를 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 적합한 것으로서 확인해주는 단계를 포함한다.

[0190] 한 측면에 따르면, 본 개시는 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 대한 후보를 확인하는 방법을 제공하며, 그 방법은 고체 종양을 가진 환자를 선택하는 단계, 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 투여하는 단계, 및 종양에서 투여된 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 PET 영상화에 의해 국지화하는 단계로, 이때 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 존재는 환자를 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 적합한 것으로서 확인해주는 단계를 포함한다.

[0191] 한 측면에 따르면, 본 개시는 환자를 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함하는 항-종양 요법에 대해 예측하는 방법을 제공하며, 그 방법은 고체 종양을 가진 환자를 선택하는 단계, 종양이 PD-L1-양성인지를 측정하는 단계로서, 환자의 양성 반응은 종양이 PD-L1-양성인 것을 예측하는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, 종양은 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 투여하고 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 PET 영상화에 의해 국지화함으로써 측정되며, 여기서 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 존재는 종양이 PD-L1-양성인 것을 가리킨다.

[0192] 한 측면에 따르면, 본 개시는 대상체에서 PD-L1-양성 종양을 검출하는 방법을 제공한다. 이 측면에 따르는 방법은 고체 종양을 가진 대상체를 선택하는 단계; 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 대상체에게 투여하는 단계; 및 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 국지화를 PET 영상화에 의해 측정하는 단계를 포함하며, 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 존재는 종양이 PD-L1-양성인 것을 가리킨다.

[0193] 본원에서 사용되는 표현 "그것을 필요로 하는 대상체"는 암의 하나 이상의 증상 또는 적응증을 나타내는 인간 또는 비인간 포유류, 및/또는 고체 종양을 포함한 암으로 진단받은 사람들 및 그것에 대한 치료를 필요로 하는 사람들을 의미한다. 많은 구체예에서, 용어 "대상체"는 용어 "환자"와 상호교환적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간 대상체는 일차 또는 전이성 종양 및/또는 한정하는 것은 아니지만, 설명되지 않는 체중 감소, 일반적인 약함, 만성 피로, 식욕 상실, 발열, 식은땀, 뼈의 통증, 숨이 참, 복부 팽만, 흉부 통증/압박감, 비장 확대, 및 암-관련 생체마커 (예컨대, CA125)의 수준의 상승을 포함한, 하나 이상의 증상 또는 적응증으로 진단될 수 있다. 이 표현은 일차 또는 확립된 종양을 가진 대상체를 포함한다. 특정 구체예에서, 이 표현은 고체 종양, 예컨대 결장암, 유방암, 폐암, 전립선암, 피부암, 간암, 골암, 난소암, 자궁경부암, 췌장암, 두경부암, 및 에 대한 치료를 받았거나 및/또는 필요로 하는 인간 대상체를 포함한다. 용어는 일차 또는 전이성 종양 (악성으로 진단됨)을 가진 대상체를 포함한다. 특정 구체예에서, 표현 "그것을 필요로 하는 대상체"는 선행 치료법 (예컨대, 항암제로의 치료)에 대해 내성이거나 난치성이거나 또는 부적당하게 제어된 고체 종양을 가진 환자들을 포함한다. 예를 들어, 이 표현은 화학요법 (예컨대, 카르보플라틴 또는 도세탁셀)으로의 치료와 같은 선행 치료법의 하나 이상의 라인으로 치료되었던 대상체들을 포함한다. 특정 구체예에서, 표현 "그것을 필요로 하는 대상체"는 선행 치료법 중 하나 이상의 요법으로 치료되었지만 계속해서 재발되었거나 전이된 고체 종양을 가진 환자를 포함한다. 특정 구체예에서, 용어는, 한정하는 것은 아니지만, 암, 류머티스성 관절염, 아테롬성 동맥경화증, 치주염, 건초열, 심장 질환, 관상 동맥 질환, 감염성 질환, 기관지염, 피부염, 뇌수막염, 천식, 결핵, 폐양성 대장염, 크론병, 염증성 장 질환, 간염, 부비동염, 건선, 알레르기, 섬유증, 루푸스, 혈관염, 강직성 척추염, 그 레이브스병, 켈리악병, 섬유근육통, 및 이식 거부를 포함한 염증성 질환 또는 질병을 가지는 대상체들을 포함한다.

[0194] 특정 구체예에서, 본 개시의 방법은 고체 종양을 가진 환자에서 사용된다. 용어 "종양", "암" 및 "악성 종양"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 본원에서 사용되는 용어 "고체 종양"은 통상적으로 낭 또는 액체 영역을 함유하지 않는 조직의 비정상적인 덩어리를 나타낸다. 고체 종양은 양성 (암이 아님)이거나 악성 (암)일 수 있다. 본 개시의 목적에 대해, 용어 "고체 종양"은 악성 고체 종양을 의미한다. 용어는 종양을 형성하는 세포 유형들에 대해 명명된 상이한 고체 종양, 즉 육종, 암종 및 림프종을 포함한다. 특정 구체예에서, 용어 "고체

종양"은, 한정하는 것은 아니지만, 대장암, 난소암, 전립선암, 유방암, 뇌암, 자궁경부암, 방광암, 폐암, 항문암, 자궁암, 결장암, 간암, 췌장암, 폐암, 자궁내막암, 골암, 고환암, 피부암, 신장암, 위암, 식도암, 두경부암, 침샘암, 및 골수종을 포함한다.

[0195] 한 측면에 따르면, 본 개시는 대상체에서 종양의 치료 방법을 제공한다. 이 측면에 따르는 방법은 고체 종양을 가진 대상체를 선택하는 단계; 그 종양이 PD-L1-양성인 것을 측정하는 단계; 및 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제의 하나 이상의 용량을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, 종양은 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 대상체에게 투여하고; 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 PET 영상화에 의해 시각화함으로써 PD-L1-양성인 것으로서 측정되며, 이때 종양에서 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 존재는 종양이 PD-L1-양성인 것을 가리킨다.

[0196] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다", "치료하는", 등은 증상을 완화시키거나, 일과성 또는 영구적인 기준으로 증상의 원인을 제거하거나, 종양 성장을 지연 또는 억제하거나, 종양 세포 부하 또는 종양 부담을 감소시키거나, 종양 퇴행을 촉진하거나, 종양 수축, 괴사 및/또는 소멸을 유발하거나, 종양 재발을 방지하거나, 전이를 방지 또는 억제하거나, 전이성 종양 성장을 억제하거나, 및/또는 대상체의 생존 기간을 증가시키는 것을 의미한다.

[0197] 한 측면에 따르면, 본 개시는 대상체에서 항-종양 요법의 효능을 모니터링하는 방법을 제공하며, 그 방법은 고체 종양을 가진 대상체를 선택하는 단계, 여기서 대상체는 항-종양 요법으로 치료되고 있는 단계; 본 개시의 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 그 대상체에게 투여하는 단계; 종양에서 투여된 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 국지화를 PET 영상화에 의해 영상화하는 단계; 및 종양 성장을 측정하는 단계를 포함하고, 여기서 방사성 표지된 신호에서 기준선으로부터의 감소는 종양 퇴행 및 항-종양 요법의 효능을 가리킨다. 특정 구체예에서, 항-종양 요법은 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제 (예컨대, 항-PD-1 항체)를 포함한다.

[0198] 특정 구체예에서, 본 개시는 종양의 염증 상태의 변화를 평가하기 위한 방법을 제공하며, 그 방법은 고체 종양을 가진 대상체를 선택하는 단계, 여기서 대상체는 항-종양 요법으로 치료되고 있는 단계; 본원에 제공된 방사성 표지된 항체 콘주게이트를 그 대상체에게 투여하는 단계; 및 종양에서 투여된 방사성 표지된 콘주게이트의 국지화를 PET 영상화에 의해 영상화하는 단계를 포함하고, 여기서 방사성 표지된 신호에서 기준선으로부터의 증가는 염증의 증가 및 항-종양 요법의 효능을 가리킨다. 특정 구체예에서, 항-종양 요법은 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제 (예컨대, 항-PD-1 항체)를 포함한다.

[0199] 본원에서 사용되는 용어 "기준선"은 종양에서 PD-L1 발현과 관련하여, 항-종양 요법의 용량의 투여 전 또는 투여 시에 대상체에 대한 방사성 표지된 콘주게이트의 흡수 수치를 의미한다. 방사성 표지된 콘주게이트의 흡수는 당업계에 공지된 방법들을 사용하여 측정된다 (예를 들어, Oosting et al 2015, J. Nucl. Med. 56: 63-69 참조). 특정 구체예에서, 항-종양 요법은 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제를 포함한다.

[0200] 종양 퇴행이 있는지를 측정하기 위하여, 방사성 표지된 콘주게이트의 흡수가 기준선에서 및 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제 (예컨대, 항-PD-1 항체)의 투여 후 하나 이상의 시점에서 정량화된다. 예를 들어, 투여된 방사성 표지된 콘주게이트 (예컨대, 방사성 표지된 항-PD-L1 항체 콘주게이트)의 흡수는 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제 (예컨대, 항-PD-1 항체)로의 초기 처리 후 제 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 14일, 15일, 22일, 25일, 29일, 36일, 43일, 50일, 57일, 64일, 71일, 85일에; 또는 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주, 21주, 22주, 23주, 24주, 또는 그 이상의 기간이 끝났을 때 측정된다. 초기 치료 후 특정 시점에서의 흡수 값과 기준선에서의 흡수 값 사이의 차이는 종양 조직의 차이 (종양 퇴행 또는 진행)가 있었는지를 확립하기 위해 사용된다. 예를 들어, PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제의 적어도 한 용량으로의 치료시에 흡수의 기준선으로부터의 감소는 종양 퇴행을 의미하며 항-종양 요법의 효능을 나타낸다.

[0201] 특정 구체예에서, 방사성 표지된 항체 콘주게이트는 대상체에게 정맥내로 또는 피하로 투여된다. 특정 구체예에서, 방사성 표지된 항체 콘주게이트는 종양내로 투여된다. 투여시에, 방사성 표지된 항체 콘주게이트는 종양에 국지화된다. 국지화된 방사성 표지된 항체 콘주게이트는 PET 영상화에 의해 영상화되고 종양에 의한 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 흡수는 당업계에 알려져 있는 방법들에 의해 측정된다. 특정 구체예에서, 영상화는 방사성 표지된 콘주게이트의 투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일 후에 수행된다. 특정 구체예에서, 영상화는 방사성 표지된 항체 콘주게이트의 투여와 동일한 날에 수행된다.

[0202] 특정 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 PD-L1에 특이적으로 결합한다. 특정 구체예에서, 항-PD-

L1 항체는 HCVR의 CDR을 포함하고, 이때 HCVR은 SEQ ID NO: 2, 34, 50, 82, 98, 146, 162, 178, 186, 234, 250, 290, 306, 314, 및 330으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 및 LCVR의 CDR을 포함하고, 이때 LCVR은 SEQ ID NO: 10, 42, 58, 90, 106, 154, 170, 194, 242, 258, 및 274로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0203] 특정 구체예에서, PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제는 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구체예에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙, 펌브롤리주맙 및 REGN2810으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 특정한 다른 구체예에서, PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제는 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 포함한다. 한 구체예에서, 항-PD-L1 항체는 SEQ ID NO: 82의 HCVR 및 SEQ ID NO: 90의 LCVR을 포함한다.

[0204] IV. 실시예

[0205] 본 개시의 특정 구체예들은 다음의 비제한적인 실시예들에 의해 예시된다.

[0206] 실시예 1: PD-L1에 대한 인간 항체의 생성

[0207] 표 1에 열거된 것들을 포함한, 인간 항 PD-L1 항체를 미국 특허출원 공개 번호 US 2015-0203580 A1 (전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기술된 것과 같이 제조하고 특성화하였다. 간단히 설명하면, PD-L1에 대한 인간 항체를 PD-L1 (Genbank 등록 번호 NP_054862.1)의 약 아미노산 19 내지 239의 범위에 걸침 PD-L1의 단편을 사용하여 생성하였다. 면역원을 직접, 면역 반응을 자극하기 위한 보조제와 함께, 인간 면역글로불린 증쇄 및 카파 경쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 VELOCIMMUNE[®] 마우스에게 투여하였다. 항체 면역 반응을 PD-L1-특이적 면역검정에 의해 모니터링하였다. 원하는 면역 반응이 이루어졌을 때 비장세포를 수득하고 그것들의 생존성을 보존하고 하이브리도마 세포주를 형성하도록 마우스 골수종 세포와 융합시켰다. 하이브리도마 세포주를 스크리닝하고 PD-L1-특이적 항체를 생성하는 세포주를 확인하기 위하여 선택하였다. 이 기법을 사용하고, 상기 기술된 면역원을 사용하여, 여러 항-PD-L1 키메라 항체 (즉, 인간 가변 도메인 및 마우스 불변 도메인을 가진 항체)를 얻었다; 이 방식으로 생성된 예시적인 항체들을 H2M8306N, H2M8307N, H2M8309N, H2M8310N, H2M8312N, H2M8314N, H2M8316N, H2M8317N, H2M8321N, H2M8323N, H2M8718N, H2M8718N2, 및 H2M8719N으로서 표시하였다.

[0208] 항-PD-L1 항체를 또한, U.S. 2007/0280945A1 (전문이 본원에 구체적으로 참조로 포함됨)에서 기술된 것과 같이, 골수종 세포에 대한 융합 없이 직접 항원-양성 B 세포로부터 분리하였다. 이 방법을 사용하여, 여러 전체 인간 항-PD-L1 항체 (즉, 인간 가변 도메인 및 인간 불변 도메인을 가진 항체)를 얻었다; 이 방식으로 생성된 예시적인 항체들을 다음과 같이 표시하였다: H1H9323P, H1H9327P, H1H9329P, H1H9336P, H1H9344P2, H1H9345P2, H1H9351P2, H1H9354P2, H1H9364P2, H1H9373P2, H1H9382P2, H1H9387P2, 및 H1H9396P2.

[0209] 실시예 2: 항-PD-L1 항체 H4H8314N의 p-SCN-Bn-DFO와의 콘주게이션

[0210] 부모 항-PD-L1 항체, H4H8314N, 및 아이소타입 대조군 항체가 방사성 표지화가 포함된 면역 PET 연구에 적합한 것이 되도록 변형시키기 위하여, 킬레이터, p-SCN-bn-테페록사민 (DFO; Macrocytics, Cat #: B-705)을 항체에 부착시켰다.

[0211] 변형을 위하여, H4H8314N을 먼저 히스티딘 완충액으로부터 4°C에서의 밤샘 투석 (Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette G2 10k MWCO; ThermoScientific)에 의해 PBS, pH 7.2로 완충액 교환한 후, PD-10 칼럼 (GE Healthcare, Cat. #: 17-0851-01)을 사용하여 50 mM 탄산염 완충액, 150 mM NaCl, pH 9.0 (콘주게이션 완충액)으로 구성된 완충액에 다시 완충액 교환하였다. 완충제 교환 후 농도를 측정하기 위하여, 샘플을 1.46 g/L의 MacVector 서열 기반 흡광 계수를 사용하여 Nanodrop 2000 UV/VIS 분광계 (Thermo Scientific) 상에서 측정하였다 (표 2 참조). 15 mL 폴리프로필렌 튜브에서, 773.9 μ L의 H4H8314N (12.5 mg)을 1676.1 μ L의 콘주게이션 완충액에 첨가하였다. 별도의 바이알에서, 29.3 μ L의 DMSO를 20.7 μ L의 DFO에 첨가하였다. 1/4 증분에서, 이 DFO 용액을 H1H8314N 용액에 첨가하고, 매번 피펫을 위아래로 피펫팅함으로써 부드럽게 혼합하였다. 최종 용액은 DFO가 몰-대-몰로 6배 과다하게 들어있는 콘주게이션 완충액, 2% DMSO 중의 5 mg/mL H4H8314N이었다. 이 용액을 37°C 수조에서 추가적인 교반 없이 인큐베이션하였다.

[0212] 37°C에서 30분 후에, 용액을 pH 5.4에서 250 mM NaAcO를 함유한 완충액 (제제화 완충액)으로 사전-평형화되어 있는 PD-10 탈염 칼럼 (GE Healthcare, Cat. #: 17-0851-01)을 지체없이 통과시켰다. 최종 용액을 주사기 필터 (Acrodisc 13 mm 주사기 필터, Pall Corporation, Cat #: 4602)를 통해 멸균 여과하였다. 농도 및 DFO-대-항체 비율 (DAR)을 계속하여 UV/VIS 분광법에 의해 측정하였다. 흡광도 측정을 위해, DFO-콘주게이트된 항체를 제제

화 완충액에 대해 252 nm (A252), 280 nm (A280) 및 600 nm (A600)에서 측정하였다. 계산을 위해서, 바탕값을 각 흡광도 값에서 다음의 식을 사용하여 보정하였다;

$$A'_{\lambda} = A_{\lambda} - A_{600}$$

항체 콘주게이트를 SEC 크로마토그래피를 사용하여 응집에 대해 테스트하였는데, 25 ug의 샘플을 Superdex 200 칼럼 (GE Healthcare, Cat. No. 17-5175-01) 위에 주입하고 280 nm에서 PBS 이동상 (0.75 mL/분)으로 모니터링 하였다. 항체 세기를 2 ug의 샘플이 로딩되어 있는 SDS-PAGE 4-20% Tris/Gly 프리-캐스트 겔 (Novex)에 의해 평가하였다. 겔은 도 1에 도시된다. 항체 농도, 콘주게이트 농도, 및 DAR을 하기 식들을 사용하여 계산하였다:

항체 농도 계산

$$\text{Conc mAb (mg/mL)} = \frac{A'_{280}}{\epsilon_{280}} * MW * DF$$

콘주게이트 농도 계산

$$\text{Conc conjugate (mg/mL)} = \frac{A'_{252} - 1.53A'_{280}}{\epsilon_{252} - 1.53\epsilon_{280}} * MW * DF$$

DAR 계산

$$\text{DAR} = \frac{\epsilon_{252}A'_{280} - \epsilon_{280}A'_{252}}{18800A'_{252} - 28700A'_{280}}$$

표 2

몰 흡광 계수 및 분자량

항체	MW (g mol ⁻¹)	ϵ 280 (L g ⁻¹ cm ⁻¹)	ϵ 252 (L g ⁻¹ cm ⁻¹)
H4H8314N	144984	1.46	0.553

표 3

DFO-부착 후 UV DAR, 퍼센트 응집물 및 농도

항체	UV DAR	농도 (mg/mL)	% 응집물
H4H8314N	1.2	3.34	< 1%

실시예 3: DFO 콘주게이트된 단클론성 항체의 ⁸⁹Zr 킬레이트화

생체내 연구에서 면역PET에서 사용하기 위하여, DFO-콘주게이트된 항-PD-L1 항체, H4H8314N, 및 DFO-콘주게이트된 아이소타입 대조군 항체를 ⁸⁹Zr로 방사성 표지하였다.

DFO-콘주게이트된 항체 (250 또는 750 ug)를 먼저 1 M HEPES, pH 7.2에 1.25 mg/mL이 되도록 넣었다. 각 연구에 대한 DFO-Ab 콘주게이트 용액의 제조법은 표 4에 열거한다. 별도로, ⁸⁹Zr 용액을 표 5에 나타낸 각각의 상응하는 연구에 대한 제조법을 사용하여 제조하였다. 스톱 ⁸⁹Zr-옥살산 용액을 PerkinElmer 또는 3D Imaging으로부터 얻었다. 만약 스톱 용액의 방사능 농도가 낮으면 (표 5 참조), 중화 단계를 1 M 보레이트, pH 9.0을 사용하여 수행하였다. 용액의 최종 방사능을 Capintec CRC-25R 검량기 (Capintec #520)를 사용하여 확인한 후, 즉시 DFO-Ab 콘주게이트 용액과 조합하고, 부드럽게 혼합하고 (위아래로 피펫팅함) 계속해서 45분 동안 실온에서 인큐베이션하였다.

인큐베이션 후에, 각 반응 혼합물의 소량 샘플을 iTLC (순간 박막 액체 크로마토그래피)에 대해 취하여 방사성 표지화 반응 수율을 측정하고, 나머지 반응 혼합물을 중력 공급 탈염을 위해 pH 5.4의 250 mM 아세트산 나트륨이 들어 있는, 사전-평형화되어 있는 PD-10 칼럼 (Vendor)으로 옮겼다. 각각의 PD-10 칼럼은 1.2 mL 이상의 반

응 혼합물을 받지 못하였다 (그렇지 않으면 다중 칼럼을 사용함). 반응 내용물이 칼럼 베드로 유입된 후에, 1.6 mL의 250 mM 아세트산 나트륨, pH 5.4 (제제화 완충액)를 첨가하였다; 통과액은 버렸다. 추가적인 1.8 mL의 제제화 완충액을 칼럼에 첨가하고, 용출액을 각 칼럼으로부터 수집하였다. 다음에, 대략 500 μ L의 각 용액을 Nanodrop 분광광도계 (ThermoScientific)를 사용하여 분석하였다. 최종 Ab 농도를 적절한 흡광 계수 및 280 nm에서의 흡광도를 다음 식을 사용하여 계산하였다:

[0227] 농도, mg/mL = 280 nm에서의 흡광도 \div 280 nm에서의 흡광 계수 (표 6에 제시됨).

[0228] 그램으로 측정된 최종 질량을 표 4에서 기록하였다. 그런 후 방사능을 검량기를 사용하여 측정하고 표 5에서 기록하였다. PD-10 칼럼 처리 전 물질과 함께 최종 물질을 그런 다음, iTLC에 의해 분석하였다. 이 검정을 위해, 1 μ L의 각 용액을 실리카 겔 (Agilent Technologies, Cat # SG10001)로 적셔진 iTLC-SG-Glass 마이크로파이버 크로마토그래피 종이에 첨가하고, 20 mM 시트르산 완충제 용액이 들어 있는 TLC 챔버에서 전개시켰다. 최종 물질을 또한 UV 280이 포함된 SEC-HPLC 및 0.75 mL/분의 유량의 PBS 이동상이 포함된 Superdex 200 칼럼을 사용하여 시리트로 연결된 방사성 동위원소 검출기 (Agilent 1260 with Lablogic 방사성-TLC/HPLC Detector, SCAN-RAM)를 사용하여 분석하였다. 방사성 추적자를 사용하여 단백질 피크의 통합 (약 10 내지 16분) 및 유리 피크의 통합 (약 25분)을 비교함으로써 방사화학적 순도를 측정하였다. 모노머 순도를 올리고머 피크 (10분 내지 약 15분)의 통합을 모노머의 통합 (약 16분)에 비교함으로써 측정하였다.

[0229] 각각의 방사성 표지된 콘쥬게이트의 비방사능 및 단백질 회수율 (%)을 다음 식들을 사용하여 측정하였다:

[0230] a. 콘쥬게이트 질량, mg = 농도, mg/mL \times 용액의 질량, g

[0231] b. 비방사능, mCi/mg = 바이알의 활성, mCi \div 콘쥬게이트의 질량, mg

[0232] c. 단백질 회수율 = 출발 콘쥬게이트 질량 (mg) \div 콘쥬게이트의 질량, mg

[0233] 마지막으로 외관을 주지하고 표 7에서 기록하였다. UV280 및 iTLC 추적을 둘 다 정제된 생성물에 대해 수행하였다.

[0234] 그 결과를 표 7에서 통합한다. 방사성-SEC-HPLC 크로마토그램을 도 2 내지 4에 나타낸다. UV280 HPLC SEC 크로마토그램 및 방사성-iTLC의 실례는 ^{89}Zr 방사성 표지화, 연구 1에 대해 도 5에 나타낸다. UV280-HPLC SEC 크로마토그램은 모노머 생성물이 매우 많음 (99%)을 확인해준다. 방사성-iTLC 추적을 7-점 이항식 스무딩 함수로 처리하였다. 오리진과 용매 전선은 각각 대략 16 및 100 mm였다. 검출 가능한 ^{89}Zr 을 22 nm 이상에서는 관찰하지 못하였고, 이것은 도 2B에서 방사성-SEC-HPLC SEC 에 의해 측정된 방사화학적 순도를 확증해준다.

표 4

[0235] 방사성 표지화를 위한 DFO-항체 콘쥬게이트 제조

방사성-표지화 #	연구 #	방사성 표지화 로트	농도 (mg/mL)	DAR*	콘쥬게이트 질량 (mg)	총부피 (μ L)	최종 농도 (mg/mL)
1	1	아이소타입-DFO- ^{89}Zr	3.7	1.6	250	200	1.25
2	1	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	3.34	1.2	250	200	1.25
3	2	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	3.34	1.2	750	600	1.25
4	3	아이소타입-DFO- ^{89}Zr	3.7	1.6	250	200	1.25
5	3	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	3.34	1.2	250	200	1.25

[0236] * DAR은 DFO 대 항체 비율로서 정의됨

표 5

[0237]

방사성 표지화를 위한 ^{89}Zr 반응 용액 제조

방사성-표지화	연구 #	방사성-표지화 로트	^{89}Zr -옥살레이트 (uL)	첨가된 추가적인 1 M 옥살산 (uL)	첨가된 1 M 보레이트, pH 9.0 (uL)	1 M HEPES, pH 7.2 (uL)	최종 부피 (uL)	최종 활성 (uCi)	비방사능 (uCi/uL)
1	1	아이소타입-DFO- ^{89}Zr	50	50	400	500	1000	1009	1.01
2	1	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	50	50	400	500	1000	1000	1
3	2	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	150	150	1200	1500	3000	3070	1.02
4	3	아이소타입-DFO- ^{89}Zr	~1	0	0	1000	1000	1680	1.68
5	3	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	~1	0	0	1000	1000	1640	1.64

표 6

[0238]

콘주게이트 로트에 대한 흡광 계수

방사성 표지화 로트	ϵ_{280} (AU ml mg ⁻¹ cm ⁻¹)
아이소타입-DFO- ^{89}Zr	1.71
H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	1.61

표 7

[0239]

생체내 영상화 및 생체분포 연구를 위한 ^{89}Zr 표지된 DFO-Ab 콘주게이트의 요약

방사성-표지화	연구 #	콘주게이트 로트	외관	방사화학적 순도* (%)	모노머 순도* (%)	단백질 회수율 (%)	농도 (mg/mL)	비방사능 (mCi/mg)
1	1	아이소타입-DFO- ^{89}Zr	투명함	>99%	>95%	60%	0.106	3.35
2	1	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	투명함	>99%	>95%	63%	0.121	2.75
3	2	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	투명함	>99%	>95%	62%	0.134	3.58
4	3	아이소타입-DFO- ^{89}Zr	투명함	>99%	>95%	66%	0.074	5.38
5	3	H4H8314N-DFO- ^{89}Zr	투명함	>99%	>95%	74%	0.084	5.13

[0240]

* 방사성-SEC-HPLC에 의한 것임

[0241]

실시예 4: 면역반응성

[0242]

방사성 표지된 항-PD-L1 항체 및 아이소타입 대조군 항체의 면역반응성 (IR)을 다음과 같이 측정하였다. 초기 연구를 위해, MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-} hPD-L1^{Tg} 세포를 사용하였고, 계속해서 LOX-IMVI 세포 (실시예 5에서 세포주의 상세한 설명 참조)를 또한 후기 연구에서 사용하였다. 이들 검정에서, 20 ng의 각각의 ^{89}Zr 표지된 항체를 15×10^6 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-} hPD-L1^{Tg} 또는 30×10^6 LOX-IMVI 세포에, 1 mL의 최종 부피로 첨가하였다. 샘플을 45분 동안 계속 혼합하면서 인큐베이션한 후에 배지로 3회 세척을 수행하여 임의의 미결합 항체를 제거하였다. 그런 후 자동 감마 카운터 (Wizard 2470, Perkin Elmer)에서 동일한 20 ng의 ^{89}Zr 표지된

항체를 함유하는 2개의 기준 표준에 대해 테스트 세포 펠릿의 방사능을 카운팅하였다. 백분을 면역반응성을 총 활성의 척도로서 표준의 평균을 사용하여 샘플에 대해 측정하였다.

[0243] 표 8에서 알 수 있는 것과 같이, ^{89}Zr 표지된 항-PD-L1 항체는 콘쥬게이션 및 방사성 표지화 후에 면역반응성을 보유하고, %IR은 연구 전체에서 88 내지 98% 범위였다. 결합의 특이성은 1% 미만의 바탕 %IR을 가진 대조군 항체에서 나타난다.

표 8

[0244] ^{89}Zr 킬레이트화된 DFP-콘쥬게이트의 면역반응성

연구	연구 1		연구 2		연구 3		LOX-IMVI	
세포주	MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}		MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}		MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}			
항체	^{89}Zr -항-PD-L1	^{89}Zr -대조군	^{89}Zr -항-PD-L1	^{89}Zr -대조군	^{89}Zr -항-PD-L1	^{89}Zr -대조군	^{89}Zr -항-PD-L1	^{89}Zr -대조군
세포 펠릿 활성	4048.4	29.6	8311.9	na	6262.4	68	5587.54	65.4
평균 표준 활성	4536.5	6432.4	8567.2	na	6386.6	9544.8	6386.6	9544.8
% IR	89.2	0.5	97.0	na	98.1	0.7	87.5	0.7

[0245] 실시예 5: 종양 세포주 상에서 인간 PD-L1 발현의 시험관내 및 생체의 특성화

[0246] 수컷 NCr 누드 (Taconic, Hudson NY) 마우스 또는 VelociGene® 기술 (Valenzuela et al 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652-659; US 특허 출원 공개 US2016/0157469)을 사용하여 75% C57/B16 / 25% 129 스트레인을 바탕으로 마우스 PD-L1 (PD-L1 HumIn 마우스)의 세포외 도메인 대신 인간 PD-L1의 세포외 도메인의 발현에 대해 동형접합성이 되도록 조작된 마우스에서 생체내에서 종양에 의해 내인성으로 발현된 인간 PD-L1 발현을 검출할 목적으로, 인간 PD-L1의 발현 수준을 평가하기 위하여 여러 종양 세포주를 연구하였다.

[0247] 이런 연구들에서 사용된 세포주는 다음을 포함한다: 1) 쥐과의 PD-L1을 녹아아웃시키지만, 전장 인간 PD-L1 및 eGFP와 융합된 전장 닭 오브알부민을 과다 발현하도록 사내에서 조작된, 따라서 본원에서 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}로서 언급되는, 쥐과의 결장 암종 세포주 MC38 (미국 메릴랜드 프레데릭 소재의 NCI, 종양 면역학 및 생물학 실험실로부터 얻음); 2) 여러 인간 종양 세포주: 인간 흑색종 세포주 LOX-IMVI (내인성 PD-L1 양성 세포주, 미국 메릴랜드 프레데릭 소재의 NCI, 암 치료 및 진단, 종양 저장소 부서로부터 얻음), 인간 유방암 세포주 MDA-MB-231 (내인성 PD-L1 양성 세포주) 및 SK-Br-3 (PD-L1 음성 세포주) (둘 다 ATCC로부터 얻음). 일부 경우에는, 인간 PD-L1을 시험관내에서의 임의의 유도 없이 직접 평가하였고; 일부 경우에는, 인간 PD-L1 발현을 밤새 쥐과 또는 인간 IFN γ (100ng/ml) 처리 (Peprotech로부터 얻음)로 평가하였으며; 일부 경우에는, 인간 PD-L1을 생체외에서 종양을 가지고 있는 누드 마우스 또는 인간화된 마우스로부터 추출된, 효소적으로 분해된 종양 세포 상에서 평가하였다. 인간 PD-L1의 모든 표면 염색을 표준 프로토콜을 따라 수행하였다. 간단히 설명하면, 종양 세포를 PBS로 1회 세척하고, 저온 염색 완충액으로 1회 세척한 후, 상업적으로 입수 가능한 형광 색소로 직접 콘쥬게이트된 항-인간 PD-L1 항체 (eBioscience, 클론 MIH1)를 염색 완충액에서 30분 동안 저온의 암실에서 염색한 후, 2 mL의 PBS로 다시 한 번 세척하였다. 고정 가능한 염료 eFluor506을 또한 제조자 (eBioscience, Cat #17-5983)의 프로토콜을 따라 포함시켰다. 샘플을 DIVA v8이 장착된 BD FACSCanto IITM IVD10 상에서 획득하였다. 데이터를 추가로 FlowJo v10.0.6 이상으로 분석하였다.

[0248] 누드 마우스에서 이식 전 및 이식 후 7일 후의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포에 의한 PD-L1 발현을 표 9에 나타낸다.

표 9

[0249] 누드 마우스에서 이식 전 및 이식 후 7일 후의 인간 PD-L1 양성 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포의 백분

을

	아이소타입 염색	hPD-L1 염색
이식 전	0.6%	94.7%
이식 후	1.09%	74.0%

[0250] 이식 전, 대부분의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포는 아이소타입 대조군 염색에 비교하여, 인간 PD-L1 양성이었다. 누드 마우스에서 이식 후 7일 후 및 종양 분해를 위한 효소적 및 기계적 처리 시에 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포의 약 70%가 여전히 인간 PD-L1 양성이었다.

[0251] PD-L1 인간화 마우스에서 이식 전 및 이식 후 14일 후의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포에 의한 PD-L1 발현을 표 10에 나타낸다.

표 10

[0252] 누드 마우스에서 이식 전 및 이식 후 14일 후의 인간 PD-L1 양성 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포의 백분율

	아이소타입 염색	hPD-L1 염색
이식 전	0.2%	92.5%
이식 후	3.6	46.2%

[0253] 이식 전, 대부분의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포는 아이소타입 대조군 염색에 비교하여, 인간 PD-L1 양성이었다. PD-1/PD-L1 이중 인간화 마우스에서 이식 후 14일 후 및 종양 분해를 위한 효소적 및 기계적 처리 시에 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포의 약 50%가 여전히 인간 PD-L1 양성이었다.

[0254] 시험관 내에서 다중 종양 세포주에 의한 PD-L1 발현을 도 6에 나타낸다. 조작된 세포주 (MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}) 및 다른 인간 종양 세포주 (LOX-IMVI 흑색종 세포, MDA-MB-231 유방암 세포, 및 SK-Br-3 유방암 세포)에 의한 PD-L1의 발현 수준이 얼마나 비슷한지를 평가하기 위하여, 항-PD-L1 항체 염색의 용량 적정을 수행하였다. 도 6은 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}가 최고 수준의 인간 PD-L1 발현을 나타냈고 (도 6A) SK-Br-3이 최저 발현을 나타냈으며, 이때 PD-L1은 검출할 수 없었고 (도 6D), 반면 LOX-IMVI 및 MDA-MB-231에 의한 PD-L1 발현은 중간이었다 (MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}보다 약 5배 더 낮음)(도 6B 및 6C).

[0255] 제 2 실험에서, 각각 100 ng/mL의 hIFN γ / mIFN γ 로 밤새 처리하는 시험관내 처리가 있거나 없이, LOX-IMVI와 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 사이의 추가의 비교를 수행하였다. 도 7은 PD-L1의 중간 형광 세기가 염색을 위해 사용된 항-PD-L1 항체의 약 150 nM에서 고원에 도달하였음을 보여준다. 기준선에서, LOX-IMVI에 의한 PD-L1 발현은 중간이었다 (MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}보다 약 6 내지 7배 더 낮음). mIFN γ 로 처리했을 때에는, MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 상에서 PD-L1 염색에 대한 변화가 없었던 반면, 인간 PD-L1 염색의 3배 증가를 hIFN γ 로의 처리 후에 LOX-IMVI에서 볼 수 있었다.

[0256] 누드 마우스에서 이식 후 약 3주 후의 LOX-IMVI 및 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포에 의한 생체의 PD-L1 발현을 표 11 및 12에 나타냈다.

표 11

[0257] 누드 마우스에서 이식 후 약 3주 후의 PD-L1 양성 LOX-IMVI 및 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포의 백분율

	아이소타입 염색	hPD-L1 염색
LOX-IMVI	0.2%	56.6%
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	0.2%	96.2%

표 12

[0258] 누드 마우스에서 이식 후 약 3주 후의 LOX-IMVI 및 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포에 의한 PD-L1의 평균 형광 세기

	종양 1	종양 2
LOX-IMVI	8479.1	12121.5
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	49589.1	51445.0

[0259] 종양 분해를 허용하기 위한 효소적 및 기계적 처리 시에, 세포를 항-PD-L1 항체 (20 µg/mL)로 염색하였다. LOX-IMVI 상에서의 PD-L1 발현 수준은 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 종양 세포 상에서의 그것보다 약 5배 더 낮았다.

[0260] 실시예 6: 누드 마우스에서 hPD-L1 양성 종양에 대한 방사성 표지된 항-PD-L1 항체의 선택적 국지화

[0261] 항-PD-L1 항체의 생체내 국지화를 측정하기 위하여, 지르코늄-89 표지된 DFO-항체 콘쥬게이트를 PD-L1 양성 종양을 갖고 있는 누드 마우스에 정맥내로 투여하였다.

[0262] 연구를 위해 사용된 종양 라인은 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}로 언급되는 쥐과의 결장 암종 세포주였고, 그것은 야생형 MC38에서 쥐과의 PD-L1을 녹아웃시키고 전장 인간 PD-L1 및 eGFP와 융합된 전장 닭 오브알부민을 과다 발현하도록 조작되었다. 인간 PD-L1의 내인성 발현을 포함한 종양의 제 2 연구에서, 인간 흑색종 세포주 LOX-IMVI를 사용하여 후속적인 항-PD-L1 항체 국지화 연구를 위해 종양을 생체내에서 확립하는 데 사용하였다.

[0263] 이 연구를 위해 사용한 예시적인 방사성 표지된 항-PD-L1 항체는, SEQ ID NO: 82/90의 HCVR/LCVR을 포함하는 H1H8314N이었다.

[0264] 제 1 연구를 위하여, 1×10^6 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 세포를 생후 8 내지 10주령의 수컷 NCr 누드 마우스 (Taconic, Hudson NY)의 우측 옆구리에 피하로 이식하였다. LOX-IMVI 종양에 대해, 1×10^6 세포를 생후 8 내지 10주령의 수컷 NCr 누드 마우스의 우측 옆구리에 피하로 이식하였다. 종양이 50 내지 150 mm³의 평균 부피에 도달하고 나면 (약 7 내지 10일), 마우스들을 무작위로 여러 그룹으로 나누고, ⁸⁹Zr 표지된 항-PD-L1 DFO-항체 콘쥬게이트 (H1H8314N) 또는 ⁸⁹Zr 표지된 비-결합 아이소타입 대조군 DFO-항체 콘쥬게이트로 투약하였다. MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 종양을 갖고 있는 누드 마우스는 50 ± 1 uCi의 ⁸⁹Zr 표지된 항체를 받았고, 이때의 단백질 용량은 약 0.6 mg/kg이었다. LOX-IMVI 종양을 갖고 있는 마우스를 사용하는 연구에서는, 마우스들은 35 ± 1 uCi의 ⁸⁹Zr 표지된 항체를 받았으며, 이때 최종 항체 용량은 0.3 또는 1 mg/kg이었다.

[0265] 항체 국지화의 PET 영상화를 항체의 투여 후 6일 후에 평가하였다. Sofie Biosciences G8 PET/CT (Sofie Biosciences and Perkin Elmer)를 사용하여 영상을 얻었다. 기기는 영상 획득 전 ⁸⁹Zr의 검출을 위해 사전 보정하였다. 에너지 윈도우 범위는 150 내지 650 keV였고 시야의 중심에서 1.4 mm의 재구성된 해상도를 가진다. 마우스를 아이소플루란을 사용하여 마취를 유도하였고, 영상화 중에 아이소플루란의 연속적 흐름 하에 유지시켰다. 정적(static) 10-분 영상들을 G8 획득 소프트웨어를 사용하여 얻고 계속해서 사전-구성된 설정을 사용하여 재구성하였다. 영상 데이터를 붕괴(decay) 및 다른 매개변수들에 대해 보정하였다. CT 영상들을 PET 획득 후에 획득하고 나중에 PET 영상들과 공동으로 등록하였다. 영상을 VivoQuant 후처리 소프트웨어 (inviCRO Imaging Services)를 사용하여 제조하였다.

[0266] 생체 분포에 대하여, 마우스를 최종 시점 (투여 후 5 내지 6일)에 안락사시키고 혈액을 심장 천공을 통해 수집하였다. 그런 후 종양 및 정상 조직을 절개하고 카운팅 튜브에 놓았다. 각 샘플에 대한 중량을 측정하고 기록하였다. 그런 다음 CPM으로 표시하는 ⁸⁹Zr에 대한 카운트 데이터를 자동 감마 카운터 (Wizard 2470, Perkin Elmer) 상에서 샘플을 측정함으로써 수집하였다. 그램당 퍼센트-주입 용량 (%ID/g)을 주입된 물질로부터 제조한 표준을 사용하여 각 샘플에 대해 계산하였다.

[0267] 각 항체에 대한 평균 %ID/g을 표 13에 제시한다.

표 13

[0268] 분석된 조직에서의 평균 %ID/g

샘플	⁸⁹ Zr-H1H8314N		⁸⁹ Zr-아이소타입 대조군 항체	
	평균 %ID/g	STDEV %ID/g	평균 %ID/g	STDEV %ID/g
간	3.1	0.4	0.9	0.9
비장	4.4	1.1	1.5	1.3
신장	4.0	0.7	1.4	1.6
뼈	5.1	2.6	1.7	1.6
폐	5.1	1.1	2.5	3.0
심장	2.4	0.2	1.3	1.4
혈액	7.6	1.6	3.8	4.6
흉선	5.3	3.0	2.8	2.2
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} -hPD-L1 ^{Tg}	55.3	12.2	3.0	3.3
소장	1.5	0.3	0.6	0.6

[0269] 이것으로부터, MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}-hPD-L1^{Tg} 종양에서 분명한 고흡수가 다른 정상 조직에 대해서도 나타났고, 이때 55.3 %ID/g의 종양 흡수가 흉선에서 관찰된 다음으로 높은 5.3 %ID/g의 흡수보다 상당히 더 높았다. 종양 흡수는 혈액 및 간에서의 활성보다 각각 7.3배 및 17.8배 더 높았다. 종양으로의 항-PD-L1 흡수의 특이성 (55.3% ID/g)은 비-결합 아이소타입 대조군 항체에 대해 관찰된 3%의 상당히 감소된 종양 흡수와 비교하여 나타났다. 여기서 수행된 파일럿 PET 영상화는 ⁸⁹Zr 표지된 항-PD-L1 DFO-항체 콘주게이트의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}-hPD-L1^{Tg} 종양으로의 분명한 국지화를 증명하였다. 이 제 6일 투약 후 시점에서 아주 적은 바탕 신호를 동물에서 관찰하였다. 항-PD-L1 항체를 사용하여 나타난 분명한 종양 국지화와는 대조적으로, 이 모델에서 대조군 항체의 영상화에서는 단지 희미한 바탕 활성만이 나타났다. 영상화는 분명하게, 인간 PD-L1 양성 종양에서 항-PD-L1 항체의 높은, 특이적 흡수를 나타냈고, 이것은 NCr 누드 마우스에서 ⁸⁹Zr 방사성 표지된 항-PD-L1 항체의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}-hPD-L1^{Tg} 종양으로의 국지화를 보여준다.

[0270] 제 2 연구에서, 항-PD-L1 항체가 인간 PD-L1 항원의 내인성 수준을 발현하는 종양을 선택적으로 표적화하는 능력을 평가하였다. 여기서, 인간 LOX-IMVI 흑색종 종양을 갖고 있는 마우스에게 0.3 및 1 mg/kg의 용량의 ⁸⁹Zr 표지된 항체를 투여하였다. 다시, 혈액, 종양 및 조직을 주사 후 제 6일에 취하여 샘플에 대한 %ID/g을 계산하였다. 각 항체에 대한 평균 %ID/g을 표 14에 제시한다.

표 14

[0271] 제 2 연구 (LOX-IMVI 종양)로부터 분석된 조직에서의 평균 %ID/G

샘플	⁸⁹ Zr-DFO-H1H8314N 0.3 mg/kg		⁸⁹ Zr-DFO-H1H8314N 1 mg/kg		⁸⁹ Zr-아이소타입 대조군 항체 1 mg/kg	
	평균 %ID/g	STDEV %ID/g	평균 %ID/g	STDEV %ID/g	평균 %ID/g	STDEV %ID/g
간	2.9	0.3	3.3	0.2	3.9	0.3
비장	4.2	0.2	4.3	0.9	4.2	0.7
신장	4.3	0.4	4.3	0.8	3.4	0.4
뼈	3.2	0.6	2.7	0.5	3.6	0.4
폐	5.7	1.0	6.6	1.6	5.9	1.2
심장	3.2	0.8	3.2	0.4	2.9	0.6
혈액	8.1	1.4	9.5	1.0	11.1	6.2
흉선	5.3	2.3	5.6	0.7	4.9	1.4
LOX-IMVI 종양	20.6	2.7	10.6	2.6	12.0	1.8

소장	1.5	0.2	1.8	0.4	2.0	0.3
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

[0272] 더 적은 0.3 mg/kg 용량에서, 정상 조직 상에서 종양으로의 분명한 표적화가 관찰되었고, 이때 LOX-IMVI 종양에서는 20.6 %ID/g이 관찰되었다. 마우스가 더 높은 1 mg/kg 용량을 받았을 때, 10.6 %ID/g의 감소된 종양 흡수가 0.3 mg/kg 수준에 비해 관찰되었다. 이것은 더 높은 단백질 용량 및 아마도 후속된 미표지 항체의 더 높은 분획이 ⁸⁹Zr 표지된 항-PD-L1 항체에 의한 종양 흡수의 차단으로 이어졌음을 시사한다. 이것에 따르면, 생체분포 연구 직전에 수행된 PET 영상화는 또한 1 mg/kg 용량에서의 흡수가 대조군 항체의 그것과 대략 동등하였음을 보여주었다. 0.3 mg/kg의 더 낮은 용량에서, 항-PD-L1 항체의 종양 국지화의 분명한 증가가 대조군 항체에 대하여 나타났다. 종합적으로, PET 영상화 및 생체분포 데이터는 항-PD-L1 항체의 0.3 mg/kg 용량에서 LOX-IMVI 종양의 특이적 표적화를 증명해준다.

[0273] **실시예 7: 마우스에서 방사성 표지된 항-PD-L1 항체의 hPD-L1 양성 종양으로의 선택적 국지화**

[0274] 이 실시예는 PD-L1에 대해 인간화된 마우스에서 지르코늄-89 표지된 DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 생체내 국지화를 설명한다. 이 실시예에서 사용한 예시적인 항체는 SEQ ID NO: 82/90의 HCVR/LCVR을 포함하는 H1H8314N이었다.

[0275] PD-L1에 대해 인간화된 마우스를 VelociGene® 기술 (Valenzuela et al 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652-659; 미국 특허 출원 공개 US2016/0157469)을 사용하여 조작하였다.

[0276] 사용한 종양 라인에는 eGFP와 융합된 전장 닭 오브알부민을 발현하고 야생형 MC38에서 쥐과의 PD-L1을 녹아웃시키지만 전장 인간 PD-L1을 과다 발현하도록 사내에서 조작된, MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}로 언급되는, 쥐과의 결장 암종 세포주였다.

[0277] 1 x 10⁶ 세포의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}를 수컷 인간화된 PD-L1 마우스의 좌측 옆구리에 피하로 이식하였다. 종양이 50 내지 150 mm³의 평균 부피에 도달하게 되면 (약 제 7일), 마우스를 무작위로 여러 그룹으로 나누고, ⁸⁹Zr 표지된 항-PD-L1 DFO-항체 콘주게이트 또는 ⁸⁹Zr 표지된 비-결합 아이소타입 대조군 DFO-항체 콘주게이트 중 하나를 투여하였다. 마우스는 50 ± 1 uCi의 ⁸⁹Zr 표지된 항체를 받았고 이때 최종 단백질 용량은 1 또는 3 mg/kg이었다.

[0278] 항체 국지화의 PET 영상화를 항체 투여 후 6일 후에 평가하였다. Sofie Biosciences G8 PET/CT (Sofie Biosciences and Perkin Elmer)를 사용하여 영상들을 획득하였다. 기기를 영상 획득 전에, ⁸⁹Zr의 검출을 위해 사전 보정하였다. 에너지 윈도우 범위는 150 내지 650 keV였고 시야의 중심에서 1.4 mm의 재구성된 해상도를 가진다. 마우스를 아이소플루란을 사용하여 마취를 유도하였고, 영상화 중에 아이소플루란의 연속적 흐름 하에 유지하였다. 정적 10-분 영상들을 G8 획득 소프트웨어를 사용하여 얻고 계속해서 사전-구성된 설정을 사용하여 재구성하였다. 영상 데이터를 붕괴 및 다른 매개변수들에 대해 보정하였다. CT 영상들을 PET 획득 후에 획득하고 나중에 PET 영상들과 공동으로 등록하였다. 영상을 VivoQuant 후처리 소프트웨어 (invivo Imaging Services)를 사용하여 제조하였다.

[0279] 생체 분포에 대하여, 마우스를 최종 시점 (투여 후 5 내지 6일)에 안락사시키고 혈액을 심장 천공을 통해 수집하였다. 그런 후 종양 및 정상 조직을 절개하고 카운팅 튜브에 놓았다. 각 샘플에 대한 중량을 측정하고 기록하였다. 그런 다음 CPM으로 표시하는 ⁸⁹Zr에 대한 카운트 데이터를 자동 감마 카운터 (Wizard 2470, Perkin Elmer) 상에서 샘플을 측정함으로써 수집하였다. 그램당 퍼센트-주입 용량 (%ID/g)을 주입된 물질로부터 제조한 표준을 사용하여 각 샘플에 대해 계산하였다.

[0280] **결과**

[0281] MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 종양을 갖고 있는 인간화된 PD-L1 마우스는 ⁸⁹Zr 표지된 항-PD-L1 DFO-항체 콘주게이트를 1 또는 3 mg/kg의 최종 항체 용량으로 받았다. 혈액, 종양 및 조직을 취하고 주사 후 제 6일에 체중을 재고 샘플에 대한 %ID/g을 각 샘플로부터의 카운트를 기반으로 계산하였다. 1 및 3 mg/kg에서 용량에 대한 평균 %ID/g을 각각 표 15 및 표 16에 제시한다.

표 15

[0282]

1 mg/kg에서 항-PD-L1 항체의 분석된 조직에서의 평균 %ID/g

샘플	평균 %ID/g	STDEV %ID/g
간	8.6	1.5
비장	14.1	1.1
신장	7.8	1.0
뼈	4.5	1.4
폐	7.9	3.0
심장	4.3	1.1
혈액	9.1	4.6
흉선	9.7	3.5
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	34.1	18.0
소장	2.4	0.9

[0283]

1 mg/kg 용량 수준에서, MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 종양의 분명한 종양 표적화가, 이들 인간화된 마우스의 정상 조직에서의 PD-L1 발현에도 불구하고, 34/1%의 %ID/g으로 나타난다. 이 용량에서, ⁸⁹Zr 표지된 항-PD-L1 항체의 일부 국지화가 비장에서 나타났는데, 여기서 14.1 %ID/g의 항체 흡수가 관찰되었다. 그러한 흡수는 비장에서 인간 PD-L1의 마우스 PD-L1 발현 대신 인간 PD-L1의 정상적인 발현 때문에 예상된다. 3 mg/kg 항체 용량에서, ⁸⁹Zr-DF0-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 비장에 대한 국지화는, 이 항체 용량을 받은 마우스에서 이제 평균 9.7 %ID/g로 흡수된 것과 같이, 감소되었다 (표 16).

표 16

[0284]

3 mg/kg에서 항-PD-L1 항체의 분석된 조직에서의 평균 %ID/g

샘플	평균 %ID/g	STDEV %ID/g
간	6.7	1.4
비장	9.7	1.3
신장	7.0	1.1
뼈	3.6	0.6
폐	11.0	1.0
심장	4.7	0.7
혈액	12.4	2.1
흉선	7.6	0.5
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	28.7	13.1
소장	0.4	0.2

[0285]

분명한 종양 표적화가 3 mg/kg 용량에서도 여전히 관찰되었고, 이때 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 종양에 의한 흡수는 평균 28.7 %ID/g이었다. 그러므로 비록 감소된 정상 조직 국지화가 3 mg/kg 용량의 영상화에서 나타났지만, 항-PD-L1 표지된 항체의 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 종양으로의 분명한 국지화가 이 용량에서도 유지되었다. 종합적으로, 이런 결과들은 MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg} 종양의 분명한 표적화가 정상 조직 발현의 정규 부위에서 PD-L1을 발현하는 마우스에서 가능하였음을 나타낸다.

[0286]

여기서 수행된 연구들로부터의 결과는 ⁸⁹Zr로 표지된 항-PD-L1 항체가 유의하게 및 특이적으로 종양으로 국지화되는 것을 명백하게 증명한다. 당업자는 항-PD-L1 항체가 PD-1/PD-L1 신호전달 축의 억제제로의 후속 처리를 위해 PD-L1 양성 종양을 가진 환자들의 선택에 사용되는 시나리오를 예상할 수 있다.

[0287]

실시예 8: DF0-항-PD-L1 항체 콘주게이트를 제조하기 위한 확대 제조 공정

[0288] 이 실시예는 p-SCN-bn-테페록사민 (DFO)을 본원에서 기술된 항-PD-L1 항체 (mAb, H4H8314N)에 부착시킴으로써 방사성 표지화에 적합한 항-PD-L1 항체를 제조하기 위한 확대 제조 공정을 상세하게 설명한다: (1) mAb 콘주게이션 전의 한외여과 및 투석여과 (UFDF) 공정은 콘주게이션 공정을 억제하는 부형제들을 제거한다; (2) 콘주게이션-전 UFDF 후에, mAb의 p-SCN-Bn-테페록사민으로의 콘주게이션은 DFO-mAb 콘주게이트를 제조하기 위해 수행된다; 및 (3) 잔류 염을 제거하기 위한 콘주게이션-후 UFDF는 콘주게이트된 단클론성 항체의 적합한 농도, 부형제 수준, 및 pH를 제공한다. 그런 다음 결과적으로 얻어지는 DFO-mAb 콘주게이트는 완충된 상태로 제공되고 후속 제제화를 위해 개선된 안정성을 가진다.

[0289] (1) 콘주게이션-전 한외여과 및 투석여과 (UFDF)

[0290] 100 g의 항-PD-L1 항체를 5.50의 pH를 가지는 5 mM 아세테이트 완충 용액으로 Sius Prostream (TangenX Technology Corporation) 막 (막 용량 = 500 g/m²)을 사용하여 완충액 교환하여 콘주게이션 전에 잔류하는 염을 제거하였다. 공정 부피는 항체를 추가로 농축하기 위해 감소하였고, 그런 후 항체를 0.45/0.2 μm를 가지는 (이질성 PES 이중층) 또는 동등한 기공 크기를 가지는 Sartopore 2 (Sartorius) 막을 사용하여 멸균 여과하였다. 아세테이트 완충액 온도를 20±5℃의 표적 온도에서 유지하였다. 용액을 잘 혼합하였다.

[0291] (2) 콘주게이션

[0292] 농축되고 여과된 항체 (20 g)를 아민 유리 카보네이트 완충액 시스템 (56 mM 카보네이트, 167 mM 염화나트륨, pH 9.40)을 함유한 콘주게이션 용기에 옮겨서 잔류 아세테이트를 무시할만한 수준으로 만들었다. DFO (25 mM p-SCN-Bn-테페록사민)를 DMSO에 용해시켜서 추가적인 DMSO와 함께 콘주게이션 용기에 첨가하여서, DMSO가 5%의 최종 양으로 존재하도록 하였다. DFO를 4.5:1 DFO 대 mAb의 비율로 물 과다량으로 첨가하였다. 총 반응 부피는 2.0 L였다. 완충액 시스템을 반응 성분들을 첨가하는 동안 및 반응 시간 내내 혼합하였다.

[0293] 반응 온도를 반응 시간에 대한 온도와 관련된 식을 사용함으로써 특정 시간에 대해 제어하였다. 이 경우에, 반응 온도를 120분 동안 18℃에서 유지하였다. 반응을 2M 아세트산 (23 mL/L)을 첨가함으로써 퀀칭하여, pH 6을 가진 용액을 얻었다.

[0294] (3) 콘주게이션-후 UFDF

[0295] 콘주게이션 단계 후에, 퀀칭한 DFO-mAb 콘주게이션 용액을 히스티딘 완충액 (10 mM 히스티딘, pH 5.50, 전단 보호제로서 첨가된 0.0005% (w/v)의 초정제 폴리소르베이트 80이 포함되어 있음)으로 완충액 교환하여 잔류하는 공정 염, DMSO, 및 미반응 DFO를 제거하였다. 투석여과된 후에, 용액을 농축하고 계속해서 제제화하였다. 히스티딘 완충액을 -80℃에서의 장기간 보관을 위해 선택하였다. 단계 (1)에서 언급한 것과 동일한 Sius Prostream 막을 최종 UFDF 단계에서 사용하였다. 결과적으로 농축된 DFO-mAb 콘주게이트 용액을 상기에서 언급한 Sartopore 2 필터를 사용하여 멸균 여과하였다.

[0296] UV-DAR (1.5의 표적) 및 단백질 농도 측정을 실시예 2에서 기술한 것과 같이 수행하였다.

표 17

[0297] 물 흡광 계수 및 분자량

항체	MW (g mol ⁻¹)	ε 280 (L g ⁻¹ cm ⁻¹)	ε 252 (L g ⁻¹ cm ⁻¹)
H4H8314N	144984	211480	80172

[0298] 실시예 9: IV 용량의 ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트가 제공될 인간 대상체에서 방사능의 예측된 전신 및 조직 노출

[0299] 다음 실험의 목적은 정맥내 (IV) 용량의 ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트로 인한 인간 대상체에서 방사능에 대한 예측된 전신 및 조직 노출을 평가하는 것이었다. 방사성 표지된 콘주게이트에 사용한 예시적인 항-PD-L1 항체는 H4H8314N이었다.

[0300] 방사성면역콘주게이트의 특성화

[0301] 항-PD-L1 면역콘주게이트 (DFO-Ab) 및 아이소타입 대조군 면역콘주게이트 (DFO-IgG4^P 대조군)를 생체내 영상화

및 생체분포 연구에 사용하기 위하여 방사성 표지화하고 정제하였다. SEC-HPLC 분석 및 MC38/mPD-L1^{-/-}/hPD-L1 (마우스 PD-L1을 녹아웃하고 인간 PD-L1을 안정적으로 발현하도록 조작된 쥐과 MC38 결장 선암종 세포) 세포-기반 시험관내 검정을 수행하여 결과적으로 얻어진 방사성 면역콘주게이트를 특성화하였다.

[0302] 모노머 및 방사화학적 순도

[0303] UV- 및 γ -방출 검출기를 사용하는 SEC-HPLC를 수행하여 모노머 및 방사화학적 순도를 평가하였다. ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 방사성 면역콘주게이트 조제물 및 아이소타입 대조군 방사성면역콘주게이트 ^{89}Zr -DFO-IgG4^P의 조제물에 대한 결과들을 도 8에 나타낸다.

[0304] 280 nm에서의 흡광에 대한 크로마토그램의 분석을 수행하여 방사성면역콘주게이트 조제물에서의 고분자량 (HMW) 및 모노머 단백질의 상대적인 양을 평가하였다. 표 18에서 요약한 것과 같이, 모노머 피크 (모노머 순도의 관독)는 ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트 및 아이소타입 대조군 ^{89}Zr -DFO-IgG4^P의 조제물들에 대한 총 단백질 피크 면적의, 각각 99.6, 99.2, 및 98.6%를 구성한다; 저수준의 HMW 종들 (각각 0.4, 0.8, 및 1.4%) 또한 검출되었다. 저분자량 (LMW) 종은 테스트된 샘플 중 어느 것에 대해서도 관찰되지 않았다.

[0305] γ -방출에 대한 방사성-크로마토그램의 분석을 수행하여 통합되지 않은 ^{89}Zr (예컨대 유리 ^{89}Zr 또는 유리 DFO-유도체로 킬레이트화된 ^{89}Zr)과 비교하여 방사성면역콘주게이트로 통합된 ^{89}Zr 의 상대적인 양을 평가하였다. 표 18에서 요약한 것과 같이, 통합되지 않은 ^{89}Zr 에 대한 피크는 총 γ -방출 피크 면적의 1.1% 이하를 구성한 한편, 방사성 표지된 모노머 및 HMW 종에 대한 조합된 피크 (방사화학적 순도의 관독)는 각각, ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트 및 아이소타입 대조군 ^{89}Zr -DFO-IgG4^P의 조제물들에 대한 총 γ -방출 피크 면적의 98.9, 99.5, 및 99.5%를 구성한다.

표 18

[0306] SEC-HPLC 데이터의 요약

피크 번호	종	대략적인 보유 시간 (분)	피크 면적 (%)	
			UV- 크로마토그램	방사성- 크로마토그램
⁸⁹ Zr-DFO-H4H8314N 연구 1				
1	HMW	13	0.4	1.1
2	모노머	16	99.6	97.8
3	통합되지 않은 ⁸⁹ Zr	26	n/a	1.1
⁸⁹ Zr-DFO-H4H8314N 연구 2				
1	HMW	14	0.8	1.3
2	모노머	16	99.2	98.2
3	통합되지 않은 ⁸⁹ Zr	26	n/a	0.5
⁸⁹ Zr-DFO-IgG4 ^P 대조군				
1	HMW	13	1.4	1.5
2	모노머	16	98.6	98.0
3	통합되지 않은 ⁸⁹ Zr	26	n/a	0.5

[0307] SEC-HPLC 분석에 대한 수치를 도 8에서 그래프로 나타낸다. UV-크로마토그램은 280 nm에서의 흡광에 대한 크로마토그램을 나타내고, 방사성-크로마토그램은 γ -방출의 세기에 대한 크로마토그램을 나타낸다. HMW: 고분자량; n/a: 적용할 수 없음.

[0308] 면역반응성

[0309] 그것의 항원에 결합할 수 있는 방사성 표지된, 콘주게이트된 항체의 퍼센트의 척도인 면역반응성을, ^{89}Zr -DFO-항

-PD-L1 항체 콘주게이트를 MC38/mPD-L1^{-/-}/hPD-L1 세포와 인큐베이션함으로써 측정하였다. ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 2개의 테스트된 로트는 에 대한 84.5 및 88.8%의 면역반응성을 증명하였다 (표 19). 아이소타입 대조군 방사성면역콘주게이트에 대해서는 8.8%의 바탕, 비특이적 면역반응성을 관찰하였다.

표 19

[0310] ⁸⁹Zr 표지된 항-PD-L1 DFO-항체 콘주게이트 및 아이소타입 대조군 ⁸⁹Zr-DFO-IgG4^P의 면역반응성

방사성면역콘주게이트	면역반응성
⁸⁹ Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트 (로트 1)	84.5%
⁸⁹ Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트 (로트 2)	88.8%
아이소타입 대조군 ⁸⁹ Zr-DFO-IgG4 ^P	8.8%

[0311] 결론적으로, ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 2개의 별도의 로트는 높은 면역반응성, 모노머의 백분율, 및 방사화학적 순도를 나타냈다.

[0312] 마우스에서 ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 생체분포

[0313] 이 실험은 단일한 50 μ Ci (1 mg/kg) 정맥내 (IV) 용량의 PD-L1/PD-1-인간화된 마우스 (*PD-1hu/huPD-L1hu/hu*)로의 투여 후 시간 경과에 따른 항-인간 PD-L1 방사성면역콘주게이트, ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 생체분포를 평가하였다. H4H8314N이 마우스 PD-L1에 결합하지 않기 때문에, PD-L1 엑토도메인을 암호화하는 마우스 *PD-L1* 유전자의 부분을 *PD-1hu/hu-PD-L1hu/hu* 마우스에서의 상응하는 인간 서열에 의해 교체하였다. 이 스트레인에서, 마우스 PD-1의 엑토도메인을 유사하게 인간화하였다. 이런 마우스들은 면역/염증성 도전을 수행하지 않았고, 그러므로 면역 세포 상에서 자극되지 않은 수준의 PD-L1 발현을 가질 것으로 예상된다. 각 8마리씩의 2개 그룹을 투약 후 제 6일 (144시간) 또는 10일 (240시간) 후에 희생시키고, 혈액을 수집하고 다음의 조직을 수득하였다: 심장, 폐, 간, 비장, 신장, 위, 소장, 맹장, 대장, 뼈 (대퇴골), 흉선, 근육, 방광, 및 뇌. 특정 조직 또는 혈액으로 국지화된 총 주입 용량 (%ID)의 방사능의 백분율을 측정하였고 조직의 그램당 평균 %ID (%ID/g)로서 기록하였다. 희생에 앞서, 면역-PET/컴퓨터 단층촬영 (CT) 영상을 동일한 동물들로부터 투약 후 1, 24, 48, 72, 144, 192시간 (8-일 그룹 단독), 및 240 (10-일 그룹 단독) 시간에 획득하였다.

[0314] 혈액에서의 ⁸⁹Zr 수준에 대하여, ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 특이적 조직으로의 흡수는, 생체의 조직 분석 (표 20 및 도 9) 및 생체내 영상화에 의해 평가되는 바, 10-일 연구 기간 전체를 통해 무시할만하였다. 혈액 (9.4 \pm 2.2%ID/g)과 비교할 때, 수득한 모든 조직은, 비장을 제외하고는, 투약 후 제 6일째에 더 낮은 ⁸⁹Zr 수준 (=6.7%ID/g)을 증명하였다. 비장에서는, 적은 정도의 표적-매개된 ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트 흡수 (10.2 \pm 1.9%ID/g)를 관찰하였고, 이것은 유동 세포분석에 의해 증명되는 것과 같이, 비장 세포 상에서의 PD-L1 발현과 일치한다. 투약 후 제 10일째에, 혈액에서 ⁸⁹Zr 수준은 투약 후 제 6일에 비해 7.8배 감소하였고, 이것은 마우스-항-인간 항체 (MAHA) 반응이 ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트 수준에 영향을 준 것을 시사한다. 이런 관찰된 MAHA 반응은 표적인 PD-L1이 항원-제공 세포 (Francisco, 2010) 상에서 발현되어 인간 항체가 마우스 면역 체계에 제공되고 후속되는 MAHA 형성을 유도한다는 사실로 인한 가능성이 있다. 동시에, 간에서의 ⁸⁹Zr 수준은, 아마도 MAHA/⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트 면역 복합체 (IC) 형성 및 후속되는 간-매개된 IC 소멸 (Rojko, 2014)의 결과로서, 투약 후 6일 후와 비교하여 제 10일에 4.1배 증가하였다. 생체내 PET 영상화에서 전체 동물은 비장에 대한 낮은 신호 및 상기 기술된 간에서의 MAHA-매개된 축적을 뛰어 넘는, ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 뚜렷한 조직-특이적 흡수를 알아내지 못하였다.

[0315] 요약하면, 혈액에서의 ⁸⁹Zr 수준을 넘는, 상기 특정 조직으로의 ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 뚜렷한 표

적-매개된 흡수는 비장을 제외하고, 1 mg/kg (50 μ Ci)의 단일 IV 용량의 ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘쥬게이트가 투여된 PD-L1/PD-1-인간화된 마우스에서 6-일 기간에 걸쳐 관찰되지 않았고, 적은 정도의 표적-매개된 흡수가 비장세포 상에서의 PD-L1의 증명된 발현과 일치하여 관찰되었다. 제 6일을 지나 투약 후 제 10일에 연구가 끝날 때까지 수집한 데이터는 MAHA 반응에 의해 영향을 받았다.

표 20

평균 생체의 생체분포 데이터

조직	투약 후 제 6일에서의 ^{89}Zr 수준 (%ID/g)		투약 후 제 10일에서의 ^{89}Zr 수준 (%ID/g)	
	평균	SD	평균	SD
혈액	9.4	2.2	1.2	1.4
심장	3.1	0.6	1.2	0.4
폐	5.9	0.7	2.6	0.7
간	4.9	1.9	20.2	7.8
비장	10.2	1.9	12.1	3.0
신장	5.3	1.1	3.9	1.3
위	0.9	0.3	0.4	0.1
소장	1.5	0.3	0.9	0.1
맹장	1.0	0.2	0.6	0.2
대장	1.4	0.3	0.7	0.2
뼈 (대퇴골)	6.3	2.1	6.9	1.4
흉선	6.7	1.6	5.3	1.1
근육	0.9	0.1	0.5	0.1
방광	4.3	2.1	1.7	0.9
뇌	0.4	0.1	0.2	0.1

약어: %ID/g = (조직의) 그램당 주사된 용량 퍼센트

인간에서 방사능에 대한 전신 및 조직 노출의 추정

이 실험은 50 μ Ci (1 mg/kg)의 ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘쥬게이트의 단일 IV 투여 후 1, 24, 48, 72, 144, 192, 및 240시간째에 영상화된 4마리의 PD-1/PD-L1-인간화된 수컷마우스 및 4마리의 PD-1/PD-L1-인간화된 암컷마우스에 대한 PET/CT 영상 데이터를 사용하였다. 이런 임상적으로 관련된 용량에 의해 생성된 데이터는 방사능에 대한 인간 노출의 추정치를 계산하는데 사용되었다. 조직 농도 데이터를 관심 부피 (VOI) 분석을 사용하여 측정하였다.

방사선 선량측정 추정을 위해, 평균 체류 시간을 다음의 영역들에 대해 측정하였다: 뇌, 위 내용물, 심장 내용물, 신장, 간, 폐, 근육, 적색 골수, 비장, 방광 내용물, 및 신체의 나머지. 이런 평균 체류 시간 값들을 인간에서 평균 흡수된 조직 용량 및 유효 용량을 추정하기 위한 OLINDA/EXM 1.1 소프트웨어 프로그램에 입력값으로서 사용하였다.

^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘쥬게이트에 유효한 인간 용량은 성인 남성에서 0.513 mSv/MBq (밀리시버트/메가베크렐) 및 성인 여성에서 0.622 mSv/MBq인 것으로 추정되었다. 인간에서 최고 흡수 용량을 가지는 것으로 예측된 기관은 비장 및 간이였다. 비장에서 추정된 흡수 용량은 성인 남성에서는 0.856 mSv/MBq이었고 성인 여성에서는 1.12 mSv/MBq이였다. 간에서의 추정된 흡수 용량은 성인 남성에서는 0.764 mSv/MBq이었고 성인 여성에서는 0.974 mSv/MBq이였다.

각 VOI에 대한 수컷 및 암컷 마우스 (n = 4마리 수컷, n = 4마리 암컷)에 대한 mK당 주사된 용량의 붕괴-보정된 퍼센트 (DC %ID/mL)를 표 21에서 요약한다.

표 21

생체분포 데이터

시간 (시간)	mL 당 평균 붕괴-보정된 퍼센트 주사 용량 (DC %ID/mL) ± SD									
	1		24		48		72		144	
성별	여성	남성	여성	남성	여성	남성	여성	남성	여성	남성
뇌	1.365 ± 0.115	1.190 ± 0.050	0.903 ± 0.115	0.538 ± 0.071	0.640 ± 0.079	0.548 ± 0.218	0.685 ± 0.096	0.623 ± 0.224	0.465 ± 0.231	0.398 ± 0.073
폐	12.503 ± 1.146	12.498 ± 0.414	8.293 ± 0.635	7.155 ± 1.175	6.715 ± 0.370	5.888 ± 0.990	6.060 ± 0.708	5.558 ± 0.385	4.863 ± 0.316	4.585 ± 0.339
간	12.298 ± 0.664	12.078 ± 0.372	9.058 ± 0.793	7.200 ± 0.499	8.113 ± 0.969	6.125 ± 0.858	7.838 ± 0.932	6.203 ± 0.483	9.423 ± 1.885	6.208 ± 1.428
심장	27.688 ± 1.942	25.695 ± 0.934	15.685 ± 1.223	13.323 ± 1.133	12.088 ± 0.883	10.25 ± 1.335	11.740 ± 1.553	9.915 ± 0.171	8.140 ± 0.598	7.463 ± 0.768
신장	11.430 ± 0.387	12.100 ± 0.872	7.345 ± 0.322	6.783 ± 0.811	6.418 ± 0.761	5.565 ± 0.680	6.475 ± 0.493	5.568 ± 0.550	5.643 ± 0.222	4.815 ± 0.450
비장	15.263 ± 2.166	15.860 ± 0.974	14.135 ± 2.010	11.265 ± 1.706	13.675 ± 2.195	9.388 ± 1.389	13.655 ± 3.606	9.920 ± 1.414	15.105 ± 2.959	10.303 ± 1.102
방광	6.045 ± 3.910	9.688 ± 4.991	1.653 ± 0.107	1.820 ± 0.283	1.443 ± 0.205	1.403 ± 0.160	1.318 ± 0.108	1.710 ± 0.346	1.115 ± 0.224	1.293 ± 0.430
근육	1.608 ± 0.182	1.435 ± 0.198	2.608 ± 0.196	1.780 ± 0.137	2.368 ± 0.259	1.955 ± 0.339	2.408 ± 0.181	2.148 ± 0.176	2.095 ± 0.168	1.918 ± 0.144
위	3.238 ± 1.063	3.978 ± 0.632	2.875 ± 0.921	3.073 ± 0.566	2.478 ± 0.296	2.238 ± 0.487	2.260 ± 0.306	2.233 ± 0.491	2.380 ± 0.405	1.665 ± 0.148
뼈	3.683 ± 1.418	3.023 ± 0.244	3.310 ± 0.330	2.738 ± 0.171	4.600 ± 0.511	3.493 ± 0.716	4.850 ± 1.292	4.658 ± 1.399	8.993 ± 1.057	7.635 ± 0.872

[0323]

[0324]

추정된 인간 평균 체류 시간 (MRT) 값을 공급 기관의 각각에 대해 표 22에 제공한다. 신체의 나머지에서 MRT를 모든 공급 기관 체류 시간의 합을 ⁸⁹Zr 붕괴 상수의 역수로부터 뼈으로써 얻었다 (Huang et al., Biodistribution, toxicity and radiation dosimetry studies of the serotonin transporter radioligand 4-[18F]-ADAM in rats and monkeys. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2010; 37: 545-555). 이것은 누적된 조직 방사능의 보수적 추정(conservative estimation)을 나타낸다.

표 22

인간 평균 체류 시간 (시간)

기관/조직	물리적 붕괴 ¹		쌍지수 맞춤 ²	
	여성	남성	여성	남성
뇌	0.398	0.364	0.372	0.344
위 내용물	0.511	0.476	0.492	0.480
심장 내용물	2.433	2.279	2.290	2.154
신장	0.868	0.818	0.832	0.794
간	5.902	5.919	8.240	5.938
폐	2.508	2.772	2.411	2.642
근육	17.635	23.677	13.348	17.182
적색 골수	2.777	2.024	2.613	1.913
비장	0.996	0.871	1.053	0.910
방광 내용물	0.299	0.491	0.315	0.405
신체의 나머지	78.794	73.430	81.157	80.361

[0326]

¹ 6일 후 시점에서 물리적 붕괴만을 추정하는 계산된 평균 체류 시간

[0327]

² 데이터의 쌍지수 맞춤으로부터 계산된 평균 체류 시간

[0328] OLINDA/EXM 1.1 성인 남성 및 성인 여성 팬텀에 대한 모든 표적 기관에 대한 추정된 흡수된 조직 용량을 표 23에 제공한다. 국제 방사선 방호 위원회 (ICRP) (International Commission on Radiological Protection, 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP Publication 60, Pergamon Press, New York, 1991)에 의해 규정된 유효 용량은 확률적인 위험 가중 인자에 의해 주어진 기관에 대한 흡수 용량을 곱하고 측정된 용량을 함께 더함으로써 계산된 양이다. 추정된 유효 용량을 표 23의 마지막에 제공한다. 이 값들은 방사성 흡수 용량의 보수적 추정을 나타낸다.

표 23

[0329] 추정된 인간 조직 흡수 용량 및 유효량

기관/조직	물리적 붕괴 ¹		쌍지수 맞춤 ²	
	성인 남성 (mSv/MBq)	성인 여성 (mSv/MBq)	성인 남성 (mSv/MBq)	성인 여성 (mSv/MBq)
부신	0.561	0.702	0.567	0.726
뇌	0.179	0.237	0.182	0.234
가슴	0.366	0.459	0.379	0.466
담낭 벽	0.601	0.692	0.610	0.751
LLI 벽	0.519	0.652	0.530	0.651
소장	0.563	0.600	0.582	0.605
위 벽	0.575	0.714	0.584	0.718
ULI 벽	0.553	0.685	0.571	0.700
심장 벽	0.789	0.973	0.781	0.964
신장	0.650	0.773	0.641	0.774
간	0.764	0.974	0.764	1.220
폐	0.575	0.705	0.561	0.700
근육	0.396	0.481	0.381	0.464
난소	0.533	0.645	0.542	0.642
췌장	0.597	0.743	0.606	0.765
적색 골수	0.480	0.591	0.483	0.587
골형성 세포	0.604	0.777	0.625	0.779
피부	0.291	0.373	0.297	0.374
비장	0.856	1.120	0.876	1.160
고환	0.399	NA	0.407	NA
흡선	0.481	0.605	0.484	0.601
갑상선	0.417	0.484	0.423	0.480
방광 벽	0.580	0.496	0.559	0.494
자궁	0.545	0.638	0.554	0.636
총 신체	0.440	0.550	0.440	0.554
유효량	0.513	0.622	0.516	0.625

[0330] ¹6일 후 시점에서 물리적 붕괴만을 추정하는 MRT로부터 계산된 흡수 용량

[0331] ²데이터의 쌍지수 맞춤으로 MRT로부터 계산된 흡수 용량

[0332] 약어: LLI = 하부 대장, ULI = 상부 대장, NA = 적용할 수 없음

[0333] 물리적 붕괴 및 쌍지수 맞춤 방법으로부터 추정된 인간 조직 흡수 용량 및 유효한 인간 용량 (표 23)은 유사하였다. 이 쥐과 모델에서 외관상 MAHA 반응으로 인한 추정된 인간 조직 흡수 용량 및 유효 용량의 최종 세트를 제조하기 위해 물리적 붕괴 방법을 선택하였다. 그러므로, ⁸⁹Zr-DFO-항-PD-L1 항체 콘쥬게이트에 대한 유효한 인간 용량은 성인 남성에서는 0.513 mSv/MBq 및 성인 여성에서는 0.622 mSv/MBq인 것으로 추정하였다. 인간에서 최고 흡수 용량을 가지는 것으로 예측된 기관은 비장 및 간이었다. 비장에서 추정된 흡수 용량은 성인 남성에서는 0.856 mSv/MBq이었고 성인 여성에서는 1.12 mSv/MBq이었다. 간에서 추정된 흡수 용량은 성인 남성에서는 0.764 mSv/MBq이었고 성인 여성에서는 0.974 mSv/MBq이었다.

- [0334] 실시예 10: 진행형 흉부 악성종양을 가진 환자들에서 $^{89}\text{ZrDFO}$ -항-PD-L1 항체 콘주게이트를 사용하는 종양의 PD-L1의 면역PET 영상화
- [0335] 이 연구의 일차 목적은 ^{89}Zr -DFO-항-PD-L1 항체 콘주게이트의 안전성 및 관용성을 측정하는 것이고, 이때 방사성 표지된 콘주게이트에서 사용된 항-PD-L1 항체는 H4H8314N이다. 연구의 이차 목적은 다음과 같다:
- [0336] · 연구 파트 A 단독: 트레이서 투입 후 영상화 및 채혈에 의해 평가되는 바, $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1 항체 콘주게이트의 적당한 대량 용량 및 투입 후 최적 영상화 시간을 확립하기.
- [0337] · 연구 파트 B 단독: 파트 A에서 측정되는 최적 대량 용량 및 영상화 시점에서 두 개의 별도의 트레이서 투이에 대해 평가되는 바 PET 측정의 검사/재검사 신뢰도를 확립하기.
- [0338] · 트레이서 혈장내 활성 농도를 기반으로 의 약물동역학 (PK) 프로파일을 특성화하기.
- [0339] 이것은 $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1의 안전성 및 관용성을 평가하기 위해 설계된 오픈 라벨, 2-파트 연구이다. 연구 파트 A는 $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1의 적당한 대량 용량 및 호라성 용량 및 최적의 투입 후 영상화 시간을 확립할 것이다. $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1의 검사/재검사 가변성은 파트 B에서 평가될 것이다.
- [0340] 모든 환자들은 선별 과정을 거칠 것이다. 적격 기준을 충족하는 환자들은 ^{18}F -플루오로데옥시글루코오스 (^{18}F -FDG) PET/컴퓨터 단층촬영 (CT) 및 진단용 CT 스캔이 진행되어서 병변 생존성, 위치, 및 크기가 평가될 것이다. 이런 스캔들은 $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1의 예상된 제 1 투여의 28일 이내에 얻어진 적당한 품질의 영상들이 활용될 수 있다면 필요하지 않을 것이다.
- [0341] **파트 A**
- [0342] 3개의 순차적인 용량 집단을 5 mg, 10 mg, 또는 20 mg의 $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1로 오픈-라벨로 처리되는 것으로 계획한다.
- [0343] $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1을 투입한 후, 환자들을 제 1일, 제 4 ± 1일 및 제 7 ± 1일에 $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1 PET/CT 스캔을 진행할 것이다. 추가적인 영상화는 제 10일에 수행될 수 있다. 환자들은 안전성 평가를 진행할 것이고 혈액학, 화학, 면역 안전성 검정, 약물동역학, 항-약물 항체 분석, 및 생체마커 분석을 위해 샘플을 제공할 것이다.
- [0344] 환자들은 $^{89}\text{ZrDFO}$ 항-PD-L1 트레이서의 투입 후 최대 21일까지, 신체 검사, 바이탈 신호, 및 부작용 (AE)의 기록을 포함한 안전성 평가를 계속 진행할 것이다.
- [0345] 적당한 용량을 확인하기 위한 용량의 단계적 확대 결정은 아래에서 기술되는, 안전성 및 관용성 데이터에 의해 및 면역-양전자 방출 단층촬영 (iPET) 양성 및 트레이서 혈장 활성 농도의 평가에 의해 고지될 것이다.
- [0346] **파트 A에서의 용량 집단**
- [0347] 최대 3개의 상승적인 대량 용량 집단을 계획한다. 각 대량 용량 집단에 대해, 초기 2명의 환자에게, 각 환자의 투약 사이에 최소 48시간의 간격을 두로 투약할 것이다. 주어진 대량 용량에서 제 2 환자에 대해 제 7 ± 1일이 끝났을 때 PET/CT 스캔을 하고, 모든 이용할 수 있는 영상화, 트레이서 혈장 활성 농도, 임상적 선량측정, 및 안전성 데이터를 검토할 것이다. 이 검토를 기반으로, 다음에 대한 결정이 내려질 것이다:
- [0348] · 1보다 큰 종양-대-혈액 비율에 의해 규정되는바, 적어도 1명의 환자에서 종양 흡수 양성/종양 국지화가 있다면, 집단을 6명의 환자로 확대한다.
- [0349] · 최적 영상화 시점에서 1 내지 5 범위의 혈액 표준화된 흡수 값 (SUV)에 의해 적당하게 규정되는 바, 부적당한 종양 흡수 및 혈장 트레이서 활성 농도가 있다면 다음의 대량 용량으로 올라간다.
- [0350] · 부적당한 종양 흡수 및 적당한 혈장 트레이서 활성 농도를 기반으로, 더 낮은 대량 용량에서 다음 대량 용량으로 진행한다.
- [0351] 만약 모든 3가지 제안된 대량 용량 수준에서 종양 국지화가 적어도 2명의 환자에게서 부적당하고, 이것이 낮은

영상 신호-대-노이즈로 인한 것으로 측정된다면, 활성 용량은 이전에 검사된 대량 용량 집단의 추가의 확대를 위해 최대 185 MBq까지 증가될 것이다.

[0352] **파트 B**

[0353] 연구 파트 B는 일단 파트 A에서 적당한 $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1 용량 및 최적의 영상화 시간이 측정된다면 시작될 것이다. 파트 B의 제 1일에, 환자들은 트레이서 대량 용량을 받을 것이다. 트레이서를 받은 것에 계속해서, 환자들은 파트 A에서 확인된 최적의 시간에 스캔이 진행될 것이다. 파트 B에서 환자들은 14 내지 28일의 용량 간 간격 후에 제 2 트레이서 용량을 받을 것이고 스캔될 것이다. 간격 후 제 2 트레이서 용량의 실제 타이밍은 파트 A로부터의 결과를 기반으로 결정될 것이다.

[0354] 환자들은 $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1 트레이서가 투여되는 방문 중 및 방문 후에 신체 검사, 바이탈 신호, 및 부작용 (AE)의 기록을 포함한 안전성 평가가 진행될 것이다. 이런 방문들 중에, 환자들은 PK, 혈액학, 화학, 및 면역 안전성 검정을 위한 샘플을 제공할 것이다.

[0355] 파트 A 및 파트 B 둘 다에 대해, 환자들은 $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1 트레이서의 마지막 투여 후 최대 21일까지 신체 검사, 바이탈 신호, 및 AE의 기록을 포함한, 안전성 평가를 계속해서 진행할 것이다.

[0356] **연구 기간**

[0357] 파트 A의 경우, 환자들은 최대 28일 (4주)의 스크리닝기간 및 트레이서 용량의 투입 후 최대 21일 (대략 3주)의 후속 기간을 가질 것이다. 연구 파트 A의 기간은 스크리닝 기간을 포함하여 대략 7주이다.

[0358] 파트 B의 경우, 환자들은 최대 28일 (4주)의 스크리닝기간, 최대 28일 (4주)의 투입 간 간격, 및 제 2 스캔 기간을 포함하는 21일 (3주) 안전성 후속 기간을 가질 것이다. 각 환자에 대한 연구의 총 기간은 스크리닝 기간을 포함하여 최대 11주일 것이다.

[0359] 이 연구에 대한 연구의 종료는 마지막 환자의 마지막 방문으로서 정의한다.

[0360] 연구 파트 A의 경우, 총 18명의 환자에 대해 3개 집단을 계획하고, 집단마다 최대 6명의 환자 각각의 3가지 순차적인 용량 수준을 계획한다. 연구 파트 B의 경우, 10명의 환자를 등록할 것이다. 전체 연구를 위해 단일 연구 부위에서 최대 28명의 환자의 등록을 계획한다.

[0361] **환자 표적 집단**

[0362] 표적 집단은 진행형 흉부 악성종양 및 PD-L1 IHC 점수가 진단 또는 후속 생검에서 1% 이상인 18세 이상의 환자로 구성될 것이다 (22C3 PharmDx assay, Dako North America Inc.에 의한 양성 PDL1 IHC 점수).

[0363] · 파트 A의 경우, 흉부 악성종양은 NSCLC, 위-식도 접합부 선암종, 및 위암에 한정될 것이고, 이때 PD-L1 점수는 INC에 의해 1% 이상이다.

[0364] · 파트 B의 경우, IHC에 의해 1% 이상의 진행형 흉부 악성종양 및 PD-L1 점수를 가진 모든 환자들이 적격일 것이다. 환자들은 또한 2가지 가장 최근의 영상화 연구 사이에 RECIST 1.1에 따라 안정적인 질환을 가져야 한다.

[0365] 치료법을 필요로 하는 모든 환자들은 돌봄 요법의 기준에 부합해야 한다.

[0366] **치료**

[0367] $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1은 이중기능성 킬레이터 (p-SCN-Bn-DF0)를 H4H8314N (항-PD-L1 단클론성 항체)에 공유 콘쥬게이트하고 그 화합물을 ^{89}Zr 로 방사성 표지화함으로써 형성된 방사성면역콘쥬게이트이다. $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1은 수성 완충된 비히클로 공급된다.

[0368] 파트 A의 경우, $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1은 제 1일에 IV 투여될 것이다 (기준선). 파트 B의 경우, $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1은 제 1일 및 제 7 ± 3일에 IV 투여될 것이다. 파트 B에서 제 2 용량의 실제 타이밍은 파트 A의 결과로부터 결정될 것이다.

[0369] $^{89}\text{ZrDF0}$ 항-PD-L1 트레이서는 PK 모델을 기반으로 인간에서 추정된 누적 노출 수준보다 꽤 아래의 용량 수준 및 현재 이용할 수 있는 항-PD-1 작용제가 항암 치료를 위해 사용되는 수준보다 낮은 수준으로 투여될 것이다. 이

연구는 표적에 대한 경합을 피하기 위하여 현재 항-PD-L1으로 치료받고 있는 환자들을 배제할 것이다.

[0370] **중점**

[0371] 연구의 일차 중점은 $^{89}\text{ZrDFO}$ -항-PD-L1이 투여된 흉부 악성종양 환자들에서 트레이서 투입의 마지막 용량의 21일 동안의 치료제-유발 부작용 (TEAE)의 발생 및 중증도이다.

[0372] 파트 A 단독의 경우, 연구는 $^{89}\text{ZrDFO}$ -항-PD-L1의 적당한 대량 용량 및 활성 용량 및 최적의 투입 후 영상화 시간을 확립할 것인데, 트레이서 투입 후 제 1, 4, 및 7일 후의 채혈 및 영상화를 통해 다음의 것들이 측정될 것이다:

[0373] · 혈액 풀에서 $^{89}\text{ZrDFO}$ -항-PD-L1의 표준화된 흡수 값, 이때 영상화와 동시에 종양-대-혈액 비율이 계속해서 계산된다.

[0374] · PET 영상 획득 데이터 및 혈액 중의 트레이서 활성 농도로부터 계산된, 흡수된 용량 및 유효한 조직 방사선을 기반으로 한 임상적 선량 측정.

[0375] · 관심의 종양 영역 (ROI)을 가로지르는 표준화된 흡수 값 (SUV).

[0376] · 종양 ROI 내의 최대 SUV (SUV_{max}).

[0377] · SUV로서 표시되는 혈장 트레이서 활성 농도, 이때 7일 동안의 곡선 아래의 면적이 계산된다 (AUC₀₋₇).

[0378] 파트 B 단독의 경우, 연구는 $^{89}\text{ZrDFO}$ -항-PD-L1 PET의 검사/재검사 신뢰도를 확립할 것이고, 파트 A로부터 측정되는 것과 같이, 적당한 대량 용량 및 최적의 영상화 시점에서 2개의 별도의 트레이서 주입의 측정으로부터 다음의 것들이 측정될 것이다:

[0379] · 혈액 풀 SUV, 이때 종양-대-혈액 비율의 계산이 후속된다.

[0380] · 종양 ROI를 가로지르는 SUV

[0381] · 종양 ROI 내의 SUV_{max}

[0382] · $^{89}\text{ZrDFO}$ -항-PD-L1의 생체분포

[0383] 결과적으로 얻어진 데이터는 인간에서 $^{89}\text{ZrDFO}$ -항-PD-L1의 안전성 및 관용성의 지표가 될 것이다.

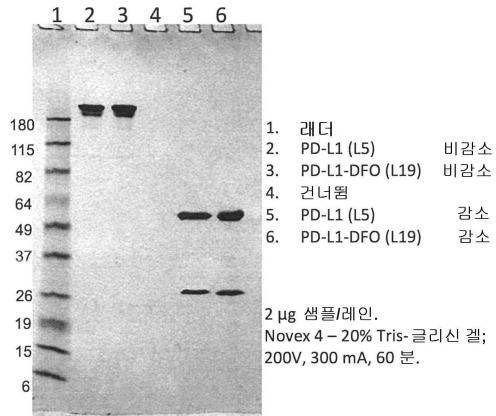
[0384] 상기 기술된 구체예 및 실시예들은 단순히 예시적이고 비제한적인 것으로 의도된다. 당업자들은 기본적인 실험만을 사용하여, 특정 화합물, 물질 및 과정들의 수많은 동등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 그러한 모든 동등물은 범주 내에 있는 것으로 고려되며 첨부되는 청구범위에 의해 포함된다.

도면

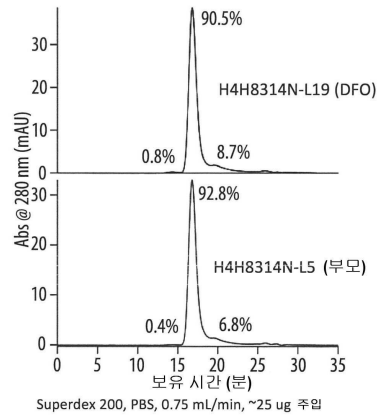
도면1

H4H8314N-DFO의 특성화

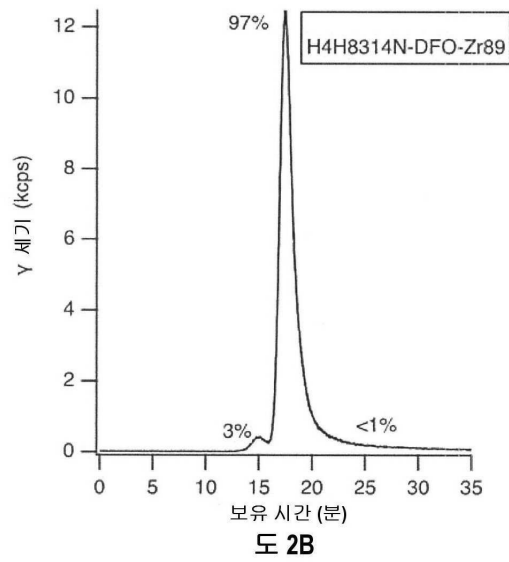
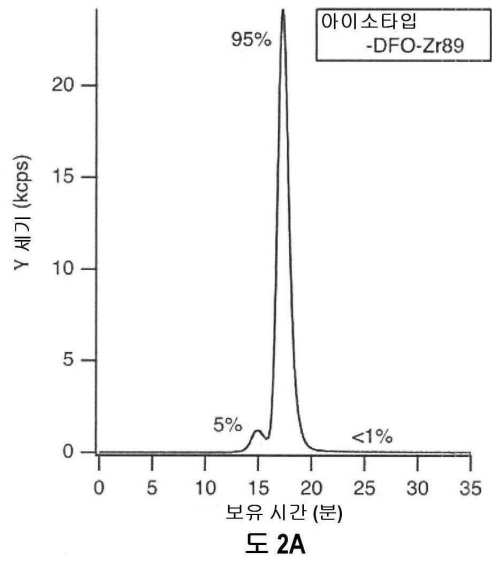
SDS-PAGE: PD-L1 부모 및 DFO 콘쥬게이트의 유사한 이동성 프로파일



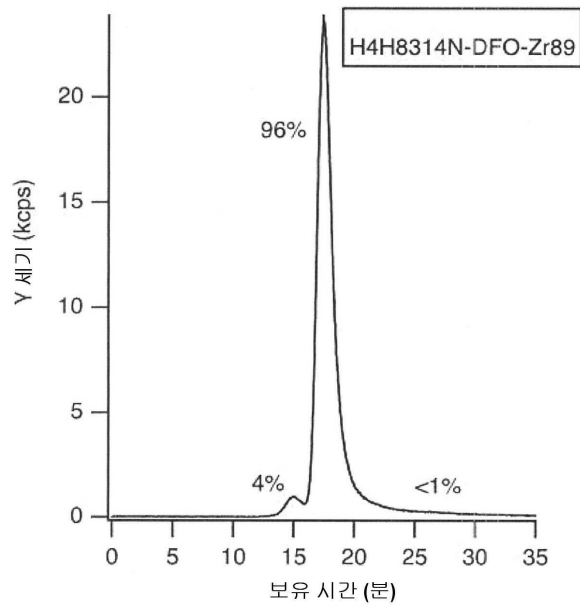
SEC: < 1% 응집물.



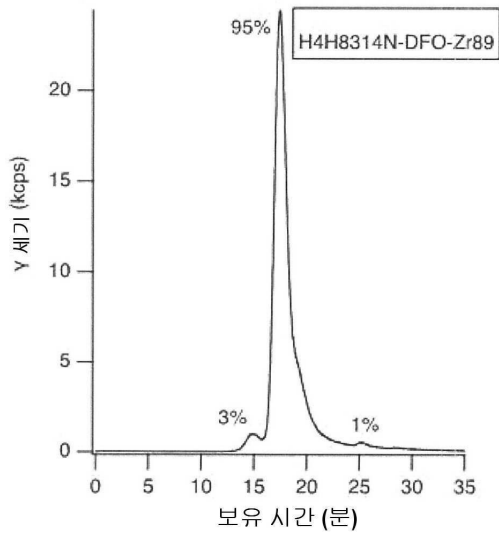
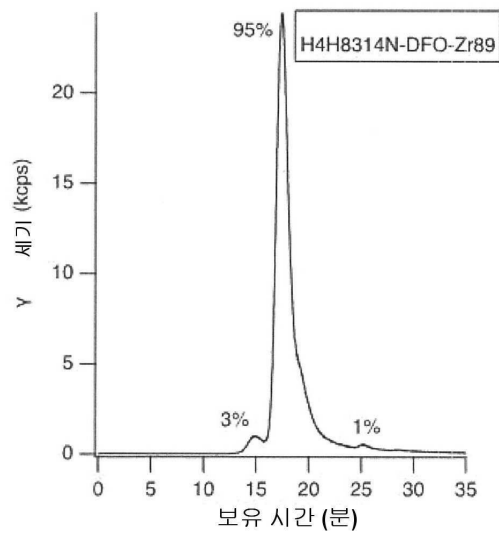
도면2



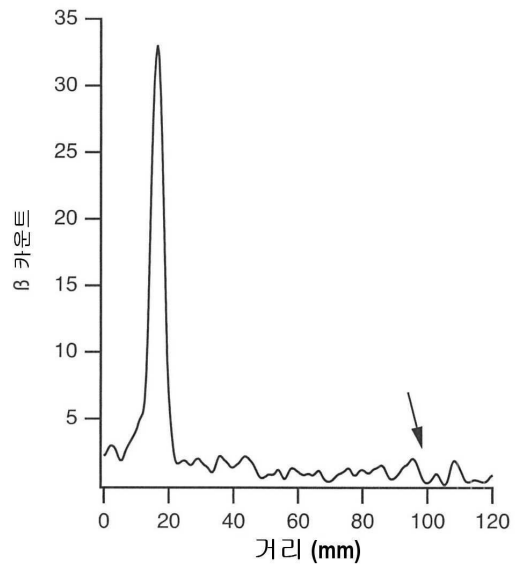
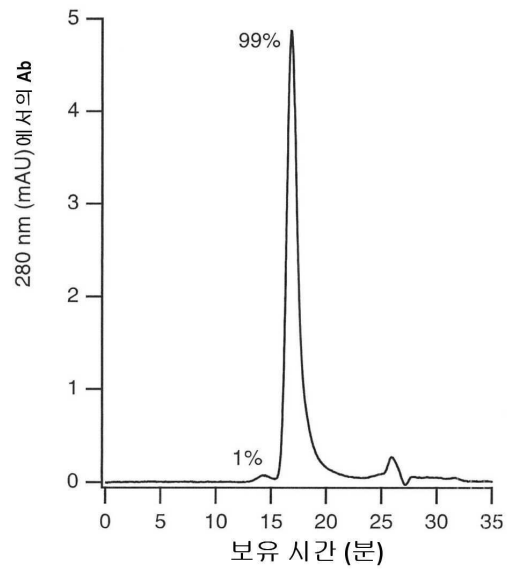
도면3



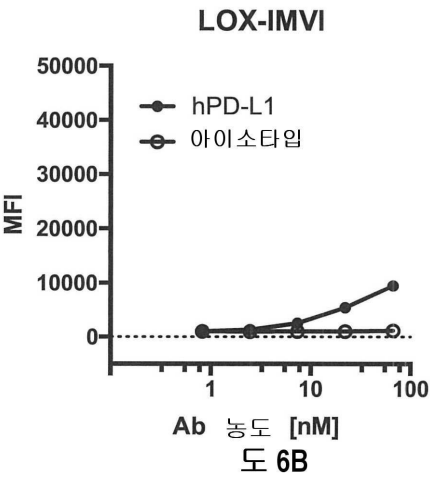
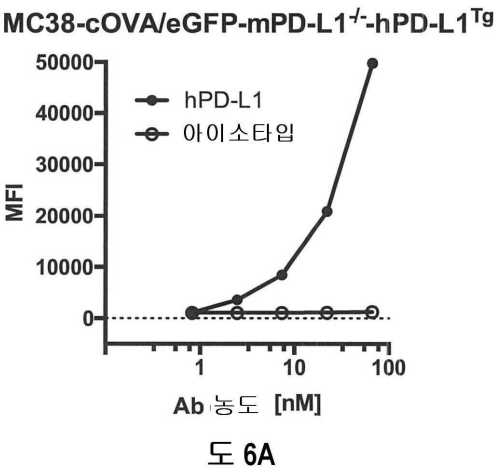
도면4



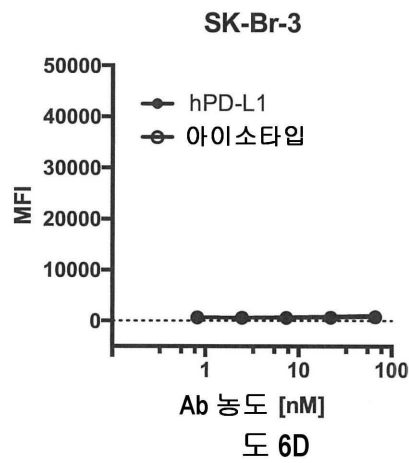
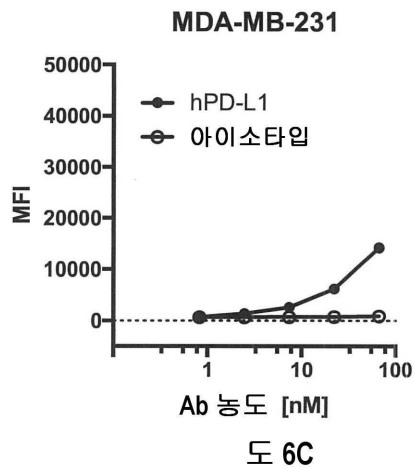
도면5



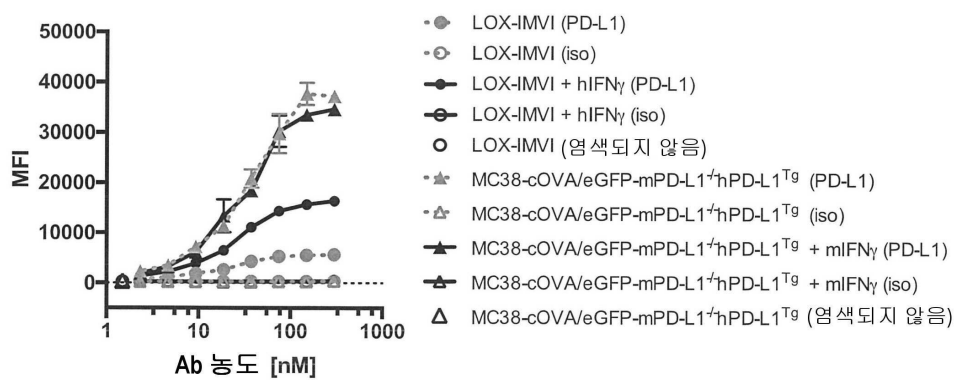
도면6ab



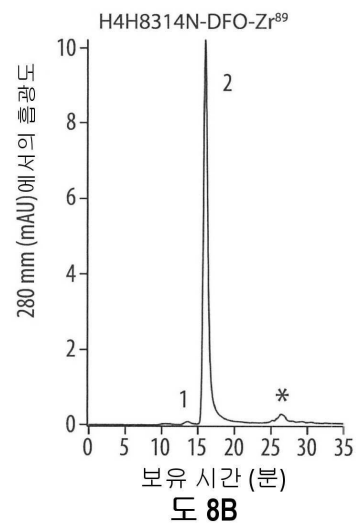
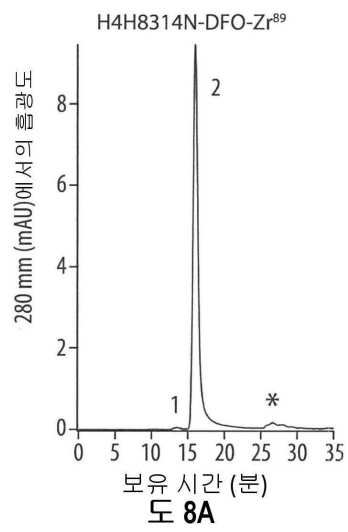
도면6cd



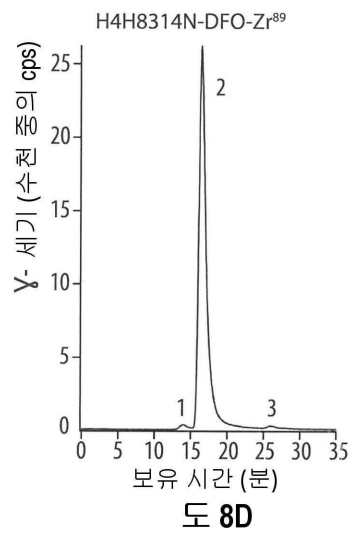
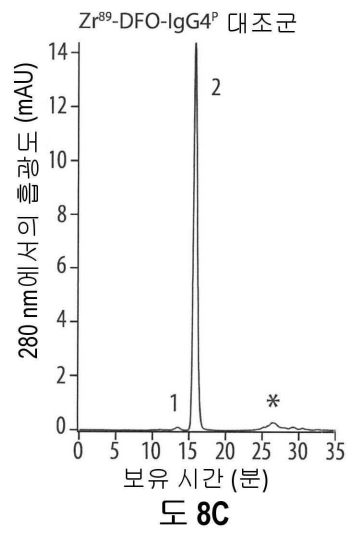
도면7



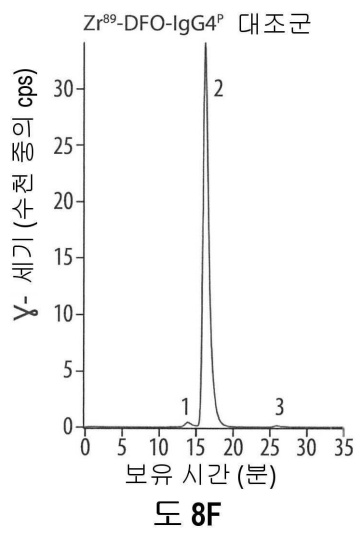
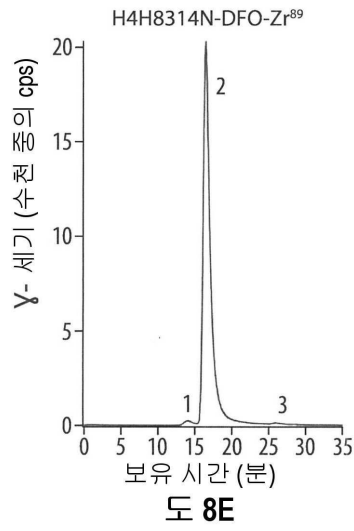
도면8ab



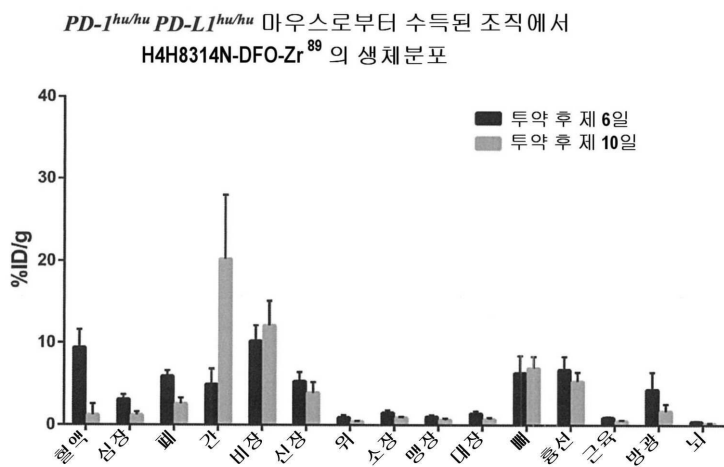
도면8cd



도면8ef



도면9



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

Kelly, Marcus

Ma, Dangshe

Olson, William

Thurston, Gavin

<120> RADIOLABELED ANTI-PD-L1 ANTIBODIES FOR IMMUNO-PET IMAGING

<130> 10305W001

<140> TBD

<141> 2017-12-01

<160> 344

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 1

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aggttttgga tgagctgggt cgcagggt 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaaccaag atggaactga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccggggac acggctgtgt attactgtgc gaatacgtat 300

tacgatTTTT ggagtggTca ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 2

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 2

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

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

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

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 3

ggattcacct ttagtaggtt ttgg

24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Phe Trp

1 5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 5

ataaaccaag atggaactga gaaa

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 6

Ile Asn Gln Asp Gly Thr Glu Lys

1 5

<210> 7

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 7

gcgaatacgt attacgattt ttggagtggc cactttgact ac

42

<210> 8

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 8

Ala Asn Thr Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly His Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 9

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggccagtc gagtattagt aattggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgatcttg caacttatta ctgccaacag tatcatagtt attcgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 10

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

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

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

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 11

cagagtatta gtaattgg	18
<210> 12	
<211> 6	
<212> PRT	
<213>	
Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 12	
Gln Ser Ile Ser Asn Trp	
1 5	
<210> 13	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 13	
aaggcgtct	9
<210> 14	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 14	
Lys Ala Ser	
1	
<210> 15	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400>	
> 15	
caacagtatc atagttattc gtacact	27
<210> 16	
<211> 9	

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 16

Gln Gln Tyr His Ser Tyr Ser Tyr Thr

1 5

<210> 17

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 17

caggagcacc tggtaggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgaag cgtctggatt caccttcagt aactttggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagct ttatggctctg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggtcg agtcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagagggaga 300

ggagcccccg gtattccgat ttttgggtac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 18

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

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

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 19

ggattcacct tcagtaactt tggc 24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly

1 5

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 21

ttatggtctg atggaagtaa taaa 24

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 22

Leu Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 23

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 23

gcgagaggga gaggagcccc cggtattccg atttttgggt ac 42

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 24

Ala Arg Gly Arg Gly Ala Pro Gly Ile Pro Ile Phe Gly Tyr

1 5 10

<210> 25

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 25

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

agattcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctacagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataatagtt accctctcac attcggcgga 300

gggaccaagg tggcgatcaa a 321

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 26

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

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

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

<210> 27

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 27

cagggcatta gaaatgat

18

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 28

Gln Gly Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 29

actgcatcc

9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 30

Thr Ala Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400>

> 31

ctacaacata atagttaccc tctcaca

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 32

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 33

<211> 390

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 33

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctggggggtc ccttagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagga aaactgatgg tgggacaaca 180
gactacgtg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaatagc 240
ctgcatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
gatgatattg tagttgtacc agctgttatg aggaataact acttcggtat ggacgtctgg 360
ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 390

<210> 34

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 34

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

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

<p>115</p> <p>Ser Ser</p> <p>130</p> <p><210> 35</p> <p><211> 24</p> <p><212</p> <p>> DNA</p> <p><213> Artificial Sequence</p> <p><220><223> synthetic</p> <p><400> 35</p> <p>ggattcactt tcagtaacgc ctgg</p> <p><210> 36</p> <p><211> 8</p> <p><212> PRT</p> <p><213> Artificial Sequence</p> <p><220><223> synthetic</p> <p><400> 36</p> <p>Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp</p> <p>1 5</p> <p><210> 37</p> <p><211> 30</p> <p><212> DNA</p> <p><213> Artificial Sequence</p> <p><220><223> synthetic</p> <p><400> 37</p> <p>attaaaagga aaactgatgg tgggacaaca</p> <p><210> 38</p> <p><</p> <p>211> 10</p> <p><212> PRT</p> <p><213> Artificial Sequence</p> <p><220><223> synthetic</p> <p><400> 38</p> <p>Ile Lys Arg Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr</p> <p>1 5 10</p>	<p>120</p> <p>24</p> <p>30</p>	<p>125</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------	------------

<210> 39
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 39
 accacagatg atattgtagt tgtaccagct gttatgaggg aatactactt cggataggac 60
 gtc 63
 <210> 40
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 40
 Thr Thr Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Val Met Arg Glu Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Phe Gly Met Asp Val
 20
 <210> 41
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 41
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc ggacaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataataatt acccgtacac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321
 <210> 42
 <211> 107
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 43

cagggcatta gaaatgat

18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 44

Gln Gly Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 45

gctgcatcc

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 47

ctacagcata ataattaccc gtacact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 48

Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 49

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 51

ggatactcct tcaccggcta ctat

24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 52

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 53

atcaacccta acagtggcac caaa

24

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 54

Ile Asn Pro Asn Ser Gly Thr Lys

1 5

<210> 55

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 55

gcgagagatg aggactggaa ctttgggagc tggttcgact cc 42

<210> 56

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 56

Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Phe Gly Ser Trp Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 57

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 57

gatattgtga tgaccacagac tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca aaccctcgta cacggtgatg gaaacacgta cttgagttgg 120

attcagcaga ggccaggcca gcctccgaga ctctcathtt ataaggtttc taatcagttc 180

tctggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaac 240

agcagggtgg aagctgagga tgtcgggctt tatttctgca tgcaagctac acattttccg 300

atcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa 336

<210> 58

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 58

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Leu Val His Gly

20 25 30

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

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

<210> 59

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 59

caaaccctcg tacacgggtga tggaaacacg tac

33

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> synthetic

<400> 60

Gln Thr Leu Val His Gly Asp Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 61

aaggtttct

9

<210> 62

<211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 62
 Lys Val Ser
 1
 <210> 63
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic

 <400> 63
 atgcaagcta cacattttcc gatcacc 27
 <210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 64
 Met Gln Ala Thr His Phe Pro Ile Thr
 1 5
 <210> 65
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 65
 caggtacacc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tacattgggt gcgacaggcc 120

 cctggacacg ggettgagtg gatgggatgg ctcaacccta ataactggtac cacaaagtat 180
 atacagaact ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccagcag cacagcctac 240
 atggagctga ccaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatgag 300

gactggaatt atgggagctg gttcgacacc tggggccagg gaaccctggc cacagtctcc 360

tca 363

<210> 66

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 66

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met

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

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Tyr Gly Ser Trp Phe Asp Thr Trp Gly

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

115 120

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 67

ggatacacct tcaccggeta ctat 24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 68

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 69

ctcaacccta atactggtac caca

24

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 70

Leu Asn Pro Asn Thr Gly Thr Thr

1 5

<210> 71

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 71

gcgagagatg aggactggaa ttatgggagc tggttcgaca cc

42

<210> 72

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 72

Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Tyr Gly Ser Trp Phe Asp Thr

1 5 10

<210> 73

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 73

gatattgtaa tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccttgaca gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtc aagcctcgta cacagtgatg gaaacaccta cttagattgg 120

cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctctaattt ataagatttc taaccgattc 180

tctgggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac gctgaaaatc 240

agcagggtgg aagctgagga tgcgggggtt tattactgca tgcaagctac acattttccg 300

atcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaga 336

<210> 74

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 74

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Pro Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95
 Thr His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Arg
 100 105 110
 <210> 75
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 75
 ccaagcctcg tacacagtga tggaaacacc tac 33
 <
 210> 76
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 76
 Pro Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10
 <210> 77
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 77
 aagatttct 9
 <210> 78
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 78
 Lys Ile Ser
 1

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 79

atgcaagcta cacattttcc gatcacc 27

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 80

Met Gln Ala Thr His Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 81

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 81

gaggtgcagc tgggtggaatc tgggggaggt gtggtgcggc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag ccctctggatt cacttttgat gattatggca tgacctgggt cgcceaagct 120

ccaggaggagg gcctggaatg ggtctctggt attcattggc atggtaaacg cacaggttat 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccata tccagagaca acgccaagaa atccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgaa aggcgaggac acggccttgt atcatttgtt gagggggggga 300

atgagtacag gggactgggt cgacccttgg ggccaggga ccctgggtcat cgtctcctca 360

<210> 82

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 82

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

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

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

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 83

ggattcactt ttgatgatta tggc

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 84

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly

1 5

<210> 85

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 85

attcattggc atggtaaacg caca

24

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 86

Ile His Trp His Gly Lys Arg Thr

1 5

<210> 87

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 87

gtgagggggg gaatgagtac aggggactgg ttcgacccc

39

<210> 88

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 88

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

1 5 10

<210> 89

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 89

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctctaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtc gagcattaac agttatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgtt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcaa tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 90

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 90

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 91

cagagcatta acagttat

18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 92

Gln Ser Ile Asn Ser Tyr

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 93

gttgcattcc

9

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 94

Val Ala Ser

1

<210> 95

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 95

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 96

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 97

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 97

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt gtggtacggc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatggca tgacctgggt cgcceaagtt 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctctggt attcattgga gtggtagaag cacaggttat 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt attactgtgc gaggggggga 300

atgagtacgg gggactggtt cgacccttgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 98

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile His Trp Ser Gly Arg Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 99

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 99

ggattcacct ttgatgatta tggc 24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly

1 5

<210> 101

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 101

attcattgga gtggtagaag caca 24

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 102

Ile His Trp Ser Gly Arg Ser Thr

1 5

<210> 103

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 103

gcgagggggg gaatgagtac gggggactgg ttcgacccc 39

<210> 104

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 104

Ala Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 105

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 105

gacatccaga tgaccacgac tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 106

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 106

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

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

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

<210> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 107

cagagcatta gcagctat

18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 108

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 109

gttgcatcc

9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 110

Val Ala Ser

1

<210> 111

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 111

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 112

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 113

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 113

gaggtgcagt tggtaggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctaagactc 60

tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcggg agtaactaca tgaactgggt ccgtcaggct 120

ccaggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttatagtg gtgtagtac atactacgca 180

gattccgtga agggccgatt caccatctcc agactcactt ccaagaacac actgtatctt 240

caaatgagca gcctgagacc tgaggacacg gccgtgtatt attgtgcgag agggattagg 300

ggtctggacg tctggggcca agggaccacg gtcacgtct cttca 345

<210> 114

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 114

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Leu Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 115

gggttcaccg tcggtagtaa ctac

24

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 116

Gly Phe Thr Val Gly Ser Asn Tyr

1 5

<210> 117

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 117

atttatagtg gtggtagta a

21

<210> 118

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 118

Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 119

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 119
 gcgagaggga ttaggggtct ggacgtc 27
 <210> 120
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 120
 Ala Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val
 1 5
 <210> 121
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 121
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtc gaccattaac atctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

 gggagagccc ctaggctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaccag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324
 <210> 122
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 122
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 123
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 123
 cagaccatta acatctat
 <210> 124
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 124

18

Gln Thr Ile Asn Ile Tyr
 1 5
 <210> 125
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 125
 gctgcatcc

9

<210> 126
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 126
 Ala Ala Ser
 1
 <210> 127
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 127
 caccagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

 <210> 128
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 128
 His Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10
 <210> 129
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 129
 gaggaacggt tggtaggagtc tggaggagac ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggcat caccgtcggc actaattata tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttctagcg gtggtaatac acactacgca 180

 gactccgtga agggccgatt cattatgtcc agacaaactt ccaaaaacac gctgtatctt 240

cagatgaata gcctggaac tgaggacacg gccgtatatt attgtgcgag ggggatcaga 300
 ggtttggacg tctggggcca agggaccatg gtcacgtct cctca 345

<210> 130
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 130

Glu Glu Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Val Gly Thr Asn

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

85 90 95
 Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser

115
 <210> 131
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 131

ggcatcacgc tcggtactaa ttat 24

<210> 132
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 132
 Gly Ile Thr Val Gly Thr Asn Tyr

1 5
 <210> 133
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 133

atttctagcg gtggtaatac a 21

<210> 134
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 134

Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr

1 5
 <210> 135
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 135

gcgaggggga tcagaggttt ggacgtc 27

<210> 136
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic

<400> 136

Ala Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val

1 5

<210> 137

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 137

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtc gagcatgagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggagagccc ctaagctcct gatctttgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 138

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 138

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

	85	90	95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys			
	100	105	
<210> 139			
<211> 18			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 139			
cagagcatga gcagctat			18
<210> 140			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 140			
Gln Ser Met Ser Ser Tyr			
1 5			
<210> 141			
<211> 9			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 141			
gctgcatcc			9
<210> 142			
<211> 3			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 142			
Ala Ala Ser			
1			
<210> 143			

<211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 143
 caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
 <210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 144
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10
 <210> 145
 <211> 354
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 145
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagatgc ctgggtcctc ggtgagggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg catcttcagc agttctacta tcagttgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgaatg gatgggagag atcatccctg tctttggtac agtaaaactac 180
 gcacagaagt tccaggacag agtcatatit accgcggacg aatctacgac tacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgaa atctggggac acggccgtat atttctgtgc gcgaaattgg 300
 ggattaggct ctttttatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354
 <210> 146
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 146
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Met Pro Gly Ser

1 5 10 15
 Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Ser Ser
 20 25 30

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

Ala Arg Asn Trp Gly Leu Gly Ser Phe Tyr Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 147

ggaggcatct tcagcagttc tact

24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 148

Gly Gly Ile Phe Ser Ser Ser Thr

1 5

<210> 149

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 149
 atcatccctg tctttggtac agta 24
 <210> 150
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 150
 Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Val
 1 5
 <210> 151
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 151
 gcgcgaaatt ggggattagg ctctttttat atc 33
 <210> 152
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 152
 Ala Arg Asn Trp Gly Leu Gly Ser Phe Tyr Ile
 1 5 10
 <210> 153
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 153

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagttttaac ttcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcaa caggctggag 240
cctgaagatt ttggagtgtt ttattgtcag cagtatgaaa gcgcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

<210> 154

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 154

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Phe Asn Phe Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Gly Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Ser Ala Pro

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 155

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 155

cagagtttta acttcaacta c 21

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 156

Gln Ser Phe Asn Phe Asn Tyr

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 157

ggtgcatcc 9

<210> 158

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 158

Gly Ala Ser

1

<210> 159

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 159

cagcagtatg aaagcgcacc ttggacg 27

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 160

Gln Gln Tyr Glu Ser Ala Pro Trp Thr

1 5

<210> 161

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 161

gaggtgcagc ttgtagagtc tgggggagac ttggtacatc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggttt cccctttgat gagtatgccca tgcactgggt ccggcaagtt 120
ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga gtaataataa cataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgcaaaaaa ctccctgtat 240

ctacaaatga acagtctgag acctgaggac acggcctttt attactgtgc aaaatctgga 300
atctttgact cctggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 162

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 162

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val His Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

Val Ser Ser
 115

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 163

ggtttccct ttgatgagta tgcc

24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 164

Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr Ala

1 5

<210> 165

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 165

attagttgga gtaataataa cata

24

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 166

Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile

1 5

<210> 167

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 167

gcaaaatctg gaatctttga ctcc 24

<210> 168

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 168

Ala Lys Ser Gly Ile Phe Asp Ser

1 5

<210> 169

<211> 315

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 169

gacatccaga tgaccacgtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaagctcc tgatctatgc tgcattccagt ttgcaaagtg gggccccatc acggttcagt 180

ggcgggtggat ctgggacaga tttcactctc accatcagca gtctgacgacc tgaagatattt 240

gcaacttact actgtcaaca gagttactgt acccctccga tcaccttcgg ccaaggagaca 300

cgactggaga ttaaa 315

<210> 170

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 170

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Cys Thr Pro Pro Ile Thr Phe

85 90 95

Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 171

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 171

cagagcatta gcagctat

18

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 172

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 173

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 173

gctgcatcc

9

<210> 174

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 174

Ala Ala Ser

1

<210> 175

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 175

caacagagtt actgtacccc tccgatcacc

30

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 176

Gln Gln Ser Tyr Cys Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 177

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 177

gaggtgcagc tgggtggagtc cgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt cgcgcaggct 120
ccaggcaagg gactggagtg ggtgacactt atatcatatg agggaaggaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gaaagatagg 300

accctttacg gtatggacgt ctggggccaa ggaaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 178

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 178

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Leu Ile Ser Tyr Glu Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 179

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 179
 ggattcacct tcagtagtta tggc 24
 <210> 180
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 180
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
 1 5
 <210> 181
 <211> 24
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 181
 atatcatatg agggaaggaa taaa 24
 <210> 182
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 182
 Ile Ser Tyr Glu Gly Arg Asn Lys
 1 5
 <210> 183
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic

<400> 183

gcgaaagata ggacccttta cggatatggac gtc 33

<210> 184

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 184

Ala Lys Asp Arg Thr Leu Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 185

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 185

caggtcacct tgaggagtc tggtcctgcg ctggtgaaaa ccacacagac cctcacactg 60

acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc actaatagaa tgtgtgtgac ctggatccgt 120

cagcccccag ggaaggcctt ggagtggctt gcgcgcattg attgggatgg tgttaaatac 180

tacaacacat ctctgaagac caggtcacc atctccaagg acacctccaa aaaccaggtg 240

gtccttataa tgaccaacat ggacctgtg gacacagcca ctttttactg tgcacggtcg 300

acttcgttga ctttttacta ctttgactac tggggccagg gaacctgtgt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 186

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 186

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn

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

85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Thr Ser Leu Thr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 187

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 187

gggtttctcac tcagcactaa tagaatgtgt

30

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 188

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn Arg Met Cys

1 5 10

<210> 189

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 189
attgattggg atggtgttaa a 21
<210> 190
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 190
Ile Asp Trp Asp Gly Val Lys
1 5
<210> 191
<211> 39
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 191
gcacggtcga cttegttgac tttttactac ttgactac 39
<210> 192
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 192
Ala Arg Ser Thr Ser Leu Thr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 193
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 193
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagt gcatggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 194

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 194

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 195

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 195

cagagcatta gcagctat 18

<210> 196

<211> 6

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 196

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 197

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 197

gctgcatcc

9

<210> 198

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 198

Ala Ala Ser

1

<210> 199

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 199

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 200

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 200

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 201

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 201

gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggagc ttggtccagc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgagtt caccgtcggc accaaccaca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtaacac attctacgca 180

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacacactt ccaagaacac gctgtatctt 240

caaatgaaca gcctgacagc agaggacacg gccgtatatt actgtgcgcg aggattgggg 300

ggatatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 202

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 202

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Phe Thr Val Gly Thr Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

	85	90	95	
Arg Gly Leu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr				
	100	105	110	
Val Ser Ser				
	115			
<210> 203				
<211> 24				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220><223> synthetic				
<400> 203				
gagttcaccg tcggtaccaa ccac				24
<210> 204				
<211> 8				
<212> PRT				
<213> Artificial Sequence				
<220><223> synthetic				
<400> 204				
Glu Phe Thr Val Gly Thr Asn His				
1	5			
<210> 205				
<211> 21				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220><223> synthetic				
<400> 205				
atttatagcg gtggtaacac a				21
<210> 206				
<211> 7				
<212> PRT				
<213> Artificial Sequence				
<220><223> synthetic				
<400> 206				
Ile Tyr Ser Gly Gly Asn Thr				

1 5

<210> 207

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 207

gcgcgaggat tgggggtat ggacgtc 27

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 208

Ala Arg Gly Leu Gly Gly Met Asp Val

1 5

<210> 209

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 209

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtc ggtcattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagtgc ctaggtcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180

cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg cccctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 210

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 210

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 211

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 211

caggtcatta gcaattat

18

<210> 212

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 212

Gln Val Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 213

<211

> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 213

gctgcatcc

9

<210> 214

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 214

Ala Ala Ser

1

<210> 215

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 215

caaaagtata acagtgcgcc tcggacg

27

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 216

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg Thr

1

5

<210> 217

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 217

gaggtgcagc tggctggagtc tgggggaggc ttggtccagc ggggggagtc cctgagactt 60
tactgtgcag cctctggatt cacctttagt aaatattgga tgaactgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaaggag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctacatata 240

ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagattat 300
tggggatcag gctactactt tgacttctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 218

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 218

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Arg Gly Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gly Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 219

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic
 <400> 219
 ggattcacct ttagtaaata ttgg 24
 <210> 220
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 220
 Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr Trp

1 5
 <210> 221
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 221
 ataaaggag atggaagtga gaaa 24
 <210> 222
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 222
 Ile Lys Gly Asp Gly Ser Glu Lys

1 5
 <210> 223
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 223
 gcgagagatt attggggatc aggtactac tttgacttc 39

<210> 224

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 224

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

1 5 10

<210> 225

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 225

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gaacattaac aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tccaaaatgc ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata ccccgctcac tttcggcggg 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 226

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 226

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Leu

85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 227

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 227

cagaacatta acaactat

18

<210> 228

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 228

Gln Asn Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 229

<211>

> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 229

gctgcatcc

9

<210> 230

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 230

Ala Ala Ser

1

<210> 231

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 231

caacagagtt acaataacccc gctcact 27

<210> 232

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 232

Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 233

<211> 390

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 233

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagt ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacccttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gagagatgat 300

attgtagtag taccagctcc tatgggatat tactactact acttcggtat ggacgtctgg 360

ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 390

<210> 234

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 234

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Pro Met Gly Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 235

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 235

ggattcacct ttagtagcta ttgg

24

<210> 236

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 236

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp

1 5

<210> 237

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 237

ataaagcaag atggaagtga gaaa 24

<210> 238

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 238

Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 239

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 239

gcgagagatg atattgtagt agtaccagct cctatgggat attactacta ctacttcggt 60

atggacgtc 69

<210> 240

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 240

Ala Arg Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Pro Met Gly Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val

20

<210> 241

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 241

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtacac ttttgccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 242

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 242

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

<210> 243

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 243

cagggcatta gaaatgat

18

<210> 244

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 244

Gln Gly Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 245

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 245

gctgcatcc

9

<210> 246

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 246

Ala Ala Ser

1

<210> 247

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 247

ctacagcata atagttaccc gtacact 27

<210> 248

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 248

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 249

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 249

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gatattgcca tgcactgggt ccgacaagct 120

ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga ctggtggtaa catggactat 180

gcgaactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagagg acgccaagaa ttccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgcggac acggccttgt attactgtgt aaaagatata 300

agggggatag tggctacggg gggggctttt gatatctggg gccgaggac aatggtcacc 360

gtctcttca 369

<210> 250

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 250

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Thr Gly Gly Asn Met Asp Tyr Ala Asn Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Lys Asp Ile Arg Gly Ile Val Ala Thr Gly Gly Ala Phe Asp Ile

100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 251

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 251

ggattcacct ttgatgattt tgcc

24

<210> 252

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 252

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Phe Ala

1 5

<210> 253

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 253

attagttgga ctggtggtaa catg 24

<210> 254

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 254

Ile Ser Trp Thr Gly Gly Asn Met

1 5

<210> 255

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 255

gtaaaagata taaggggat agtggctacg gggggggcctt ttgatatc 48

<210> 256

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 256

Val Lys Asp Ile Arg Gly Ile Val Ala Thr Gly Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 257

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 257

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atctcttgcc gggcaagtc gaccattagc acttatttaa attggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gtgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag agttacagta cccattcac tticggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 258

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 258

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 259

<211> 18

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 259
 cagaccatta gcattat 18
 <210> 260
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 260
 Gln Thr Ile Ser Thr Tyr
 1 5
 <210> 261
 <211
 > 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 261
 gttgtgtcc 9
 <210> 262
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 262
 Val Val Ser
 1
 <210> 263
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 263

caacagagtt acagtacccc attcact 27

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 264

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 265

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 265

gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccgtcggc accaactaca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg gactggagtg gatctcagtt atttatagcg gtggtagcac attctacgca 180

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacagactt cccagaacac gctgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagacc tgaggacacg gccgtatatt actgtgcgag aggtatacgt 300

ggttttgata tctggggcca agggacaatg gtcacgtct cttca 345

<210> 266

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 266

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 267

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 267

ggattcaccg tcggtaccaa ctac 24

<210> 268

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 268

Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn Tyr

1 5

<210> 269

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 269

atttatagcg gtggtagcac a 21

<210> 270

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 270

Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 271

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 271

gcgagaggta tacgtggttt tgatatac

27

<210> 272

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 272

Ala Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile

1 5

<210> 273

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 273

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc

60

atcacttgcc gggcaagtc gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca

120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgta

180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct

240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 274
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 274

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

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

85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 275
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 275

cagagcatta gcagctat 18

<210> 276
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 276

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 277

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 277

gctgcatcc

9

<210> 278

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 278

Ala Ala Ser

1

<210> 279

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 279

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 280

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 280

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 281

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 281

gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgggtt taccatcagt accaactaca tgaactgggt ccgccaggt 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtcgcagtt atttatagca gtgggtccac atactatc 180

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agactcactt ccaagaacac ggtgtatctt 240

caaatgagca gcctgaattc tgaagacacg gccgtgtatt actgtgcgag ggggatcagg 300

ggttttgata ttggggcca agggacaatg gtcaccgtct cttca 345

<210> 282

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 282

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Leu Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr

100	105	110	
Val Ser Ser			
115			
<210> 283			
<211> 24			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 283			
gggtttacca tcagtaccaa ctac			24
<210> 284			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 284			
Gly Phe Thr Ile Ser Thr Asn Tyr			
1	5		
<210> 285			
<211> 21			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 285			
atttatagca gtggttcac a			21
<210> 286			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic			
<400> 286			
Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr			
1	5		
<210> 287			

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 287

gcgaggggga tcaggggttt tgatatt 27

<210> 288

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 288

Ala Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile

1 5

<210> 289

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 289

gaagtgcagc tgggtggagtc ggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccattgat gatagtcca tgcactgggt ccggcaaact 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga aaagtggtag cataggttat 180

gcggactctg tgaggggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttccctctat 240

ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagatata 300

aggggcaact ggaactacgg gggaaactgg ttcgaccctt ggggccaggg aaccctggtc 360

actgtctcct ca 372

<210> 290

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 290

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Asp Asp Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Lys Asp Ile Arg Gly Asn Trp Asn Tyr Gly Gly Asn Trp Phe Asp
100 105 110

Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 291

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 291

ggattcacca ttgatgatag tgcc

24

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 292

Gly Phe Thr Ile Asp Asp Ser Ala

1 5

<210> 293

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 293
 attagttgga aaagtggtag cata 24
 <210> 294
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 294
 Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile
 1 5

 <210> 295
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 295
 gtaaaagata taaggggcaa ctggaactac gggggaaact gggtcgaccc c 51
 <210> 296
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 296
 Val Lys Asp Ile Arg Gly Asn Trp Asn Tyr Gly Gly Asn Trp Phe Asp
 1 5 10 15
 Pro

 <210> 297
 <211> 345
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 297

```
gaggtgcagc tggaggagtc tggaggagtc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc      60
tcatgtgaag cctctgggtt caccgtcggg gtcaaccaca tgaactgggt ccgccaggct      120
ccaggaagg gtctggagtg ggtctcagtt attttcagta gtggtaggac attctacgga      180
gactacgtga aggggcgatt aaccatcttc agacaaacct cccagaacac ggtgtatctt      240
caaatgaata gcctgagaag tgaggacacg gccatatatt actgtgcgag agggattggc      300
ggtttggaca tctggggccg agggacaatg gtcaccgtct cttca                        345
```

<210> 298

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 298

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

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

<210> 299

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 299

gggttcaccg tcggtgtcaa ccac

24

<210> 300

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 300

Gly Phe Thr Val Gly Val Asn His

1 5

<210> 301

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 301

attttcagta gtggtaggac a

21

<210>

> 302

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 302

Ile Phe Ser Ser Gly Arg Thr

1 5

<210> 303

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 303

gcgagaggga ttggcggttt ggacatc 27

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 304

Ala Arg Gly Ile Gly Gly Leu Asp Ile

1 5

<210> 305

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 305

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctaagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcct tgcactgggt ccggcaagct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga ctggtgtgtac tatagactat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga gcagtctgag aactgaggac acggccatat attactgtac aagagatata 300

cgggggaact ggaagtacgg aggcctgggtc gaccctggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 306

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 306

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

1 5 10 15

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

20 25 30
Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Thr Gly Gly Thr Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95
Thr Arg Asp Ile Arg Gly Asn Trp Lys Tyr Gly Gly Trp Phe Asp Pro

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

115 120

<210> 307

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 307

ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 308

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 308

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 309

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic
 <400> 309
 attagttgga ctggtggtac tata 24
 <210> 310
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 310
 Ile Ser Trp Thr Gly Gly Thr Ile
 1 5
 <210> 311
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 311
 acaagagata tccgggggaa ctggaagtac ggaggctggt tgcacccc 48
 <210> 312
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 312
 Thr Arg Asp Ile Arg Gly Asn Trp Lys Tyr Gly Gly Trp Phe Asp Pro
 1 5 10 15
 <210> 313
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 313
 caggtgcagc tgggtgcagtc tgggactgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc gcctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctgggtcaag gacttgactg gatgggatgg atcagcccta acagtggttt cacaaactat 180

gcacagaagt tttagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcaa cacattttat 240

atggagctga gtggactgag atctgacgac acggccgtat attactgtgc gcgagagggt 300

tctactcacc acaattcttt cgaccctgg ggccaggga cctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 314

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 314

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Pro Asn Ser Gly Phe Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Phe Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ser Thr His His Asn Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 315

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 315

ggatacacct tcaccgccta ctat 24

<210> 316

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 316

Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Tyr

1 5

<210> 317

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 317

atcagcccta acagtggttt caca 24

<210> 318

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 318

Ile Ser Pro Asn Ser Gly Phe Thr

1 5

<210> 319

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 319

gcgcgagagg gttctactca ccacaattct ttcgacccc 39

<210> 320

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 320

Ala Arg Glu Gly Ser Thr His His Asn Ser Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 321

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 321

gaggtgcagc tggaggagtc tggaggagtc ttggtccaac cggggggggtc cctgaggctc 60

tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcggg actaacttca tgaattgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg atttatagcg gtggtaccgc taactacgca 180

gactccgtga agggccgatt caccatttcc agagacactt ccaggaacac gctgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagaac tgaggacacg gccgtttatt attgtgcgag aggggggggt 300

atggacgtct ggggccaagg gaccacgggt accgtctcct ca 342

<210> 322

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 322

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

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

<210> 323

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ synthetic

<400> 323

gggttcaccg tcggtactaa cttc

24

<210> 324

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ synthetic

<400> 324

Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn Phe

1 5

<210> 325

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ synthetic

<400> 325

atttatagcg gtggtagcgc t

21

<210> 326

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 326

Ile Tyr Ser Gly Gly Thr Ala

1 5

<210> 327

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 327

gcgagagggg ggggtatgga cgtc 24

<210> 328

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 328

Ala Arg Gly Gly Gly Met Asp Val

1 5

<210> 329

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 329

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg ctcttgagg caccitcaac acctatgttc tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagag atcatcccta tcttaggtgc agcaaactac 180

gcacagaact tccagggcag agtcactttt accacggacg aatccacgaa tacagcctac 240

atggacctga gcagcctaag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcgg 300

acctccgggg ggttcgaccc ctggggccag ggaacctgg tcaactgtctc ctca 354

<210> 330

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 330

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Asn Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Thr Ser Gly Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 331

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 331

ggaggcacct tcaacaccta tggt

24

<210> 332

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 332

Gly Gly Thr Phe Asn Thr Tyr Val

1 5

<210> 333

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 333

atcatcccta tcttaggtgc agca

24

<210> 334

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 334

Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala

1 5

<

210> 335

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 335

gcgagagatc ggacctccgg ggggttcgac ccc

33

<210> 336

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 336

Ala Arg Asp Arg Thr Ser Gly Gly Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 337

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 337

caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtggagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg ctcttggtta catctttacc cactatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag gacttgagtg ggtgggctgg atcagccctt acaatggtta cacagactat 180

gcacagaaac tccagggcag agtcaccttg accacagaca catccacgac cacagcctac 240

atggagctga ggaacctgag atctgacgac acggccatgt attactgttc gagagggagg 300

ggcccttact ggtccttcga tctctggggc cgtggcaccc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 338

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 338

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 339

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 339

ggttacatct ttaccacta tgg

24

<210> 340

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 340

Gly Tyr Ile Phe Thr His Tyr Gly

1 5

<210> 341

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 341

atcagccctt acaatggta caca

24

<210> 342

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 342

Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 343

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 343

tcgagaggga ggggccctta ctggtccttc gatctc

36

<210> 344

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 344

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

1

5

10